

REVIEW ARTICLE

ANTI-PD-1 E ANTI-PD-L1:

Novas perspectivas para o tratamento de diversos tipos de câncer

Veridiana S. S. Alves¹; Virgílio Guedes²

RESUMO

INTRODUÇÃO: A evasão da resposta imune pelas células tumorais representam um importante mecanismo para garantir a sobrevivência e proliferação do tumor e tem como importante representante as vias de sinalização conhecidas como pontos de controle imunes. A via do PD é uma dessas vias e, normalmente, está envolvido na manutenção da autotolerância periférica de linfócitos. No entanto, as células tumorais de diversos tipos de câncer parecem expressar o receptor PD-1, o qual se liga aos ligantes PD-L1 e PD-L2 das células do sistema imune, inibindo a ativação dos linfócitos. Assim, o bloqueio dessa interação, através do emprego de anticorpos monoclonais contra o receptor e ligantes, têm sido estudado como alternativa no tratamento de vários tipos de câncer. **OBJETIVO:** Buscou-se reunir informações dos estudos mais recentes e descobertas mais relevantes relacionadas à via do PD e os anticorpos anti-PD-1 e anti-PD-L1. **METODOLOGIA:** Trata-se de um artigo de revisão no qual, a partir das palavras-chave “PD-1 e PD-L1”, “anti-PD-1 e anti-PD-L1”, “PD e tumor”, buscou-se trabalhos nos bancos de dados: PubMed, Scielo, Portal.Periódicos CAPES e Google acadêmico. Após a leitura dos resumos foram obtidos 34 artigos, sendo 4 excluídos após leitura completa e exclusão de trabalhos publicados antes de 2000. **CONCLUSÕES:** Os anticorpos anti-PD-1 e anti-PD-L1 tendem a produzir respostas significativas, rápidas e duráveis, mesmo que limitado a frações de pacientes. Eles representam, portanto, uma alternativa promissora ao tratamento de diversos tipos tumores. No entanto, novos estudos são necessários para a determinação das doses, segurança de utilização do medicamento e para melhor elucidação dos possíveis efeitos adversos, imediato e após tempo prolongado do uso.

Palavras-chave: Câncer; Evasão da resposta imune; Vias de sinalização; Anticorpos monoclonais; Biomarcadores; Reações adversas.

¹ Acadêmica do sexto período de Medicina da Universidade Federal do Tocantins (UFT); Email: yssa1307@gmail.com

² Mestre e Professor titular de Patologia da Universidade Federal do Tocantins (UFT); Email: virguedes@uft.edu.br

ANTI-PD-1 AND ANTI-PD-L1:

New perspectives for various types of cancer treatment

ABSTRACT

INTRODUCTION: The cancer cells immune evasion represents an important mechanism to provide proliferation and survival for the tumor and it has, as a principal representative, the signaling pathways, also called immune checkpoints. PD pathway is one of these and is involved, normally, in the peripheral self tolerance of lymphocytes. However, tumor cells, in several types of cancer, seems to express PD-1 receptor, which binds with its ligands, PD-L1 and PD-L2 in immune cells, inhibiting these cell's activation. Thus, this interaction blockade, by using monoclonal antibodies against the PD receptor and/or its ligands, has been studied as an alternative of treatment in distinct types of cancer. **OBJECTIVES:** This research intended to collect informations from several studies and the most relevant discoveries related to PD pathway and its antibodies. **METHODS:** This is an review article, based in several databases research: PubMed, Scieno, Portal.Periódicos CAPES and Academic Google, using the keywords "PD-1 and PD-L1", "anti-PD-1 and anti-PD-L1" and "PD and tumor". After reading the article's abstract, it was obtained 34 articles, which four was excluded after further reading and excluding the ones which were published before 2000. **CONCLUSIONS:** The PD-1 and PD-L1 antibodies tend to produce significativa, fast and endurable responses, notwithstanding limited by a fraction of patients. Therefore, they represent a promising alternative for cancer treatment. However, more studies are necessary to elucidate adverse reactions, and to define the security and effective doses related to the use of PD-1 and PD-L1 antibodies.

Key-words: Cancer; immune evasion; Signaling pathways; Monoclonal antibodies; Biomarkers; Adverse reactions.

INTRODUÇÃO

A imunidade adquirida trata-se de uma resposta imune específica contra o agente agressor, caracterizada pela participação das células T e B (imunidade mediada por células) e anticorpos (imunidade humoral).

As células T são decorrentes do processo de maturação no timo a partir de precursores linfoides originados na medula óssea vermelha. No timo, elas diferenciam-se, de acordo com os receptores expressos, em células T CD4+ e T CD8+, e são selecionadas de acordo com a sua capacidade de não reagir à antígenos próprios (autotolerância central) (KUMAR, ABBAS, FAUSTO, 2005).

As células T CD4+ são responsáveis pela secreção de citocinas as quais influenciam a atividade das outras células imunes e são subdivididas em *Thelper1*, *Thelper2* e *Treguladoras*. A primeira secreta, principalmente IFN-*gama* e IL-1, sendo que a primeira é muito importante para a progressão da resposta inflamatória e imune e atua na ativação de macrófagos. A segunda secreta IL-4, IL-5 e IL-13 e as células Reguladoras são fundamentais para a modulação, controle e finalização da resposta imune, uma vez que atua na supressão das células T. As células T

CD8+ são responsáveis pela destruição direta e indução da apoptose das células infectadas/danosas (KUMAR, ABBAS, FAUSTO, 2005).

As células T liberadas no timo, circulam no sangue para os tecidos periféricos, e quando reconhecem um antígeno através da interação do TCR e do antígeno ligado ao MHC, apresentado por uma célula apresentadora de antígeno (células dendríticas, células B, macrófagos), e recebem sinais coestimulatórios da interação do CD28 (linfócito T) e moléculas coestimulatórias (B7-1, B7-2) são ativadas e tornam-se células ejetoras (KUMAR, ABBAS, FAUSTO, 2005).

