

*REVISÃO DE LITERATURA***ARTIGO DE REVISÃO: NOVAS OPÇÕES DE TRATAMENTO DO MELANOMA METASTÁTICO****REVIEW ARTICLE: NEW TREATMENT OPTIONS FOR METASTATIC MELANOMA**

Milena Katrini Costa<sup>1</sup>, Rodrigo Mesquita Soares<sup>2</sup>, Fabiana Ribeiro Queiroz de Oliveira Fagundes<sup>3</sup>, Virgílio Ribeiro Guedes<sup>4</sup>.

**RESUMO**

O Melanoma é considerado um tumor agressivo, tem sua origem nos melanócitos da pele. Tal tumor tem grande potencial de produzir metástases, e por isso tem grande letalidade. O presente trabalho tem objetivo de fazer uma revisão da literatura sobre as novas terapias da forma metastática do melanoma. Buscou-se artigos através das plataformas SciELO, Pubmed e Bireme, com as seguintes palavras-chave: "melanoma", "tratamento melanoma", "treatment melanoma", "metastatic melanoma". Os recentes estudos mostram evidências positivas nas pesquisas, atestando a evolução da terapia, passando desde a quimioterapia, inibidores das vias de sinalização, imunoterapia, alternativas naturais até as combinações de terapias. É possível perceber a evolução do tratamento dessa enfermidade, observando a eficácia dos novos métodos e a elevação da sobrevida dos pacientes por meio dos artigos analisados.

**Palavras-chave:** melanoma; metástase; tratamento.

**ACESSO LIVRE**

**Citação:** Costa MK, Soares RM, Fagundes FRQO, Guedes VR (2018) Artigo de revisão: novas opções de tratamento do melanoma metastático. Revista de Patologia do Tocantins, 5(2): 58-66.

**Instituição:** <sup>1</sup>Acadêmica de Medicina da Universidade Federal do Tocantins, Palmas, Tocantins, Brasil. <sup>2</sup>Acadêmico de Medicina da Universidade Federal do Tocantins, Palmas, Tocantins, Brasil. <sup>3</sup>Médica Docente de Dermatologia da Universidade Federal do Tocantins, Palmas, Tocantins, Brasil. <sup>4</sup>Médico Docente de Patologia da Universidade Federal do Tocantins, Palmas, Tocantins, Brasil.

**Autor correspondente:** Milena Katrini Costa; milenakatrini@hotmail.com

**Editor:** Guedes V. R. Medicina, Universidade Federal do Tocantins, Brasil.

**Publicado:** 08 de setembro de 2018.

**Direitos Autorais:** © 2018 Costa et al. Este é um artigo de acesso aberto que permite o uso, a distribuição e a reprodução sem restrições em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

**Conflito de interesses:** os autores declararam que não existem conflitos de interesses.

**ABSTRACT**

Melanoma is considered an aggressive tumor, has its origin in melanocytes of the skin. It has a great potential to produce metastases, and therefore has great lethality. The present work aims to review the literature on the new therapies of the metastatic form of melanoma. We searched through the SciELO, Pubmed and Bireme platforms with the following keywords: "melanoma", "melanoma treatment", "treatment melanoma", "metastatic melanoma". Recent studies show positive evidence in research, attesting the evolution of therapy, ranging from chemotherapy, inhibitors of signaling pathways, immunotherapy, natural alternatives to combinations of therapies. It is possible to perceive the evolution of the treatment of this disease, observing the efficacy of the new methods and the increase of the patients survival through the articles analyzed.

**Keywords:** melanoma; metastasis; treatment.

## INTRODUÇÃO

O Câncer de pele do tipo Melanoma possui elevada letalidade, alcançando 90% de morte, entretanto sua incidência é baixa. Era estimado para 2016 no Brasil 5.670 casos segundo o INCA. Nos últimos tempos a preocupação se mantém em se diagnosticar de forma mais precoce e desenvolver novas terapias, com o objetivo de reduzir sua letalidade<sup>1</sup>.

Os fatores de risco também devem fazer parte da avaliação clínica. O melanoma possui como principal fator de risco a exposição excessiva a radiação solar, além de histórico familiar e melanoma prévio<sup>2,3</sup>.

O prognóstico do melanoma depende de vários fatores, sendo o principal ponto, o diagnóstico precoce. Se diagnosticado nos estágios iniciais a sobrevida é bem mais alta, quando comparada quando no diagnóstico temos a presença de metástase, na qual a sobrevida em 5 anos é de apenas 16%<sup>2,3</sup>.

Feito o diagnóstico da neoplasia, deverá ser realizado o estadiamento para traçar a conduta terapêutica. Daí retorna-se a importância de se afirmar o diagnóstico precocemente. Se o tumor for *in situ* ou com metástases ressecáveis, o tratamento cirúrgico com retirada das lesões malignas contribui significativamente para a cura do paciente. Contudo, se este for feito tardio e o estadiamento for avançado, a opção será apenas o tratamento paliativo com controle do avanço da doença, sendo este o foco do nosso estudo<sup>2,3</sup>.

## OBJETIVO

Atualizar sobre as novas pesquisas e apresentar as mais recentes formas de tratamento do melanoma metastático, comparando a sobrevida e a eficácia entre as mesmas e entre as formas que já vinham sendo utilizadas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para a seleção de artigos foram utilizados como ancoragem para as pesquisas os sites SciELO, Pubmed e Bireme, através das palavras-chaves “melanoma”, “tratamento melanoma”, “treatment melanoma”, “metastatic melanoma”, sendo considerados os artigos até o ano de 2012. Foram encontrados cerca de 40 artigos compatíveis com o assunto, analisados através da leitura do resumo e por fim, selecionados 17 artigos para composição da revisão.

## TRATAMENTOS DISPONÍVEIS PARA O MELANOMA METASTÁTICO

### QUIMIOTERAPIA

O primeiro marco no tratamento do melanoma avançado ocorreu em 1975, quando a **Dacarbazina** (DTIC) foi aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA)<sup>5</sup>. Este é um agente alquilante que isoladamente proporciona taxas de resposta de 14 a 20% com duração mediana de quatro a seis meses. Estudos clínicos mostraram que somente 2% dos pacientes que recebem quimioterapia com DTIC isolado estarão vivos em seis anos<sup>6</sup>.

