



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CEILÂNDIA  
CURSO DE FARMÁCIA**

**THAYNÁ MUNDIM DE AMORIM**

**CÉLULAS SUPRESSORAS MIELOIDES E CÉLULAS T REGULATÓRIAS NA  
IMUNOTERAPIA ANTICÂNCER.**

**BRASÍLIA, 2022.**

THAYNÁ MUNDIM DE AMORIM

**CÉLULAS SUPRESSORAS MIELOIDES E CÉLULAS T REGULATÓRIAS NA  
IMUNOTERAPIA ANTICÂNCER.**

Monografia de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutica, Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília.

**Orientador: Dr. Victor Carlos Mello da Silva**

**Co-orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliana Fortes Gris**

BRASÍLIA, 2022.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

MM965c MUNDIM DE AMORIM, THAYNÁ  
CÉLULAS SUPRESSORAS MIELOIDES E CÉLULAS T REGULATÓRIAS NA  
IMUNOTERAPIA ANTICÂNCER. / THAYNÁ MUNDIM DE AMORIM;  
orientador Victor Carlos Mello da Silva; co-orientador  
Eliana Fortes Gris. -- Brasília, 2022.  
60 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de  
Brasília, 2022.

1. Imunoterapia. 2. Câncer. 3. MDSC. 4. Treg. I. Mello  
da Silva, Victor Carlos, orient. II. Fortes Gris, Eliana,  
co-orient. III. Título.

THAYNÁ MUNDIM DE AMORIM

**CÉLULAS SUPRESSORAS MIELOIDES E CÉLULAS T REGULATÓRIAS NA  
IMUNOTERAPIA ANTICÂNCER.**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador (a): Dr. Victor Carlos Mello da Silva  
(Universidade de Brasília - UnB)

---

Co-Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliana Fortes Gris  
(Universidade de Brasília - UnB)

---

Ma. Karen Letycia Rodrigues de Paiva  
(Universidade de Brasília - UnB)

---

Marina Mesquita Simões  
(Universidade de Brasília – UnB)

BRASÍLIA, 2022.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	5
ABSTRACT .....	6
LISTA DE FIGURAS .....	7
LISTA DE SIGLAS .....	8
<b>CAPÍTULO I</b> .....	10
Apresentação do referencial teórico e objetivos.....	10
1. INTRODUÇÃO .....	11
2. REFERENCIAL BIBLIOGRAFICO.....	12
Imunoterapia Anticâncer .....	12
TREGS .....	14
Tregs e o Câncer.....	15
MDSCs .....	21
MDSCs e o Câncer .....	23
CHECKPOINTS IMUNOLÓGICOS .....	27
3. JUSTIFICATIVA.....	30
4. OBJETIVOS .....	32
Objetivos Específicos.....	32
5. METODOLOGIA .....	33
<b>CAPÍTULO II</b> .....	34
Artigo a ser submetido na revista X.....	34
<b>CÉLULAS SUPRESSORAS MIELOIDES E CÉLULAS T REGULATÓRIAS NA IMUNOTERAPIA ANTICÂNCER</b> .....	35
<b>MYELOID SUPPRESSOR CELLS AND REGULATORY T CELLS IN ANTI-CANCER IMMUNOTHERAPY</b> .....	35
<b>RESUMO</b> .....	35
<b>ABSTRACT</b> .....	35
6. INTRODUÇÃO .....	36
7. REFERENCIAL BIBLIOGRAFICO.....	37
Imunoterapia Anticâncer .....	37
TREGS .....	39
Tregs e o Câncer.....	40
MDSCs .....	46
MDSCs e o Câncer .....	48
CHECKPOINTS IMUNOLÓGICOS .....	52

CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 54  
REFERÊNCIAS ..... 57  
ANEXAR AS NORMAS DA REVISTA ESCOLHIDA ..... 61

## RESUMO

Artigos atuais demonstram amplos estudos para novos tratamentos em oncologia que incluem a ação do sistema imunitário. Assim, pode-se explorar na imunoterapia anticâncer novas possibilidades de tratamentos que possibilitem a redução de efeitos adversos quando comparada as terapias convencionais, como a quimioterapia. Nesse seguimento, as células supressoras de mielóide (MDSC) e as células T regulatórias (Treg), veem sendo alvo de diversos estudos, visto que elas se apresentam relacionadas à progressão do câncer, estando presentes em níveis elevados no tecido tumoral de pacientes com a doença. Nesta revisão, são abordados dados sobre as características das MDSCs e Tregs em relação à imunidade tumoral, observando-se como os mecanismos de ação dessas células poderão ser alvos de terapias antitumorais. Sendo, portanto, um avanço na imunoterapia anticâncer a redução dessas células no microambiente tumoral (TME), aumentando assim a imunidade antitumoral, visto que tanto MDSC quanto Treg estão associadas ao prognóstico negativo do câncer. Observando-se no bloqueio de checkpoints imunitários por anticorpos, um caminho promissor para buscar alcançar tal objetivo de redução dessas células.

