

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



Imunoterapia do Melanoma Metastático

Inês Isabel Batista Fialho

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2017

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Imunoterapia do Melanoma Metastático

Inês Isabel Batista Fialho

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

Orientador: Doutor João Rocha, Professor Auxiliar

2017

Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.

Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.

Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive.

Ricardo Reis, in "*Odes*"

Resumo

O melanoma, quando diagnosticado em estadió metastático, está associado a um mau prognóstico. Durante muitos anos, as opções terapêuticas disponíveis para o tratamento dos doentes com melanoma metastático não demonstraram ter um impacto significativo no aumento da taxa de sobrevivência, limitando-se, na sua maioria, à terapêutica com quimioterapia e num subconjunto de doentes, com interleucina-2.

Sabe-se que o sistema imunitário tem um papel crucial na eliminação das células cancerígenas. No entanto, os linfócitos T quando ativados, expressam proteínas à sua superfície que competem pela ligação a moléculas que se encontram nas células apresentadoras de antígenos, conduzindo à inibição da resposta imunitária. A descoberta destas proteínas e do mecanismo através do qual inibem a resposta imunitária, possibilitou a criação de novos fármacos pertencentes à classe da imunoterapia, designados anticorpos monoclonais. Em 2011, foi aprovado pela Agência Europeia do Medicamento e pela Food and Drug Administration, o primeiro fármaco que veio revolucionar a terapêutica do melanoma metastático, o ipilimumab, um anticorpo monoclonal que se liga ao antígeno 4 dos linfócitos T citotóxicos, inibindo-o. Seguidamente, em 2015, foram aprovados mais dois fármacos com um novo mecanismo de ação, o pembrolizumab e o nivolumab, tendo como alvo a proteína de morte celular programada 1. Estas duas novas classes de anticorpos monoclonais vieram aumentar a taxa de sobrevivência global dos doentes com melanoma metastático bem como a taxa de sobrevivência livre de progressão da doença e obtiveram melhores taxas de resposta objetiva, quando comparados com a quimioterapia. Estão associados também a uma menor toxicidade, no entanto, podem ocorrer efeitos adversos de grau 3 ou 4 relacionados, principalmente, com o sistema imunitário.

Desta forma, o estudo da eficácia e da toxicidade associada aos anticorpos monoclonais e a comparação com outras opções terapêuticas torna-se imperativo, permitindo que os doentes com melanoma metastático recebam o melhor tratamento possível.

Palavras-chave: “imunoterapia” “melanoma metastático” “ipilimumab” “pembrolizumab” “nivolumab”.

Abstract

Melanoma, when diagnosed in the metastatic stage, is associated with a poor prognosis. For many years, the therapeutic options available for the treatment of patients with metastatic melanoma have not been shown to have a significant impact on the increase in survival rate, being mostly limited to chemotherapy and a subset of patients with interleukin- 2.

It is known that the immune system plays a crucial role in the elimination of cancer cells. However, activated T lymphocytes express proteins on their surface that compete for binding to molecules found in antigen-presenting cells, leading to inhibition of the immune response. The discovery of these proteins and the mechanism by which they inhibit the immune response, allowed the creation of new drugs belonging to the class of immunotherapy, called monoclonal antibodies. In 2011, it was approved by the European Medicines Agency and the Food and Drug Administration, the first drug to revolutionize the treatment of metastatic melanoma, ipilimumab, a monoclonal antibody that binds to the cytotoxic T lymphocyte antigen 4 by inhibiting it. Subsequently, in 2015, two more drugs with a new mechanism of action, pembrolizumab and nivolumab, targeting the programmed cell death protein 1 were approved. These two new classes of monoclonal antibodies have increased the overall survival rate of patients with metastatic melanoma as well as disease progression-free survival rate and obtained better rates of objective response when compared to chemotherapy. They are also associated with a lower toxicity, however, grade 3 or 4 adverse effects related mainly to the immune system may occur.

Thus, the study of efficacy and toxicity associated with monoclonal antibodies and comparison with other therapeutic options becomes imperative, allowing patients with metastatic melanoma to receive the best treatment possible.

Keywords: “immunotherapy” “melanoma metastatic” “ipilimumab” “pembrolizumab” “nivolumab”.

Agradecimentos

A realização desta monografia é o reflexo de um grande esforço e dedicação e estou profundamente grata a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a sua realização. Não poderia deixar de expressar o meu profundo agradecimento:

Ao Doutor João Rocha, orientador desta monografia, não tenho palavras para agradecer o facto de me ter acompanhado ao longo dos últimos seis meses. Obrigada pela sua disponibilidade, pelo seu profissionalismo e por todo o conhecimento que me transmitiu.

À grande instituição de ensino que é a Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, fico inteiramente grata pela formação académica que recebi e que irei colocar em prática na minha vida profissional.

Aos meus pais, Cipriana Fialho e Domingos Fialho, e à minha querida irmã, Ana Rita Fialho, quero agradecer todo o amor e carinho. O vosso apoio constante e toda a confiança que sempre depositaram em mim, foram contributos essenciais que me fizeram ultrapassar cada obstáculo e me desafiaram a sair da minha zona de conforto para conseguir alcançar tudo aquilo que sempre desejei. Adoro-vos!

Às minhas avós, Antónia Bio e Maria Caeiro, agradeço todos os ensinamentos de vida que sempre me deram. A vossa célebre frase “O saber não ocupa lugar.” acompanhou-me ao longo de todo o meu percurso académico e fez-me sempre ir mais além. São muito importantes na minha vida!

À minhas tias, Catarina Fialho e Romana Batista, obrigada por estarem sempre disponíveis para mim e por serem dois dos meus grandes pilares, o vosso carinho não tem preço!

Aos primos, Gonçalo Fialho, Gonçalo Cardoso, Henrique Cardoso, Célia Batista e Lúcia Batista, obrigada por me demonstrarem diariamente o valor da família. Adoro-vos!

À minha colega de casa, Margarida Pataca, obrigada pelo apoio constante e por toda a motivação. Serás sempre muito importante para mim!

À amiga, Maria José Correia, obrigada por apesar de estares longe te fazeres sentir sempre presente, o teu apoio incondicional é fundamental para mim! Adoro-te com todo o meu coração.

À minha madrinha, Rute Coelho, quero agradecer todo o amor e carinho que me transmitiu e pelo apoio constante!

À minha querida amiga, Flávia Antunes, a amiga sempre presente. Para ti, um obrigado nunca chegará e irão sempre faltar as palavras certas. Juntas somos mais fortes!

Aos amigos, Beatriz Almeida, Beatriz Fernandes, Sara Andrade, Francisco Olivença e Marco Nobre, obrigada por me terem apoiado ao longo de todo o meu percurso académico e por fazerem destes cinco anos os melhores anos da minha vida!

Acrónimos

EMA	Agência Europeia do Medicamento
FDA	Food and Drug Administration
CTLA-4	Antígeno 4 do linfócito T citotóxico
PD-1	Proteína de morte programada 1
IL-2	Interleucina 2
SG	Sobrevivência Global
SLP	Sobrevivência Livre de Progressão
RO	Resposta Objetiva
OMS	Organização Mundial de Saúde
ADN	Ácido desoxirribonucleico
SEER	Surveillance, Epidemiology, and End Results Program
APCC	Associação Portuguesa de Cancro Cutâneo
ESMO	European Society for Medical Oncology
LDH	Lactato Desidrogenase
AJCC	American Joint Committee on Cancer
ACS	American Cancer Society
BRAF	v-Raf murine sarcoma viral oncogene
NK	Natural Killer
CD	Células Dendríticas
TNF	Factor de Necrose Tumoral
IFN	Interferão
PEG-IFN	Interferão peguilhado
NCI	National Cancer Institute
ACT	Terapia Celular Adotiva
TIL	Linfócitos Infiltrantes do Tumor
T-VEC	Talimogene laherparepvec
VHS-1	Vírus Herpes Simplex do tipo I
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
TCR	Recetor das células T
MHC	Complexo major de histocompatibilidade
APC	Células Apresentadoras de Antígenos
MIA	Melanoma-inhibitory-activity
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NICE	National Institute for Health and Care Excellence
EA	Efeito Adverso
EPAR	Relatório Público Europeu de Avaliação

Índice:

1.	Introdução	12
1.1	O Melanoma Metastático	12
1.2	Imunoterapia: do passado ao presente	16
1.2.1	Interleucina-2 (IL-2) em doses elevadas	18
1.2.2	Terapia celular adotiva (ACT)	19
1.2.3	Imunoterapia intralesional	20
1.3	Anticorpos monoclonais: anti-CTLA-4 e anti-PD-1	22
1.3.1	Antígeno 4 dos linfócitos T citotóxicos	22
1.3.1.1	Ipilimumab	24
1.3.2	Proteína de morte celular programada 1	26
1.3.2.1	Pembrolizumab	28
1.3.2.2	Nivolumab	31
1.3.2	Biomarcadores	33
2.	Objetivos	34
3.	Materiais e Métodos	35
3.1	Procedimento	35
3.1	Crítérios para inclusão e exclusão das fontes	36
4.	Resultados e Discussão dos Resultados	37
4.1	Opções terapêuticas sistêmicas para o melanoma em estadio IV	37
4.1.1	Quimioterapia	38
4.1.2	Imunoterapia	38
4.1.2.1	Ipilimumab	38
4.1.2.2	Pembrolizumab	38
4.1.2.3	Nivolumab	39
4.1.2.4	Nivolumab em associação com o ipilimumab	39
4.1.3	<i>Targeted therapy</i> em melanomas com mutação no gene BRAF V600 ...	39
4.2	Ensaio clínico: KEYNOTE-002 E KEYNOTE-006	40
4.2.1	Ensaio clínico KEYNOTE-002	40
4.2.2	Ensaio clínico KEYNOTE-006	42
4.3	Ensaio clínico: CheckMate-066 e CheckMate-037	43
4.3.1	Ensaio clínico CheckMate-066	43
4.3.2	Ensaio clínico CheckMate-037	44
4.4	Ensaio clínico: CheckMate-067, CheckMate-069 e CheckMate-064	46
4.4.1	Ensaio clínico CheckMate-067	47
4.4.2	Ensaio clínico CheckMate-069	48
4.4.3	Ensaio clínico CheckMate-064	50
4.5	Meta-análise: anticorpos monoclonais vs quimioterapia e gp100	51
6.	Conclusão	53
7.	Bibliografia	56

Índice de Figuras:

1.1	Melanoma Nodular	13
1.2	Tipos de cancro cutâneo: baso-celular, espino-celular e melanoma.....	13
1.3	Estadiamento do Melanoma	15
1.4	T-VEC em associação com o pembrolizumab.....	22
1.5	CTLA-4: Mecanismo de ação e respetivo bloqueio	23
1.6	Mecanismos de ação do CTLA-4 e do PD-1	28
1.7	Pembrolizumab: mecanismo de ação (A) e respetiva estrutura (B)	29
1.8	PD-1: Mecanismo de ação e respetivo bloqueio.....	31
4.1	Opções terapêuticas sistémicas para o melanoma em estadio IV (NICE).....	37
4.2	Resultados do ensaio clínico de fase II KEYNOTE-002.....	40
4.3	Resultados do ensaio clínico de fase II KEYNOTE-006.....	42
4.4	Resultados do ensaio clínico de fase III CheckMate-066.....	43
4.5	Resultados do ensaio clínico de fase III CheckMate-037.....	44
4.6	Resultados do ensaio clínico de fase III CheckMate-067.....	47
4.7	Resultados do ensaio clínico de fase II CheckMate-069.....	48
4.8	Resultados do ensaio clínico de fase II CheckMate-064.....	50
4.9	Resultados da meta-análise: anticorpos monoclonais vs quimioterapia e gp100.....	51

1. Introdução

1.1 O Melanoma Metastático

O melanoma é a neoplasia com origem nas células que produzem melanina, o pigmento que confere a cor natural da pele, cabelo, olhos e de certas áreas do sistema nervoso, designadas melanócitos (1). Este tipo de tumor tem, mais frequentemente, origem na pele e é designado por melanoma cutâneo (2). No entanto, mais raramente, pode ocorrer nos olhos, mais propriamente na úvea, nas membranas mucosas, tais com a cavidade oral e nasal e os tratos geniturinário, gastrointestinal e anorretal e, também, nas meninges, as membranas que envolvem o sistema nervoso central (3) (4) (5).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), são diagnosticados, anualmente, cerca de 132 000 novos casos de melanoma cutâneo em todo o Mundo (5). Esta é uma das neoplasias mais associadas a alterações genéticas somáticas, existindo uma grande variabilidade no número de mutações por melanoma em cada doente. Apesar de ser uma doença frequentemente associada ao dano do ADN causado pela exposição solar crónica ou intermitente aos raios ultravioleta, existem outros fatores de risco predisponentes como, por exemplo, a existência de historial de cancro cutâneo na família, o fotótipo de pele e a presença de nevos displásicos (atípicos) (6) (7) (8). Estas alterações nos genes que regulam o crescimento e a proliferação dos melanócitos, resultam na sua transformação e no seu possível desenvolvimento em células malignas (1).

Existem diferentes subtipos de melanoma de acordo com as suas características histopatológicas. Recentemente, os subtipos têm sido associados também, a características epidemiológicas e a um padrão de mutações somáticas (9). O melanoma extensivo superficial é o subtipo mais comum (10). O melanoma nodular é o segundo mais comum, representando cerca de 14-30% dos casos e o mais agressivo de todos, sendo um melanoma de rápido crescimento vertical. Na figura 1.1 podemos encontrar um melanoma nodular numa senhora caucasiana de 72 anos de idade, de evolução rápida durante um período de 9 semanas, envolvendo todo o lado direito da face (11).



Figura 1.1 Melanoma Nodular (Saaq M et al., 2016)

O lentigo maligno melanoma está associado a queimaduras solares e o melanoma acral lentiginoso surge na região palmoplantar e subungueal (12) (13). Existem tipos muitos raros de melanoma, que constituem menos de 5% dos casos que incluem melanos amelanóticos, polipóides e displásicos (9).

Epidemiologicamente, o cancro cutâneo é a neoplasia maligna mais comum na população caucasiana (14). Em particular, a taxa de incidência do melanoma num indivíduo de raça caucasiana é muito superior à de um indivíduo de raça negra, 2,4% e 0,1%, respetivamente (14). Quando falamos de cancro cutâneo, temos presentes três tipos distintos: o carcinoma baso-celular, o carcinoma espino-celular e o melanoma, que se encontram representados na figura 1.2, da esquerda para a direita, respetivamente (15). Este último é o que apresenta uma menor taxa de incidência, no entanto, é o responsável pelo maior número de mortes (16).



1.2 Tipos de cancro cutâneo: baso-celular, espino-celular e melanoma (Gupta AK, et al., 2016)

A idade média de diagnóstico da doença é aos 60 anos e o seu aparecimento é, aproximadamente, 1,5 vezes mais frequente em homens do que em mulheres (14). Desta forma, podemos considerar o envelhecimento populacional como um dos fatores determinantes para o aumento do número de casos diagnosticados em todo o Mundo (14). Prevê-se que o número de mortes por melanoma continue a aumentar até 2030 devido ao crescimento e envelhecimento populacional, altura em que deverá começar a diminuir (17).

Os países com maior taxa de incidência de melanoma são a Nova Zelândia e a Austrália, o que pode facilmente ser explicado pela sua proximidade ao Equador, zona onde a camada de ozono é menor e também, pelo facto da sua população ser maioritariamente caucasiana (14). Seguidamente, com um elevado número de casos diagnosticados encontram-se os Estados Unidos onde, segundo o *Surveillance, Epidemiology, and End Results Program* (SEER), é estimado que no ano de 2017, surjam cerca de 87 110 novos casos de melanoma e que o mesmo seja responsável por 9 730 mortes (18). Alguns países da Europa, especialmente, a Suécia e outros países nórdicos, a Suíça e o Reino Unido também apresentam elevadas taxas de números de casos de melanoma diagnosticados (8). Em Portugal, a cada ano, segundo a Associação Portuguesa de Cancro Cutâneo (APCC) são contabilizados 1 000 novos casos de melanoma e um total de 12 000 casos de cancro de pele (19).

Nos estadios iniciais da doença (I-III), o melanoma pode ser facilmente curável através de ressecção cirúrgica e, em alguns pacientes, pode ser utilizada terapêutica adjuvante com o interferão alfa-2b (20). No entanto, em cerca de 4% dos casos, os primeiros sinais clínicos da doença são diagnosticados num estadio mais avançado, em que já ocorreu disseminação metastática interna à distância do tumor para outros órgãos, tais como, a pele, os pulmões, o fígado, o cérebro e a espinal medula (1) (21).

O diagnóstico do melanoma pode ser feito através de uma biópsia. Podemos estar na presença de um melanoma sempre que se verifiquem alterações nos nevos, comumente designados por sinais. Estas alterações podem ser observadas sempre que estes se encontrem assimétricos, com bordos irregulares, com coloração não uniforme e com uma dinâmica diferente (evolução na coloração, elevação ou aumento do tamanho) (22). Segundo a *European Society for Medical Oncology* (ESMO), o D deve designar dinâmica

e não diâmetro, já que muitos melanomas primários possuem um diâmetro inferior a 5 mm (22).