Localização	Estágio	Sobrevida em 5 anos
Pele	I a (T1a)	95%
	I b (T1b, T2b)	90%
Pele	II a (T2b)	78%
	II b (T2a)	65%
Linfonodos Obs: Estadiamento microscópico	III	
	IIIa (micrometástases)	65%
	IIIb (micrometástase ou tumor primário ulcerado)	50%
	IIIc	25%
Metástase à distância	IV	
	IVa (pele e linfonodos distais)	18,5%
	IVb (pulmão)	6,7%
	IVc (outras vísceras, LDH)	9,5%

**Tabela I.** Estadiamento e prognóstico do Melanoma Cutâneo<sup>4</sup>.

Embora outros agentes tenham demonstrado atividade no melanoma metastático (por exemplo, cisplatina e taxanos), nenhum foi capaz de substituir DTIC. Além disso, o uso de combinações de quimioterapia citotóxica, embora associado a uma resposta mais alta, é mais tóxico e não afeta a sobrevida. Isto é devido à alta taxa de quimiorresistência do melanoma devido à alteração nos transportadores que causam efluxo de drogas, aumento da desintoxicação, mutação de topoisomerase e particularmente para maior resistência à apoptose<sup>5</sup>.

Atualmente no manejo inicial de pacientes com melanoma metastático, o uso de outros agentes é preferido<sup>5</sup> em relação à quimioterapia.

Outra classe de drogas são as chamadas terapias-alvo. São drogas ou outras substâncias que bloqueiam o crescimento ou propagação de um câncer interferindo com moléculas específicas (moléculas-alvo) envolvidas no crescimento, progressão e disseminação do câncer. Eles diferem da quimioterapia de várias maneiras<sup>7</sup>:

1. Elas atuam sobre moléculas específicas associadas ao câncer, enquanto a maioria dos quimioterápicos-padrão atua sobre todas as células que se dividem rapidamente, sejam elas normais ou cancerígenas;
2. São deliberadamente escolhidas ou projetadas para interagir com seu alvo, enquanto a maioria dos quimioterápicos foram identificados por sua capacidade de matar células;
3. São frequentemente citostáticos (bloqueiam a proliferação tumoral), enquanto os agentes quimioterápicos-padrão são citotóxicos (matam a célula tumoral)<sup>7</sup>.

## INIBIDORES FARMACOLÓGICOS DAS VIAS MOLECULARES: INIBIDORES DA VIA MAPK ERK

As neoplasias são originárias do acúmulo de alterações na função de genes críticos, que alteram a regulação da proliferação, diferenciação e morte celular, dando vantagem ao crescimento em comparação com outras populações celulares. A via de sinalização MAPK RAS / RAF / MEK / ERK é essencial em processos celulares fundamentais,

como proliferação, diferenciação, migração e apoptose de melanócitos. Esta via é ativada por vários mecanismos no melanoma, sendo a mais frequente a mutação *BRAF*. O bloqueio desta via de sinalização por ligação seletiva a uma proteína quinase da cascata MAPK / ERK leva à inibição da sua fosforilação e à sua translocação para o núcleo fosfo-Erk, reduzindo a transcrição de genes importantes em aumento de sobrevivência celular, angiogênese e redução da apoptose e tornou-se alvo primário terapêutico no melanoma metastático<sup>5</sup>. As drogas, quando competem com esta mutação, têm um efeito antiproliferativo direto, levando a regressão ou, pelo menos, a não proliferação de câncer<sup>7</sup>.

### Inibidores de BRAF (BRAFi)

Mutações ativantes de *BRAF* estão presentes em aproximadamente 50 a 60% de melanomas avançados, especialmente localizados em áreas não-fotoexpostas cronicamente. Mais de 70% das mutações *BRAF* são V600E (onde há substituição do composto valina por ácido glutâmico no aminoácido 600) e entre 10-30% são V600K (substitui valina por lisina). Essas mutações determinam uma ativação permanente da sinalização da via MAPK, sendo tumorigênica *in vitro* e *in vivo* e um alvo terapêutico no melanoma<sup>5</sup>.

Os BRAFis não seletivos, como o *Sorafenib*, foram inicialmente usados, apresentando baixas taxas de resposta. Felizmente, a capacidade de detectar mutações *BRAF* em material histopatológico e a disponibilidade de inibidores específicos do *BRAF* mutado alteraram o manejo de pacientes com melanoma<sup>5</sup>.

*Vemurafenib* (Zelboraf<sup>®</sup>) e *Dabrafenib* (Tafinlar<sup>®</sup>) são inibidores específicos com alta atividade contra *BRAF* V600E e V600K e atividade variável contra outras mutações *BRAF*. Eles agem ligando-se ao local de ligação de ATP B-Raf mutado, inibindo a forma ativa da quinase. Essas drogas apresentaram excelentes resultados em estudos de fase III em pacientes com melanoma não ressecável ou metastático. A taxa de resposta completa para ambos os agentes é estimada em 50-60%, com uma sobrevida sem progressão de 7 meses, trazendo a sobrevida global para 14-16 meses. Estes resultados favoráveis também foram observados em pacientes com mau prognóstico (estágio M1c ou níveis elevados de LDH), mesmo naqueles com metástases cerebrais. Infelizmente, todos desenvolveram resistência ao tratamento devido a mecanismos que incluem alterações em proteínas que compõem caminhos MAPK tais como mutações *NRAS*, amplificação *BRAF*, expressão de variantes de proteínas truncadas, níveis aumentados de CRAS, ativação do receptor Tirosina quinase e ativação ou mutação de MEK, justificando o uso de inibidores de MEK. A ativação de outras vias de sinalização, como PI3K-AKT também é descrita<sup>5</sup>.

O *Vemurafenib* é um medicamento oral, altamente seletivo e competitivo com a mutação *BRAF* V600E, que foi aprovado pela FDA em 2011 e pela ANVISA em janeiro de 2012. Usado na dose de 960 mg por via oral duas vezes ao dia, é a primeira linha de tratamento para pacientes com esta mutação no melanoma metastático. Pode apresentar vários eventos adversos, como artralgia<sup>7</sup>, erupção cutânea com ceratose pilar<sup>8</sup>, fadiga, alopecia, fotossensibilidade, carcinomas de células escamosas e ceratoacantomas<sup>7</sup>. O

monitoramento de pacientes durante a terapia é importante para o tratamento precoce de eventos adversos cutâneos, melhoria da qualidade de vida e adesão ao tratamento<sup>8</sup>.

*Dabrafenib* é um inibidor seletivo e reversível da mutação *BRAF* V600E. Foi aprovado pela FDA em 2013 e pela ANVISA em janeiro de 2016. Também é administrado por via oral a uma dose de 150 mg duas vezes ao dia. Os eventos adversos mais comuns são: hiperkeratose, cefaleia, pirexia, artralgia e papilomas cutâneos<sup>7</sup>.

### Inibidores de MEK (MEKi)

O MEK é um componente do caminho MAPK a jusante da via *BRAF*, com 2 inibidores seletivos, MEK 1 e 2, atualmente disponíveis: *Trametinib* e *Cobimetinib*<sup>5</sup>.