**Palavras-chave:** Imunoterapia, Câncer, MDSC, Treg.

## ABSTRACT

Current articles demonstrate extensive studies for new treatments in oncology that include the action of the immune system. Thus, new possibilities of treatments can be explored in anticancer immunotherapy that allow the reduction of adverse effects when compared to conventional therapies, such as chemotherapy. In this follow-up, myeloid suppressor cells (MDSC) and regulatory T cells (Treg) have been the target of several studies, since they are related to cancer progression, being present in high levels in the tumor tissue of patients with the disease. In this review, data on the characteristics of MDSCs and Tregs in relation to tumor immunity are discussed, observing how the mechanisms of action of these cells may be targets of antitumor therapies. Therefore, an advance in anticancer immunotherapy is the reduction of these cells in the tumor microenvironment (TME), thus increasing antitumor immunity, since both MDSC and Treg are associated with a negative prognosis of cancer. Observing the blocking of immune checkpoints by antibodies, a promising way to seek to achieve this objective of reducing these cells.

**Keywords:** Immunotherapy, Cancer, MDSC, Treg.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ataque do sistema imunitário ao tumor, em sete etapas. ....	13
Figura 2 - Mecanismos de imunossupressão mediados por Tregs e potencial terapêutico na imunossupressão.....	19
Figura 3 - Diferentes mecanismos empregados por MDSCs para mediar a imunossupressão .....	22
Figura 4 - Fatores estimuladores e inibidores no ciclo de ataque do sistema imunitário ao tumor.....	28

## LISTA DE SIGLAS

5-FU	5-Fluorouracil
ADCC	Células Dependentes de Anticorpos
APC	Células Apresentadoras de Antígenos
ARG-1	Arginase 1
ATP	Trifosfato de Adenosina
ATRA	Ácido Trans-Retinóico (All-Trans Retinoic Acid [Atra])
COX2	Ciclooxygenase-2
CTLA4	Linfócito T Citotóxico Associado A Proteína – 4
DAMPs	Padrões Moleculares Associados a Dano Celular
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FATP2	Proteína De Transporte de Ácidos Graxos 2
FOXP3	Forkhead Box P3
GM-CSF	Fator Estimulador de Colônia de Macrófagos-Granulocíticos
IL-2	Interleucina - 2
IL-10	Interleucina - 10
iNOS	Óxido Nítrico Sintase Induzível
M-CSF	Fator Estimulador de Colônia de Macrófagos
MDSC	Células Supressoras de Mieloide
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
M-MDSC	Células Supressoras de Mieloide Monocíticas
mPGES1	Prostaglandina E Microsomal Sintase 1
NETs	Armadilha Extracelular de Neutrófilos
NO	Óxido Nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAMPs	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PD-1	Receptor de Morte Programada -1
PGE2	Prostaglandina E2
PMN-MDSC	Células Supressoras de Mieloide Granulocíticas Polimorfonucleares

STAT 3	Transdutor de Sinal e Ativador da Transcrição 3
TCR	Receptor de Células T
TGF	Fator Transformador de Crescimento
TLR	Fator Transformador de Crescimento
TME	Microambiente Tumoral
TREG	Células T Regulatórias
VEGFR2	Receptores para o Fator de Crescimento Endotelial Vascular

## **CAPÍTULO I**

Apresentação do referencial teórico e objetivos

## 1. INTRODUÇÃO

Observando o cenário contemporâneo, que abrange as últimas décadas é possível aferir o evidente problema de saúde pública mundial no qual o câncer se tornou. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que em 2030 ocorrerão 27 milhões de novos casos da doença (INCA, 2016). Diante desse cenário e tendo em vista mecanismos de resistência apresentados pelas células tumorais e à toxicidade dos fármacos anticâncer, faz-se necessário o estudo e desenvolvimento de terapias que possam auxiliar no tratamento da doença de forma mais eficaz e menos agressiva ao paciente (PERCHE e colab., 2012)

Artigos atuais demonstram amplos estudos para novos tratamentos em oncologia que incluem a ação do sistema imunitário. Assim, pode-se explorar na imunoterapia anticâncer novas possibilidades de tratamentos que possibilitem a redução de efeitos adversos quando comparada as terapias convencionais, como a quimioterapia. Nesse seguimento, as células supressoras de mielóide (MDSC) e as células T regulatórias (Treg), veem sendo alvo de diversos estudos, visto que elas se apresentam relacionadas à progressão do câncer, estando presentes em níveis elevados no tecido tumoral de pacientes com a doença (HUPPERT e colab., 2021; ZAHRAN e colab., 2021).