As células T autorreativas que, eventualmente, passam do processo de seleção negativa, podem reconhecer auto-antígenos nos tecidos periféricos e desencadear uma resposta auto-imune. A fim de evitar tal situação, o organismo possui pontos de controle imune, representado pelas vias de inibição CTLA-4 e PD (MULLARD, 2013). Essas vias de inibição constituem um mecanismo importante para a autotolerância periférica, mas também tratam-se do principal mecanismo de evasão imune das células tumorais e,

por isso, estão sendo intensamente estudados (FLEMMING, 2012).

A via do PD é composta pelo PD-1 e pelos seus dois ligantes, PD-L1 e PD-L2. O PD -1, *programmed death 1*, é um receptor imune inibitório da família do CD28, expresso em diversas células imunes tais como células B e T ativadas, monócitos, células NK e vários linfócitos tumor-infiltrativos (TILs) (DOLAN, GUPTA, 2014), mas particularmente em células citotóxicas (KIN, EDER, 2014). Ele interage com dois tipos de ligantes: o PD-L1 é expresso em células tumorais e outras células imunes, além de células endoteliais vasculares e células das ilhotas pancreáticas, e o PD-L2, o qual é expresso primariamente em macrófagos e células dendríticas (KIM, EDER, 2014).

A interação PD-1/PD-L1 previne a estimulação excessiva da resposta imune e contribui para a manutenção da tolerância imune periférica a auto-antígenos (MORENO, RIBAS, 2015), através da anergia, inibição da proliferação e das funções ejetoras e induz à apoptose das células T previamente ativadas pela apresentação do antígeno (ZITVOGEL, KROEMER, 2012; CHEN, XUE, 2015). Além disso, a via do PD-1 também está promovendo a

diferenciação das células Reguladoras (ZITVOGEL, KROEMER, 2012), está associado à mudança de fenótipo das células Th1 para células Treguladoras (AMARNATH, et al. 2011), inibe a ativação e proliferação de células B (inibe sinais estimulatórios dos receptores de células B) e promove a produção de IL-18, a qual inibe a função das células NK (JIET, et al. 2015).

A via do CTLA-4, assim como a via do PD, atua na modulação da resposta das células T, através da refutação as vias de sinalização proteicas responsáveis pela ativação das células. No entanto, o CTLA-4 atua no início da resposta imune, ao nível da ativação da célula T pela apresentação de antígenos, enquanto que a via do PD atua na regulação da atividade efetora das células T nos tecidos periféricos (DOLAN, GUPTA, 2014; LUKE OTT, 2015). Tanto que, a atividade reguladora do PD-1 aumenta após exposição persistente a antígenos, devido a processos inflamatórios crônicos e câncer (LUKE, OTT, 2015).

O PD-1 foi isolado em 1992 de um hibridoma de célula T e de uma linha de células progenitoras hematopoiéticas em apoptose, de murinos. Em 1999, o B7 homólogo 1

(B7-H1), também chamado de *programmed death ligand-1* (PD-L1) foi isolado independentemente de PD-1, a partir da clonagem molecular, e foi demonstrado que PD-L1 age como um inibidor de células T humanas. Posteriormente, foi observado que o PD-L1 é o ligante e componente funcional do PD-1 e que a deficiência de PD-L1 e PD-1 está associada ao desenvolvimento de doenças autoimunes (CHEN, XUE, 2015).

Outro ligante foi, posteriormente descoberto, sendo chamado de B7-DC, ou mais comumente PD-L2, o qual possui alta afinidade ao PD-1 e é altamente expresso em alguns tecidos como o pulmão, onde pode prevenir o desenvolvimento da auto-imunidade (LUKE, OTT, 2015; CHEN, XUE, 2015).

Além disso, foi demonstrado que esses ligantes podem interagir com outras moléculas além do PD-1. Foi observado, por exemplo, que o PD-L1 interage com CD80 de células T ativadas, agindo como mediador do sinal inibitório da atividade da célula. O PD-L2, por exemplo, interage com *repulsive guidance molecule family member b* (RGMb), uma molécula que é altamente expressa em macrófagos e pode ser requerida para a indução de

uma tolerância respiratória. O PD-L1 em células tumorais pode ainda, agir como um receptor, e o sinal transmitido pelo PD-1 nas células T pode proteger a células tumorais da lise citotóxica (CHEN, XUE, 2015).

Células tissulares humanas normais raramente expressam a proteína PD-L1 na sua superfície celular, exceto tonsilas, placenta e uma pequena fração de células macrófagos-*like* do pulmão e do fígado. Isso sugere que em condições fisiológicas normais, RNAm de PD-L1 (o qual foi demonstrado ser encontrado em diversos tecidos) sofre regulação pós-transcricional. Por outro lado, células tumorais expressam altos níveis da proteína PD-L1 na superfície celular (indicado pela realização de imunohistoquímica em secções de células tumorais humanas) (SUNSHINE, TAUBE, 2015; MULLARD, 2013; CHEN, XUE, 2015). Além disso, as pesquisas mostraram que a distribuição dessa proteína é focal, e não difusa, na maioria dos cânceres humanos (CHEN, XUE, 2015).

Novos estudos têm mostrado que o IFN-*gama* pode estar envolvido na *upregulation* da expressão de PD-L1, o que explicaria a discrepância entre a o nível de expressão do ligante em célula

tumorais humanas e de ratos cultivadas *in vitro* das células tumorais recentemente isoladas de pacientes com câncer (este apresenta maior nível de expressão). No entanto, essa hipótese não têm sido bem aceita, uma vez que o IFN-*gama*, tipicamente, promove, e não inibe respostas das células T, através do processo de estimulação por antígenos e o processo de apresentação antigênica. Mas, pode ser que a *upregulation* da expressão de PD-L1 associada ao IFN-*gama* seja devido à resposta inflamatória induzida pelo câncer (essa hipótese é baseada na observações imunohistoquímicas) (CHEN, XUE, 2015; MORENO, RIBAS, 2015).