*Trametinib* (Mekinist<sup>®</sup>) é uma molécula pequena, inibidor seletivo de MEK1 e MEK2 (*BRAF* V600E e V600K)<sup>5</sup>. Foi aprovado pela FDA em 2013 como tratamento de primeira linha em pacientes com melanoma metastático, mas ainda não foi aprovado pela ANVISA<sup>7</sup>. De acordo com o estudo de Fase III, a sobrevida livre de progressão é de 4,8 meses para o *Trametinib* em comparação com 1,5 meses com quimioterapia. É administrado por via oral, a uma dose de 2 mg, uma vez por dia<sup>7</sup>. *Cobimetinib* (Cotellic<sup>®</sup>) foi recentemente aprovado para uso em combinação com *Vemurafenib*<sup>5</sup>.

Em 87% dos pacientes que usam MEKi, existem efeitos adversos cutâneos semelhantes aos induzidos por inibidores de EGFR, especialmente erupção acneiforme, xerose, paroníquia e fendas acral. A frequência de carcinoma cutâneo de células escamosas não aumenta. Outros efeitos adversos incluem diarreia, edema periférico, fadiga, náuseas<sup>5</sup> e mais raramente disfunção ventricular com redução da fração de ejeção cardíaca, visão turva, coriorretinopatia<sup>7</sup> e doença pulmonar intersticial<sup>5</sup>.

Além dos eventos adversos, um grande obstáculo ao tratamento com esses medicamentos é a ocorrência de resistência clínica, observada praticamente em uma base universal. A resistência primária (não sendo efetiva no primeiro ciclo), observada em aproximadamente 15% dos pacientes, é menos frequente do que a resistência secundária, quando a doença progride depois de ter obtido uma melhora inicial, o que acontece na maioria dos pacientes<sup>7</sup>.

### Terapia combinada

#### *Dabrafenib* (BRAFi) + *Trametinib* (MEKi)

Em um esforço para atrasar o desenvolvimento da resistência ao tratamento (ocorrendo 6 a 7 meses após o início da terapia) e para minimizar a toxicidade associada à inibição do *BRAF*, o uso combinado de *Dabrafenib* e *Trametinib* foi estudado e aprovado pelo FDA em 2014 como terapia inicial em pacientes cujo melanoma contém a mutação *BRAF* V600E ou V600K. Esta aprovação estendida baseia-se em estudos de fase I / II, onde a sobrevida livre de progressão melhorou, de 5,8 meses para *Dabrafenib* como agente único versus 9,8 meses para terapia combinada<sup>5</sup>.

#### *Vemurafenib* (BRAFi) + *Cobimetinib* (MEKi)

A terapia combinada aumenta a sobrevida livre de progressão para 11,3 meses em comparação com 7,3 meses com *Vemurafenib* e a sobrevida global em 12 meses de 72% e

65%, respectivamente. Esta combinação foi aprovada pela FDA em 2015 para pacientes com melanoma não ressecável ou metastático com mutação em BRAF V600E ou V600K<sup>5</sup>.

O uso da terapia combinada diminui os efeitos adversos da pele em comparação com a monoterapia, devido à redução da ativação paradoxal da via MAPK. Esta ativação ocorre em células que não possuem a mutação BRAF, por exemplo, queratinócitos normotípicos, queratinócitos com displasia, nevos melanocíticos, etc. É produzido pela ligação de BRAFi à proteína BRAF nativa, permitindo a dimerização com outra proteína (CRAF) e este complexo paradoxalmente ativando a via MAPK. A adição de um MEKi (por exemplo, Trametinib) a um BRAFi (ex. Dabrafenib) bloqueia a ativação paradoxal, reduzindo o desenvolvimento de lesões cutâneas hiperproliferativas, como carcinoma de células escamosas (1% em terapia combinada versus 18% em monoterapia com Dabrafenib), queratose verrugosa (2% versus 23%), queratodermia (4% versus 25%) e, teoricamente, também diminui a possibilidade de malignidades secundárias à ativação paradoxal do MAPK. Há também uma redução notável na frequência de erupções acneiformes, mas um aumento na frequência e gravidade da febre secundária ao tratamento<sup>5</sup>.

## INIBIDORES DO PONTO DE CONTROLE IMUNE

### IMUNOTERAPIA

O melanoma possui alta capacidade imunogênica e a resposta imune do paciente pode influenciar sua história natural. Isso se reflete nos fenômenos de regressão das lesões primárias à resposta a citocinas, como a IL-2 e à maior incidência de melanoma em pacientes imunossuprimidos. Para estimular esta resposta imune, as vacinas foram desenvolvidas, mas seus resultados são variáveis, ainda não são capazes de demonstrar benefícios de sobrevivência e ainda considerados em experimentação<sup>5</sup>.

A resposta imune celular desenvolve após um determinado antígeno, por exemplo, um antígeno associado ao tumor (AAT), ser introduzido por uma célula apresentadora de antígeno (CAP) a um linfócito T (LT). Esta sinapse imunológica é complexa e existem vários sinais ativadores/repressores complementares. Inicialmente, a CAP (por exemplo, célula de Langerhans) processa o antígeno e expõe-o em sua superfície através do complexo de histocompatibilidade II principal (MHC-II), sendo reconhecido por LT, através do seu receptor TCR (sinal 1). O segundo sinal pode ser coativador ou coinibidor. O sinal de coativação ocorre quando B7 (receptor da CAP, também chamado de CD80/CD86) se liga a CD28 (receptor do LT); nestas condições, o LT é ativado, prolifera, amadurece e circula na periferia, onde eventualmente encontrará o antígeno apresentado e exercerá seu efeito. Em contraste, como uma medida para proteger células saudáveis, minimizando a ativação não específica de LT e o desenvolvimento autoimune, há coinibição através da ligação de B7 a CTLA-4 (antígeno de células T4 expresso em células T ativado), impedindo a interação CD28-B7 e inibindo a ativação de LT. Além disso, CTLA-4 produz LTs reguladores de ativação, envolvidos na tolerância imune. No melanoma há um estado anérgico com aumento da expressão de CTLA-4 (sinal coinibitório) como forma de evadir a ativação de células T antitumorais<sup>5</sup>.

Os pontos de verificação imunológicos regulam esta ativação. São essenciais para a manutenção da autotolerância e a modulação da duração e amplitude da resposta imune. No entanto, eles também são os principais mecanismos que o melanoma explora para manter seu crescimento evadindo o sistema imunológico. O primeiro "ponto de verificação" é a interação entre CAP e LT, usando proteínas que inativam o LT, sendo o CTLA-4 mais importante<sup>9</sup>.