MDSCs são neutrófilos ou monócitos patologicamente ativados com potente atividade imunossupressora, elas estão relacionadas a regulação de respostas imunes em muitas condições patológicas (VEGLIA e colab., 2021). As células T regulatórias são um subconjunto de linfócitos T CD4+, elas se infiltram nos locais com tumor suprimindo a atividade das células T citotóxicas de agir contra células cancerosas. Um avanço na imunoterapia anticâncer seria a redução dessas células no microambiente tumoral (TME), aumentando assim a imunidade antitumoral, visto que tanto MDSC quanto Treg estão associadas ao prognóstico negativo do câncer (DEES e colab., 2021).

Diante do contexto apresentado o presente trabalho tem por objetivo realizar uma revisão narrativa da literatura, se comprometendo a investigar a ação das MDSCs e Tregs em relação à imunidade tumoral.

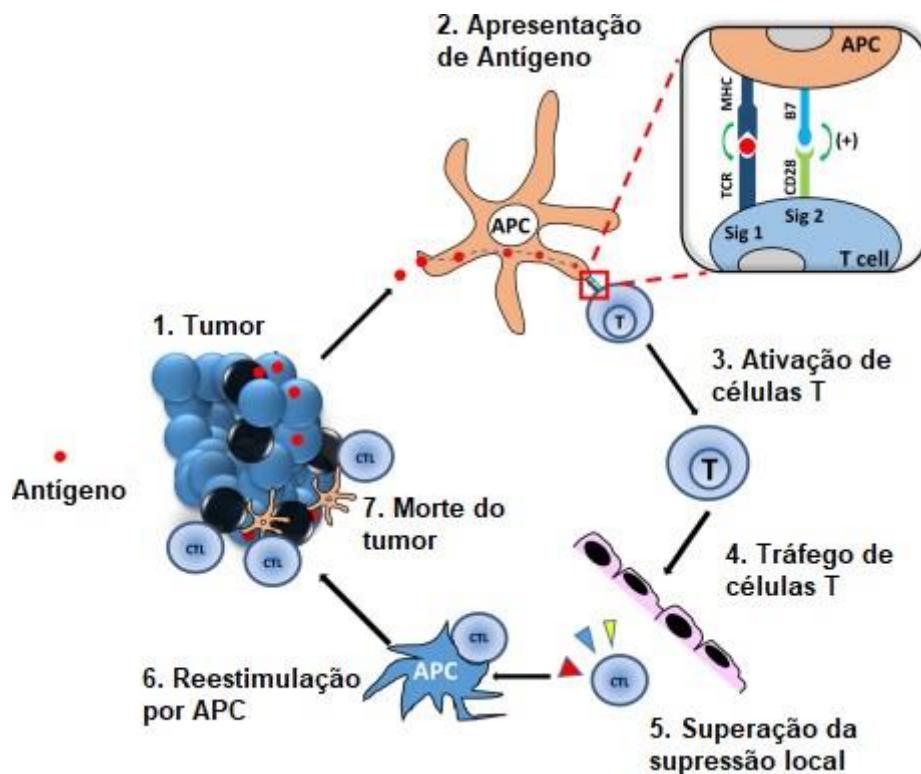
## 2. REFERENCIAL BIBLIOGRAFICO

### Imunoterapia Anticâncer

Pesquisas recentes demonstram a ativação do sistema imunológico como uma importante ferramenta para o tratamento do câncer, em 2013 a imunoterapia anticâncer foi nomeada pela Science como a revolução do ano. O principal obstáculo a ser superado na imunoterapia é a imunoevasão tumoral ao sistema imunitário, pois essa pode diminuir a regulação dos principais complexos de histocompatibilidade, anular os sinais coestimulatórios, secretar agentes imunossupressores e agentes pró-inflamatórios, criando assim, um ambiente propício para a progressão do câncer (ZENG e colab., 2020).

Compreendendo como o sistema imunitário acomete o tumor, pode-se separar o processo em sete etapas para facilitar o entendimento. Onde, essas etapas serão essenciais para o ataque eficaz ao tumor, podendo cada uma delas ser regulada para fortalecer ou reduzir a resposta imunológica e evitar efeitos adversos causados devido á danos aos tecidos não tumorais. Iniciando-se pela presença de antígenos tumorais presentes no tumor (etapa 1), os quais serão processados e apresentados, por células apresentadoras de antígenos (APCs), ás células T efetoras (etapa 2). Esse reconhecimento pelas células T será realizado através do receptor de células T (TCR) ao reconhecimento do complexo principal de histocompatibilidade II (MHCII), havendo um sinal coestimulatório pelo emparelhamento da proteína CD28 presente na célula T á proteína de membrana B7 presente na APC (etapa 3). Assim ativadas, as células T deixarão o linfonodo de drenagem e trafegarão através dos vasos sanguíneos periféricos retornando ao local do tumor (etapa 4). Após os linfócitos T CD8 estarem ativados precisarão superar os mecanismos imunossupressores do tumor no TME (etapa 5), e provavelmente também serão requisitados para reestimulação pelas APCs dentro do tumor (etapa 6). Por fim, na etapa 7, as células T citotóxicas reconhecerão e matarão células tumorais contendo antígeno. (Figura 1) (PALUSKIEVICZ e colab., 2019; STEVEN e colab., 2016a).