Os estudos iniciais com tumores associados ao PD-L1 mostraram que este facilita a apoptose de células T ativadas, além de estimular a produção de IL-10 por células T do sangue periférico a fim de mediar a supressão imune. Adicionalmente, a via do PD promove a anergia de células T *in vivo* e *in vitro* e regula as funções das células T reguladoras (CHEN, XUE, 2015; ZITVOGEL, KROEMER, 2012; TAUBE, 2012).

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho trata-se de um artigo de revisão, no qual objetivou-

se reunir informações associadas aos trabalhos realizados sobre a via do PD, a sua importância como mecanismo de resistência imune adaptativa dos tumores, utilização de anticorpos os quais bloqueiam a interação PD-1/PD-L1/L2 e segurança e toxicidade da utilização dos mesmos como tratamento antitumoral.

Para isso, realizou-se pesquisa nos seguintes bancos de artigos: PubMed, Scielo, Portal.Periódicos da Capes e Google acadêmico. Utilizou-se como palavras-chave “PD-1 e PD-L1”, “anti-PD-1 e anti-PD-L1”, “PD e tumor” e foi obtido cerca de 34 artigos com tema relacionado. Foram excluídos 4 artigos após a leitura dos resumos, uma vez que não tratavam da via do PD, mas de outros pontos de controle imune em estudo e a atividade de outros anticorpos direcionados a outras vias de inibição da resposta imune antitumoral, e dois artigos, os quais possuíam data superior a 10 anos de publicação (um foi publicado em 2000 e outro em 2001).

VIA DO PD

O receptor PD-1 é um potente inibidor de células T, possuindo, pois, um papel importante na tolerância periférica. No entanto, ele também pode

comprometer as respostas anti-viral e anti-tumoral das células T.

O PD-1 bloqueia a ciclo celular na fase G1 de progressão, sem alterar, no entanto, a expressão das ciclinas dependentes de cintasse (Cdks). Na verdade, os estudos mostraram que o PD-1 suprime a transcrição de SKP2, o substrato de reconhecimento componente da ubiquitina ligase SCF. Sem esse substrato, a ubiquitina ligase não realiza a sua função, a de degradar o p27, e por isso, este se acumula no citoplasma. O acúmulo de p27 prejudica a ativação da Cdk2 e a fosforilação de dois substratos da Cdk2 críticos, o produto do gene do retinoblastoma (Rb) e o fator Smad3 de transcrição TGF-beta específico. Isso impede a supressão dos genes alvo de E2F, mas aumenta a transativação de Smad3, resultando em uma *upregulation* da Cdk4/6 inibidora de p15 e repressão da fosfatase Cdc25A ativadora de Cdk. Lembre-se que as Cdks promovem a progressão do ciclo celular e Cdk2 está envolvida em diversas vias de sinalização, tais como a fosforilação de p27 (impedindo o seu acúmulo), a fosforilação do gene Rb, fosforilação de diversos outros substratos, regulação de determinados genes, e fosforilação de Smad3, a qual possui função antiproliferativa. A

diminuição de Cdks ativas e outras proteínas envolvidas na progressão celular, e o aumento da atividade de estruturas com função antiproliferativa culminam com a interrupção do ciclo celular de células T primariamente ativadas pela estimulação mediada pela interação do complexo TCR/CD3 e a via de coestimulação de CD28 (PATSOUKIS, SARI, BOUSSIOTIS, 2012).

O aumento da transativação de Smad3, ocasionado pela ativação do receptor PD-1, promove um sinergismo com os eventos transcripcionais TGF-beta específicos, o que facilita a supressão das células T efetoras via mecanismo intrínseco. Em células T naive, PD-1 promove a diferenciação destas em células T reguladoras, o que também facilita a supressão de células T ejetoras via mecanismo extrínseco. O PD-1 é, portanto, um importante regulador da tolerância das células T e da homeostase imune *in vivo* (PATSOUKIS, SARI, BOUSSIOTIS, 2012).

A via do PD-1 promove anergia através da inibição da sinalização induzida pela interação do TCR com o antígeno reconhecido. Isso é decorrente do recrutamento de fosfatases pela via SHP1/2 de sinalização, as quais

interfere e induz a parada do sinal ativado pelo TCR. Além disso, ela modula indiretamente as células T através da indução de células dendríticas plasmocitoides, as quais promovem o aumento das células Treg e resulta em supressão celular. Por fim, a via do PD-1 também está envolvida na mudança de fenótipo das células Th1 para células FOXP3+ Treg, através da diminuição de STAT, pela ativação das fosfatases, também pela via do SHP1/2 de sinalização (AMARNATH, et al. 2011).

VIA DO PD E TUMORES

Os tumores desenvolveram diversos mecanismos de evasão do sistema imune e de imunossupressão, o que compromete a destruição eficaz ocasionada pelo sistema imune. A esse processo chama-se de resistência adaptativa dos tumores. Uma das vias mais importantes de resistência adaptativa recentemente descoberta trata-se da via do PD.

A expressão de PD-L1 por diversos tumores decorre de mecanismo intrínseco, através do processo oncogênico, ou da indução direta pela célula T ativada ou pela liberação de citocinas (IFN-gama) pela célula T ativada (MORENO, RIBAS, 2015).