Ao inibir os pontos de controle do sistema imunológico, os imunoterápicos aumentam ou estimulam "de novo" a resposta antitumoral para matar células cancerosas em vez de atuar diretamente sobre elas, assim como quimioterápicos e as terapias-alvo<sup>7</sup>.

A experiência com anti-CTLA-4 e anti-PD-1 demonstrou, pela primeira vez, a eficácia de uma imunoterapia "genérica" (isto é, não individualizada) que visa o sistema imunológico endógeno de um paciente. No entanto, quando o peso total da morbidade e mortalidade de todos os cânceres é considerado, esses anticorpos, como monoterapia, apenas riscam a superfície do potencial terapêutico geral. O potencial para direcionar múltiplas moléculas imunorreguladoras é ótimo<sup>10</sup>.

### Anti CTLA-4: Ipilimumab e Tremelimumab

Em 2010, um anticorpo para CTLA-4 (anti-CTLA-4) tornou-se o primeiro agente da história a fornecer um benefício de sobrevivência para pacientes com melanoma em um ensaio randomizado de fase 3/4, o que levou à aprovação pela FDA em 2011<sup>10</sup>.

**Ipilimumab (Yervoy®)** é um anticorpo monoclonal humano com alta afinidade para CTLA-4<sup>5</sup>, bloqueando a inibição do CTLA-4 para a ativação, proliferação e efeito de linfócitos T. Com isso, diminui a imunotolerância e pode promover ressecção tumoral<sup>9</sup>. Foi aprovado após um estudo de fase III que demonstrou controle de doença (pacientes com doença parcial, completa ou estável) de 28,5% e sobrevida global de 23,5% aos 24 meses em pacientes com tratamento prévio. Pela primeira vez, um estudo clínico demonstrou benefício na sobrevivência global em pacientes com melanoma metastático. Este benefício foi independente do estágio, LDH de base ou uso prévio de IL-2<sup>5</sup>.

Mais impressionante do que o benefício na sobrevivência média dos pacientes foi a manutenção dos efeitos terapêuticos por mais de 2 anos em 18% dos casos, mesmo com a suspensão do tratamento. Isso nos faria supor que poderia haver uma reeducação do sistema imunológico, que manteria o tumor sob controle<sup>5</sup>.

Os eventos adversos mais importantes são autoimunes, como colite, hepatite, erupção cutânea, pneumonite, neurite, endocrinopatias e problemas oculares<sup>5</sup>. Mas que podem ser controlados ao suspender o fármaco e administrar corticosteroides<sup>9</sup>. Em qualquer campo médico que não seja oncologia, a toxicidade do ipilimumab teria impedido o seu desenvolvimento para além dos ensaios da fase 1. No entanto, a relação risco / benefício para pacientes com câncer avançado é diferente da dos pacientes com quase qualquer outra doença comum, e os oncologistas estão acostumados a aprender a gerenciar e mitigar as toxicidades antes de descartar qualquer droga com atividade antitumoral clínica<sup>10</sup>.

Foram procurados marcadores de resposta para identificar pacientes que se beneficiarão com o tratamento com Ipilimumab, no entanto, nenhum é validado e em uso clínico<sup>5</sup>.

Um aspecto importante do tratamento com Ipilimumab é que ele pode produzir padrões de resposta que não são vistos quando os agentes citotóxicos são usados e foram definidos nos *critérios de resposta relacionados ao imunológico*. Os padrões são:

- a) resposta em lesões mensuráveis na semana 12 do tratamento, sem novas lesões;
- b) doença estável (em alguns pacientes seguido de diminuição lenta no tamanho do tumor);
- c) aumento inicial no tamanho do tumor, seguido de resposta;
- d) redução da carga tumoral total, durante ou após a aparição de novas lesões, após a semana 12<sup>5</sup>.

#### **Anticorpos monoclonais anti-PD-1: Nivolumab, Pembrolizumab**

Um segundo "ponto de verificação" é o PD-1 ("Programmed Death-1"), uma proteína expressa por linfócitos T ativados. Como o CTLA-4, ela regula a ativação de linfócitos e, portanto, a tolerância imunológica, mas isso ocorre no nível periférico na interação entre o LT e a célula tumoral. Exige que o seu ligante, PD-L1, limite a resposta das células T na periferia e o dano citotóxico. O PD-L1 é expresso em células múltiplas e tumores distintos, incluindo melanoma, prevenindo uma resposta imune efetiva<sup>9</sup>.

O eixo PD-1 parece ter um impacto no efector (periférico) e, portanto, na fase posterior da resposta imune. O PD-1 é ativado nas células T em resposta a infecções crônicas, limitando o risco de autoimunidade. Os ligantes PD-1 são dois: PD-L1 e PD-L2, que podem ser expressos por células tumorais, bem como outras células das linhagens hematopoiéticas ou não hematopoiéticas. As citocinas inflamatórias, como o Interferon-gama, podem induzir a expressão de PD-L1 e PD-L2. PD-1, quando se liga aos seus ligantes, envia um sinal inibitório para a célula T. Ao longo do tempo, essa via pode levar à anergia das células T e ao bloqueio da resposta antitumoral. A expressão dos ligantes PD-1 pelo tumor acaba por ser um mecanismo de evasão da resposta imune dentro do microambiente do tumor<sup>7</sup>.

O PD-L1 é estabelecido como marcador preditivo para terapia de câncer de pulmão de células grandes com Pembrolizumab. Além disso, o melanoma positivo para PD-L1 mostrou resultados mais favoráveis quando tratados com anticorpos anti-PD1 e Dacarbazina em comparação com o melanoma negativo de PD-L1<sup>11</sup>.

A terapia de bloqueio do ponto de controle imune PD-1 induz uma taxa alta de resposta anti-melanoma e fornece benefícios clínicos sem precedentes. Esta abordagem terapêutica também mostrou-se ativa contra um crescimento lista de malignidades humanas e testes clínicos de combinações de PD-1 (ou PD-L1) com outros alvos de tratamento já iniciado. No entanto, o uso clínico efetivo de agentes anti-PD-1 é invadido por uma alta taxa de resistência inata (60% -70%) no melanoma metastático avançado<sup>12</sup>.