Figura 1 - Ataque do sistema imunitário ao tumor, em sete etapas.



Fonte: (STEVEN e colab., 2016)

As abordagens de tratamento mais comuns nesse contexto são por inibidores de checkpoint imunológico, terapia de transferência de células T por receptor de antígeno quimérico e métodos não específicos de estimulação imunológica. Sendo de suma importância para eficácia da resposta imunológica a presença de células T efetoras no TME, assim, as vias de sinalização de células imunossupressoras, como as MDSCs e Tregs, podem afetar a atividade de células T citotóxicas, ressaltando a necessidade de reduzir a presença ou atividade dessas células.

As MDSCs promovem o crescimento tumoral e a metástase pela supressão da resposta imune antitumoral e por meio de secreções parácrinas que estimulam a proliferação, motilidade e angiogênese das células tumorais. As MDSCs devido ao seu recurso de supressão imunológica, são um importante inibidor da ativação de linfócitos T, havendo múltiplas moléculas efetoras e vias de sinalização utilizadas por MDSCs para regular a supressão imunológica. Os principais mecanismos abordados envolvem a depleção de aminoácidos necessários, produção de óxido nítrico (NO), espécies reativas de oxigênio (EROs), fator de crescimento

transformador- $\gamma$  (TGF- $\gamma$ ) e outras citocinas, expressão de PD-L1, downregulation de L- e E-selectinas e assim por diante. Além disso, MDSC também pode prejudicar a função das células T indiretamente pela indução de outras células imunoinibitórias, como células Tregs. (LI, Tianhang e colab., 2021)

A infiltração de células Treg no TME ocorre em vários tumores murinos e humanos. As Tregs suprimem as funções imunológicas através de vários mecanismos como a supressão por linfócito T citotóxico associado a proteína - 4 (CTLA-4) da função de APC, consumo de interleucina - 2 (IL-2, citocina pró-inflamatória) e produção de metabólitos imunossupressores. Quando comparadas as Tregs presentes em tecidos linfoides ou não linfoides ou no sangue, células Treg infiltrantes de tumor expressam níveis mais elevados de moléculas da superfície celular associado à ativação de células T, dentre as várias moléculas da superfície celular expressas por Treg, o CD25 e CTLA-4, levam a alterações nessas moléculas capazes de causar autoimunidade grave em camundongos e humanos, que parecem contribuir para a supressão mediada por células Treg. (OHUE e NISHIKAWA, 2019)

## TREGS

As células T regulatórias, residem no sistema circulatório sistêmico e em todos os tecidos. Elas são conhecidas como controladoras mestres da autotolerância e funcionam para manter a homeostase imunológica e coordenar a supressão da ativação imunológica excessiva para prevenir respostas autoimunes. A observação de que essas células T supressoras potentes também são onipresentes em tumores, foi descrita pela primeira vez por Robert North em 1980 (BERENDT e NORTH, 1980). No entanto, embora as Tregs constituam um subconjunto de células imunes que está entre os mais extensivamente estudados em oncologia por décadas, o direcionamento eficaz de Tregs para imunoterapia contra o câncer tem sido difícil devido essas células raramente serem estudadas no contexto de suas propriedades críticas específicas de tecido (SAKAGUCHI e colab., 2020).

Evidências recentes sugerem que Tregs demonstram notável adaptabilidade ao seu ambiente local e facilitam a homeostase imunológica por meio de vias específicas de tecido altamente especializadas. Após os tumores adquirem



neoantígenos para induzir uma resposta imune, supressores imunológicos potentes, como Tregs, são normalmente regulados positivamente. Sendo um grande desafio para a imunoterapia de precisão eficaz contra o câncer a metástase, devido a decodificação e compreensão dos processos regulatórios adaptados ao tecido, que evoluíram explicitamente para proteger os vários locais de tecido cooptados em casos de câncer metastático, fazendo-se necessário diferentes estratégias para alcançar a imunidade antitumoral. (COOPER e ALDER, 2006; SAKAGUCHI e colab., 2020)