A progressão do melanoma é dividida em cinco estádios, tal como se encontra representado na Figura 1.3. No estadio 0, o melanoma está localizado no nevo, restringido à epiderme e com interação mínima com a corrente sanguínea (1). O estadio I ou fase de crescimento radial, é caracterizado por uma invasão local das células tumorais e o estadio II, ou fase de crescimento vertical, por invasão da derme vascularizada (1). No estadio III, o melanoma origina metástases nos nódulos linfáticos e no estadio IV, metástases internas à distância podem ser encontradas. (1)

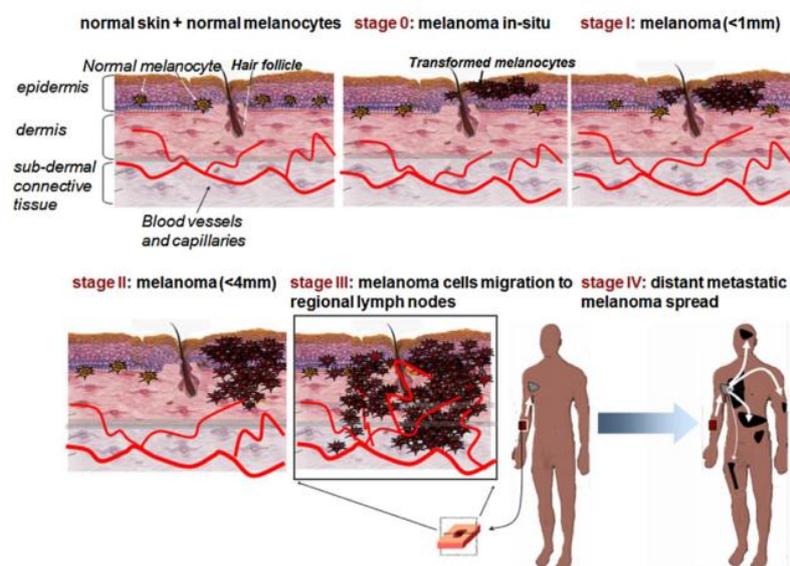


Figura 1.3 Estadiamento do Melanoma (Pitcovski J. 2017)

De acordo com a *American Joint Committee on Cancer* (AJCC), a classificação dos estádios de desenvolvimento do melanoma é feita com base no sistema TNM, em que T representa as características do tumor primário (espessura, estado de ulceração e número de mitoses), N representa o número e a massa tumoral das metástases existentes nos gânglios linfáticos adjacentes ao tumor primário e M o número de metástases internas à distância, sendo que a quantificação dos níveis da enzima lactato desidrogenase (LDH) presente no soro é um fator determinante para a correta interpretação deste último parâmetro e níveis elevados estão associados a um mau prognóstico (23). Por outro lado, entre os doentes com melanoma em estadio IV, aqueles que têm metástases cutâneas ou nos nódulos linfáticos (M1c) têm um melhor prognóstico do que aqueles que têm metástases nos pulmões (M1b) ou outras metástases viscerais (M1c) (23).

1.2 Imunoterapia: do passado ao presente

O conceito de imunoterapia já existe há cerca de 150 anos e foi colocado pela primeira vez em prática, quando, em 1968, W. Busch, um médico alemão, conseguiu alcançar uma regressão tumoral através da ativação do sistema imunitário pela infecção propositada de um doente oncológico com erisipela (24).

Segundo a *American Cancer Society* (ACS) “a imunoterapia é a terapêutica que utiliza certas partes do sistema imunológico, também designado sistema imune ou sistema imunitário, para combater doenças, entre elas, o cancro”. Esta utilização do sistema imunitário pode ser feita através de mecanismos que estimulam a sua ativação, o que culmina numa maior eficácia no combate às células cancerígenas ou através do fornecimento de componentes essenciais ao seu bom funcionamento (25).

Anteriormente a 2011, as opções terapêuticas disponíveis para o tratamento do melanoma avançado (metastático ou irressecável) eram limitadas, recorrendo-se, principalmente, à administração de dacarbazina, um agente citotóxico antineoplásico e a doses elevadas de interleucina-2, um fármaco pertencente à classe da imunoterapia (2). No entanto, nenhuma destas terapêuticas demonstrou ter impacto significativo no aumento da sobrevivência global dos doentes, mantendo-se inferior a um ano após o diagnóstico (2). A dacarbazina demonstrou obter uma taxa de resposta global em, aproximadamente, 20% dos doentes sem impacto significativo no aumento da taxa de sobrevivência dos mesmos (2). Por outro lado, a IL-2 em doses elevadas demonstrou alcançar uma taxa de resposta global inferior à quimioterapia, no entanto, as respostas obtidas são duradouras. A elevada toxicidade associada a este tratamento limita a sua utilização, não incluindo pacientes com comorbilidades graves associadas e a sua administração apenas é efetuada em centros clínicos especializados (2).

Os doentes com melanoma metastático têm uma resposta imune antitumoral comprometida, o que conduz a uma tolerância por parte do sistema imunitário ao tumor e à criação de um microambiente favorável ao desenvolvimento do mesmo. A imunoterapia, que supera com sucesso esta supressão do sistema imunitário mediada pelo tumor, tem tido um grande impacto no tratamento desta doença nos últimos anos. A descoberta de moléculas que medeiam a inibição da resposta imunitária e de todo o mecanismo envolvente, possibilitaram o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos

que demonstraram uma maior eficácia no tratamento do melanoma avançado do que a quimioterapia tradicional (2) (26).

A imunoterapia tem evoluído ao longo do tempo, inicialmente com o desenvolvimento de citocinas tais como o interferão-alfa (IFN- α) e o interferão-alfa peguado (PEG-IFN α), que demonstrou ter um maior tempo de semi-vida, ambos utilizados como terapêutica adjuvante em doentes com melanoma em estadio IIB-III após ressecção cirúrgica e que apresentam um risco de recorrência entre 40-90% e, com o desenvolvimento da interleucina-2 (IL-2), utilizada como tratamento no melanoma avançado. Os doentes com melanoma metastático também podem beneficiar da terapêutica que utiliza a transferência de células T adotivas e do vírus oncolítico talimogene laherparepvec (T-VEC) (24) (27) (28).

No entanto, foi a partir do ano 2011 com o desenvolvimento e aprovação pela Agência Europeia do Medicamento (EMA) e pela *Food and Drugs Administration* (FDA) de anticorpos monoclonais específicos do tumor que a utilização da imunoterapia demonstrou ganhar uma maior importância, vindo revolucionar a terapêutica do doente oncológico com melanoma metastático (2).

Em particular, o anticorpo monoclonal, ipilimumab (Yervoy®), antagonista do antígeno 4 dos linfócitos T citotóxicos (anti-CTLA-4) e os anticorpos monoclonais, pembrolizumab (Keytruda®) e nivolumab (Opdivo®), antagonistas do recetor da proteína de morte programada 1 (anti-PD1) demonstraram aumentar a sobrevivência e obter uma resposta duradoura, com a possibilidade de cura num aumento contínuo do número de doentes. A utilização da combinação ótima destes agentes bem como o desenvolvimento de novos agentes está a ser testada a um ritmo acelerado e visa a sobrevivência a longo-termo de um cada vez maior número de doentes (26).

Aliada à imunoterapia surgiu uma nova terapêutica que tem como alvo o bloqueio de mutações no gene BRAF, encontradas em alguns doentes com melanoma metastático. No entanto, cerca de 50% dos doentes não possuem mutações no gene BRAF e não podem, por isso, beneficiar da terapêutica para elas direcionada. Por outro lado, poucos doentes alcançaram respostas duradouras quando utilizada em monoterapia. A imunoterapia pode ser uma opção terapêutica em doentes com melanomas que tenham ou não presentes mutações e produz respostas com ação prolongada após descontinuação da terapêutica. No entanto, as respostas podem ser obtidas mais tardiamente após o início do tratamento.

É, portanto, imperativo estabelecer os principais objetivos a atingir com o tratamento para determinar qual a melhor opção terapêutica para cada paciente (resposta imediata ou ação prolongada no tempo) (29).

De acordo com as guidelines da European Society for Medical Oncology (ESMO), atualmente, para doentes com o gene BRAF wild type recomenda-se como terapêutica de primeira linha a utilização de anticorpos anti-PD-1, com base nos recentes ensaios clínicos randomizados. Foi observada uma maior eficácia do pembrolizumab e do nivolumab comparativamente ao ipilimumab. Em doentes com mutações no gene BRAF (também designado v-Raf murine sarcoma viral oncogene) pode optar-se por um fármaco inibidor deste oncogene, que quando associado a um inibidor das proteínas quinases MEK1/2 obtém uma taxa de resposta objetiva em 70% dos doentes, sendo esta resposta obtida rapidamente após o início do tratamento, com uma média de sobrevivência sem progressão da doença de 12 meses. A associação de nivolumab com o ipilimumab demonstrou obter uma eficácia superior à utilização dos fármacos em monoterapia. O tratamento intralesional das metástases também deve ser considerado em associação com os anticorpos monoclonais. A quimioterapia deve ser utilizada como terapêutica de segunda linha ou tratamento de suporte (22).

1.2.1 Interleucina-2 (IL-2) em doses elevadas

Após a sua aprovação pela FDA em 1994, a interleucina-2 (IL-2) pertencente ao grupo das citocinas do tipo I, uma citocina que estimula o sistema imunitário, foi clinicamente utilizada em doentes com melanoma avançado. A IL-2 é produzida pelas células T CD4+ após estimulação antigénica e, em menor quantidade pelas células T CD8+, células Natural Killer (NK) e pelas células dendríticas ativadas (CD). Esta citocina não tem um efeito direto nas células tumorais. A sua resposta antitumoral é mediada pela ativação das células efectoras do sistema imune, os linfócitos T citotóxicos. Estimula, também, a proliferação das células T reguladoras (Treg). A administração de IL-2 resulta na libertação abundante de citocinas pró-inflamatórias (incluindo o TNF- α , a IL-1 β , IL-6 e IFN- γ), estando por isso, muitas vezes a sua administração associada à ocorrência de síndrome gripal. Atualmente, a IL-2 é administrada por bólus intravenoso numa dose entre 600 000 a 720 000 unidades/kg a cada 8 horas nos dias 1 a 5 (ciclo 1) e nos dias 15 a 19 (ciclo 2). São administradas, por ciclo e por curso (dois ciclos), um máximo de 14 e

28 doses, respetivamente. Esta terapêutica demonstrou ter uma ação prolongada num subconjunto de doentes. Segundo dados fornecidos pelo “*Extramural IL-2 Working Group*” pertencente ao *National Cancer Institute* (NCI) foram obtidas respostas objetivas em 16% dos doentes avaliados que receberam terapêutica com IL-2 e cerca de metade das respostas observadas foram prolongadas ou permanentes. Contudo, a utilização clínica de IL-2 em doses elevadas está associada a toxicidade em vários órgãos. Os efeitos adversos incluem: hipertensão, edema pulmonar, febre e infeções bacterianas. Estes efeitos podem estar correlacionados com o aumento observado dos níveis de óxido nítrico e de angiopoietina-2. Apesar da toxicidade associada ter limitado a sua utilização, as respostas obtidas em doentes com melanoma metastático com a administração de IL-2 em doses elevadas são a prova de que a imunoterapia tem potencial curativo e prolongado. Estes factos despoletaram o desenvolvimento de novas imunoterapias, melhor toleradas e mais efetivas (26)(29) (30) (31).

1.2.2 Terapia celular adotiva (ACT)

O potencial da terapia celular adotiva (ACT) em doentes com cancro já é conhecido há cerca de 3 décadas. Nos últimos anos, os recentes avanços tecnológicos tornaram esta terapêutica viável. A taxa de resposta em doentes com melanoma metastático refratário a outras terapêuticas disponíveis é de cerca de 30%. A terapia celular adotiva (ACT) utiliza linfócitos infiltrantes do tumor (TIL) que são adquiridos do próprio tumor do paciente. Posteriormente, são identificados e selecionados os mais reativos, que sofrem expansão *ex vivo*. Em seguida, são infundidos de volta para o paciente. Os linfócitos infiltrantes do tumor são um grupo heterógeno que compreendem não só as células T efetoras mas também as células T reguladoras (Treg), as células Natural Killer (NK), os macrófagos, as células dendríticas (CDs) e outros tipos de células pertencentes ao sistema imunitário. A presença de TIL em melanomas primários em fase de crescimento vertical invasivo está associada a um aumento da sobrevivência e a uma diminuição do risco de aparecimento de metástases. Adicionalmente, a presença de TIL em lesões metastáticas é responsável por um benefício clínico semelhante. Os doentes com um maior número de linfócitos infiltrantes do tumor, com metástases nos nódulos linfáticos estão associados a uma melhor prognóstico e a uma taxa de sobrevivência superior comparativamente com os doentes que possuem respostas menos reativas por parte dos TIL. A transferência

adotiva de TIL associado à administração de doses elevadas de interleucina-2 (IL-2) demonstrou alcançar regressão tumoral em doentes com melanoma metastático (32) (33).

1.2.3 Imunoterapia intralesional

O talimogene laherparepvec (T-VEC), um vírus oncolítico pertencente à classe do vírus herpes simplex do tipo I (VHS-1) é uma das mais recentes terapêuticas pertencentes à imunoterapia. O T-VEC replica-se, seletivamente, dentro do tumor e produz fatores que estimulam as colônias de macrófagos e granulócitos (GM-CSF) promovendo a lise das células tumorais e, aumentando, desta forma, a resposta sistêmica imunitária antitumoral. Este vírus é modificado através da deleção de dois genes não essenciais, o que diminui a sua patogenicidade e aumenta a seletividade de replicação intratumoral. A inserção e expressão do gene que codifica para o *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF) resulta na produção local deste fator, conduzindo ao recrutamento e ativação das células apresentadoras de antígenos com subsequente indução da resposta antitumoral específica pelas células T (34).

O T-VEC, foi o primeiro vírus oncolítico a demonstrar eficácia num ensaio clínico de fase III aberto, randomizado e controlado em doentes com melanoma irresssecável em estadio III ou IV. Foram selecionados 436 e distribuídos aleatoriamente por dois grupos, um dos grupos recebeu tratamento com o T-VEC e outro com o fator GM-CSF. Observou-se que um maior número de doentes no grupo do T-VEC alcançou uma resposta prolongada, com uma taxa de 16,3% enquanto que no grupo do fator GM-CSF, esta taxa foi de apenas 2,1%. A taxa global de resposta também foi superior no grupo do T-VEC (26,4%) comparativamente ao grupo em tratamento com GM-CSF (5,7%). A média de sobrevivência global no grupo do T-VEC foi de 23.3 meses e no grupo do GM-CSF foi de 18.9 meses. O único efeito adverso de grau 3 ou 4 que ocorreu com maior frequência (em 2,1% dos doentes) no grupo de tratamento com o talimogene laherparepvec foi o aparecimento de celulite (34).

Em suma, o vírus oncolítico talimogene laherparepvec foi aprovado para o tratamento do melanoma cutâneo irresssecável, melanoma subcutâneo e para metástases nos gânglios linfáticos com melanoma recorrente após cirurgia inicial. Deve ser administrado durante pelo menos seis meses e, é preciso ter em conta que pode ocorrer progressão da doença até serem observadas respostas ao tratamento. Apesar do T-VEC não ter impacto no

aumento da sobrevivência global, o efeito prolongado no tratamento das lesões metastáticas é notório. No entanto, o elevado custo desta terapêutica associado à ausência de benefício clínico na taxa de sobrevivência são fatores que limitam a sua utilização generalizada (35).

De um modo geral, a terapêutica intralesional tem demonstrado ser segura e bem tolerada, com atividade antitumoral local observada. Esta é uma terapêutica promissora e pode ser utilizada em combinação com outros agentes responsáveis pela ativação do sistema imunitário, tais como as citocinas e os anticorpos monoclonais, dado que possuem mecanismos de ação diferentes e um perfil de toxicidade não sobreponível. A associação do T-VEC e dos anticorpos anti-CTLA-4 e anti-PD-1 para o tratamento do melanoma metastático encontra-se em estudo. Em ensaios clínicos iniciais, a combinação do T-VEC com o ipilimumab ou com o pembrolizumab foi estudada, tendo demonstrado resultados promissores (35).

Num ensaio clínico de fase 1b, que envolveu 21 doentes com melanoma metastático, foi testado um esquema terapêutico com a administração do vírus oncolítico T-VEC seguido da administração do anticorpo monoclonal anti-PD-1, pembrolizumab, tal como se observa na Figura 1.4. Obteve-se uma resposta global ao tratamento de 62% e uma resposta completa em 33% dos doentes. Após a administração do T-VEC observou-se um aumento do número de linfócitos T-CD8+, uma elevada expressão do ligando PD-L1 bem como do IFN- γ , nos doentes que responderam à terapêutica. Estes resultados sugerem que o vírus oncolítico talimogene laherparepvec potencia a atividade dos anticorpos anti-PD-1, através da alteração do microambiente tumoral (36).

Não foi observado um aumento da toxicidade com a associação terapêutica comparativamente à demonstrada pelos respetivos fármacos em monoterapia. Os efeitos adversos que ocorreram mais frequentemente foram fadiga em 62% dos doentes, calafrios em 48% e febre em 43%. Foram observados efeitos adversos graves em três doentes, associados à administração de pembrolizumab, dois deles de grau 3 (hepatite autoimune e meningite) e um de grau 4 (pneumonia). Podemos, desta forma, concluir que, para além desta associação ter uma eficácia superior à observada pelo pembrolizumab em monoterapia, dado que em doentes naïve com melanoma metastático está associado a taxas objetivas de resposta entre os 35-40%, apresenta também um perfil de segurança similar (36).