Os antígenos tumorais são apresentados por células tumorais, células do estroma tumoral, e células infiltrativas hematopoiéticas, tais como células dendríticas, macrófagos, neutrófilos, e linfócitos (essas células também podem induzir a expressão de PD-L1 na superfície de células tumorais adjacentes). Após a ativação em órgãos linfoides, células T efetoras tumor-específicas se infiltram no sítio tumoral e se tornam TILs (tumor-infiltrating lymphocytes). Através do reconhecimento específico via receptor de célula T, as TILs liberam IFN-*gama*, o qual pode induzir a expressão de PD-L1 na superfície das células tumorais adjacentes (CHEN, XUE, 2015; MORENO, RIBAS, 2015). Essa hipótese é suportada pelas observações baseada na imunohistoquímica de que a expressão de PD-L1 na superfície das células tumorais é detectada somente em células adjacentes às células T (CHEN, XUE, 2015) e pela correlação positiva entre a expressão de RNAm de PD-L1 e a presença de TILs em diversos tumores (SHEN, et al. 2014).

Apesar de a liberação de IFN-*gama* ser o mecanismo principal de resistência adaptativa, o PD-L1 pode ser expresso pelas células tumorais por vias de sinalização oncogênicas constitutivas

(CHEN, XUE, 2015; PARDOLL, 2012). Isso é evidenciado por uma fração pequena de cânceres humanos os quais não possuem TILs no foco do tumor mas mesmo assim, expressam altos níveis de PD-L1. Vários estudos demonstraram que o silenciamento ou deleção de PTEN (*phosphatase and tensin homolog*), uma ALK (*anaplastic lymphoma kinase*) constitutiva de sinalização (MITTENDORF, et al. 2014), e mutações EGFR podem diretamente aumentar a expressão de PD-L1 em células cancerosas. Essa expressão intrínseca representa aproximadamente 1% dos pacientes com melanoma e ocorre em 12% de pacientes com câncer de pulmão (CHEN, XUE, 2015).

O PD-L1 é expresso em diversos tumores, dentre os quais destacam-se os de cabeça e pescoço, ovário, pulmão, estômago, colon, pâncreas, rim, mamas, cérvix, melanoma, glioblastoma, mieloma múltiplo, linfoma e leucemias (JIET, et al. 2015). Foi observado também a expressão de PD-L2 por alguns tumores tais como linfoma de células B mediastinal primário, linfoma de célula B folicular e linfoma de Hodgkin (MORENO, RIBAS, 2015; PARDOLL, 2012). No entanto, a expressão deste tem sido associada a

piores prognósticos (LUKE, OTT, 2015).

PD COMO BIOMARCADOR

Um biomarcador trata-se de uma molécula orgânica, como uma proteína ou gene, a qual pode ser mensurada no tecido, sangue ou outros fluidos corporais, e é ainda um indicador de alguma condição clinicamente significativa.

A utilização de PD-L1 como marcador prognóstico e de resposta ao tratamento com imunoterapia é controverso. Clinicamente, PD-L1 é expresso em vários tipos de tumores e está associado a um prognóstico ruim em muitos cânceres, incluindo adenocarcinoma pulmonar e RCC (KIM, EDER, 2014). Pacientes com carcinoma de células renais (RCC), os quais expressam PD-L1, associado a TILs ou não, apresentam risco aumentado 4,5 de toxicidade e morte (PARDOLL, 2012; DOLAN, GUPTA, 2014a), enquanto que a expressão de PD-L1 em melanoma parece estar associado a melhores prognósticos (KIM, EDER, 2014). Ainda sobre o melanoma, outro estudo mostrou que a expressão de PD-L1 está associada ao aumento de crescimento do tumor (PARDOLL, 2012). A expressão de

PD-L1 nas células de linfoma está associado a um prognóstico negativo e o incremento da expressão de PD-1 associado à presença de TILs (linfócitos infiltrados no tumor) indica a origem do tumor, do tipo GCB (nongerminal center...) e não correlaciona-se com exaustão da resposta ao tumor mediada por células T (BOUSSIOTIS, 2015).

A expressão de PD-L1 pode ser correlacionada com melhores respostas clínicas, mas não é o único envolvido, como mostra um estudo com 1400 pacientes, no qual 45% dos tumores PD-L1+ apresentaram respostas objetivas ao tratamento, mas 15% dos tumores PD-L1- também apresentaram respostas quanto ao tratamento com inibidores da via PD (SUNSHINE, TAUBE, 2015). Em um estudo com tumores sólidos, 36% dos PD-L1+ apresentaram respostas objetivas com nivolumab (SUNSHINE, TAUBE, 2015). Outro estudo, fase 1, realizado com 39 pacientes com diversos tumores, demonstrou que a expressão de PD-L1 na membrana (superfície da célula tumoral) está correlacionado à regressão do tumor com o tratamento com bloqueador de PD-1 (BRAHMER, et al. 2010).

Um estudo com 14 pacientes com câncer na medula óssea, a

expressão de PD-L1 ocorreu, em sua maioria, nas células plasmáticas e células dendríticas associadas ao tumor. Foi observado que a proporção de expressão não aumenta com a carga tumoral e sugere-se que o PD-L1 expresso nas células dendríticas é importante para a regulação da resposta antitumoral das células T (SPONAAS, et al. 2015).

56 das 68 espécies de tumor em pretratamento biopsiadas, obtidos de 41 pacientes, apresentaram PD-L1 expresso, associado à infiltrado de células imunes (linfócitos e histiócitos) (TAUBE et al. 2014).

Um estudo com pacientes com osteosarcoma sugeriu o PD-L1 como biomarcador adequado para prever a responsividade ao tratamento com bloqueadores das vias de controle imunes, uma vez que o PD-L1 foi expresso nos tumores em 80% dos pacientes, e 24% apresentaram altos níveis de PD-L1 (SHEN et al. 2014).