Além de manter a autotolerância, as Tregs adaptaram funções especializadas de órgãos específicos que suportam o tecido, contribuindo para a imunidade antitumoral ineficaz. Tregs em órgãos diferentes desempenham funções distintas por meio de mediadores diferentes, no cérebro expressam receptores de neurotransmissores, respondem às células microgliais para amortecer a autoimunidade e facilitam o reparo de lesão neuronal, incluindo o reparo de lesão isquêmica. Já nos pulmões podem expressar proteínas sensíveis ao oxigênio, mediar a tolerância a aeroalérgenos inalados de imunidade tipo 2 e apoiar a reparação e remodelação de tecidos após infecções das vias aéreas. As Tregs no fígado podem responder a metabólitos derivados da microbiota, mediar a tolerância oral da dieta, regular a imunidade aos comensais intestinais, apoiar a reparação e regeneração de tecidos, e possivelmente manter a quiescência das células-tronco hematopoéticas durante o desenvolvimento fetal. Na glândula adrenal, Tregs, expressam receptores de glicocorticóides e podem responder à sinalização de resposta ao estresse. As Tregs nos nódulos linfáticos mantêm a tolerância ao controlar as células T foliculares auxiliares e as células B. Na pele amortecem a autoimunidade, regulam a tolerância aos comensais, medeiam a cicatrização de feridas e apoiam o crescimento do cabelo. Finalmente, as Tregs no osso mantêm a quiescência das células-tronco hematopoéticas e facilitam a osteogênese. (HAERTEL e colab., 2018; HUPPERT e colab., 2021)

### Tregs e o Câncer

Da perspectiva do TME e do nicho metastático, os mecanismos de multicamadas das Tregs para reparo de tecido podem ser cooptados para promover

a progressão do câncer porque simultaneamente preparam o "solo" local para a regeneração e crescimento tumoral enquanto protegem a "semente" contra a rejeição imunológica. Dessa forma, é de suma importância compreender o papel das Tregs no crescimento e proliferação do câncer dentro do TME. Geralmente, Tregs infiltrantes de tumor, expressam níveis mais elevados de moléculas de superfície celular associadas à ativação de células T, como CD25, CTLA-4, PD-1, LAG3, TIGIT, ICOS, 4-1BB, OX-40 e GTRF (VIGNALI e colab., 2008). Supondo-se que essas células suprimem as células T efetoras diretamente, contribuindo para a ruptura metabólica das células T efetoras e modulando a maturação e a função das células dendríticas necessárias para a ativação das células T efetoras.

Acredita-se que as Tregs também desempenham um papel na promoção de metástases tumorais, facilitando a disseminação tumoral, evasão imunológica e preparação de focos metastáticos. Por exemplo, frequências de Treg aumentadas estão associadas a um risco maior de metástase em muitos cânceres, incluindo câncer de mama, ovário, próstata, pulmão, tireóide, gástrico, colorretal e de pele. Sendo que níveis mais altos de Tregs infiltrantes de tumor estão associados ao aumento do tamanho do tumor, enquanto maiores proporções de Tregs do sangue periférico estão associadas ao estágio clínico, diferenciação patológica e metástase.

Nesse contexto, pesquisas a respeito da atuação direta das Tregs na metástase do câncer estão em andamento, sabe-se que Tregs infiltrantes de tumor geralmente expressam níveis mais elevados de moléculas de superfície celular associadas à ativação de células T, como CD25, CTLA-4, PD-1, LAG3, TIGIT, ICOS, 4-1BB, OX-40 e GTRF (SAINSON e colab., 2019). Acredita-se que as Tregs também desempenham um papel na promoção de metástases tumorais, facilitando a disseminação tumoral, evasão imunológica e preparação de focos metastáticos, devido frequências de Treg aumentadas estarem associadas a um risco maior de metástase em muitos cânceres, incluindo câncer de mama, ovário, próstata, pulmão, tireóide, gástrico, colorretal e de pele. Níveis mais altos de Tregs infiltrantes de tumor estão associados ao aumento do tamanho do tumor, enquanto maiores proporções de Treg no sangue periférico estão associadas ao estágio clínico, diferenciação patológica e metástase. (HUPPERT e colab., 2021)

As células Treg desempenham um papel vital na manutenção da autotolerância, da homeostase imunológica, prevenindo a autoimunidade e doenças

inflamatórias. Evidências anteriores mostram que as Tregs fazem parte da população de células T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>. Como o CD25 é um marcador de células T efetoras, os pesquisadores estavam céticos sobre a propriedade imunossupressora das células T, posteriormente, foi demonstrada uma diferença entre as células T efetoras CD25<sup>+</sup> e as células Treg. Embora, devido à complexidade de seu mecanismo, este ainda não está totalmente compreendido (SHARMA e colab., 2019). Pesquisas do início dos anos 2000 revelaram que as células Treg funcionam principalmente por meio do fator de transcrição FoxP3 (forkhead box P3), demonstrando que a deleção de FoxP3 nas células T de camundongos levou ao desenvolvimento impróprio de células Treg e aumento da autoimunidade (ZENG e colab., 2020).