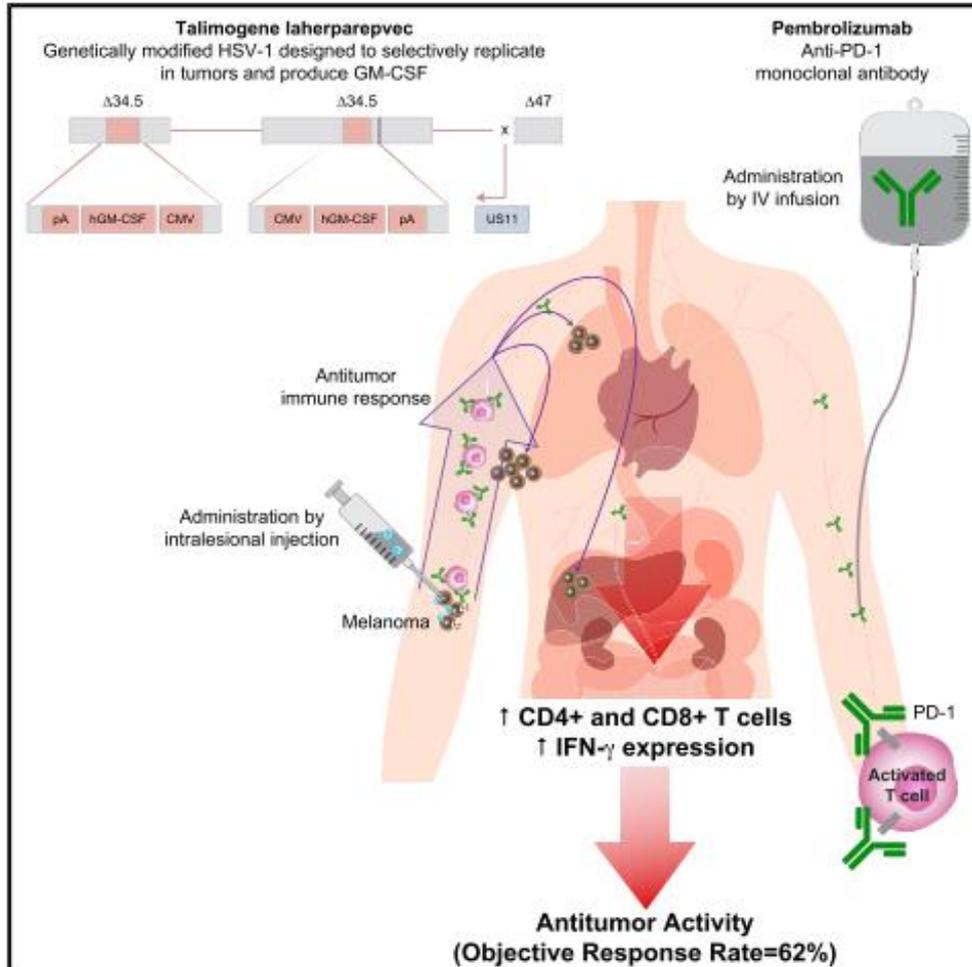


Figura 1.4 T-VEC em associação com o pembrolizumab (Ribas A. et al, 2017)

1.3 Anticorpos monoclonais: anti-CTLA-4 e anti-PD-1

1.3.1 Antígeno 4 dos linfócitos T citotóxicos

O antígeno 4 dos linfócitos T citotóxicos pertence à superfamília das imunoglobulinas CD28:B7 e é um regulador negativo da resposta imunitária. É normalmente expresso em baixos níveis na superfície das células T efectoras naïve e das células T reguladoras (Tregs). Após o estímulo das células T naïve, o CTLA-4 desloca-se para a membrana plasmática destas, competindo com a molécula CD28 pela ligação às moléculas B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86) que se encontram expressas nas células apresentadoras de antígenos e para as quais possui elevada afinidade (26) (37) (38).

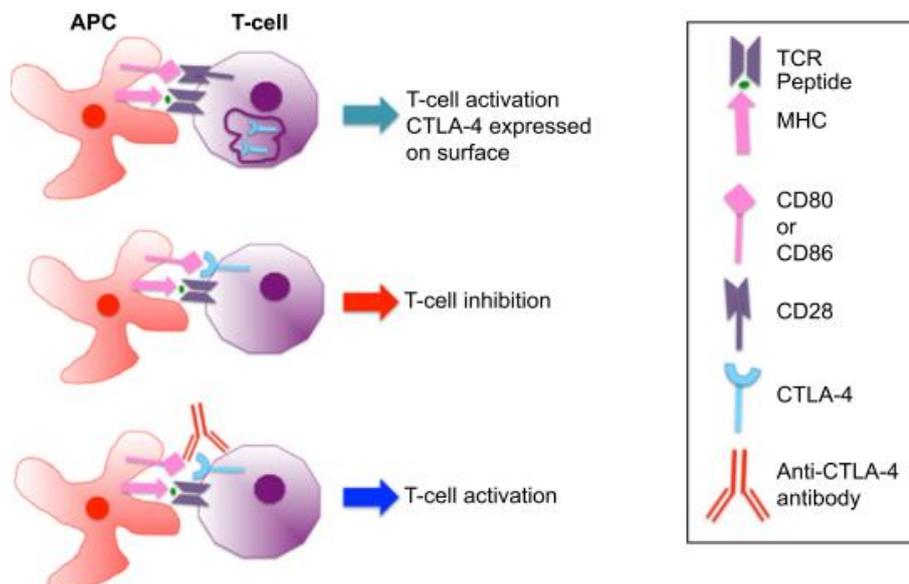


Figura 1.5 CTLA-4: Mecanismo de ação e respetivo bloqueio (Comin-Anduix B et al., 2016)

A ligação do CTLA-4 ao B7 bloqueia a sinalização dos recetores das células T e inibe a secreção de interleucina 2 (IL-2), impedindo a ativação e proliferação destas células. Desta forma, as células T tornam-se anérgicas, ou seja, não responsivas a antígenos, o que conduz a uma tolerância imunitária às células cancerígenas. Assim sendo, podemos considerar o CTLA-4 como uma de duas proteínas homólogas expressas à superfície das células T que se contrabalançam e permitem a ativação e inibição destas células. Este mecanismo homeostático limita a resposta mediada por células, prevenindo o dano inespecífico de tecidos. O bloqueio do CTLA-4, descrito na figura 1.5, demonstrou prolongar a ativação das células T CD4⁺ e CD8⁺ efetoras e amplificar a resposta celular imunitária por elas mediada (26) (37) (38).

Dois anticorpos monoclonais pertencentes a esta classe foram testados em ensaios clínicos de fase III, o ipilimumab e o tremelimumab. Estes, são anticorpos monoclonais totalmente humanos, no entanto, diferem na região Fc, sendo o tremelimumab um anticorpo monoclonal IgG2 e o ipilimumab um anticorpo monoclonal IgG1. O tremelimumab foi avaliado num ensaio clínico de fase III na dose de 15 mg/kg e foi comparado com a quimioterapia convencional (dacarbazina e temozolamida) em doentes com melanoma metastático. Apesar do tremelimumab ter demonstrado alcançar uma

resposta de ação prolongada, não foram observados outros benefícios clínicos, comparativamente à quimioterapia (24) (39).

Existem dois sinais essenciais para a ativação ótima das células T: o sinal 1 e o sinal 2. A interação dos recetores das células T (TCR) com o complexo péptido/MHC na superfície das células tumorais providencia o sinal 1. Determina a especificidade antigénica da resposta. A interação entre as moléculas co-estimulatórias nas células apresentadoras de antigénios (APC) e dos ligandos das células T, como o B7-CD28, providencia o segundo sinal requerido para a ativação das células T. A presença do sinal 1 sozinho torna as células T inativas. A ausência do sinal 2 co-estimulatório faz com que as células entrem num estado de não responsividade, designado anergia, que conduz, eventualmente, a tolerância. A presença do sinal 1 e 2 é requerida em simultâneo para as células T naïve se tornarem ativas e se transformarem em células T efectoras (31).

1.3.1.1 Ipilimumab

O ipilimumab, um anticorpo monoclonal (IgG1 κ) totalmente humano, liga-se ao antigénio 4 do linfócito T citotóxico (CTLA-4), um ponto de controlo imunológico, inibindo-o. O CTLA-4 é regulador negativo da atividade das células T bem como da sua proliferação. Em resposta à estimulação antigénica das células T, o CTLA-4 compete pela ligação às moléculas B7-1 e B7-2 (CD80 e CD86) nas células apresentadoras de antigénios, impedindo a sua ligação à molécula CD28 nas células T (38) (40).

Este anticorpo monoclonal foi aprovado em março e julho de 2011, pela FDA e pela EMA, respetivamente, para o tratamento do melanoma metastático (29) (41).

Ensaio clínicos de fase 1 e de fase 2 demonstraram atividade antitumoral com respostas de ação prolongada, mesmo em doentes com características desfavoráveis (níveis de LDH elevados). É importante referir que a clearance do ipilimumab é superior quando os níveis de LDH estão aumentados. O bloqueio do CTLA-4, anula a regulação negativa da resposta imunitária e conduz a uma contínua ativação dos linfócitos, conduzindo a uma maior eficácia na eliminação das células tumorais. Esta contínua estimulação do sistema imunitário é inespecífica e pode conduzir a toxicidade por ele mediada. Podem então surgir efeitos adversos relacionados com o sistema imune (9) (38) (42).

A segurança e eficácia do ipilimumab foi avaliada num ensaio clínico de fase III, multicentro e randomizado, em doentes com melanoma irresssecável em estadio III ou IV

refratários a terapêuticas anteriores. Os doentes foram aleatoriamente distribuídos por três grupos com diferentes esquemas terapêuticos na proporção 3:1:1. O primeiro grupo recebeu tratamento com uma dose de 3 mg/kg de ipilimumab associado a gp 100, uma vacina derivada da proteína melanossomal, responsável por formar estruturas amilóides. Esta proteína está presente nos melanócitos normais, nas células pigmentadas da retina bem como na maioria dos melanomas. Tem um papel na melanogénese precoce, na biogénese dos melanossomas e na polimerização da melanina. Os anticorpos monoclonais anti-gp100 são utilizados para fins de diagnóstico. As células dendríticas com péptidos derivados da proteína gp100 são utilizadas na terapêutica do melanoma em combinação com a quimioterapia (1) (42). Os outros dois grupos receberam ou ipilimumab ou gp 100 em monoterapia numa dose de 3 mg/kg peso corporal a cada três semanas para um total de quatro administrações. Os resultados obtidos demonstraram uma média de sobrevivência de 10 meses em ambos os grupos em tratamento com o ipilimumab e de 6,4 meses no grupo em tratamento com gp100 em monoterapia. Ocorreram efeitos adversos graves (grau 3 ou 4) em 10%-15% dos doentes em tratamento com ipilimumab, incluindo 14 mortes, 7 das quais provocadas por efeitos adversos autoimunes. A sobrevivência global nos doentes que receberam tratamento com o ipilimumab associado a gp100, com o ipilimumab em monoterapia e com a gp100, um ano após o início do tratamento foi de 43.6%, 45.6% e 25.3% e dois anos após o início do tratamento de 21.6%, 26.5% e 13.7%, respetivamente (42).

Recentemente, a 24 de julho de 2017, assistimos a mais um marco importante na história da imunoterapia com a aprovação pela FDA da indicação do ipilimumab no tratamento do melanoma metastático ou irressecável em doentes com idade igual ou superior a 12 anos (43). O melanoma pediátrico é uma neoplasia rara e agressiva, de difícil tratamento e com poucas opções terapêuticas disponíveis. Foi avaliado num ensaio clínico de fase I, multicentro, incluindo 33 pacientes com idades compreendidas entre os 28 meses e os 21 anos. Doze dos doentes encontravam-se com melanoma em estadio IIIc irressecável ou em estadio IV do melanoma e os restantes com outros tumores sólidos recorrentes ou progressivos. Este ensaio clínico teve como objetivo avaliar a segurança de doses crescentes de ipilimumab. Em geral, nas doses de 1 mg/kg e de 3 mg/kg o ipilimumab foi bem tolerado com um perfil de toxicidade similar ao observado em ensaios clínicos realizados em adultos. Observou-se um aumento da toxicidade com as doses de 5 mg/kg e de 10 mg/kg (44). Foi realizado um segundo ensaio clínico em 12 doentes pediátricos

com melanoma em estadio III ou IV, com ou sem tratamento prévio. Estes doentes tinham idade igual ou superior a 12 anos. Os doentes receberam tratamento com 3 mg/kg (n=4) ou 10 mg/kg (n=8) de ipilimumab por via intravenosa durante um período de 90 minutos a cada três semanas, para um total de quatro administrações. Nos dois ensaios clínicos participaram 17 doentes com melanoma com idade igual ou superior a 12 anos, dois dos quais obtiveram uma resposta objetiva e num dos casos a resposta foi prologada durante 16 meses. Desta forma, o ipilimumab tem agora indicação para o tratamento do melanoma metastático pediátrico numa dose de 3 mg/kg administrado durante 90 minutos a cada três semanas, para um total de quatro administrações (43).

1.3.2 Recetor da proteína de morte programada-1 (PD-1)

Inicialmente descrito em 1992, o recetor da proteína de morte programada 1 (PD-1), pertencente à família dos recetores co-estimulatórios B7/CD28 é, preferencialmente expresso à superfície das células T ativadas, das células B, dos monócitos e das células natural killer após exposição crónica a antigénios, na sua maioria associada a neoplasias ou a infeções. Desta forma, o recetor da PD-1 está envolvido em processos de tolerância imunitária e na prevenção de danos causados aos tecidos associados a inflamação crónica (45) (46).

Até à data, foram identificados dois ligandos para esta proteína: o ligando de morte programada 1 (PD-L1) e o ligando de morte programada 2 (PD-L2). Apesar de os ligandos, PD-L1 e PD-L2, serem maioritariamente expressos à superfície das células apresentadoras de antigénios, tais como, os macrófagos e as células dendríticas também podem ser expressos nas células tumorais. A união do recetor PD-1 aos seus ligandos, PD-L1 e PD-2, regula, de forma negativa, a ativação das células T. Esta ligação inibe a proliferação das células T e a produção do interferão-gama (IFN- γ), do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e da interleucina-2 (IL-2) e diminui a sobrevivência das células T. Quando uma célula T se liga ao mesmo tempo ao recetor das células T (TCR) e ao PD-1, o PD-1 desencadeia um sinal que previne a fosforilação de intermediários chave do TCR. Desta forma, a sinalização precoce das células T pelo TCR termina, o que diminui a ativação destas células (47) (46).

As ligações efetuadas pelo CTLA-4 e pelo PD-1 têm efeitos inibitórios semelhantes na ativação das células T. Contudo, o momento da regulação negativa, os mecanismos responsáveis pela sinalização e as localizações anatómicas da inibição do sistema imunitário diferem entre estes dois inibidores. Ao contrário do CTLA-4 que está confinado às células T, o PD-1 está amplamente expresso nas células T ativas, nas células B e nas células da linhagem mielóide. Enquanto o CTLA-4 exerce a sua função durante a fase de iniciação das células T, o PD-1 exerce a sua ação na fase efetora, predominantemente nos tecidos periféricos, tal como se encontra descrito na Figura 1.6. A distribuição dos ligandos do PD-1 e do CTLA-4 também difere. Os ligandos B7 para o CTLA-4 são expressos à superfície das células apresentadoras de antígenos, que tipicamente residem em nódulos linfáticos ou no baço. Por outro lado, os ligandos PD-L1 e PD-L2 são amplamente expressos em leucócitos, em células não hematopoiéticas e em tecidos não linfóides e a sua expressão pode ser induzida em células parenquimatosas por citocinas inflamatórias (IFN- γ) ou por sinalização tumoral. O PD-1 possui uma maior afinidade de ligação para o PD-L2 do que para o PD-L1 e essa diferença pode ser responsável por contribuições diferentes destes ligandos nas respostas imunes (26) (47) (48).

O PD-L1 foi descrito, pela primeira vez no ano 2000 e é maioritariamente expresso nas células da linhagem mielóide, nos tecidos linfóides e em tecidos não linfóides, tais como o pulmão, o pâncreas, a placenta e o coração. Uma elevada expressão de PD-L1 nas células tumorais tem sido associada a um mau prognóstico e a uma baixa taxa de sobrevivência em vários tipos de cancro, entre eles, o melanoma. O bloqueio do PD-L1 representa desta forma uma possível abordagem terapêutica para o tratamento do melanoma metastático. Estudos recentes têm demonstrado que a elevada expressão de PD-L1 no melanoma metastático está associada à presença de linfócitos infiltrantes do tumor (TILs) em lesões melanocíticas, surgindo em 98% dos tumores PD-L1 positivos. Por outro lado, apenas 28% dos tumores PD-L1 negativos estão associados a TILs. Os melanócitos PD-L1 positivos estão quase sempre localizados numa posição adjacente aos TILs. Mais interessante ainda, o IFN- γ , um indutor primário da expressão de PD-L1 foi detetado na interface de tumores PD-L1 positivos e dos TILs, sugerindo que os TILs são responsáveis pela sua própria inibição através da secreção de citocinas que conduzem à expressão do PD-L1. Consistente com esta hipótese, a sobrevivência global de pacientes com melanoma metastático PD-L1 positivos tem sido superior à dos doentes PD-L1 negativos (26) (47) (48).