A presença de TILs nos tumores têm sido associada a melhores respostas à imunoterapia em diversos tumores, incluindo melanoma e carcinoma de células renais (LUKE, OTT, 2015), além dos tumores de mama triplo negativo (MITTENDORF, et al. 2014). O aumento de TILs também têm sido

associado à resposta rápida com anti-PD-1 (DOLAN, GUPTAN, 2014). Estudos têm mostrado que a presença de TILs pode indicar uma resposta intratumoral prévia, a qual pode ser importante para a regressão do tumor, quando juntamente com a quimioterapia e imunoterapia (ANDRE et al., 2013).

No entanto, a expressão de PD-L2 aumentada pode estar associada a alguns tumores como doença de Hodgkin, linfoma de célula B folicular e linfoma de células B mediastinal (PARDOLL, 2012). A sua expressão em tumores também têm sido associada a um pior prognóstico em alguns cânceres (DOLAN, GUPTA, 2014).

O PD-L1 pode ser mensurado através da imunohistoquímica e o nível de expressão desse ligante tem demonstrado valor prognóstico em vários tipos tumorais, incluindo melanoma, carcinoma de células renais e câncer de células não pequenas de pulmão. Além disso, a expressão de PD-L1 parece estar correlacionado com a resposta aos anticorpos anti-PD-1. No entanto, não há um teste uniformemente aceito como padrão para a quantificação da expressão de PD-L1. Os padrões de expressão proteicos do PD-L1 em células tumorais, células dendríticas e tumor infiltrativo de células imunes

parecem diferir. Por exemplo, estudos utilizando uma técnica diferente de quantificação de RNAm de PD-L1 (hibridização in situ de anticorpo-independente combinado com fluorescente) demonstraram que níveis aumentados de RNAm de PD-L1 está associado a tumor infiltrativo de linfócitos e melhores resultados clínicos ao tratamento em pacientes com câncer de mama e de pulmão (de células não pequenas) (MAHONEY, ATKINS, 2014).

ANTI-PD1 E ANTI-PDL1

Diante da descoberta de alguns mecanismos de evasão imune dos tumores e da possibilidade de restaurar a resposta imune do organismo contra esses tumores, foram pesquisados agentes bloqueadores dos receptores e/ou gigantes envolvidos nas vias correspondente aos pontos de controle imunes do organismo.

O primeiro ponto de controle regulador negativo a ser clinicamente analisado foi o CTLA-4, a partir do qual foi desenvolvido o agente bloqueador desse receptor chamado de ipilimumab (MORENO, RIBAS, 2015). Esse agente foi testado entre diversos tumores, dentre os quais destaca-se o melanoma metastático. A sua eficácia o fez ser

aprovado pela FDA (Food and Drug Administration) como medicamento a ser utilizado no tratamento de melanoma metastático refratário (ZITVOGEL, KROEMER, 2012).

Os agentes bloqueadores de PD-1/PD-L1 são anticorpos monoclonais os quais se ligam ao sítio correspondente dos componentes da via do PD, impedindo a interação de PD-1/PD-L1/PD-L2. O anti-PD-1 tem como principal efeito, restaurar a função das células T CD8+ exaustas e também previne a depleção de células B de memória, observado em experimento com macacos SIV-infectados (ZITVOGEL, KROEMER, 2012). A terapia anti-PD têm gerado benefícios significativos através da regressão do tumor e do prolongamento da sobrevivência, além de ter produzido efeitos duráveis, com relativa toxicidade tolerada. Têm-se observado em diversos estudos respostas clínicas eficazes em um espectro amplo de tumores, principalmente em tumores sólidos (CHEN, HAN, 2015).

Atualmente, existem 6 agentes bloqueadores de PD-1/PD-L1 em evolução clínica, sendo que dois já foram aprovados pela FDA americana (o nivolumab e o pembrolizumab) e os outros já em desenvolvimento (CHEN,

HAN, 2015): o MDX-1106/BMS-936558/ONO-4538 (IgG4 puramente humana anti-PD-1 mAb, também chamado de nivolumab), o CT-011 (IgG1 humanizada anti-PD-1 mAb da Curatech/Teva), MK-3475 (IgG4 puramente humana anti-PD-1 mAb da Merck, também conhecido como pembrolizumab ou lambrolizumab), MPDL 3280A/RG 7447 (anti-PD-L1 da Genentech), BMS-936559 (IgG4 anti-PD-L1 humanizada mAb inibidora da ligação de PD-1 e B7-1) e AMP-224 (ZITVOGEL, KROEMER, 2012).

O nivolumab foi o primeiro anticorpo monoclonal (mAb) direcionado ao PD-1 a mostrar resposta significativa em melanomas metastáticos não responsivos aos tratamentos tradicionais, NSCLC (carcinoma de células não pequenas de pulmão) e carcinoma de células renais metastático (CHEN, HAN, 2015). Estudos fase 1 demonstraram ORR (objective response rate) de 28% em pacientes com melanoma metastático os quais não obtiveram resposta clínica com o tratamento prévio com o ipilimumab (KIM, EDER, 2014; CHEN, HAN, 2015). Em outro estudo fase I/II com 296 pacientes os quais apresentavam diversas malignidade pré-tratadas, mas que não obtiveram

resposta clínica (melanoma, NSCLC, câncer de próstata, carcinoma de células renais e câncer coloretal), no qual foi-se utilizado 1-10 mg/kg a cada 2 semanas por 12 ciclos até regressão do tumor, observou-se que não houve dose máxima tolerada e as respostas clínicas cumulativas foram de 18,4% no NSCLC, 27,6% no melanoma e 27,3% no carcinoma de células renais. Foi observado também relativa tolerância à toxicidade do medicamento, sendo que 14% apresentaram grau 3/4 de efeitos adversos relativos à administração da droga (MORENO, RIBAS, 2012). Em cânceres geniturinários tratados previamente com agentes VEGF, obteve-se ORR de 21% nos pacientes tratados com anti-PD-1, assim como em linfoma de Hodgkins refratários, obteve-se ORR de 87%, em câncer de ovário, ORR de 23% e TNBC (câncer de mama triplo negativo), ORR de 33% com o tratamento com nivolumab (SUNSHINE, TAUBE, 2015). Um estudo fase III, no qual comparou-se a resposta do nivolumab com a dacarbazine (quimioterápico) em pacientes com melanoma do tipo BRAF-selvagem, obteve-se melhora na sobrevivência de 1 ano de 73% com o nivolumab e 43% com o dacarbazine (SUNSHINE, TAUBE, 2015;