O FOXP3 é um membro da família de fatores de transcrição forkhead. Ao contrário de outros membros, é expresso principalmente em um subconjunto de células T CD4<sup>+</sup> que desempenham um papel supressor no sistema imunológico (ABDELRAHMAN e colab., 2021). O FOXP3 leva à supressão a expressão de muitos genes, incluindo IL-2 e citocinas de células T efetoras, atua também como um ativador de transcrição para muitos genes, incluindo CD25 e CTLA4. As células T FOXP3<sup>+</sup> são produzidas no timo e na periferia, elas migram para os tecidos linfoides secundários e suprimem o estímulo antigênico dos linfócitos. As células T de memória FOXP3<sup>+</sup> são eficazes na supressão da função das células T efetoras, enquanto as células T FOXP3<sup>+</sup> são hábeis em suprimir as respostas imunes iniciais em tecidos linfoides. Tanto as células T FOXP3<sup>+</sup> iniciais quanto as de memória são necessárias para a manutenção eficaz da tolerância e prevenção de doenças autoimunes. (KIM, 2010; SALEH e ELKORD, 2020)

Um anticorpo monoclonal antiCCR4 com alta citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos (ADCC) foi usado para depletar Tregs e aumentar as respostas antitumorais, da mesma forma, os anticorpos monoclonais contra CD25, OX-40 e GITR aumentaram a depleção de Treg mediada por ADCC e retardaram o crescimento do tumor. Assim, quando a modulação específica do tecido é levada em consideração com mais detalhes, as proteínas de superfície expressas em níveis elevados em Tregs intratumorais podem ser alvos de maior depleção de Treg tumoral por anticorpos monoclonais ADCC. (HUPPERT e colab., 2021)

Um aspecto importante da ação das células Treg é por meio da via beta do fator transformador de crescimento (TGF). As células Treg são conhecidas por produzirem TGF $\beta$ , o qual pode promover a diferenciação de células T CD4 + naive em células Treg por meio da expressão de FOXP3, o TGF $\beta$  também é conhecido por neutralizar as células T efectoras e as APCs, geralmente as Tregs podem suprimir a resposta imune antitumoral por meio dele, enquanto as células tumorais escapam dessa via, o que leva ao TME imunossupressor, resultando posteriormente na progressão do câncer. (PALUSKIEVICZ e colab., 2019)

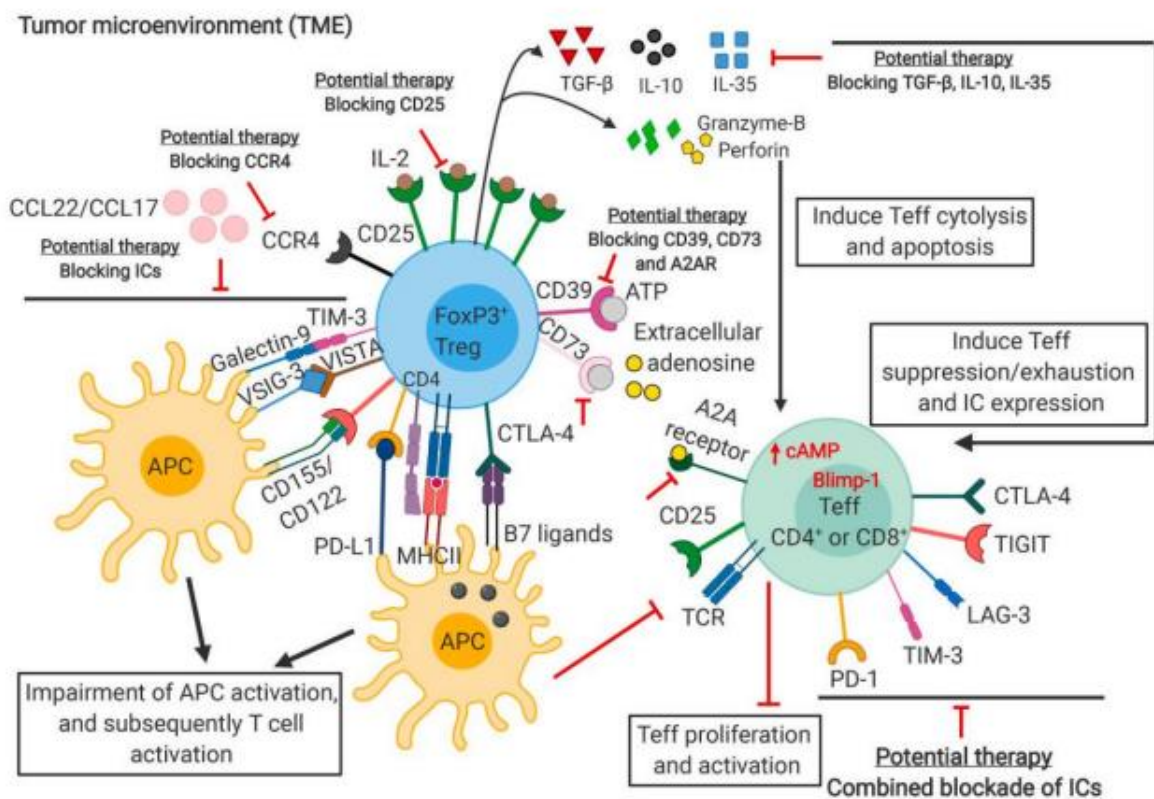
As células Treg por meio da secreção de interleucina-10 (IL10), citocina antiinflamatória também conhecida como fator inibidor da síntese de citocinas humanas, desempenham um papel significativo na regulação das respostas imunes. Em condições tumorigênicas, as células Treg secretam IL10 dentro do TME prejudicando a atividade anticâncer mediada por células T auxiliares Tipo 1. Outro aspecto importante das células Treg que causam a progressão do câncer é a promoção da angiogênese, a infiltração de Treg no TME ativa marcadores angiogênicos, como o fator de crescimento endotelial vascular, promovendo a angiogênese tumoral por meio de vários mecanismos diretos e indiretos. Por exemplo, as células Treg promovem a angiogênese tumoral ao inibir as células T reativas ao tumor. (ZENG e colab., 2020)