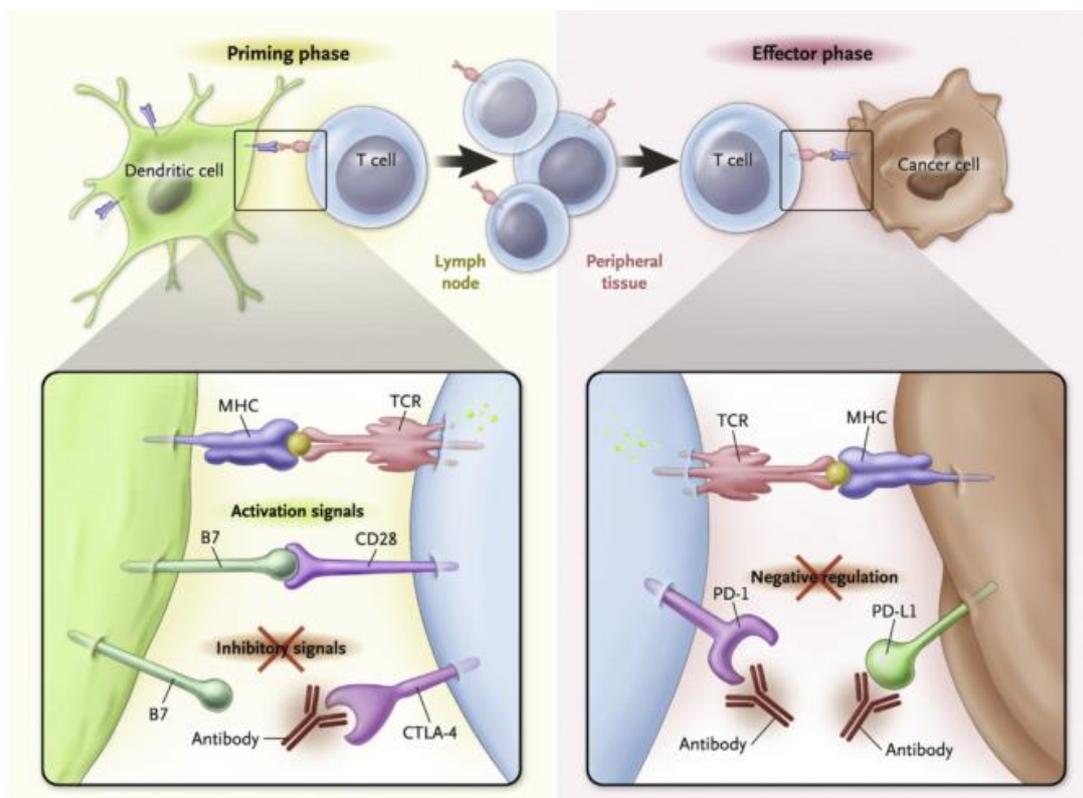


Figura 1.6 Mecanismos de ação do CTLA-4 e do PD-L1 (Franklin C et al., 2016)

Dois inibidores do receptor da proteína de morte programada-1, o nivolumab e o pembrolizumab, foram testados em ensaios clínicos de fase III e aprovados pela EMA no tratamento do melanoma avançado (irressecável ou metastático), em junho e julho de 2015, respectivamente (37). O nivolumab é um anticorpo monoclonal humano e o pembrolizumab um anticorpo totalmente humanizado, ambos derivados da imunoglobulina G4 (IgG4) e produzidos por tecnologia de ADN recombinante em células de ovário de hamster chinês (37) (49). Estes anticorpos ligam-se ao receptor da proteína de morte programada-1 e inibem a sua interação com os ligandos PD-L1 (CD274 ou B7-H1) e PD-L2 (CD273 ou B7-DC) (37).

1.3.2.1 Pembrolizumab

O pembrolizumab (anteriormente designado MK-3475 ou lambrolizumab) é um anticorpo monoclonal humanizado IgG4-k, potente e altamente seletivo, que impede a

ligação do PD-1 aos seus ligandos, PD-L1 e PD-L2. Foi construído através da inserção de sequências da região variável de um anticorpo anti-PD-1 de rato numa estrutura de IgG4-humana contendo um estabilizador para a mutação Fc S228P, tal como observado na figura 1.7 (24).

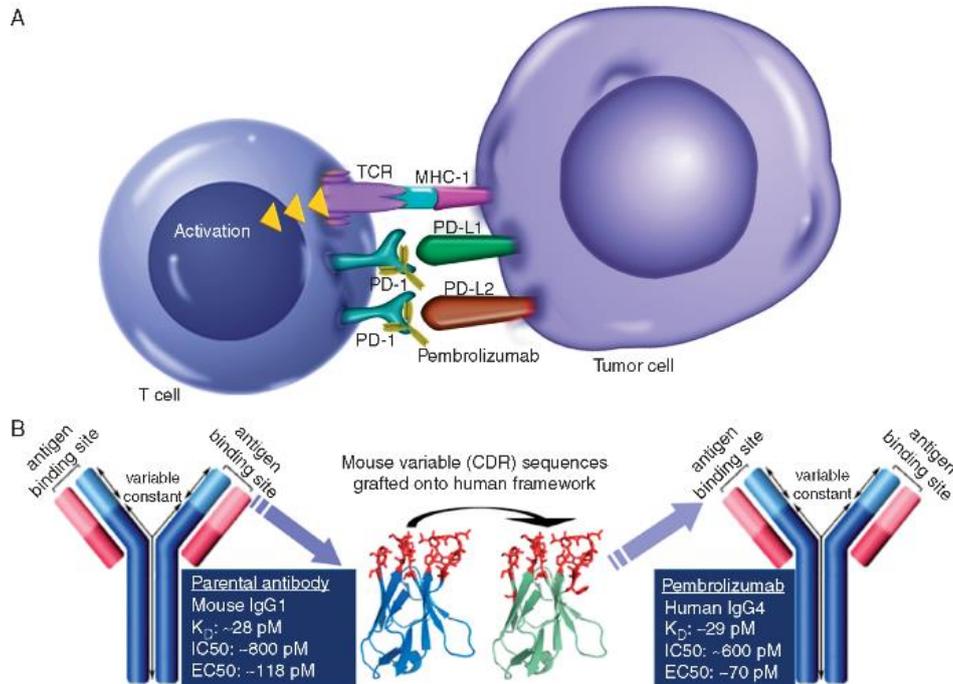


Figura 1.7 Pembrolizumab: mecanismo de ação (A) e respetiva estrutura (B) (Kang SP et al., 2017)

O pembrolizumab demonstrou elevada afinidade para o recetor da proteína de morte programada-1 e uma forte inibição dos respetivos ligandos, PD-L1 e PD-L2, num modelo *ex vivo* de células T (45).

O pembrolizumab foi aprovado em setembro de 2014 pela FDA para o tratamento do melanoma metastático em doentes previamente tratados com ipilimumab e em melanomas positivos para a mutação no gene BRAF, previamente tratados com um inibidor do BRAF. Posteriormente, em julho de 2015 foi aprovado pela EMA para o tratamento do melanoma metastático e foi nesse mesmo ano que passou a ter indicação para utilização como terapêutica de primeira linha nestes doentes, pela FDA (29) (41).

A eficácia e a segurança do pembrolizumab foi avaliada, inicialmente, em doentes com melanoma avançado no ensaio clínico aberto KEYNOTE-001. No total, foram selecionados 655 doentes, previamente tratados com ipilimumab, ipilimumab naïve e, também, doentes com melanoma refratário após tratamento com ipilimumab. Estes

doentes foram alocados em três grupos com diferentes esquemas terapêuticos, respetivamente, pembrolizumab numa dose de 2 mg/kg a cada três semanas ou numa dose de 10 mg/kg a cada duas semanas ou numa dose de 10 mg/kg a cada três semanas. Independentemente do esquema terapêutico, o pembrolizumab foi administrado por via intravenosa durante 30 minutos, no dia 1 de cada ciclo, até progressão da doença ou toxicidade inaceitável (46).

A análise conjunta dos 655 doentes envolvidos, independentemente de tratamento prévio ou não com ipilimumab e da dose e esquema terapêutico com o pembrolizumab revelou uma taxa objetiva de resposta de 33%, uma taxa de sobrevivência livre de progressão, 12 meses após o início da terapêutica de 35% e uma média de sobrevivência global de 23 meses (com uma média de duração de seguimento de 21 meses). A ação da resposta foi prolongada durante um tempo superior a um ano em 44% dos doentes e a média da duração estimada da mesma foi 28 meses. Estes dados sugerem que o pembrolizumab tem a capacidade de alcançar respostas duradouras em doentes com melanoma metastático (50).

A farmacocinética do pembrolizumab foi, também, avaliada no ensaio clínico KEYNOTE-001. As concentrações no soro foram determinadas antes e após a administração do pembrolizumab, sendo inferiores (fator 5) no grupo que recebeu 2 mg/kg a cada três semanas comparativamente ao grupo que recebeu 10 mg/kg a cada três semanas. A concentração determinada no estado estacionário foi superior em cerca de 20% no grupo que recebeu pembrolizumab 10 mg/kg a cada duas semanas comparativamente ao grupo que recebeu a mesma dose a cada três semanas. O aumento das concentrações no soro verificado ao longo do tempo foi consistente com um tempo de semi-vida entre duas a três semanas (51).

A toxicidade do pembrolizumab foi determinada e os resultados revelaram que este anticorpo monoclonal é bem tolerado, pois apesar de em 79% dos doentes terem ocorrido efeitos adversos, em apenas 13% dos casos estes efeitos foram graves (grau 3 ou 4). Os efeitos adversos mais frequentemente reportados incluem fadiga (30%), *rash* cutâneo (21%), prurido (21%), diarreia (20%), mialgia (12%), aumento dos níveis da enzima hepática aspartato aminotransferase (10%), náuseas (10%), cefaleias (10%) e astenia (10%). Estes efeitos adversos foram observados num maior número de casos em doentes submetidos ao esquema terapêutico de 10 mg/kg de pembrolizumab a cada duas semanas

(23%), comparativamente a 10 mg/kg a cada três semanas (4%) e 2 mg/kg a cada três semanas (9%). Os efeitos adversos graves (grau 3 ou 4) incluem o aumento das aminotransferases hepáticas, hepatite autoimune, hipotireoidismo, falência renal, *rash* cutâneo e prurido. Normalmente, estes efeitos adversos são revertidos após administração de corticosteróides (51).

Com base na eficácia demonstrada e no perfil de toxicidade favorável, o pembrolizumab foi o primeiro anticorpo monoclonal anti-PD-1 a ser aprovado para o tratamento do melanoma avançado (51).

1.3.2.2 Nivolumab

O nivolumab, um anticorpo monoclonal IgG4 humano, direcionado contra a proteína de morte programada 1 está aprovado no tratamento do melanoma metastático quer em monoterapia quer em combinação com o ipilimumab. O nivolumab é composto por quatro cadeias polipeptídicas (duas cadeias pesadas e duas cadeias leves) que estão unidas por ligações dissulfureto. O nivolumab impede a interação entre a o recetor da PD-1 e os seus ligandos PD-L1 e PD-L2, prevenindo a inibição da resposta imune celular, tal como se encontra representado na figura 1.7 (52).

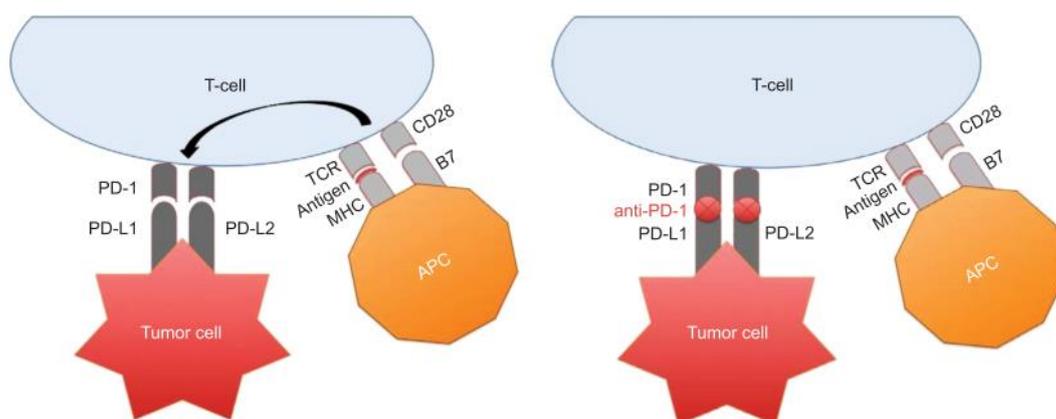


Figura 1.8 PD-1: Mecanismo de ação e respetivo bloqueio (Force J et al., 2017)

Este anticorpo monoclonal anti-PD-1 é geneticamente modificado e desenvolvido a partir da imunização transgênica de um rato para o loci da imunoglobulina humana. São utilizadas células recombinantes de ovário de hamster chinês que expressam a proteína PD-1 e a proteína de fusão Fc IgG1 humana. O nivolumab contém a mutação S228P que

reduz as trocas entre a proteína Fc e a imunoglobulina IgG4 presente no soro, o que melhora a estabilidade e reduz a variabilidade terapêutica (53).

O nivolumab foi aprovado em dezembro de 2014 pela FDA para o tratamento do melanoma metastático em doentes previamente tratados com o ipilimumab e em melanomas positivos para a mutação no gene BRAF, previamente tratados com um inibidor do BRAF. Posteriormente, em junho de 2015 foi aprovado pela EMA para o tratamento do melanoma metastático e foi nesse mesmo ano que passou a ter indicação para utilização como terapêutica de primeira linha nestes doentes, pela FDA (29) (54).

Tendo em conta a sua farmacocinética, é recomendada a administração de nivolumab numa dose de 3 mg/kg, por via intravenosa, durante 60 minutos, a cada duas semanas até progressão da doença ou toxicidade inaceitável. O nivolumab atinge o pico de concentração máxima (C_{máx}) entre 1-4h após o início da infusão e apresenta um tempo de semi-vida (t_{1/2}) de 12 dias. Relativamente à farmacodinâmica, o nivolumab foi avaliado de acordo com a ocupação do recetor da PD-1 nas células T-CD3+ em circulação. Aparentemente, a média de ligação do nivolumab à proteína PD-1 é independente da dose, atingindo um pico de 85% entre as 4-24 horas. Estes dados indicam que o nivolumab tem uma elevada afinidade para a PD-1 (53).

O tratamento com o nivolumab é, geralmente bem tolerado. Os efeitos adversos mais comuns incluem fadiga, diminuição do apetite, diarreia, náuseas, tosse, dispneia, constipação, vômitos, *rash* cutâneo, pirexia e dor de cabeça. Devido ao seu mecanismo de ação, este fármaco está associado a efeitos adversos relacionados com o sistema imunitário que ocorrem, mais frequentemente, na pele, no aparelho gastrointestinal, no sistema endócrino e no sistema hepático. Desta forma, apresenta um perfil de toxicidade diferente da quimioterapia convencional, com reversão dos efeitos após administração de corticosteróides ou interrupção do tratamento, na maioria dos casos. Os efeitos adversos relacionados com o sistema imune que ocorrem, mais frequentemente, incluem a pneumonia, o vitiligo, a colite, a hipofisite e a tiroidite. No entanto, é importante referir que o aparecimento de efeitos adversos graves (3 ou 4) é menos comum em doentes em tratamento com nivolumab do que com a quimioterapia tradicional, com base em ensaios clínicos realizados (53).

1.3.3 Biomarcadores

A detecção de biomarcadores que permitam identificar precocemente qual o prognóstico relacionado com um determinado doente com melanoma metastático e, em função disso, selecionar qual a terapêutica disponível que melhor se adequa a cada caso são fatores de extrema importância a ter em conta.

O único biomarcador tumoral aceite pela *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) como preditivo de sobrevivência em doentes com melanoma metastático (estadio IV) é a lactato desidrogenase (LDH), uma enzima ubiqüitária com elevada atividade em doentes que se encontram em hipóxia. Esta enzima catalisa a transformação reversível do piruvato em lactato e, deste modo, permite que as células dependam menos do fornecimento de oxigénio. No entanto, outros biomarcadores tumorais têm sido estudados. É o caso da proteína S100- β , descrita pela primeira vez em culturas celulares de melanoma maligno sendo, atualmente, utilizada no diagnóstico do melanoma primário e do melanoma metastático. De acordo com as guidelines da ESMO, a detecção da proteína S100 apresenta uma maior especificidade no controlo da progressão da doença do que a detecção da enzima LDH. A proteína MIA (melanoma-inhibitory-activity) é expressa pelas células tumorais e não se encontra presente em casos de melanoma benigno. Esta proteína é altamente específica para a detecção de metástases e é extremamente útil para o seguimento dos doentes com melanoma. É importante referir que níveis elevados destas proteínas (LDH, S100- β e MIA) no soro estão associados a um mau prognóstico (55).

A expressão de PD-L1 é um potencial biomarcador preditivo da resposta aos anticorpos monoclonais antirreceptores da proteína de morte programada 1 (PD-1). Após a realização do ensaio clínico de fase I que avaliou a segurança e a eficácia do pembrolizumab em doentes com melanoma metastático, o KEYNOTE-001, foi também analisada a relação entre a expressão de PD-1 e a respetiva atividade dos anticorpos monoclonais anti-PD-1 em doentes com melanoma avançado. A expressão positiva do PD-L1 em alguns doentes, detetada através de biópsias tumorais em fase de pré-tratamento, foi correlacionada com um aumento da taxa de resposta, da taxa de sobrevivência livre de progressão e da taxa de sobrevivência global. Contudo, os doentes com expressão de PD-L1 tumoral negativa também obtiveram respostas prolongadas (46).

2. Objetivos

Os doentes com melanoma metastático têm uma resposta imunitária antitumoral comprometida, o que potencia um microambiente favorável à progressão da doença.

A descoberta de moléculas que desempenham um papel preponderante no funcionamento do sistema imunitário, nomeadamente na inibição da ativação das células T permitiu o desenvolvimento e aprovação pela EMA e pela FDA de três anticorpos monoclonais, nomeadamente, o ipilimumab, o pembrolizumab e o nivolumab. Sabe-se que, atualmente, a imunoterapia é utilizada como terapêutica de primeira linha na maioria dos doentes com melanoma metastático.

Tornou-se imperativo a realização de uma revisão crítica da bibliografia existente acerca da imunoterapia do melanoma metastático, pretendendo-se estudar a evolução da mesma ao longo do tempo.

Mais especificamente pretende-se:

- Conhecer as moléculas que deram origem à criação dos anticorpos para elas direcionados, nomeadamente, o antígeno 4 dos linfócitos T citotóxicos e a proteína de morte programada-1 e o seu papel na inibição da resposta imunitária;
- Compreender o mecanismo de ação dos anticorpos monoclonais, ipilimumab, nivolumab e pembrolizumab e o seu papel fundamental na ativação do sistema imunitário, possibilitando uma maior ação antitumoral;
- Consultar e analisar os ensaios clínicos que conduziram à sua aprovação pela FDA e pela EMA;
- Comparar a eficácia dos anticorpos monoclonais, nomeadamente, o tempo médio de sobrevivência, o tempo livre de progressão da doença e a duração da resposta com a quimioterapia, a terapêutica convencional anteriormente utilizada e a vacina gp100;
- Avaliar o seu perfil de toxicidade, especialmente os efeitos adversos graves (grau 3 ou 4) relacionados com o sistema imunitário;
- Comparar a eficácia e o perfil de toxicidade associados aos diferentes anticorpos monoclonais.