MORENO, RIBAS, 2015). O nivolumab foi aprovado pela FDA americana para o tratamento de melanoma avançado e para NSCLC que falhou com o tratamento de platina (SUNSHINE, TAUBE, 2015; KIM, EDER, 2014). Foi também aprovado no Japão para o tratamento de melanoma unresectable (LUKE, OTT, 2015).

O pembrolizumab é uma IgG4 monoclonal humanizada a qual possui uma porção Fc que minimiza a ADCC (citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpo) e CDC (citotoxicidade dependente de complemento) (MORENO, RIBAS, 2015). Em um estudo para a avaliação da atividade no melanoma em 196 pacientes com esse tumor, foi dividido em dois grupos dos quais foram aplicados o pembrolizumab nas doses de 10mg/kg a cada 2-3 semanas e na dose de 2mg/kg a cada 3 semanas, respectivamente. Obteve-se como resultado, respostas através de todos os níveis de 38%, resposta na mais alta dose de 52% e respostas clínicas duráveis, isto é, um PFS (progression free survival) maior que 7 meses (MORENO, RIBAS, 2015). Ele mostrou eficácia semelhante ao nivolumab em um estudo clínico em fase I com o melanoma avançado e por

isso, foi aprovado pela FDA como o tratamento de segunda linha para o melanoma (CHEN, HAN, 2015). O pembrolizumab também mostrou respostas clínicas antitumorais em outros tumores, tais como o TNBC, com ORR de 33%, o bladder câncer com mais de 1% de expressão de PD-L1, com ORR de 24% e têm mostrado efeitos promissores em outros tumores sólidos como o câncer gástrico avançado (ORR>20%), câncer de cabeça e pescoço (ORR>20%) e linfoma de Hodgkin clássico (CHEN, HAN, 2015).

Existe ainda o pidilizumab, um outro anti-PD-1, o qual tem sido avaliado em malignidades hematológicas. Em um estudo em fase I clínico com 17 pacientes com leucemia mieloide aguda refrataria, leucemia linfocítica crônica, doenças de Hodgkin e não Hodgkin, linfoma e mieloma múltiplo, não foi observado dose máxima tolerada e 33% dos pacientes tiveram benefícios clínicos com o tratamento com o pidizilumab (MORENO, RIBAS, 2015).

O anti-PD-1 bloqueia a interação entre PD-1 e os seus dois ligantes, PD-L1 e PD-L2. Vários estudos mostraram que a inibição da interação entre PD-1 e PD-L2 seria responsável pelo

desenvolvimento de doenças auto-imunes no pulmão, tais como pneumonite auto-imune e nefrite, uma vez que PD-L2 é expresso nas células parenquimatosas do rim e do pulmão (KIM, EDER, 2014). Uma opção é anti-PD-L1, o qual bloqueia somente a interação PD-1/PD-L1. Estudos têm mostrado que a utilização de anti-PD-L1 produz respostas clínicas contra diversos tipos de tumores. Em pacientes com NSCLC, o tratamento com BMS936559 obteve ORR de 10% e com MPDL3280A, ORR de 23%. Em pacientes com câncer genitourinário, o tratamento com BMS936559 obteve ORR de 12% e MPDL3280A, de 14%. Em pacientes com câncer de bexiga avançado, o tratamento com MPDL3280A obteve ORR de 26% (SUNSHINE, TAUBE, 2015). Um estudo em fase I com 38 pacientes com melanoma metastático, foi observado ORR de 39%, e 43% conseguiu PFS de 24 semanas com o tratamento com o MPDL3280A. Nesse estudo também foi demonstrado que em 60% dos pacientes com tumor PD-L1+ a doença tornou-se estável com o tratamento, indicando, pois, que a expressão de PD-L1 está relacionada com resposta clínica mais favorável. Mesmo assim, foi observado que pacientes com tumor PD-L1

negativo também foram beneficiados, com ORR de 20%. Por fim, não foi observado grau 3 ou 4 de pneumonite nem mortes relacionadas ao tratamento (KIM, EDER, 2014).

Outros estudos têm mostrado que pacientes com tumores os quais expressam altos níveis de PD-L1, especialmente quando são expressos nas TILS são mais beneficiados pelo tratamento com anti-PD-L1, e por isso, apresentam significativas ORR. Por exemplo, foi observado ORR de 23% em todos os pacientes com NSCLC, enquanto que em pacientes com altos níveis de PD-L1, foi obtido ORR de 85% (CHEN, HAN, 2015).

O MEDI4736 é outro anti-PD-L1 o qual está sendo estudado e desenvolvido. Estudos têm mostrado que esse anticorpo possui farmacocinética dose-dependente e apresenta atividade supressora de PD-L1 também dose-dependente. Além disso, foi observado mais evidência de atividade clínica em vários tumores como o gastroesofágico, pancreático, e de cabeça e pescoço (MORENO, RIBAS, 2015).

Apesar da resposta clínica ser um pouco menor, quando comparada com os anti-PD-1, foi observado que pacientes tratados com anti-PD-L1 não

apresentam pneumonite auto-imune ou colite, e a incidência de graus 3-4 de efeitos adversos relacionados administração do fármaco é menor (SUNSHINE, TAUBE, 2015). Isso sugere que os anti-PD-L1 são mais bem tolerados que os anti-PD-1. Novos estudos estão sendo realizados a fim de elucidar melhor os efeitos e as respostas clínicas dos anti-PD-L1 como tratamento em diversos tipos de câncer.