Os checkpoints imunológicos são uma cascata de vias cruciais para células saudáveis, permitindo-lhes prevenir a autoimunidade e danos. O CTLA-4 ativa a infiltração de células Treg através da regulação negativa de moléculas coestimulatórias em APCs, levando à progressão do câncer e prevenção da resposta imune (ROMANO e colab., 2015). Assim, vários estudos têm tentado suprimir a expressão de CTLA-4 para prevenir a infiltração de células Treg, avaliando seu desfecho clínico. Romano e colab. mostra pela primeira vez que o ipilimumabe, um anticorpo IgG1 anti-CTLA4, foi capaz de induzir a lise mediada por monócitos CD16 + de células Treg, em um modo de citotoxicidade mediada por ADCC, em pacientes com melanoma metastático. Huppert também relata estudos sobre Ipilimumab e Tremelimumab, onde esses foram testados em pacientes com vários tipos de câncer, incluindo melanoma, câncer de próstata e carcinomas de células renais, demonstrando resultados de um grande estudo clínico de fase III, randomizado e multicêntrico para o ipilimumabe com uma vantagem significativa em

pacientes com melanoma metastático. (CALABRÒ e colab., 2013; SHARMA e colab., 2019)

Apesar dos resultados pré-clínicos promissores obtidos ao longo de décadas, a aplicação clínica da terapia com Treg direcionada tem sido difícil como imunoterapia contra o câncer. Em primeiro lugar, as Tregs e as células T efetoras ativadas compartilham muitos dos mesmos marcadores de superfície celular, como CD25 e CTLA-4, tornando difícil depletar especificamente as Tregs sem afetar as células T efetoras. Em segundo lugar, Tregs também desempenham um papel indispensável na prevenção da autoimunidade e, até agora, tem sido um desafio esgotar especificamente Tregs dirigidas ao tumor sem afetar Tregs periféricas (por exemplo, Tregs circulantes, Tregs residentes em linfoides e Tregs residentes em tecido), para prevenir efeitos colaterais autoimunes (WEI e colab., 2019).

Figura 2 - Mecanismos de imunossupressão mediados por Tregs e potencial terapêutico na imunossupressão.



Fonte: (SALEH e ELKORD, 2020)

Buscando superar esses problemas e alcançar maior eliminação de Tregs tumorais mediada por anticorpos específicos, a depleção de células Treg dependente de anticorpos pode explorar as diferenças entre as células Treg tumorais, as cinéticas e os alvos das células T efectoras, embora existam muitas semelhanças nos marcadores de superfície celular expressos em células Tregs se comparados às células T efectoras, existem diferenças nos níveis de expressão do TME e na cinética atualmente em estudo, que podem ser exploradas. Por exemplo, um anticorpo monoclonal anti-CTLA-4 dentro da subclasse IgG2a depletou Tregs especificamente no tecido tumoral e, assim, aumentou a imunidade antitumoral (SAINSON e colab., 2019). As Tregs expressam constitutivamente CTLA-4, mas as células T convencionais expressam apenas CTLA-4 quando são ativadas, e as células T convencionais expressam-no em níveis muito mais baixos do que as Tregs; assim, é possível projetar anticorpos com regiões Fc específicas para esgotar Tregs sem reduzir significativamente a população de células T efectoras. (CURRAN e colab., 2010)