3. Materiais e Métodos

3.1 Procedimento

Inicialmente, procedeu-se à recolha de artigos científicos, com o intuito de construir uma base sólida que permitisse ter uma visão global do tema da presente monografia. Na sua totalidade a pesquisa foi realizada entre fevereiro e setembro de 2017. A maioria dos artigos consultados foram obtidos através de pesquisa efetuada na ferramenta PubMed pertencente ao *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), utilizando as seguintes palavras-chave “immunotherapy”, “melanoma metastatic”, “ipilimumab”, “pembrolizumab”, “nivolumab”, “PD-1” e “CTLA-4”. De entre os artigos consultados no PubMed, a maioria estão publicados em jornais dedicados à área de oncologia, como, por exemplo, o *Journal of Clinical Oncology*, o *Annals of Oncology*, o *European Journal of Cancer*, *The Lancet Oncology* e o *American Journal of Clinical Oncology*. Foram consultadas outras fontes de informação consideradas essenciais para a realização da presente monografia, tais como o *National Cancer Institute*, a *American Cancer Society*, a *American Joint Committee on Cancer*, o *Surveillance, Epidemiology, and End Results Program*, a Associação Portuguesa de Cancro Cutâneo e a Organização Mundial de Saúde. Procedeu-se, também, à análise das recomendações das guidelines atuais da *European Society for Medical Oncology* (ESMO) e do *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE) para o tratamento do melanoma metastático. Foram selecionados vários artigos, incluindo, artigos de revisão e meta-análises com abordagem focada na terapêutica do melanoma metastático, principalmente, na utilização do anticorpo monoclonal anti-CTLA-4, ipilimumab e nos anticorpos monoclonais anti-PD-1, pembrolizumab e nivolumab. Em especial, foram analisados todos os ensaios clínicos de fase II e III que avaliam a segurança e a eficácia dos anticorpos monoclonais acima supracitados. Foram construídos gráficos com base nas respostas obtidas nos ensaios clínicos: KEYNOTE-002, KEYNOTE-006, CheckMate-066, CheckMate-037, CheckMate-067, CheckMate-069, CheckMate-064 e a partir de uma meta-análise que compara a eficácia global e o perfil de toxicidade dos anticorpos monoclonais com a quimioterapia e a vacina gp100. A inclusão desta meta-análise serve apenas para sintetizar o benefício clínico observado com os respetivos anticorpos comparativamente à quimioterapia. A construção destes gráficos permitiu analisar, estatisticamente, a taxa de sobrevivência livre de progressão, a taxa objetiva de resposta, a taxa de sobrevivência

global e a ocorrência de efeitos adversos entre o anticorpo ou associação de anticorpos monoclonais em estudo com o respetivo grupo controlo (que pode ser a quimioterapia, ou outro anticorpo monoclonal). Os respetivos gráficos foram construídos com recurso à ferramenta Microsoft Excel 2013®.

3.2. Critérios para inclusão e exclusão das fontes

Todos os artigos relevantes para posterior análise foram selecionados tendo em consideração a data de publicação. Excetuando um artigo publicado em novembro de 2014 considerado pertinente, foram excluídos todos os artigos com data de publicação anterior a janeiro de 2015. Foram incluídas as guidelines do *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE) com data anterior a 2015, por serem consideradas de especial relevância para a compreensão do tema em estudo, bem como a classificação e estadiamento do melanoma realizada pela *American Joint Committee on Cancer* que data o ano de 2009. Foram excluídos todos os artigos escritos numa língua que não fosse o português, o inglês ou o espanhol. Os artigos elegíveis incluem: ensaios clínicos randomizados, artigos de revisão e meta-análises que avaliam as respostas ao tratamento com anticorpos monoclonais inibidores do antígeno 4 dos linfócitos T citotóxicos (ipilimumab) ou do recetor da proteína de morte programada-1 (pembrolizumab e nivolumab), comparativamente à quimioterapia (dacarbazina, temozolamida, paclitaxel e carboplatina) ou à vacinação com a gp100 em doentes com melanoma metastático. De igual forma, foram incluídos ensaios clínicos que comparam a eficácia e o perfil de segurança obtidos pelos diferentes anticorpos monoclonais.

4. Resultados e Discussão dos Resultados

4.1 Opções terapêuticas sistêmicas para o melanoma em estadio IV

Atualmente, de acordo com o *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE) a terapêutica sistêmica adequada para um doente com melanoma em estadio IV pode, dependendo das características individuais do doente e do tumor, incluir as opções que se encontram na figura 4.1 (quimioterapia, imunoterapia e inibidores de mutações no gene BRAF V600).

Após tratamento, os doentes com melanoma em estadio IV devem ter um seguimento personalizado por profissionais especializados para prevenção do reaparecimento de lesões em casos em que se tenha alcançado a remissão completa da doença ou o aparecimento de novas lesões e agravamento de lesões existentes, com conseqüente progressão da doença. Considera-se o acompanhamento psicológico durante e após o tratamento uma mais valia para o apoio a nível emocional e, deve, por isso ser oferecido a estes doentes oncológicos (56).

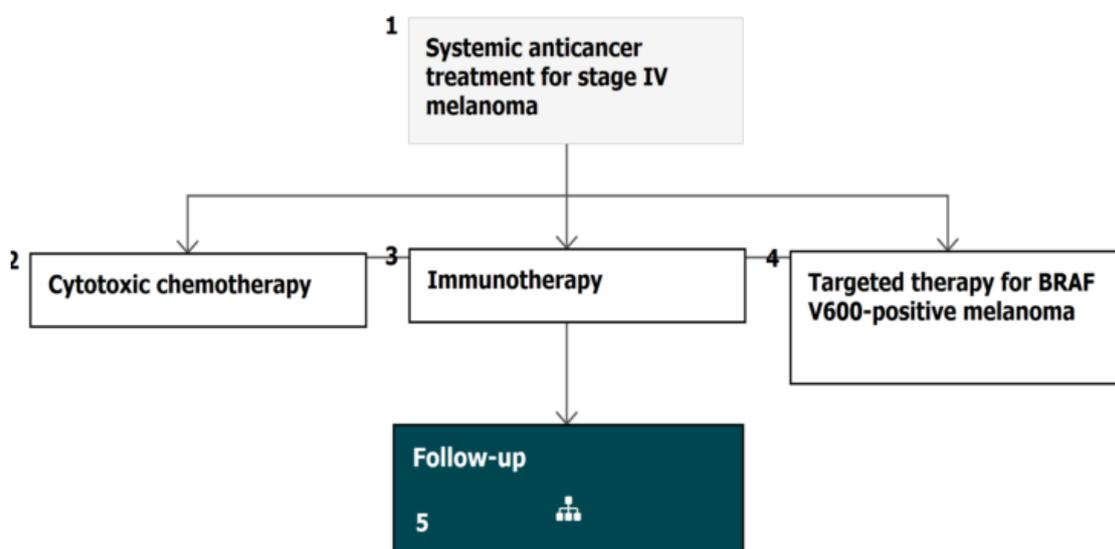


Figura 4.1 Opções terapêuticas sistêmicas para o melanoma em estadio IV (NICE, 2017)

4.1.1 Quimioterapia

Atualmente, a quimioterapia é utilizada como terapêutica de segunda linha, podendo considerar-se a administração de dacarbazina, caso a imunoterapia e a terapêutica direcionada para mutações no gene BRAF não sejam adequadas (57).

4.1.2 Imunoterapia

Todos os seguintes fármacos, em monoterapia, representam opções terapêuticas para o tratamento do melanoma avançado. O ipilimumab e o nivolumab podem ser administrados em associação (44).

4.1.2.1 Ipilimumab

Está indicado no tratamento do melanoma avançado (irressecável ou metastático) em doentes com ou sem terapêutica prévia. A dose recomendada é de 3 mg/kg de peso corporal, administrado por via intravenosa durante um período de 90 minutos a cada três semanas, perfazendo um total de quatro administrações para um tratamento completo. O ipilimumab está associado à ocorrência de efeitos adversos, mais comumente relacionados com a atividade aumentada ou excessiva do sistema imunitário. Entre os mais frequentes destacam-se a fadiga, diarreia, *rash* cutâneo, prurido, náuseas, vômitos, diminuição do apetite e dor abdominal (58)(59).

4.1.2.2 Pembrolizumab

Recomenda-se como opção terapêutica tanto em doentes com melanoma avançado que não foram previamente tratados com o ipilimumab como em doentes cuja doença progrediu após tratamento com o ipilimumab e, caso sejam detetadas mutações no gene BRAFV600 após tratamento com um fármaco inibidor do BRAF ou da quinase MEK. O pembrolizumab é administrado por via intravenosa durante um período de 30 minutos numa dose de 2 mg/kg a cada três semanas até progressão da doença ou toxicidade inaceitável (60) (61).

4.1.2.3 Nivolumab

Pode ser utilizado, em monoterapia, para o tratamento do melanoma avançado (irressecável ou metastático) em adultos. É administrado por via intravenosa durante um período de 60 minutos numa dose de 3 mg/kg, a cada duas semanas (62).

4.1.2.4 Nivolumab em associação com o ipilimumab

Recomenda-se iniciar o regime terapêutico com uma dose de 1 mg/kg de nivolumab associado a 3 mg/kg de ipilimumab, administrados por via intravenosa durante um período de 90 minutos, a cada três semanas, perfazendo um total de quatro doses. Seguidamente, recomenda-se uma dose de manutenção com o nivolumab, em monoterapia administrado por via intravenosa numa dose de 3 mg/kg durante 60 minutos, a cada duas semanas (63). De acordo com o Relatório Público Europeu de Avaliação (EPAR) relativo ao Opdivo (nivolumab), as melhorias observadas no período de tempo vivido pelos doentes sem agravamento da doença, quando em associação com o ipilimumab em comparação com o nivolumab em monoterapia foram observadas unicamente em doentes com expressão reduzida de PD-L1 à superfície das células cancerígenas (54). Antes de iniciarem o tratamento com a associação terapêutica, os oncologistas devem avaliar cuidadosamente as características individuais do doente e do tumor, tendo em consideração os benefícios observados e a toxicidade da associação em relação ao nivolumab em monoterapia (45).

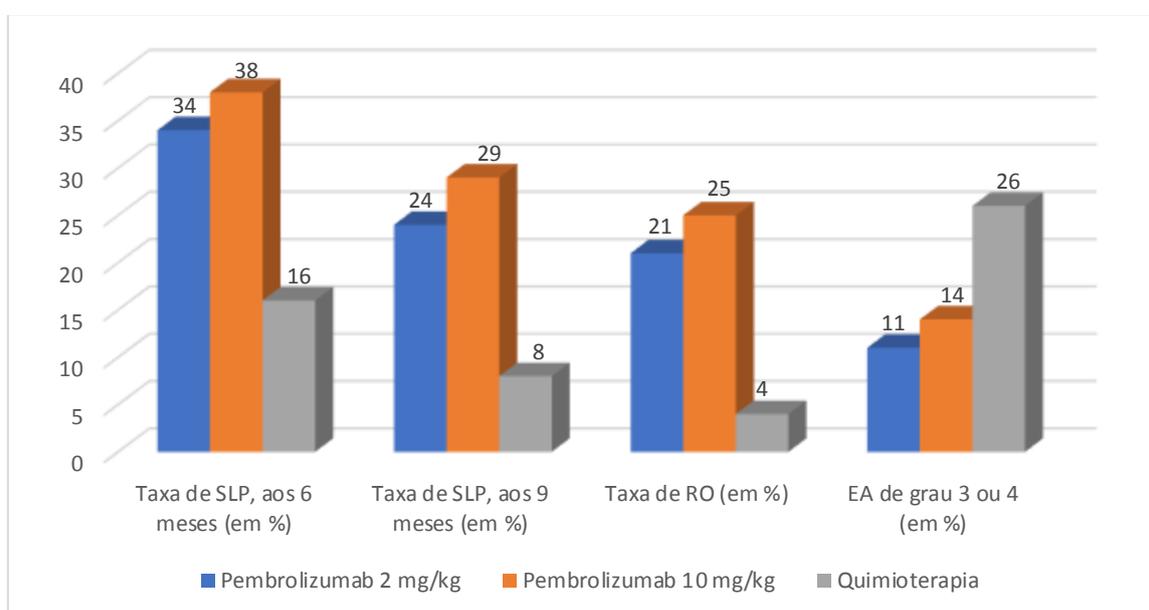
4.1.3. Targeted therapy em melanomas com mutação no gene BRAF V600

Em doentes com melanoma metastático com mutação no gene BRAFV600 pode ser utilizado um dos fármacos inibidores do BRAF que incluem o dabrafenib, o vemurafenib. A associação destes fármacos com inibidores da quinase MEK está recomendada, o dabrafenib em associação com o trametinib e o vemurafenib em associação com o cobimetinib. (57).

4.2 Ensaios clínicos: KEYNOTE-002 E KEYNOTE-006

Em 2015, o pembrolizumab recebeu aprovação para o tratamento do melanoma avançado (metastático ou irressecável) pela EMA e pela FDA. Esta aprovação foi concedida com base nos resultados obtidos em dois ensaios clínicos, o ensaio de fase II KEYNOTE-002 (Figura 4.2) e o ensaio de fase III KEYNOTE-006 (Figura 4.3).

4.2.1 Ensaio Clínico KEYNOTE-002



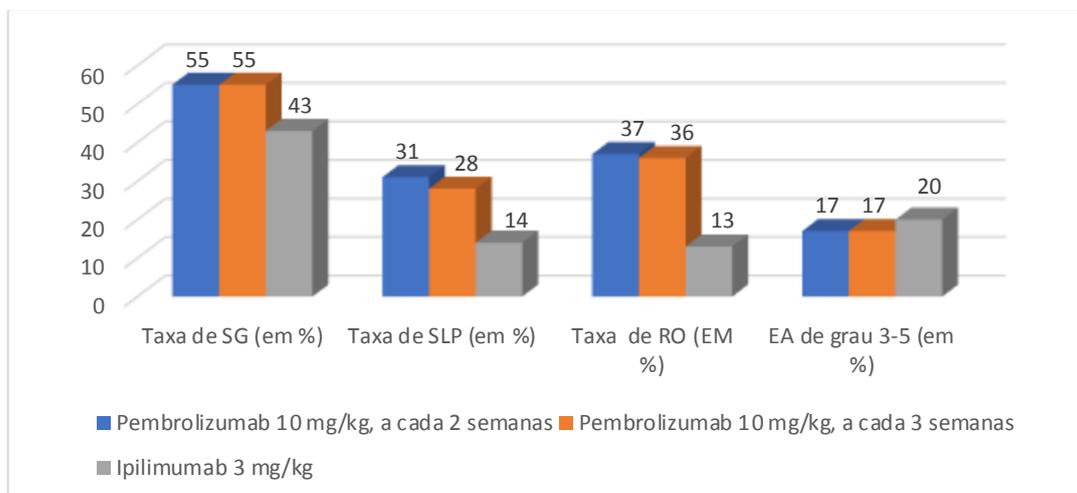
Legenda: SLP – Sobrevivência Livre de Progressão; RO – Resposta Objetiva; EA- Efeito Adverso

Figura 4.2 Resultados do ensaio clínico de fase II KEYNOTE-002

O KEYNOTE-002, um ensaio clínico de fase II, randomizado e controlado, avaliou a segurança e a eficácia de duas doses diferentes do anticorpo monoclonal pembrolizumab, comparativamente a um fármaco escolhido pelo investigador pertencente à classe da quimioterapia em doentes com melanoma irressecável em estadio III ou IV refratário a ipilimumab e, caso o melanoma seja positivo para a mutação no oncogene BRAFV600 com terapêutica prévia com um inibidor do BRAF ou do MEK, ou ambos. A confirmação de progressão da doença ocorreu dentro de um período de 24 semanas após a última administração de ipilimumab com um mínimo de duas doses administradas (3 mg/kg a cada três semanas). Foram selecionados 540 doentes e distribuídos de forma aleatória na proporção 1:1:1 em três grupos. O primeiro grupo recebeu tratamento com 2 mg/kg de pembrolizumab e o segundo grupo com 10 mg/kg de pembrolizumab, ambos a cada três

semanas. O terceiro grupo recebeu terapêutica com agentes citotóxicos antineoplásicos, escolhidos pelo investigador, nomeadamente, paclitaxel associado a carboplatina ou cada um dos dois agentes em monoterapia ou então, dacarbazina ou temozolamida por via oral. O *endpoint* primário do estudo foi a determinação da taxa de sobrevivência livre de progressão da doença, ou seja, do período em que não ocorreu agravamento da mesma. Esta taxa foi determinada seis e nove meses após o início do tratamento, sendo, respetivamente, de 34% e 24% no grupo do pembrolizumab na dose de 2 mg/kg, de 38% e 29% no grupo do pembrolizumab na dose de 10 mg/kg e de 16% e 8% no grupo da quimioterapia. De igual forma, a taxa objetiva de resposta determinada nos três grupos foi de 21%, 25% e 4%, respetivamente. Foi também avaliado o perfil de segurança de cada regime terapêutico, sendo que efeitos adversos de grau 3 ou 4 ocorreram em 11 % dos pacientes com terapêutica com pembrolizumab na dose de 2 mg/kg, em 14% dos pacientes com terapêutica com pembrolizumab na dose de 10 mg/kg e em 26% dos pacientes a receber quimioterapia. Assim sendo, podemos concluir que ambas as doses de pembrolizumab em estudo demonstraram alcançar uma taxa de sobrevivência livre de progressão superior à alcançada pela quimioterapia. Desta forma, o pembrolizumab demonstrou reduzir o risco de progressão da doença comparativamente à quimioterapia e apresentou um melhor perfil de segurança. A capacidade do pembrolizumab beneficiar clinicamente os doentes refratários ao ipilimumab deve-se, muito provavelmente, aos diferentes mecanismos de ação através dos quais os anticorpos monoclonais anti-CTLA-4 e anti-PD-1 estimulam a resposta antitumoral pelas células T. (35) O bloqueio do CTLA-4 amplia a resposta imune, evidenciada pelo aumento dos recetores das células T enquanto que o bloqueio do PD-1 induz uma proliferação intratumoral das células T. É, ainda, importante referir que a taxa de resposta obtida com o pembrolizumab foi cerca de cinco vezes superior à obtida com a quimioterapia e, em geral, o pembrolizumab foi bem tolerado, com uma menor ocorrência de efeitos adversos graves (grau 3 ou 4) (64).