**Nivolumab (Opdivo®)**, aprovado em 2014 pela FDA para pacientes previamente tratados com Ipilimumab ou

BRAF<sup>i</sup>, e recentemente como a primeira linha em pacientes com melanoma avançado ou metastático sem mutação *BRAF*. Um estudo de fase III realizado em pacientes com melanoma sem pré-tratamento e sem mutação *BRAF* e mostrou sobrevida global em 1 ano de 72,9% com Nivolumab, quando comparado com DTIC, que alcançou 13,9% e 42,1%, respectivamente. A continuação deste estudo mostrou sobrevida global com Nivolumab de 57,7% e sobrevida livre de progressão média de 5,4 meses versus sobrevida global de 26,7% e sobrevida livre de progressão de 2,2 meses com DTIC. Houve resposta completa de 11% dos pacientes com Nivolumab e 1% com DTIC. Por outro lado, o Nivolumab foi comparado com a quimioterapia em pacientes com melanoma avançado que progrediram após o tratamento com Ipilimumab ou combinação de Ipilimumab e um inibidor de BRAF em casos de mutação do último; RR (31,7% vs 10,6%) e menos eventos adversos de grau 3 ou 4 (5 vs 9%) foram vistos com o uso de Nivolumab<sup>5</sup>.

**Pembrolizumab (Keytruda®)**, aprovado em 2014 pela FDA para pacientes com falência do tratamento com Ipilimumab ou BRAF<sup>i</sup> em casos de *BRAF* mutante e recentemente aprovado como terapia de primeira linha em pacientes com melanoma avançado e não tratado, independente da mutação *BRAF*. Alcança RR de 38 a 52%, a maioria dessas respostas é duradoura e não varia se houver exposição anterior ao Ipilimumab<sup>5</sup>.

O Pembrolizumab foi comparado ao Ipilimumab, na primeira linha de tratamento, em um estudo de fase III. Com ambos os tratamentos, as respostas foram duradouras (cerca de 90% com um acompanhamento médio de 7,9 meses), mas Pembrolizumab teve menos efeitos adversos de 3 a 5. Estes resultados favoráveis ocorrem independentemente do estado funcional, nível de LDH, mutação *BRAF*, estágio TNM e número ou tipos de tratamentos anteriores<sup>5</sup>.

O primeiro inibidor de PD-1 aprovado pela FDA em 2014 foi Pembrolizumab (10 mg/kg administrado por via intravenosa a cada 2 ou 3 semanas). Então, no mesmo ano, o Nivolumab (3 mg/kg administrado por via intravenosa a cada 2 semanas) foi lançado. No Brasil, a ANVISA aprovou Nivolumab em abril de 2016 e Pembrolizumab foi registrado recentemente. Os eventos adversos são menos intensos que os causados pelo Ipilimumab e, por ordem de frequência, são: fadiga, diarreia, erupção cutânea, dor muscular, prurido e náuseas<sup>7</sup>.

Tal como previsto nas mutações do genoma do rato, a toxicidade da terapia com anti-PD-1 ou anti-PD-L1 é inferior à da terapia com anti-CTLA-4 e também é de uma distribuição diferente da anti-CTLA-4 (sendo a colite mais comum com anti-CTLA-4 e pneumonite sendo mais comum com anti-PD-1). Em consonância com o papel importante da via PD-1 na proteção de tecidos sob condições fisiológicas e na resistência de tumores à resposta imune em câncer, a expressão de PD-L1 em células tumorais correlaciona-se com a resposta clínica ao anti-PD-1, o que sugere que a avaliação da expressão de PD-L1 em biópsias tumorais pode ser um "biomarcador" potencialmente aplicável à seleção do paciente<sup>10</sup>.

#### **Anticorpos anti-PD1-L1**

Ainda estão sob investigação, não foram aprovados pelo FDA no momento da revisão. Estão sendo estudados os anticorpos BMS-936559 e MPDL3280A<sup>5</sup>.

**Combinação de tratamentos**

**Ipilimumab (Anti CTLA-4) + Nivolumab (anti PD-1)**

Aprovado pela FDA até 2015 para pacientes com melanoma não ressecável ou metastático e sem mutações BRAF. Estudos de Fase II / III mostram que esta combinação tem maior atividade antitumoral em comparação com Ipilimumab em monoterapia, com sobrevida livre de progressão significativamente maior, independente do estado mutacional de BRAF; 11,5 meses com tratamento combinado, 2,9 meses com Ipilimumab e 6,9 meses com Nivolumab. Vale ressaltar que houve resposta completa de 11,5 a 22% no grupo de terapia combinada, 8,9% com Nivolumab e apenas 2,2% com Ipilimumab. Em relação à sobrevivência, 85% ao 1º ano e 79% aos 2 anos foram objetivados com terapia combinada. A toxicidade é manejável, mas os efeitos adversos de grau 3 e 4 mais intensos foram observados no tratamento combinado (54% vs 24%), destacando a colite e elevação da alanina aminotransferase, entre outros<sup>5</sup>.

	Pembrolizumab (Keytruda®)	segundo "ponto de verificação": PD-1	anti-CTLA-4 (sendo a colite mais comum com anti-CTLA-4 e pneumonite sendo mais comum com anti-PD-1)
--	---------------------------	--------------------------------------	---

**Tabela II:** Compêndio com as drogas disponibilizadas e aprovadas para o uso no tratamento do melanoma metastático, com a sua classe, nome comercial, mecanismo de ação e efeitos adversos mais comuns.

Classe	Medicamento	Mecanismo de ação	Efeitos adversos
Quimioterápicos	Dacarbazina	Efeito citotóxico	Atinge células normais além das neoplásicas
Inibidores de BRAF (BRAFi)	Vemurafenib (Zelboraf®)  Dabrafenib (Tafinlar®)	Compete com a mutação BRAF V600E	Artralgia, erupção cutânea com ceratose pilar, fadiga, alopecia, fotossensibilidade, CEC, ceratoacantomas, hiperkeratose, cefaleia, pirexia, artralgia e papilomas cutâneos
Inibidores de MEK (MEKi)	Trametinib (Mekinist®)  Cobimetinib (Cotellic®)	Compete com a mutação BRAF V600E e V600K	Erupção acneiforme, xerose, paroníquia, fendas acral, diarréia, edema periférico, fadiga, náuseas e mais raramente disfunção ventricular com redução da fração de ejeção cardíaca, visão turva, coriorretinopatia e doença pulmonar intersticial
Anticorpo Anti-CTLA-4	Ipilimumab (Yervoy®)  Trametinumab	Anticorpo que inibe a ação do CTLA-4	Colite, hepatite, erupção cutânea, pneumonite, neurite, endocrinopatias e problemas oculares
Anticorpo Anti-PD-1	Nivolumab (Opdivo®)	Regula a ativação de linfócitos através do	A toxicidade da terapia com anti-PD-1 é inferior à da terapia com

**Citocinas antiproliferativas: Peginterferon alfa 2B**

O interferon, como monoterapia, mostrou atividade antitumoral menor. Ao modificar a farmacocinética do IFN-alfa 2b pela adição à cadeia de polietilenoglicol de 12 kDa, a molécula de interferon é protegida da degradação proteolítica e ocorre um aumento da semi-vida<sup>7</sup>.