TERAPIA COMBINADA

Existem diversas combinações de fármacos as quais estão sendo avaliadas, dentre as quais destaca-se a combinação de anti-CTLA-4 e anti-PD. Sugere-se que a utilização de dois agentes bloqueadores dos pontos de controle imunes aumentam a atividade antitumoral e aumentam, por fim, a força de estimulação do sistema imune (LUKE, OTT, 2015).

Um estudo em fase I, foi observado respostas clínicas em 42% dos pacientes tratados com os dois agentes, contra 17% com o ipilimumab (anti-CTLA-4) e 32% com o nivolumab (anti-PD-1). Dos 42%, mais de 80% obteve regressão do tumor em 36 semanas (LUKE, OTT, 2015). No entanto, apesar da resposta antitumoral ser mais significativa, foi também

observado maior incidência de eventos adversos: 63% dos pacientes tratados com a terapia combinada experimentaram eventos adversos e 23%, experimentaram após a descontinuidade do tratamento, embora esses efeitos sejam similares aos observados no tratamento com os agentes sozinhos (LUKE, OTT, 2015). Outro estudo com pacientes com melanoma metastático, obteve-se ORR de 43%, mas 53% dos pacientes apresentou grau 3/4 de eventos adversos (MORENO, RIBAS, 2015). Várias pesquisas têm tentado diferentes combinações e doses na tentativa de otimizar o risco/benefício da terapia combinada (LUKE, OTT, 2015).

Outras combinações estão em fase de estudo, como por exemplo, a combinação de agentes quimioterápicos e nivolumab, além de MEDI4736 (anti-PD-L1) e anti-EGFR em pacientes com NSCLC (MORENO, RIBAS, 2015).

EVENTOS ADVERSOS

Apesar de os estudos não terem reportado dose máxima tolerada, diversos eventos adversos foram observados. A maioria deles ocorrem nos primeiros 2 a 6 meses de tratamento, mas podem ocorrer em qualquer época, mesmo após a

descontinuação do tratamento (LUKE, OTT, 2015). Além disso, os efeitos tendem a ser mais tolerados quando comparados com os efeitos da quimioterapia, e melhores gerenciados (DOLAN, GUPTA, 2014).

O efeito adverso mais comum dos anti-PD-1 é a fadiga (DOLAN, GUPTA, 2014). Outros eventos adversos relacionados ao tratamento com o anticorpo são prurido, perda de apetite, pneumonite, colite, hepatites, tiroidites e hipofisite (LUKE, OTT, 2015). A pneumonite, apesar de não tão frequente (DOLAN, GUPTA, 2014), é de significativa relevância, uma vez que 3 mortes ocorreram em decorrência desse efeito durante tratamento com anti-PD-1 em pacientes com melanoma metastático (MAHONEY, FREEMAN, MCDERMONT, 2015).

Vários estudos também relataram diarreia, eventos endócrinos, rash cutâneo, mialgia, artralgia e pirexia, os quais são tratados com medicamentos de alívio sintomático ou, em graus mais severos, com o uso de corticoesteroides (SCHMERLING, 2014; TOPALIAN, 2012).

Como o anti-PD-L1 não bloqueia a interação PD-1/PD-L2, ele preserva a homeostase e, teoricamente, o mecanismo da pneumonite induzida

por bloqueadores de PD-1. São geralmente bem tolerados, e foram relatados poucos eventos adversos de grau 3 e 4, além de hiperglicemia, elevação de AST e ALT (transaminases), dor no dorso e falha na adrenal (SCHMERLING, 2014).

A terapia combinada com anti-CTLA4 e anti-PD-1 apresentou também efeitos adversos semelhantes, embora tenha afetado maior parcela de pacientes se comparado com os bloqueadores sozinhos, mas são geralmente tolerados e a maioria é representado por alterações laboratoriais tais como elevação das transaminases (13%), lipase (13%) e da creatina (6%), além da diarreia (6%).

Recomenda-se que os pacientes os quais irão participar do tratamento sejam examinados quanto ao potencial de efeitos adversos imune-associados, para minimizar o risco de piora, além de realizar testes clínicos para a monitorização de alterações laboratoriais e avaliação de órgãos específicos (fígado, rim, tireoide). Para o tratamento desses efeitos, se não severos, pode ser tratado com corticoesteroides e outros imunossupressores, e no caso de distúrbios endócrinos, deve-se realizar a terapia de reposição hormonal. Se

severos, deve-se parar o tratamento com os bloqueadores (LUKE, OTT, 2015).

CONCLUSÕES

Os anticorpos anti-PD-1 e anti-PD-L1 tendem a produzir respostas significativas, rápidas e duráveis, mesmo que limitado a frações de pacientes, de acordo com os estudos recentes. Eles representam, portanto, uma alternativa promissora ao tratamento de diversos tipos tumores.

Esses bloqueadores são responsáveis pela inibição da interação da via do PD de controle e regulação da resposta imune a nível de tecidos periféricos, o qual, apesar de representarem um mecanismo fisiológico para a manutenção da homeostase e prevenção do desenvolvimento de doenças auto-imunes, são utilizados como mecanismo de evasão imune e resistência adaptativa do tumores. O bloqueio desse ponto de controle imune no sítio do tumor restauraria a resposta imune mediada por células T, responsável pela destruição das células tumorais e regressão do tumor.

No entanto, estudos adicionais devem ser realizados para a definição de critérios a serem utilizados para seleção dos pacientes adequado ao tratamento.