4.2.2 Ensaio Clínico KEYNOTE-006



Legenda: SG- Sobrevivência Global; SLP – Sobrevivência Livre de Progressão; RO – Resposta Objetiva; EA- Efeito Adverso

Figura 4.3 Resultados do ensaio clínico de fase III KEYNOTE-006

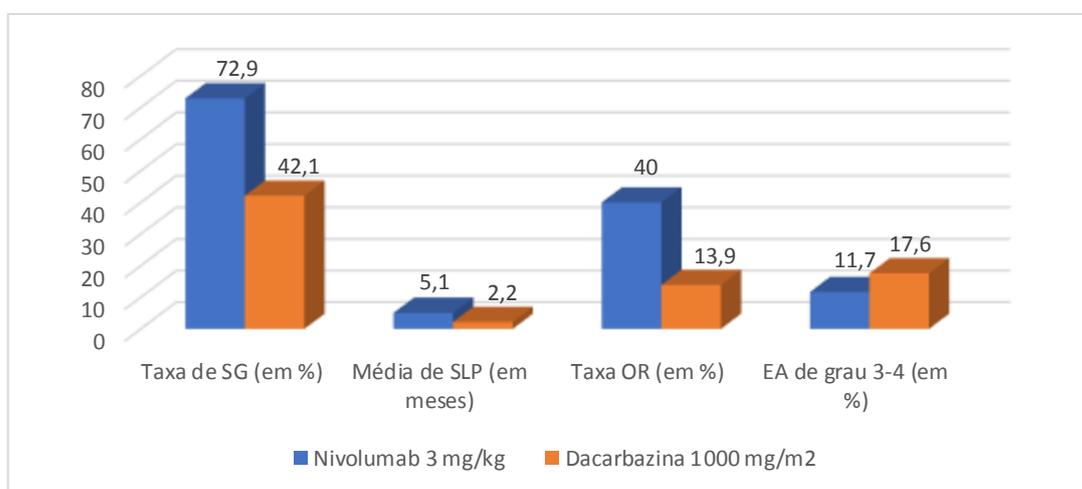
O KEYNOTE-006, um ensaio clínico de fase III multicentro, aberto e randomizado, avaliou a eficácia e segurança de dois regimes diferentes de pembrolizumab na dose de 10 mg/kg administrada a cada duas ou três semanas comparando-os com o regime terapêutico de 3 mg/kg de ipilimumab a cada três semanas (para um total de quatro administrações) em doentes com melanoma irressecável em estadios III ou IV sem terapêutica prévia com o ipilimumab. Foram selecionados 834 doentes e distribuídos aleatoriamente pelos três diferentes regimes terapêuticos. De entre os doentes que participaram no estudo, 60% eram do sexo masculino, 32% tinham níveis elevados de LDH, 36% eram positivos para mutações no oncogene BRAF e 80% PD-L1 positivos e, cerca de 66% dos doentes não tinham recebido terapêutica sistêmica prévia. A taxa de sobrevivência global determinada dois anos após o início do tratamento foi de 55% nos dois grupos que receberam tratamento com o pembrolizumab e de 43% no grupo com tratamento com ipilimumab. A taxa média de sobrevivência livre de progressão foi também determinada, 24 meses após o início do tratamento, sendo, de 31% e 28% nos grupos em tratamento com pembrolizumab a cada 2 e 3 semanas, respetivamente e de 14% no grupo em tratamento com ipilimumab. A taxa objetiva de resposta foi avaliada em todos os grupos, sendo semelhantes em ambos os esquemas terapêuticos com o pembrolizumab, 37% e 36%, a cada duas e três semanas, respetivamente e de 13% no grupo em tratamento com o ipilimumab. O pembrolizumab demonstrou um melhor perfil

de segurança comparativamente ao ipilimumab, com uma ocorrência de efeitos adversos graves (grau 3-5) de 17% em ambos os grupos em tratamento com o pembrolizumab e de 20% no grupo do ipilimumab. Podemos, então, concluir que a percentagem de doentes vivos sem progressão da doença em tratamento com o pembrolizumab é o dobro da alcançada pelo tratamento com o ipilimumab. Por outro lado, o pembrolizumab reduz o risco de morte por melanoma com uma taxa de sobrevivência global 12% superior à observada com o ipilimumab (65).

4.3 Ensaios clínicos: CheckMate-066 e CheckMate-037

Em 2015, o nivolumab recebeu aprovação para o tratamento do melanoma avançado (metastático ou irressecável) pela EMA e pela FDA. Esta aprovação foi concedida com base nos resultados obtidos em dois ensaios clínicos, o ensaio de fase III CheckMate-066 (Figura 4.4) e o ensaio de fase CheckMate-037 (Figura 4.5).

4.3.1 Ensaio Clínico CheckMate-066



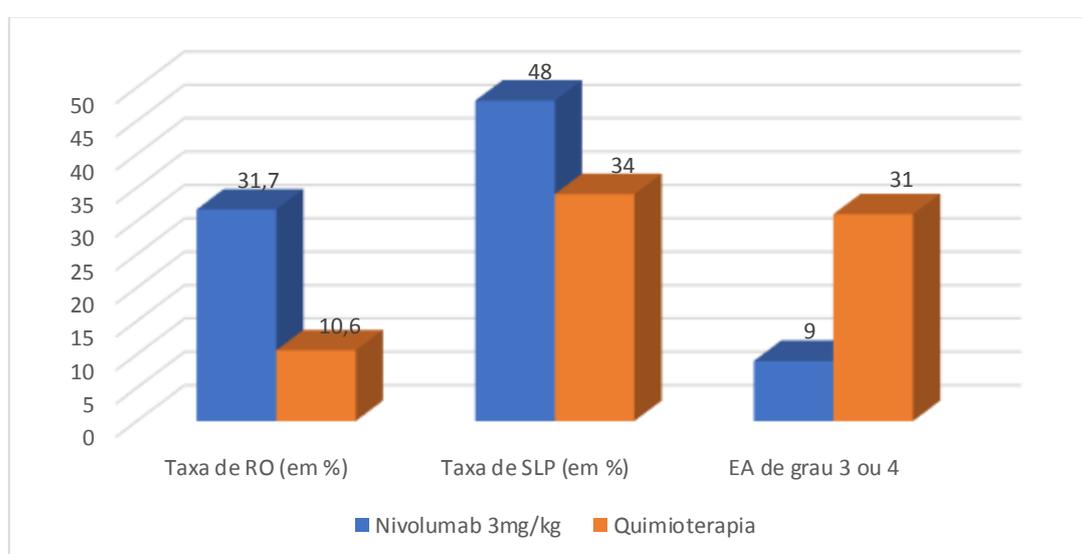
Legenda: SG- Sobrevivência Global; SLP – Sobrevivência Livre de Progressão; RO – Resposta Objetiva; EA- Efeito Adverso

Figura 4.4 Resultados do ensaio clínico de fase III CheckMate-066

O CheckMate-066, um ensaio clínico de fase III, randomizado e duplamente cego avaliou a eficácia e a segurança do nivolumab, administrado numa dose de 3 mg/kg a cada duas semanas, comparando-o com os resultados obtidos pela dacarbazina, um agente citotóxico antineoplásico, administrado numa dose de 1000 mg/m² de superfície corporal

em doentes naïve com melanoma metastático e com BRAF wild type (sem mutações no gene BRAF). Foram selecionados 418 doentes com melanoma metastático e distribuídos aleatoriamente pelos grupos em estudo na proporção 1:1 (66). A taxa de sobrevivência global alcançada um ano após o início do tratamento foi de 72,9% no grupo do nivolumab e de 42,1% no grupo da dacarbazina. O tratamento com nivolumab demonstrou alcançar uma média de sobrevivência sem progressão da doença superior à dacarbazina, sendo, respetivamente, de 5,1 e 2,2 meses. A taxa objetiva de resposta determinada no grupo do nivolumab foi de 40% e no grupo da dacarbazina de 13,9% (37). Os efeitos adversos graves (grau 3 ou 4) ocorreram com uma maior frequência no grupo da dacarbazina (17,6%) comparativamente ao grupo do nivolumab (11,7%), o que nos leva a concluir que aparentemente o nivolumab tem um melhor perfil de segurança. Os efeitos adversos graves com possível etiologia imunológica no grupo do nivolumab incluíram a elevação dos níveis das enzimas hepáticas, lesões cutâneas, diarreia, perturbações endócrinas, falência renal aguda e colite. Estes efeitos foram revertidos com a interrupção do tratamento e com administração de corticosteróides (20). Podemos, então, concluir que o nivolumab demonstrou ter um benefício significativo no aumento da sobrevivência bem como um perfil de segurança favorável comparativamente à dacarbazina em doentes com melanoma metastático com ausência de mutações no gene BRAF (20) (37).

4.3.2 Ensaio Clínico CheckMate-037



Legenda: RO – Resposta Objetiva; SLP – Sobrevivência Livre de Progressão; EA- Efeito Adverso

Figura 4.5 Resultados do ensaio clínico de fase III CheckMate-037

O CheckMate-037, um ensaio clínico de fase III aberto, controlado e randomizado, avaliou a eficácia e a segurança do nivolumab numa dose de 3 mg/kg a cada duas semanas, utilizando como grupo controlo a escolha pelo investigador de agentes citotóxicos antineoplásicos, nomeadamente, a dacarbazina numa dose de 1000 mg/m² de superfície corporal a cada três semanas ou a associação de 175 mg/m² de paclitaxel com a carboplatina sob a área sob a curva C₀₋₆ a cada três semanas em doentes com progressão da doença após tratamento com ipilimumab ou ipilimumab e um inibidor do BRAF, caso os melanomas sejam positivos para a mutação no oncogene BRAFV600. Foram selecionados 405 doentes e distribuídos aleatoriamente na proporção 2:1. Assim sendo, foram incluídos 272 doentes no grupo do nivolumab e 133 no grupo da quimioterapia. O tratamento foi continuado até progressão da doença ou observação de toxicidade inaceitável. A taxa objetiva de resposta foi determinada nos dois grupos, sendo superior no grupo do nivolumab (31,7%) comparativamente ao grupo da quimioterapia (10,6%). A média de sobrevivência livre de progressão da doença foi de 4,7 meses no grupo do nivolumab e de 4,2 meses no grupo da quimioterapia e a taxa de sobrevivência livre de progressão da doença determinada seis meses após o início do tratamento foi de 48% e 34%, respetivamente (67).

Os resultados preliminares do ensaio clínico incluíram uma avaliação dos primeiros 120 doentes tratados com o nivolumab e de 47 doentes tratados com os agentes citotóxicos antineoplásicos, com um tempo médio de seguimento de 8,4 meses. O tempo médio de resposta ao nivolumab e à quimioterapia foi de 2,1 meses e de 3,5 meses, respetivamente. A média de duração da resposta foi de 3,5 meses no grupo da quimioterapia e não foi alcançada no grupo do nivolumab, com 33 pacientes (87%) a continuar a responder à terapêutica na data da análise. Os efeitos adversos graves (grau 3 ou 4) foram mais frequentes no grupo da quimioterapia (31%) comparativamente ao grupo do nivolumab (9%), bem como a taxa de descontinuação da terapêutica devido a reações adversas (7,8% e 2,2%, respetivamente) (31).

Seguidamente, analisou-se a segurança nos 370 doentes que receberam pelo menos uma dose de tratamento. A maioria dos pacientes demonstrou efeitos adversos relacionados com o tratamento, 181 (68%) dos 268 no grupo do nivolumab e 81 (79%) dos 102 doentes no grupo da quimioterapia. Os efeitos adversos mais frequentes no grupo do nivolumab foram fadiga, prurido e diarreia e no grupo da quimioterapia náuseas, fadiga e alopecia. Os efeitos adversos de grau 3 ou 4 relacionados com o tratamento ocorreram em 24 (9%)

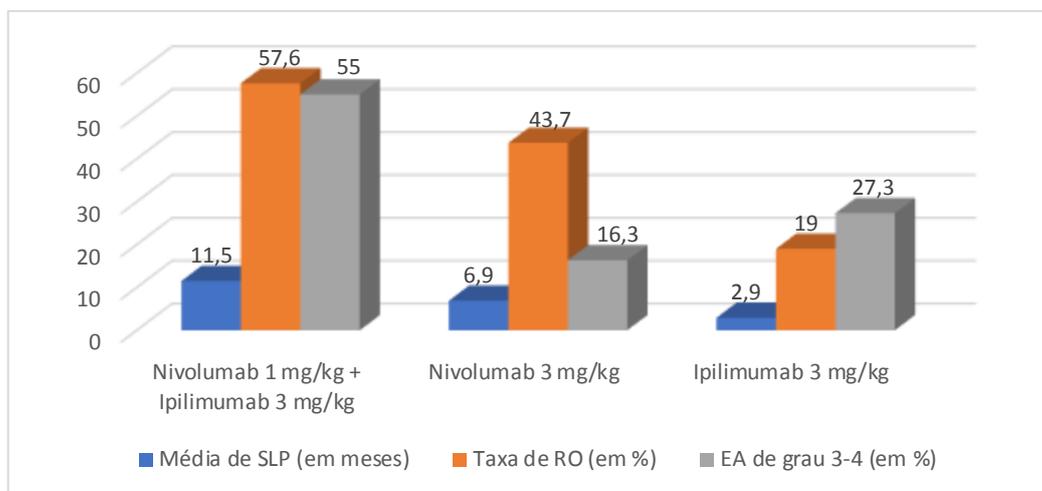
dos 268 no grupo do nivolumab e em 32 (31%) dos 102 doentes no grupo da quimioterapia. Os efeitos adversos de grau 3 ou 4 associados à administração de nivolumab incluem o aumento da lipase e da alanina aminotransferase, anemia e fadiga. No grupo da quimioterapia os efeitos adversos graves incluem neutropénia, trombocitopénia e anemia e não foram notadas diferenças nos efeitos adversos causados pelos agentes em estudo (dacarbazina, paclitaxel e carboplatina). A razão mais comum para descontinuação da terapêutica foi a progressão da doença: 116 (43%) dos 268 doentes no grupo do nivolumab e 62 (61%) no grupo da quimioterapia. Devido à toxicidade associada ao tratamento, 7 (3%) dos 268 doentes no grupo do nivolumab e 7 (7%) dos 102 doentes no grupo da quimioterapia descontinuaram, também, a terapêutica.

(36) O perfil de segurança do nivolumab e da quimioterapia neste ensaio clínico foi similar ao ensaio clínico de fase III previamente efetuado e que avaliou a segurança do nivolumab e da dacarbazina, sugerindo que a administração prévia de ipilimumab não afeta o perfil de segurança do nivolumab e da dacarbazina. Neste estudo, o nivolumab foi administrado com um mínimo de seis semanas após a última administração de ipilimumab, o que garante que após este período a sua administração é segura. Os sintomas na maioria dos pacientes foram resolvidos com corticosteróides. Somente dois pacientes a receber nivolumab necessitaram da administração de infliximab, um anti-TNF α . Podemos, então, concluir que o tratamento com nivolumab alcançou uma resposta objetiva num maior número de doentes com progressão da doença após a administração de ipilimumab ou ipilimumab e um inibidor do BRAF em doentes com mutação neste gene e uma menor toxicidade, comparativamente ao grupo de doentes tratados com os agentes citotóxicos antineoplásicos disponíveis para o tratamento do melanoma avançado (67).

4.4 Ensaios clínicos: CheckMate-067, CheckMate-069 e CheckMate-064

Atualmente, o nivolumab está também indicado na terapêutica do melanoma metastático em associação com o ipilimumab. Os resultados obtidos nos ensaios clínicos de fase III CheckMate-067 (Figura 4.6) e de fase II CheckMate-069 (Figura 4.7) e CheckMate-064 (Figura 4.8) conduziram à aprovação da associação acima supracitada.