Um estudo clínico europeu em pacientes com melanoma do estágio III descobriu que os melhores resultados ocorreram no subgrupo com comprometimento microscópico dos gânglios linfáticos e com tumores ulcerados. Foi aprovado pela FDA em 2011 e é administrado por via subcutânea a uma dose de 6 mg/kg/semana durante 8 semanas, e depois reduzido para uma dose de 3 mg/kg/semana até um máximo de 252 semanas. Não houve melhora na sobrevivência global, apenas na sobrevida livre de recaída. Os eventos adversos mais comuns são: leucopenia (reversível com suspensão), fadiga, aumento de AST e ALT, pirexia, cefaleia, mialgia, tremor e reações no local da injeção<sup>7</sup>.

**Vacinas de células dendríticas**

Ainda uma perspectiva nova em estudo, as células dendríticas têm a capacidade de participar da imunidade inata e adaptativa, mas não são estranhos à evasão imunológica de tumores. Conhecer sua biologia e seu papel levou a gerar várias perspectivas *in vitro* de vacinas de células autólogas contra vários tipos de câncer em humanos e modelos animais; no entanto, em vista da baixa eficiência que mostraram, as estratégias devem ser implementadas para aumentar sua capacidade natural, quer para através da co-expressão de moléculas chave para ativar ou reativar o sistema imunológico, em combinação com biossimilares ou drogas de quimioterapia e a ação de produtos naturais como uma alternativa imunestimulante não deve ser descartada<sup>13</sup>.

O uso de vacinas de células dendríticas para melanoma é uma excelente estratégia que deve ser melhorada com adjuvantes (por exemplo, biossimilares) que induzem uma melhor atividade de apresentação de antígenos e ativação de populações imunocompetentes. A eliminação e/ou avaliação do efeito do MDSC ou do TAM durante o desenvolvimento de uma vacina celular ou durante sua aplicação deve ser levada em consideração para garantir a eficácia da vacina celular<sup>13</sup>.

**PLA2: UMA ALTERNATIVA NATURAL**

Recentemente, novos agentes obtidos a partir de substâncias naturais foram estudados quanto à sua especificidade contra células cancerosas e efeitos leves para as células normais. Por exemplo, os efeitos da Rotlerina, envolvendo a dupla inibição de ERK e NF-κB e regulação

negativa da ciclina D1, levaram à antiproliferação nas células SK-MEL-28. O Gossypol, um extrato de semente de algodão, mostrou ação terapêutica efetiva contra o melanoma BRAF V600E com resistência aos inibidores do BRAF. Três xantonas induziram um efeito inibitório na célula SK-MEL-28 modulando a mutação BRAF V600E e os outros alvos moleculares nas vias apoptóticas<sup>14</sup>.

O PLA<sub>2</sub> é um dos principais componentes do veneno de cobra para a digestão de presas. Os efeitos multifuncionais desta enzima foram documentados: ele catalisa diretamente a hidrólise de fosfolípidos celulares que geram lisofosfolípidos e ácidos graxos livres que, por sua vez, causam danos à membrana. Algumas evidências indicaram que o PLA<sub>2</sub> hidrolisou a membrana celular de várias células cancerosas. Em um estudo do modo interagido com a membrana e atividade catalítica, um PLA<sub>2</sub> de *Naja naja atra* foi capaz de catalisar folheto externo e folheto interno de vesículas de imitação de membrana plasmática. O veneno de *Macrovipera lebetina transmediterranea* mostrou ter efeitos antitumorais mediados pelas integrinas  $\alpha 5\beta 1$  e  $\alpha v$ . Portanto, as propriedades de PLA<sub>2</sub> indicaram alta atividade contra câncer de melanoma na pele, e curiosamente, não apresentou toxicidade para célula normal da pele<sup>14</sup>.

#### **OUTRA ALTERNATIVA NATURAL: POLICOSANÓIS COM EFEITO ANTIPROLIFERATIVO SOBRE AS CÉLULAS DO MELANOMA**

Os álcoois alifáticos de cadeia longa (policosanóis) e ácidos gordurosos com mais de 20 átomos de carbono são de grande interesse médico, de higiene pessoal e produtos farmacêuticos. Os policosanóis foram principalmente usados para tratar os vírus herpes simplex (HSV-1) e o vírus respiratório sincicial. As lesões cutâneas hiperproliferativas, que podem ser benignas ou malignas (quelóides, câncer de pele), podem ser tratadas e curadas com estes álcoois. Além disso, os policosanóis podem ser usados como agentes anti-inflamatórios nas células epiteliais da próstata, e no tratamento de certas condições causadas por envolvimento viral, como sarcomas de Kaposi. No entanto, esse tipo de álcool é extremamente raro na natureza e só é encontrado em pequenas quantidades em cana-de-açúcar, espinafre, óleo de onagra, cera de abelha, a planta chilena nativa *Myoschilos oblongum* (Orocoipo, Codocoipo), o arbusto brasileiro *Gallesia gorazema* (Phytolaccaceae), e alguns Plantas medicinais orientais<sup>15</sup>.

Vergara et al, teve como objetivo em seu artigo avaliar o efeito antiproliferativo dos ácidos docosanol e tetracosanol nas células do melanoma humano.

Em conclusão, percebeu-se que os álcoois alifáticos de cadeia longa (docosanol e tetracosanol) exibiram efeitos inibitórios sobre o crescimento de CHO-K1 e sobre linhagens celulares oncogênicas de melanoma humano. A capacidade antiproliferativa dessas moléculas é promissora. Uma compreensão mais profunda dos seus mecanismos exigem uma pesquisa adicional sobre as células linhas investigadas e outras linhas celulares oncogênicas<sup>15</sup>.

#### **ANTÍGENOS CÂNCER-TESTIS**

A identificação de um número significativo de antígenos tumorais tornou-se possível desde 1990 devido ao estabelecimento de sistemas autólogos *in vitro* e ao

desenvolvimento de metodologias como "clonagem de epítomos de células T" e SEREX ("Identificação sorológica de antígenos recombinantes expressos em cADN"). Tais metodologias permitem a triagem de proteínas expressas por células tumorais capazes de induzir uma resposta imune humoral e celular em pacientes com câncer. Os antígenos tumorais conhecidos até à data podem ser agrupados em 5 categorias principais: antígenos de diferenciação, antígenos correspondentes a proteínas mutadas, antígenos sobreexpressos ou amplificados, antígenos de origem viral e antígenos de câncer-testis (CT)<sup>7</sup>.