Os estudos atuais têm pesquisado a utilizado a expressão de PD-L1 e a presença de infiltrado linfocitário no tumor (TILs) como biomarcadores de boa responsividade clínica aos bloqueadores. Reitera-se, por sua vez, que, diante de estudos com resultados controversos, novos estudos abrangendo mais tumores e mais pacientes para a confirmação da hipótese.

Por fim, diante da diversidade de efeitos adversos e de sua incidência e distribuição, é necessário novos estudos para a elucidação da segurança relacionada às doses e ao bloqueador utilizado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARNATH, Shoba et al. Regulatory T cells and human myeloid dendritic cells promote tolerance via programmed death ligand-1. **PLOS Biology**, 8(2):1-13, 2010.
- AMARNATH, Shoba et al. The PDL1-PD1 axis converts human Th1 cells into regulatory T cells. **Science Translational Medicine**, 3(111):1-13, 2011.
- ANDRE, Fabrice et al. Molecular pathways: involvement of immune pathways in the therapeutic response and outcome in breast cancer. **Clinical Cancer Research**, 19(1):28-33, 2013.
- BOUSSIOTIS, Vassiliki A. Cell-specific PD-L1 expression in DLBCL. **Blood journal**, 126(19):2171-2172, 2015.
- BRAHMER, Julie R. et al. Phase I study single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. **Journal of Clinical Oncology**, 28(19):3167-3175, 2010.
- BRAHMER, Julie R. et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. **New English Journal of Medicine**, 366(26):2455-2465, 2012.
- CHEN, Lieping; XUE, Han. **Anti-PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: past, present and future**. 2015. Disponível em: <<http://www.jci.org/articles/view/80011>>. Acesso em: 06 jan. 2016.
- DOLAN, Dawn E.; GUPTA, Shilpa. PD-1 pathway inhibitors: changing the landscape of cancer immunotherapy. **Cancer Control**, 21(3):231-237, 2014.
- FLEMMING, Alexandra. PD1 makes waves in anticancer immunotherapy. **Nature**, 12, 2012.
- HE, Jiabei; HU, Ying; HU, Mingming; LI, Baolan. Development of PD-1/PD-L1 pathway in tumor immune microenvironment and treatment for

- non-small cell lung cancer. **Nature Scientific Reports**, 5(13110):1-9, 2015.
- Ji, Mei et al. PD-1/PD-L1 pathway in non-small-cell lung cancer and its relation with EGFR mutation. **Journal of Translational medicine**, 13(5):1-6, 2015.
- KIM, Joseph W.; EDER, Joseph Paul. **Prospects for targeting PD-1 and PD-L1 in various tumor types**. 2014. Disponível em: <<http://www.cancernetwork.com/oncology-journal/prospects-targeting-pd-1-and-pd-l1-various-tumor-types>>. Acesso em 06 nov. 2016.
- KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; FAUSTO, Nelson. **Patologia - Bases patológicas das doenças**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.
- LUKE, Jason J.; OTT, Patrick A. PD-1 pathway inhibitors: the next generation of immunotherapy for advanced melanoma. **Oncotarget**, 6(6):3479-3492, 2015.
- MAHONEY, Kathleen M.; ATKINS, Michael B. **Prognostic and predictive markers for the new immunotherapies**. 2014. Disponível em: <http://www.cancernetwork.com/oncology-journal/featured-resources/prognostic-and-predictive-markers-new-immunotherapies?cid=related_teaser>. Acesso em: 06 jan. 2016.
- MAHONEY, Kathleen M.; FREEMAN, Gordon J.; MCDERMOTT, David F. The next immune-checkpoint inhibitors: PD-1/PD-L1 blockade in melanoma. **Clinical Therapeutics**, 37(4):764-782, 2015.
- MITTENDORF, Elizabeth A. et al. PD-L1 expression in triple-negative breast cancer. **Cancer Immunology Research**, 2(4):361-369, 2014.
- MORENO, Homet B; RIBAS, A. Anti-programmed cell death protein-1/ligand-1 therapy in different cancers. **British Journal of Cancer**, 112:1421-1427, 2015.
- MULLARD, Asher. New checkpoint inhibitors ride the immunotherapy tsunami. **Nature**, 12:489-492, 2013.
- PARDOLL, Drew M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. **Nature Reviews**, 12:252-264, 2012.
- PATSOUKIS, Nikolaos; SARI, Duygu; BOUSSIOTIS, Vassiliki. PD-1 inhibits T cell proliferation by upregulating p27 and p15 and surpassing Cdc25A. **Cell cycle**, 11(23):4305-4309, 2012.
- SCHMERLING, Rafael Aron. Toxicity of checkpoint inhibitors. **Chinese Clinical Oncology**, 3(3):1-8, 2014.

SHEN, Jacson K., et al. Programmed cell death ligand 1 expression in osteosarcoma. **American Association for Cancer Research**, 2014.

SPONAAS, Anne-Marit, *et al.* PDL1 expression on Plasma and dendritic cells in Myeloma bone marrow suggests benefit of targeted anti PD1-PDL1 therapy. **PLOS ONE**, 10(10):1-8, 2015.

SUNSHINE, Joel; TAUBE, Janis M. PD-1/PD-L1 inhibitors. *Current opinion in Pharmacology*, 23:32-38, 2015.

TAUBE, Janis M. et al. Colocalization of inflammatory response with B7-H1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape. **Science Translational Medicine**, 4(127):1-22, 2012.

TAUBE, Janis M. et al. Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-1 therapy. **Clinical Cancer Research**, 20(19):5064-5074, 2014.

TOPALIAN, Suzanne L. et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. **The New England Journal of Medicine**, 366(26):2443-2454, 2012.

ZITVOGEL, Laurence; KOREMER, Guido. Targeting PD-1/PD-L1 interactions for cancer immunotherapy. **OncImmunity**, 1(8):1223-1225, 2012.