4.4.1 Ensaio Clínico CheckMate-067



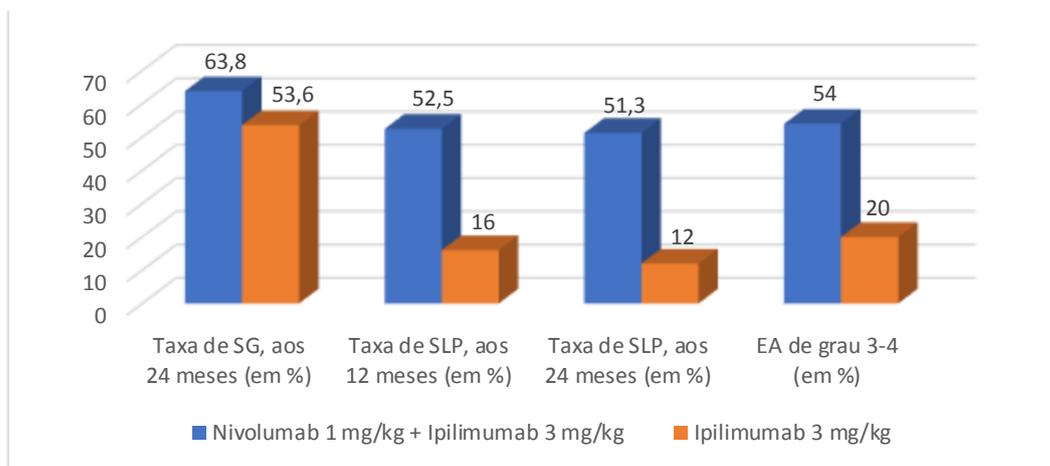
Legenda: SLP – Sobrevivência Livre de Progressão; RO – Resposta Objetiva; EA- Efeito Adverso

Figura 4.6 Resultados do ensaio clínico de fase III CheckMate-067

O CheckMate-067, um ensaio clínico de fase III duplamente cego, controlado e randomizado, avaliou a segurança e eficácia do nivolumab em monoterapia numa dose de 3 mg/kg a cada duas semanas e do nivolumab numa dose de 1 mg/kg a cada três semanas em associação com o ipilimumab numa dose de 3 mg/kg a cada três semanas, comparativamente ao ipilimumab em monoterapia numa dose de 3mg/kg a cada três semanas (68). Foram selecionados 945 doentes com melanoma metastático em estadio III ou IV, previamente não tratados (naïve), e distribuídos aleatoriamente numa proporção 1:1:1 nos três diferentes grupos. A média de sobrevivência livre de progressão da doença foi superior no grupo da associação (11,5 meses), comparativamente ao grupo do nivolumab (6,9 meses) e do ipilimumab (2,9 meses) em monoterapia. De igual forma, a taxa objetiva de resposta determinada foi superior no grupo do nivolumab em associação com o ipilimumab (57,6%), relativamente ao grupo do nivolumab (43,7%) e do ipilimumab (19%). Efeitos adversos graves (grau 3 ou 4) ocorreram em 55% dos doentes no grupo da associação e em 16,3% e 27,3% dos doentes no grupo do nivolumab e do ipilimumab, respetivamente. É, ainda, importante referir que quando se avaliou a média de sobrevivência livre de progressão em função da positividade ou negatividade tumoral do PD-L1 (quando num corte de 100 células tumorais a percentagem de células que expressam PD-L1 é superior ou inferior a 5%), esta foi de 14 meses no grupo da associação e do nivolumab em monoterapia nos doentes com melanomas PD-L1

positivos. No entanto, nos doentes com melanomas PD-L1 negativos a média de sobrevivência livre de progressão foi superior no grupo da associação (11,2 meses) em relação ao grupo do nivolumab em monoterapia (5,3 meses). Assim sendo, neste ensaio clínico a terapêutica com a associação nivolumab e ipilimumab foi superior em doentes com tumores PD-L1 negativos do que a monoterapia com nivolumab e ipilimumab enquanto que em doentes com tumores PD-L1 positivos não existiram diferenças significativas entre a associação e o nivolumab em monoterapia (69).

4.4.2 Ensaio Clínico CheckMate-069



Legenda: SG- Sobrevivência Global; SLP – Sobrevivência Livre de Progressão; EA- Efeito Adverso

Figura 4.7. Resultados do ensaio clínico de fase II CheckMate-069

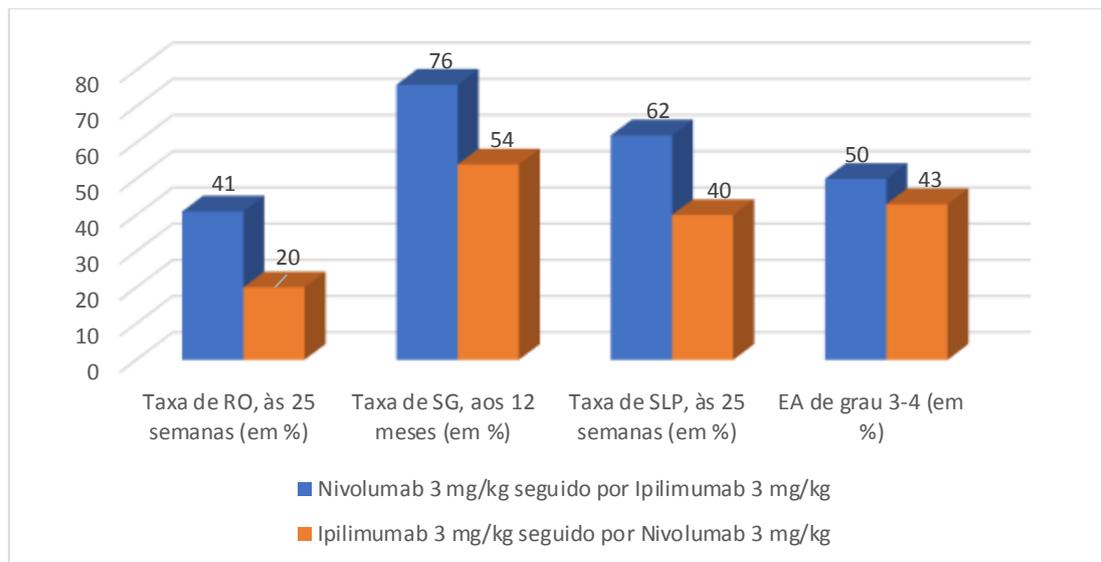
O CheckMate-069, um ensaio clínico de fase II, multicentro, duplamente cego, controlado e randomizado avaliou a sobrevivência global durante dois anos de doentes naïve com melanoma em estadio III ou IV irressecável que receberam tratamento com nivolumab associado a ipilimumab ou ipilimumab em monoterapia. Foram selecionados 142 doentes e distribuídos aleatoriamente pelos dois grupos em estudo numa proporção de 2:1. Desta forma, foram incluídos 95 doentes no grupo da associação do nivolumab numa dose de 1 mg/kg com o ipilimumab numa dose de 3 mg/kg e 47 no grupo do ipilimumab em monoterapia numa dose de 3 mg/kg. O tratamento foi efetuado a cada três semanas para um total de quatro doses. Posteriormente, os doentes incluídos no grupo da associação do nivolumab com o ipilimumab receberam 3 mg/kg de nivolumab a cada 2 semanas até progressão da doença ou toxicidade inaceitável enquanto que os pacientes

alocados no grupo do ipilimumab em monoterapia receberam placebo a cada 2 semanas (70). Com uma média de seguimento de 24,5 meses, a sobrevivência global dos doentes dois anos após o início do tratamento foi de 63.8% no grupo da associação e de 53.6% no grupo do ipilimumab. A taxa de sobrevivência livre de progressão calculada após 1 e 2 anos foi, respetivamente, de 52.5% e 51.3% no grupo da associação e de 16% e 12% no grupo do ipilimumab. Foram reportados efeitos adversos de grau 3 ou 4 em 54% dos pacientes que receberam tratamento com nivolumab e ipilimumab em associação e em 20% dos pacientes que receberam ipilimumab em monoterapia. Os efeitos adversos mais comuns observados foram colite e o aumento da alanina aminotransferase no grupo da associação terapêutica e diarreia e hipofisite no grupo do ipilimumab. Neste ensaio clínico de fase II em doentes com melanoma metastático previamente não tratados, a associação do nivolumab e do ipilimumab está associada a um maior número de doentes com resposta objetiva e a um aumento da sobrevivência livre de progressão comparativamente ao ipilimumab em monoterapia. As razões mais frequentes para descontinuação da terapêutica foram a progressão da doença em 18% dos doentes no grupo da associação e em 41% dos doentes no grupo do ipilimumab e a toxicidade observada, em 49% dos doentes no grupo da associação e 22% no grupo do ipilimumab. Podemos, então, concluir que a taxa de sobrevivência livre de progressão foi superior no grupo da associação comparativamente ao ipilimumab em monoterapia (70).

Este ensaio clínico demonstrou que não existem diferenças na taxa de resposta entre os grupos PD-L1 positivos e negativos quando os doentes recebem terapêutica com o nivolumab e o ipilimumab em combinação. Por outro lado, o CheckMate 067 demonstrou uma maior taxa de resposta no grupo PD-L1 positivo do que no grupo PD-L1 negativo quando os doentes receberam terapêutica com o nivolumab e o ipilimumab em combinação ou com o nivolumab em monoterapia. A expressão de PD-L1 é variável em diferentes lesões metastáticas no mesmo doente e a resposta ao tratamento com anti-PD-1 depende da carga mutacional do tumor e da pré-existência intratumoral de células CD8+, baseado em ensaios pré-clínicos. Assim sendo, o impacto do prognóstico em função da expressão de PD-L1 necessita de investigação adicional. (71) Em estudos recentes, um aumento da quantidade do recetor das células T (TCR) foi observado em pacientes tratados com anti-CTLA-4 e demonstrou-se que os agentes anti-PD-1 induzem a proliferação das células TCD8+ intratumorais em doentes que respondem à terapêutica. Assim, a combinação do tratamento anti-CTLA-4 com anti-PD-1 demonstrou diferentes

efeitos imunológicos *in vivo* quando comparados com os agentes em monoterapia. Desta forma, as diferenças biológicas observadas entre estes dois agentes nos respectivos mecanismos de ação conduzem à heterogeneidade observada nas respectivas respostas clínicas (71).

4.4.3 Ensaio Clínico CheckMate-064



Legenda: RO – Resposta Objetiva; SG – Sobrevivência Global; SLP – Sobrevivência Livre de Progressão; EA- Efeito Adverso

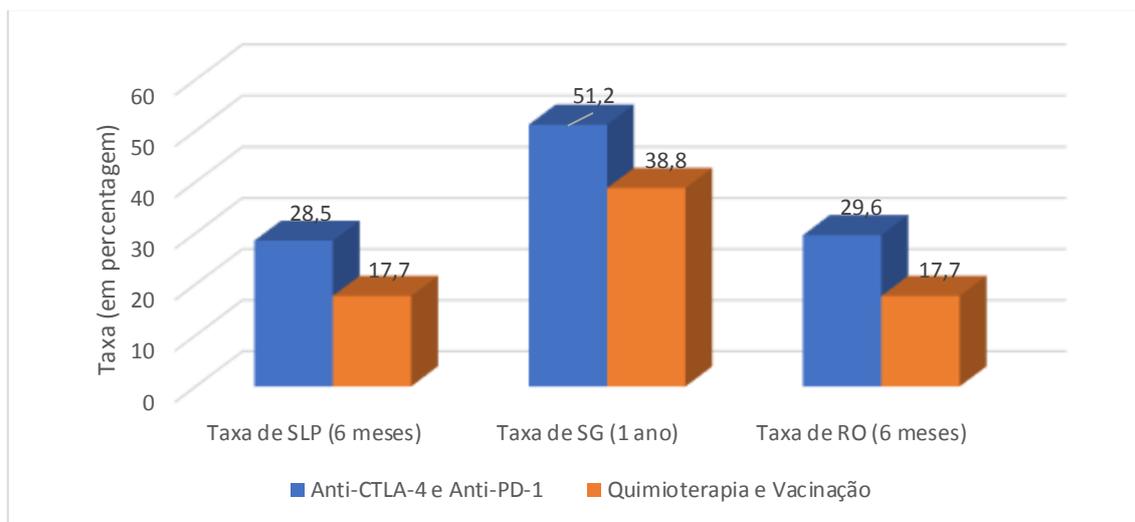
Figura 4.8 Resultados do ensaio clínico de fase II CheckMate-064

O CheckMate-064, um ensaio clínico de fase II, aberto e randomizado avaliou a segurança e a eficácia da administração sequencial de nivolumab e ipilimumab em doentes com melanoma avançado. Foram selecionados 140 doentes e distribuídos aleatoriamente na proporção de 1:1. Administrou-se intravenosamente 3 mg/kg de nivolumab (n=70) a cada 2 semanas num total de 6 doses seguido por 3 mg/kg de ipilimumab (n=70) a cada 3 semanas para um total de 4 doses, ou a sequência inversa. Após a fase de indução ambos os grupos receberam intravenosamente 3 mg/kg de nivolumab a cada 2 semanas até progressão da doença ou toxicidade inaceitável. A proporção de doentes com resposta às 25 semanas foi superior no grupo do nivolumab seguido do ipilimumab (41%) comparativamente à sequência inversa (20%). Na 13ª semana, a progressão da doença foi confirmada em 38% dos doentes a fazer nivolumab seguido de ipilimumab e em 61% dos doentes no grupo em tratamento com a sequência inversa. Na 25ª semana, observou-se uma taxa de progressão da doença em 38% e 60% dos doentes, respetivamente. A taxa de

sobrevivência global aos 12 meses foi superior no grupo do nivolumab seguido de ipilimumab do que a sequência inversa, 76% e 54%, respetivamente. A ocorrência de efeitos adversos de grau 3-5 no grupo do nivolumab seguido do ipilimumab é de 50% e na sequência inversa de 43%. Assim sendo, podemos concluir que aparentemente a administração de nivolumab seguida de ipilimumab tem mais benefícios clínicos do que a sequência inversa, apesar de ter uma frequência de efeitos adversos superior (72).

4.5 Meta-análise: anticorpos monoclonais vs quimioterapia e gp100

Foi realizada uma meta-análise que pretendeu avaliar os resultados globais da administração dos anticorpos monoclonais, atualmente utilizados no tratamento do melanoma em estadio IV (ipilimumab, pembrolizumab e nivolumab) e compará-los em simultâneo com a terapêutica convencional anteriormente utilizada, a quimioterapia e com a vacinação com a gp100.



Legenda: SLP – Sobrevivência Livre de Progressão; SG – Sobrevivência Global; RO – Resposta Objetiva

Figura 4.9 Resultados da meta-análise: anticorpos monoclonais vs quimioterapia e gp100

A meta-análise realizada incluiu ensaios clínicos randomizados que avaliam a eficácia dos anticorpos monoclonais anti-CTLA-4 (ipilimumab e tremelimumab) e anti-PD-1 (nivolumab e pembrolizumab) com a terapêutica convencional, a quimioterapia (dacarbazina, carboplatina, temozolamida ou plactaxel) e com a vacinação com gp100 em doentes com melanoma metastático cutâneo. Foram seleccionados 3196 doentes com melanoma metastático cutâneo com idades compreendidas entre os 56 e os 66 anos. Dos

3196 doentes, 1960 receberam terapêutica com os anticorpos monoclonais anti-CTLA-4 ou anti-PD-1 e 1236 receberam quimioterapia ou a vacina gp100. Foi observada uma taxa de sobrevivência livre de progressão aos 6 meses de 28.5% no grupo em tratamento com os anticorpos monoclonais e de 17.7% no grupo da quimioterapia e da vacina gp100, respetivamente. A taxa de sobrevivência global 12 meses após o início da terapêutica foi de 51.2% e 38.8% e a taxa de resposta objetiva 6 meses após o início do tratamento foi de 29.6% e 17.7%, no grupo dos anticorpos monoclonais e no grupo da quimioterapia e da vacina gp100, respetivamente. Por outro lado, observou-se que os anticorpos monoclonais anti-CTLA-4 e anti-PD-1 estão mais frequentemente associados a efeitos adversos relacionados com o sistema imunitário do que a quimioterapia e a vacinação, numa proporção de 13.7% para 2.4%, respetivamente. (33) Análises a subgrupos demonstraram que as taxas de sobrevivência livre de progressão e de resposta global obtidas com os anticorpos monoclonais anti-PD-1 são superiores às mesmas quando se utilizam anticorpos anti-CTLA-4. Podemos concluir que os resultados obtidos com os anticorpos monoclonais foram superiores aos observados com a quimioterapia convencional ou com a vacinação e que os anticorpos anti-PD-1 demonstraram respostas mais favoráveis do que o ipilimumab em doentes com melanoma metastático cutâneo. Os anticorpos monoclonais estão associados a um risco elevado de efeitos adversos imunes graves, ocorrendo entre 10 a 40% dos doentes em tratamento. A maioria dos efeitos adversos de grau 3 ou 4 podem ser efetivamente controlados com terapêutica sistémica com corticosteróides ou com infliximab, no entanto, a profilaxia com budesonida demonstrou não ser eficaz na prevenção dos mesmos (33). Um ensaio clínico realizado em 2014 demonstrou que o sargramostim (GM-CSF), uma citocina responsável por aumentar a ativação das células dendríticas e potenciar a ação antitumoral efetuada pelas células T e B, em combinação com o ipilimumab (10 mg/kg) aumenta a eficácia do tratamento (aumenta a sobrevivência global) e reduz os efeitos adversos, especificamente os gastrointestinais e os pulmonares, pelo que futuramente esta associação poderá vir a ser promissora (73).

6. Conclusão

A imunoterapia veio revolucionar a terapêutica do doente com melanoma metastático, melhorando o prognóstico anteriormente associado a este estadió da doença. Ao longo do tempo surgiram várias opções terapêuticas no campo da imunoterapia, tais como o interferão- α e o interferão- α peguilado, a interleucina-2, a terapia celular adotiva e o vírus oncolítico talimogene laherparepvec. No entanto, foi graças ao desenvolvimento de anticorpos monoclonais que inibem pontos de controlo imunológicos específicos que a imunoterapia demonstrou ganhar uma maior importância. Desta forma, surgiram duas novas classes de anticorpos monoclonais, com diferentes mecanismos de ação, nomeadamente, antagonistas do antígeno 4 dos linfócitos T citotóxicos (anti-CTLA-4) e do recetor da proteína de morte programada-1 (anti-PD-1).