Os antígenos de CT são geralmente codificados por genes no cromossomo X e têm como principal característica sua expressão restrita em células germinativas do testículo adulto, ovário fetal e trofoblasto, entre os tecidos normais, e expressão aberrante em tumores de diferentes tipos histológicos. Até à data, são conhecidos mais de 90 antígenos de CT, agrupados em aproximadamente 40 famílias de genes. Vários anticorpos monoclonais para detecção *in situ* desses antígenos foram desenvolvidos nos últimos anos<sup>7,16</sup>.

Os antígenos CT são capazes de induzir uma resposta imune humoral e celular em pacientes com câncer e, devido a essa imunogenicidade e ao padrão restrito de expressão em tecidos normais, são considerados candidatos ideais para o desenvolvimento de vacinas terapêuticas contra câncer. Isso ocorre porque as células do testículo não expressam moléculas HLA de classe I e, portanto, não possuem antígenos para linfócitos T citotóxicos. Essa característica, somada ao bloqueio físico imposto pela barreira hematopoiética, que evita a passagem de anticorpos para o testículo, faz dele um tecido imunoprivilegiado, ou seja, imunologicamente protegido. Assim, no início, as vacinas que visam esses antígenos não devem desencadear a resposta imune contra a proteína expressa no testículo, garantindo que apenas as células tumorais sejam destruídas<sup>7</sup>.

#### **ESTRATÉGIAS DE TRATAMENTO EM PACIENTES COM MELANOMA METASTÁTICO**

Eles estão em constante evolução e atualmente o esquema de tratamento pretende ser personalizado, principalmente dependendo de 3 características:

1. Paciente, suas comorbidades e estado funcional;
2. Metástases, sua quantidade, localização, ressecabilidade e sintomatologia;
3. Mutações genéticas conhecidas ("estado mutacional"): BRAF mutado ou outras mutações<sup>5</sup>.

Em pacientes com um número limitado de metástases, estável e potencialmente ressecável, a metastasectomia deve ser considerada, o que mostrou taxas de sobrevivência de 5 anos de até 40%<sup>5</sup>.

Em caso de lesões não ressecáveis ou maior número de metástases, recomenda-se a iniciação de terapias sistêmicas e de decidir qual a sua utilização deve determinar o estado funcional do paciente e estudar a presença de mutações *BRAF*<sup>5</sup>.

Se não houver mutações conhecidas ou o paciente tiver mutações associadas a um bom estado funcional, deve-se considerar o uso de monoterapia anti-PD-1 ou combinação anti-PD1 e Ipilimumab. Se o estudo mutacional é positivo, mas

há pouca capacidade funcional e/ou alta carga metastática, ou se a doença progride apesar da imunoterapia, é recomendado iniciar terapia molecular combinada: BRAFi + MEKi<sup>5</sup>.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Melanoma é considerado um tumor agressivo, com altas taxas de letalidade pela sua rápida metástase de difícil controle e ressecabilidade. Estamos vivendo um dos períodos de mais descobertas científicas que estudam o desenvolvimento de drogas para melanoma metastático. Sete novos medicamentos foram aprovados pela FDA de 2011 a 2014 e outros estão em processo de aprovação. As terapias-alvo demonstraram que a regressão do melanoma metastático era possível em muitas situações, mas não duradoura. Por outro lado, os inibidores dos pontos de controle do sistema imunológico surgiram como uma nova modalidade de tratamento que, para um subgrupo de pacientes, trouxe respostas clínicas duradouras, um fato sem precedentes. Existem toxicidades secundárias a drogas, mas são gerenciáveis na maioria dos casos. Muitos regimes combinados ou subsequentes de drogas estão sendo conduzidos para ver se há aumento de benefício e / ou diminuição (ou aumento) de eventos adversos<sup>7,9</sup>.

O conhecimento da biologia molecular do melanoma e o desenvolvimento de inibidores de vias moleculares e imunoterapia revolucionaram o tratamento do melanoma metastático. Em comparação com a terapia citotóxica, estas drogas melhoram as taxas de resposta, a sobrevida sem progressão e a sobrevivência global com perfis de toxicidade aceitáveis, mas ainda com alto custo<sup>5</sup>.

Atualmente, vários ensaios clínicos estão em andamento usando uma combinação desses tratamentos, alguns dos quais são altamente efetivos e estima-se que em alguns anos um subgrupo de pacientes com melanoma metastático se comportará como portadores de uma doença crônica<sup>5</sup>.

O contributo mais importante destas novas terapias, além das respostas globais, que em alguns casos podem ser consideradas muito modestas (com um grupo crescente de pacientes com respostas boas e prolongadas), é definir uma linha de pesquisa para o desenvolvimento de novas terapias e, sobretudo, para melhorar as terapias existentes, buscando, por exemplo, os mecanismos de resistência primária e resistência adquirida. O mais otimista que estes pacientes atualmente considerados fora do alcance terapêutico, pode ter uma sobrevivência prolongada, e até mesmo considerar uma cura para o melanoma-metastático<sup>9</sup>.