O ipilimumab, um anticorpo anti-CTLA-4, foi o primeiro a ser desenvolvido e aprovado em 2011, pela EMA e pela FDA para o tratamento do melanoma metastático. O tremelimumab, outro anticorpo anti-CTLA-4, também foi desenvolvido e avaliado. No entanto, não demonstrou benefícios clínicos quando comparado com a quimioterapia. Seguidamente, foram aprovados dois anticorpos monoclonais anti-PD-1, o pembrolizumab e o nivolumab. Estes anticorpos demonstraram aumentar a sobrevivência livre de progressão da doença e alcançaram taxas de resposta objetiva e de sobrevivência global superiores, quando comparados com a quimioterapia, a terapêutica convencional. Por outro lado, também demonstraram obter um melhor perfil de segurança. Desta forma, vieram substituir a quimioterapia como terapêutica de primeira linha que é, atualmente, utilizada em doentes não respondedores a outro tipo de tratamento ou como terapêutica de suporte. É importante referir que a quimioterapia não demonstrou obter um impacto significativo no aumento da sobrevivência dos doentes com melanoma metastático.

Aliada à imunoterapia surgiu uma nova terapêutica que é utilizada em doentes que possuam melanomas com mutações no oncogene BRAF, principalmente, a mais comum, a mutação V600. No entanto, estas mutações são encontradas em apenas 50% dos doentes com melanoma, pelo que, apenas estes podem beneficiar clinicamente da sua ação. Atualmente, recomenda-se a utilização de um inibidor do gene BRAF em associação com um inibidor da quinase MEK, dado que a mesma demonstrou obter uma eficácia superior aos respetivos agentes em monoterapia.

O ipilimumab, por ser o primeiro anticorpo monoclonal a ser utilizado e ter demonstrado uma eficácia superior e um melhor perfil de segurança, comparativamente à quimioterapia, até então, a terapêutica padrão, foi durante algum tempo utilizado como terapêutica de primeira linha no tratamento do melanoma metastático. Seguidamente, surgiu o pembrolizumab e, posteriormente, o nivolumab. O nivolumab é o anticorpo monoclonal associado a um maior benefício clínico, seguindo-se o pembrolizumab e, por último o ipilimumab. Atualmente, recomenda-se como primeira linha a utilização de um anticorpo monoclonal anti-PD-1 ou a associação do nivolumab com o ipilimumab.

Segundo o ensaio clínico CheckMate-067 a utilização do nivolumab em associação com o ipilimumab demonstrou uma maior eficácia em doentes com melanomas com expressão do ligando 1 do recetor da proteína de morte programada-1, o PD-L1, em baixos níveis. No entanto, o CheckMate-069 demonstrou que não existem diferenças na eficácia desta associação em doentes com melanoma com expressão positiva e negativa de PD-L1. Desta forma, a utilização do PD-L1 como biomarcador de resposta necessita de investigação adicional. Atualmente, a associação de nivolumab com o ipilimumab é recomendada em todos os doentes com melanoma metastático. É importante referir que esta associação demonstrou estar associada a uma maior ocorrência de efeitos adversos, pelo que o perfil de toxicidade deve ser tido em consideração.

A escolha da opção terapêutica mais adequada a cada caso deve ter em conta as características individuais dos doentes e do tumor. Devem ser realizados testes genéticos, principalmente para deteção de mutações no gene BRAF e devem ser realizadas pesquisas de biomarcadores tumorais, destacando-se a deteção dos níveis de expressão de PD-L1 pelas células tumorais, embora a sua utilidade ainda esteja em investigação. Outros biomarcadores são de igual importância e permitem avaliar o estadió em que se encontra a doença bem como a sua evolução, entre eles destacam-se os níveis de lactato desidrogenase, da proteína S100- β e da proteína MIA. A deteção de níveis elevados destas proteínas no soro são fatores preditivos de um mau prognóstico.

É, ainda, importante ter em conta a resposta que se quer obter, ou seja, uma resposta de ação imediata ou prolongada no tempo, uma vez que a resposta aos anticorpos monoclonais pode surgir meses após o início da terapêutica (resposta tardia), podendo observar-se progressão das lesões metastáticas existentes ou aparecimento de novas lesões até verificação de melhorias. No entanto, a resposta alcançada é uma resposta

duradoura. Por outro lado, os inibidores do BRAF obtêm uma resposta imediata, mas de ação curta.

Atualmente, existem outros fármacos no campo da imunoterapia a serem avaliados em ensaios clínicos pelo que esta continuará a ser uma terapêutica promissora. Os principais objetivos futuros irão incluir a definição destes anticorpos monoclonais como terapêutica adjuvante, a identificação de combinações ótimas destes agentes e o desenvolvimento de biomarcadores preditivos da melhor seleção terapêutica para cada paciente individualmente!

7. Bibliografia

1. Pitcovski J, Shahar E, Aizenshtein E, Gorodetsky R. Melanoma antigens and related immunological markers. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2017;115:36–49.
2. Force J, Salama A. First-line treatment of metastatic melanoma: role of nivolumab. *ImmunoTargets Ther.* 2017;6:1–10.
3. Heppt M V., Steeb T, Schlager JG, Rosumeck S, Dressler C, Ruzicka T, et al. Immune checkpoint blockade for unresectable or metastatic uveal melanoma: A systematic review. *Cancer Treat Rev.* 2017;60:44–52.
4. Heppt M V., Roesch A, Weide B, Gutzmer R, Meier F, Loquai C, et al. Prognostic factors and treatment outcomes in 444 patients with mucosal melanoma. *Eur J Cancer.* 2017;81:36–44.
5. Ayala-arcipreste A. Melanocytoma and meningeal melanocytosis, similar but different lesions. *Cir Cir.* 2017;85(3):273-278.
6. Luke JJ, Flaherty KT, Ribas A, Long G V. Targeted agents and immunotherapies: optimizing outcomes in melanoma. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017.
7. Coit DG, Thompson JA, Algazi A. et al. NCCN Guideline, Melanoma, Version 2.2016. *J Natl Compr Canc Netw.* 2016;14(4):450–473.
8. World Health Organization. Skin cancers. WHO. 2017 [cited 2017 8 July]. Available from: <http://www.who.int/uv/faq/skincancer/en/index2.html>
9. Garbe C, Peris K, Hauschild A, Saiag P, Middleton M, Bastholt L, et al. Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline - Update 2016. *Eur J Cancer.* 2016;63:201–217.
10. Verzi AE, Bublej JA, Haugh AM, Zhang B, Wagner A, Kruse L, et al. A single-institution assessment of superficial spreading melanoma (SSM) in the pediatric population: Molecular and histopathologic features compared with adult SSM. *J Am Acad Dermatol.* 2017;1–7.
11. Saaiq M, Ashraf B, Siddiqui S. Nodular Melanoma. *Iran J Med Sci.* 2016;41(2):164-165.
12. Hibler BP, Connolly KL, Lee EH, Rossi AM, Nehal KS. Lentigo maligna melanoma with a history of cosmetic treatment: Prevalence, surgical outcomes and considerations. *Lasers Surg Med.* 2017;1-8.
13. Teramoto Y, Keim U, Gesierich A, Schuler G, Garbe C, et al. Acral lentiginous melanoma - a skin cancer with unfavourable prognostic features. A study of the German Central Malignant Melanoma Registry (CMMR) in 2050 patients. *Br J Dermatol.* 2016.

14. Apalla Z, Lallas A, Sotiriou E, Lazaridou E, Ioannides D. Epidemiological trends in skin cancer. *Dermatol Pract Concept*. 2017;7(2):1.
15. Gupta AK, Bharadwaj M, Mehrotra R. Skin Cancer Concerns in People of Color : Risk Factors and Prevention. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016;17(12):5257–64.
16. Rutkowski P, Kozak K. News from the melanoma sessions of the European Cancer Congress 2017. *BMC Med*. 2017;15(1):57.
17. Autier P, Koechlin A, Boniol M. 1144 - Prediction of numbers of melanoma deaths by 2050. *Eur J Cancer*. 2017;72(1):123–4.
18. National Cancer Institute. Melanoma of the Skin - Cancer Stat Facts. NCI. [cited 2017 25 June]. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/melan.html>
19. Associação Portuguesa de Cancro Cutâneo. Agressão solar da pele por Osvaldo Correia. APCC. 2012 [cited 2017 6 June]. Available from: <http://www.apcancrocutaneo.pt/index.php/prevencao/saiba-mais/28-agressao-solar-da-pele-por-osvaldo-correia>
20. Ivashko IN, Kolesar JM. Pembrolizumab and nivolumab: PD-1 inhibitors for advanced melanoma. *Am J Heal Pharm*. 2016;73(4):193–201.
21. Pyo J-S, Kang G. Immunotherapy in advanced melanoma: a network meta-analysis. *Immunotherapy*. 2017;9(6):471–479.
22. Dummer R, Hauschild A, Lindenblatt N, Pentheroudakis G, Keilholz U. Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2015;26(5):126–132.
23. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, Thompson JF, Atkins MB, Byrd DR, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol*. 2009;27(36):6199–6206.
24. O'Reilly A, Larkin J. Checkpoint inhibitors in advanced melanoma: effect on the field of immunotherapy. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2017;1744-8328.
25. American Cancer Society. What is cancer immunotherapy? ACS. 2017 [cited 2017 20 July]. Available from: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/immunotherapy/what-is-immunotherapy.html>
26. Achkar T, Tarhini AA. The use of immunotherapy in the treatment of melanoma. *J Hematol Oncol*. 2017;10(1):88.
27. Agha A, Tarhini AA. Adjuvant Therapy for Melanoma. *Curr Oncol Rep*. 2017;19:36.
28. Dummer R, Hoeller C, Gruter IP, Michielin O. Combining talimogene laherparepvec with immunotherapies in melanoma and other solid tumors. *Cancer Immunol Immunother*. 2017;66:683–695.

29. Ratterman M, Hallmeyer S, Richards J. Sequencing of New and Old Therapies for Metastatic Melanoma. *Curr Treat Options Oncol*. 2016;17:52.
30. Redman JM, Gibney GT, Atkins MB. Advances in immunotherapy for melanoma management. *BMC Med*. 2016;14:20.
31. Jazirehi AR, Lim A, Dinh T. PD-1 inhibition and treatment of advanced melanoma-role of pembrolizumab. *Am J Cancer Res*. 2016;6(10):2117–2128.
32. Lee N, Zakka LR, Mihm MC, Schatton T. Tumour-infiltrating lymphocytes in melanoma prognosis and cancer immunotherapy. *Pathology*. 2015;48(2):177–187.
33. Baruch EN, Berg AL, Besser MJ, Schachter J, Markel G. Adoptive T cell therapy: An overview of obstacles and opportunities. *Cancer*. 2017;123:2154–2162.
34. Andtbacka RHI, Kaufman HL, Collichio F, Amatruda T, Senzer N, Chesney J, et al. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol*. 2015;33(25):2780–2788.
35. Corrigan PA, Beaulieu C, Patel RB, Lowe DK. Talimogene Laherparepvec: An Oncolytic Virus Therapy for Melanoma. *Ann Pharmacother*. 2017;51(8):675–81.
36. Ribas A, Dummer R, Puzanov I, et al. Oncolytic Virotherapy Promotes Intratumoral T Cell Infiltration and Improves Anti-PD-1 Immunotherapy. *Cell*. 2017;170(6):1109–1119.
37. Franklin C, Livingstone E, Roesch A, Schilling B, Schadendorf D. Immunotherapy in melanoma: Recent advances and future directions. *Eur J Surg Oncol*. 2016;43(3):604–11.
38. Specenier P. Ipilimumab in melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2016;12(12):1511–21.
39. Comin-Anduix B, Escuin-Ordinas H, Ibarondo FJ. Tremelimumab: research and clinical development. *Onco Targets Ther*. 2016;9:1767–76.
40. European Medicines Agency. Yervoy : EPAR - Product Information. EMA. 2017 [cited 2017 20 July]. Available from: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/002213/human_med_001465.jsp&mid=WC0b01ac058001d124
41. European Medicines Agency. Yervoy: EPAR - Summary for the public. EMA. 2013 [cited 2017 20 July]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/002213/WC500109303.pdf
42. Volpe VO, Klufas DM, Hegde U, Grant-Kels JM. The new paradigm of systemic therapies for metastatic melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2017;77(2):356–368.

43. Bristol-Myers Squibb. U.S. Food and Drug Administration Expands Approval of Yervoy® (ipilimumab) to Include Pediatric Patients 12 Years and Older with Unresectable or Metastatic Melanoma. BMS. 2017 [cited 2017 1 September] Available from: <https://news.bms.com/press-release/corporatefinancial-news/us-food-and-drug-administration-expands-approval-yervoy-ipilim>
44. Merchant MS, Wright M, Baird K, Wexler LH, Rodriguez-Galindo C, Bernstein D, et al. Phase 1 Clinical Trial of Ipilimumab in Pediatric Patients with Advanced Solid Tumors. *Clin Cancer Res.* 2016;22(6):1364–1370.
45. Specenier P. Pembrolizumab use for the treatment of advanced melanoma. *Expert Opin Biol Ther.* 2017.
46. Daud AI, Wolchok JD, Robert C, Hwu WJ, Weber JS, Ribas A, et al. Programmed death-ligand 1 expression and response to the anti-programmed death 1 antibody pembrolizumab in melanoma. *J Clin Oncol.* 2016;34(34):4102–9.
47. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. *Am J Clin Oncol.* 2016;39(1):98–106.
48. European Medicines Agency. Keytruda: EPAR - Product Information. EMA. 2017 [cited 2017 1 September] Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003820/WC500190990.pdf
49. European Medicines Agency. Opdivo: EPAR - Product Information. EMA. 2017 [cited 2017 1 September]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003985/WC500189765.pdf
50. Kang SP, Gergich K, Lubiniecki GM, Alwis DP De, Chen C, Melissa AB. Pembrolizumab KEYNOTE-001: An adaptive study leading to accelerated approval for two indications and a companion diagnostic. *Ann Oncol.* 2017;28(6):1388–98.
51. Martin-liberal J, Kordbacheh T, Larkin J. Safety of pembrolizumab for the treatment of melanoma. *Expert Opin. Drug Saf.* 2015.14(6):957-964.
52. Larkin J, Reilly AO. The safety of nivolumab for the treatment of metastatic melanoma. *Expert Opin Drug Saf.* 2017.
53. Guo L, Zhang H, Chen B. Nivolumab as Programmed Death-1 (PD-1) Inhibitor for Targeted Immunotherapy in Tumor. *J Cancer.* 2017;8(3):410–416.
54. European Medicines Agency. Opdivo – EPAR: Summary for the public. EMA. 2017 [cited 2017 20 August]. Available from: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/003985/human_med_001876.jsp&mid=WC0b01ac058001d124

55. Felix J, Cassinat B, Porcher R, Schlageter MH, Maubec E, Pages C, et al. Relevance of serum biomarkers associated with melanoma during follow-up of anti-CTLA-4 immunotherapy. *Int Immunopharmacol*. 2016;40:466–73.
56. National Institute for Health and Care Excellence. Melanoma Overview. NICE Pathways. 2017.
57. National Institute for Health and Care Excellence. Systemic anticancer treatment for stage IV melanoma. NICE Pathways. 2017.
58. National Institute for Health and Care Excellence. Ipilimumab for previously treated advanced (unresectable or metastatic) melanoma. NICE. 2012.
59. National Institute for Health and Care Excellence. Ipilimumab for previously untreated advanced (unresectable or metastatic) melanoma. NICE. 2014.
60. National Institute for Health and Care Excellence. Pembrolizumab for treating advanced melanoma after disease progression with ipilimumab. NICE. 2015.
61. National Institute for Health and Care Excellence. Pembrolizumab for advanced melanoma not previously treated with ipilimumab. NICE. 2015.
62. National Institute for Health and Care Excellence. Nivolumab for treating advanced (unresectable or metastatic) melanoma. NICE. 2016.
63. National Institute for Health and Care Excellence. Nivolumab in combination with ipilimumab for treating advanced melanoma. NICE. 2016.
64. Ribas A, Puzanov I, Dummer R, Schadendorf D, Hamid O, Robert C, et al. Pembrolizumab versus investigator-choice chemotherapy for ipilimumab-refractory melanoma (KEYNOTE-002): A randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(8):908–18.
65. Schachter J, Ribas A, Long G V, Arance A, Grob J-J, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab for advanced melanoma: final overall survival results of a multicentre, randomised, open-label phase 3 study (KEYNOTE-006). *Lancet*. 2017;6736(17):1–10.
66. Long G V., Atkinson V, Ascierto PA, Robert C, Hassel JC, Rutkowski P, et al. Effect of nivolumab on health-related quality of life in patients with treatment-naïve advanced melanoma: results from the phase III CheckMate 066 study. *Ann Oncol*. 2016;27:1940-1946.
67. Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): A randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(4):375–84.

68. Hao C, Tian J, Liu H, Li F, Niu H, Zhu B. Efficacy and safety of anti-PD-1 and anti-CTLA-4 immunotherapy to advanced melanoma. *Medicine*. 2017;96(26):e7325.
69. Schadendorf D, Larkin J, Wolchok J, Hodi FS, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Health-related quality of life results from the phase III CheckMate 067 study. *Eur J Cancer*. 2017;82:80–91.
70. Hodi FS, Chesney J, Pavlick AC, Robert C, Grossmann KF, McDermott DF, et al. Combined nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab alone in patients with advanced melanoma: 2-year overall survival outcomes in a multicentre, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(11):1558–68.
71. Yun S, Vincelette ND, Green MR, Wahner Hendrickson AE, Abraham I. Targeting immune checkpoints in unresectable metastatic cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis of anti-CTLA-4 and anti-PD-1 agents trials. *Cancer Med*. 2016;5(7):1481–1491.
72. Weber JS, Hu D, Gibney G, Sullivan RJ, Sosman JA, et al. Sequential administration of nivolumab and ipilimumab with a planned switch in patients with advanced melanoma (CheckMate 064): an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(7):943-955.
73. Hodi FS, Lee S, McDermott DF, et al. Sargramostim plus Ipilimumab vs Ipilimumab Alone for Treatment of Metastatic Melanoma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2014;312(17):1744-1753.