Vale ressaltar que os anticorpos monoclonais e os biomedicamentos têm alto custo e grande importância para o sistema. Seria plausível esperar um número maior de pesquisas. Silva et al., estudaram em 2016, os ensaios clínicos de medicamentos oncológicos e o panorama no Brasil e chegou à conclusão de que o número dos ensaios no período estudado foi insuficiente frente à magnitude do câncer, com distribuição heterogênea entre as regiões brasileiras<sup>17</sup>. É necessário ser muito cauteloso na aplicação dessas novas terapias e conhecer muito bem suas limitações<sup>9</sup>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- <sup>1</sup>MINISTÉRIO DA SAÚDE, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa 2016, Incidência de Câncer no Brasil, **INCA**, Rio de Janeiro, 2016.
- <sup>2</sup>CASTRO, L. G. M.; MESSINA, M. C.; LOUREIRO, W.; MACARENCO, R. S.; DUPRAT, Neto J. P.; DI GIACOMO, T. H. B.; BITTENCOURT, F. V.; BASKOS, R. M.; SERPA, S.S.; STOLF, H. O.; GONTIJO, G. Guidelines of the Brazilian Dermatology Society for diagnosis, treatment and follow up of primary cutaneous melanoma. Part I. **An Bras Dermatol.** 90(6):851-61, Rio de Janeiro, 2015.
- <sup>3</sup>CASTRO, L. G. M.; BAKOS, R. M.; DUPRAT, J.; BITTENCOURT, F. V.; DI GIACOMO, T. H. B.; SERPA, S. S.; MESSINA, M. C. L.; LOUREIRO, W. R.; MACARENCO, R. S.; STOLF, H. O.; GONTIJO, G. Brazilian guidelines for diagnosis, treatment and follow-up of primary cutaneous melanoma - Part II. **An Bras Dermatol.** 91(1):49-58. Rio de Janeiro, 2016.
- <sup>4</sup>PEREIRA, Francisco Burnier C.; AZULAY, David R.; AZULAY, Rubem D. Melanoma. In: AZULAY E AZULAY. **Dermatologia.** 5ª edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- <sup>5</sup>RODRÍGUEZ, Rocío; PARRA, Angela; GONZÁLEZ, Sergio; MOLGÓ Montserrat; DROPPPELMANN, Nicolás; ACEVEDO, Francisco; PEÑA, José; URIBE, Pablo. Entendiendo las terapias actuales em melanoma metastático. **Rev Med Chile**, Santiago, 144: 1448-1458, 2016.
- <sup>6</sup>WAISTEIN, Alberto J. A.; TCBC-MG; BELFORT, Francisco A. Management of cutaneous melanoma. **Rev. Col. Bras. Cir.** Vol. 31, nº 3, Rio de Janeiro, May/June, 2004.
- <sup>7</sup>GIAVINA-BIANCHI, MH; GIAVINA-BIANCHI, Junior; FESTA, Neto C. Melanoma: tumor microenvironment and new treatments. **An Bras Dermatol.** Rio de Janeiro, 92(2):156-66, 2017.
- <sup>8</sup>SILVA, G. B.; MENDES, A. P.; MACEDO, M. P.; PINTO, C. A. L.; GIBBONS, I. L.; DUPRAT, Neto J. P. Vemurafenib and adverse cutaneous events - report of five cases. **An Bras Dermatol.** 90(3 Supl 1):S242-6, Rio de Janeiro, 2015.
- <sup>9</sup>DROPPPELMANN, Drs. Nicolás M.; LÉON, Augusto R.; GOÑI, Ignacio E.; GONZÁLES, Hernán D.; DOMÍNGUEZ, Francisco C.; CAMUS, Mauricio A.; NERVI, Bruno N.; URIBE, Pablo G.; MOLGÓ, Montserrat N.; ACEVEDO, Francisco C. Nuevas terapias sistémicas para el tratamiento del melanoma. **Rev Chil Cir.** Santiago, vol. 68, nº 1, February, 2016.
- <sup>10</sup>PARDOLL, Drew M. Immunology beats cancer: a blueprint for successful translation. **Nat Immunology.** 13, 1129–1132 (2012) doi:10.1038/ni.2392 Published online 16 November 2012.
- <sup>11</sup>BRÜGGEMANN, C.; KIRCHBERGER, M. C.; GOLDINGER, S. M. et al. Predictive value of PD-L1 based on mRNA level in the treatment of stage IV melanoma with ipilimumab. **J Cancer Res Clin Oncol**, doi:10.1007/s00432-017-2450-2, 2017.
- <sup>12</sup>HUGO, Willy; ZARETSKY, Jesse M.; SUN, Lu; SONG, Chunying; MORENO, Blanca Homet; HU-LIESKOVAN, Siwen; BERENT-MAOZ, Beata; PANG, Jia; CHMIELOWSKI, Bartosz; CERRY, Grace; SEJA, Elizabeth; LOMELI, Shirley; KONG, Xiangju; KELLEY, Mark C.; SOSMAN, Jeffrey A.; JOHNSON, Douglas B.; RIBAS, Antoni; LO, Roger S. Genomic and Transcriptomic Features of Response to Anti-PD-1 Therapy in Metastatic Melanoma. **Elsevier Inc.** 165, 35–44, March 24, 2016.

- <sup>13</sup>LOZADA-REQUENA, Ivan; NUNEZ, César; AGUILAR, José Luis. Inmunoterapia en melanoma: vacunas de células dendríticas. **Rev Peru Med Exp Salud Publica**, Lima , v. 32, n. 3, p. 555-564, Sept. 2015.
- <sup>14</sup>KHUNSAP, Suchitra; KHOW, Orawan; BURANAPRADITKUN, Supranee; SUNTRARACHUN, Sunutcha; PUTHONG, Songchan; BOONCHANG, Supatsorn. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**. 22:7 DOI 10.1186/s40409-016-0061-z, Thailand, 2016.
- <sup>15</sup>VERGARA, Mauricio; OLIVARES, Araceli; ALTAMIRANO, Claudia. **Antiproliferative evaluation of tall-oil docosanol and tetracosanol over CHO-K1 and human melanoma cells**. *Electronic Journal of Biotechnology*. Valparaiso, Chile, 2015.
- <sup>16</sup>CHANG, Aaron Y.; DAO, Tao; GEJMAN, Ron S.; JARVIS, Casey A.; SCOTT, Andrew; DUBROVSKY, Leonid; MATHIAS, Melissa D.; KORONTSVIT, Tatyana; ZAKHALEVA, Victoriya; CURCIO, Michael; HENDRICKSON, Ronald C.; LIU, Cheng; SCHEIBERG, David A. A therapeutic T cell receptor mimic antibody targets tumor-associated PRAME peptide/HLA-I antigens. **The Journal of Clinical Investigation**. New York, Abril de 2017.
- <sup>17</sup>SILVA, C. F.; SILVA, M. V.; OSORIO-DE-CASTRO, C. G. S. Os ensaios clínicos e o registro de anticorpos monoclonais e biomedicamentos oncológicos no Brasil. **Rev Panam Salud Publica**. 39(3):149–56. 2016.
- <sup>18</sup>KLEFFEL, Sonja; POSH, Christian; BARTHEL, Steven R.; MUELLER, Hansgeorg; SCLAPBACH, Christoph; GUENOVA, Emmanuella; ELCO, Christopher P.; LEE, Nayoung; JUNEJA, Vikram R.; ZHAN, Qian; LIAN, Christine G.; THOMI, Rahel; HOETZENECKER, Wolfram; COZZIO, Antonio; DUMMER, Reinhard; MIHM, Martin C. Jr.; FLAHERTY, Keith T.; FRANK, Markus H.; MURPHY, George F.; SHARPE, Arlene H.; KUPPER, Thomas S.; SCHATTON, Tobias. Melanoma Cell-Intrinsic PD-1 Receptor Functions Promote Tumor Growth. **Elsevier Inc. Cell** 162, 1242-1256, September 10, 2015.
- <sup>19</sup>GENG, Jie-Jie; TANG, Juan; YANG, Xiang-min; CHEN, Ruo; ZHANG, Yang; ZHANG, Kui; MIAO, Jin-Lin; CHEN, Zhi-Nan; ZHUA, Ping. Targeting CD147 for T to NK Lineage Reprogramming and Tumor Therapy. **Elsevier Inc.** 2353-3964, May 2017.