Os fármacos pembrolizumab e nivolumab são anticorpos monoclonais humanizados que bloqueiam a interação PD-1 / PD-L1, previnem a atividade das células Treg e promovem a atividade antitumoral (CHAE e colab., 2018). Alguns estudos apontam que o bloqueio de TGF $\beta$  junto com o bloqueio de PD-1 é uma opção viável para suprimir as células Treg que se infiltram no tumor e promover a infiltração de células T efectoras, resultando na destruição citotóxica do tumor. Além disso, a combinação de um inibidor PD-1 com o inibidor CTLA-4 demonstrou eficácia superior contra o melanoma e o carcinoma de pulmão. Tal terapia demonstrou efetivamente esgotar as células Treg enquanto expande as células T CD8 + dentro do TME, em comparação com a monoterapia com qualquer um dos inibidores. (ZENG e colab., 2020)

A ciclofosfamida tem sido usada como terapia anticâncer desde 1959. No entanto, devido à alta citotoxicidade e efeitos colaterais, o uso rotineiro desta é limitado, com exceção da administração de baixas doses contínuas (também chamadas de dosagem metronômica). Demonstrou-se que a dosagem metronômica de ciclofosfamida tem efeitos imunoestimuladores que incluem a expansão de CTLA-4, uma depleção transitória de Treg e a restauração da homeostase das

células dendríticas . Em um modelo murino de câncer de cólon, a combinação de IL 12 e ciclofosfamida elimina Treg intratumoral e MDSC, enquanto simultaneamente induz células mieloides próinflamatórias dentro do TME, um componente essencial para facilitar a infiltração de células T efetoras e subsequente rejeição do tumor. Em acordo a esta abordagem, foi demonstrado que o bloqueio de PD-1, com ciclofosfamida de baixa dose e a administração de peptídeos combinatórios induzem sinergicamente uma forte resposta imune antígeno-específica aumentando a infiltração de células T , gerando potente atividade antitumoral. (LE e JAFFEE, 2012; LI, Ping e colab., 2021; ZHANG e colab., 2018)

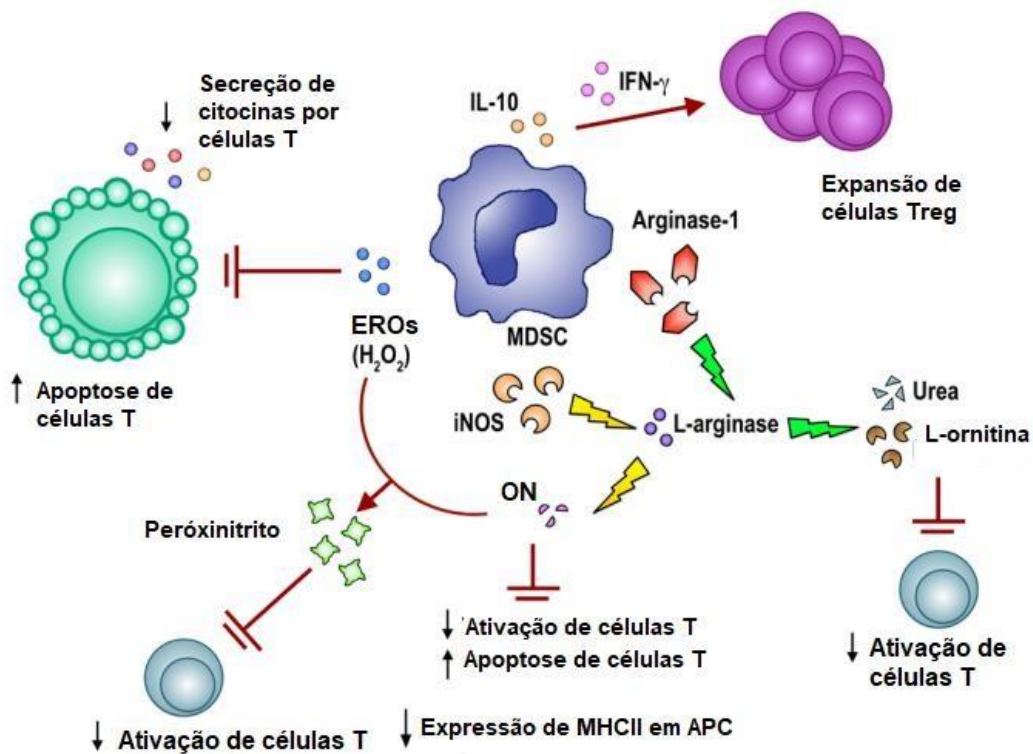
## MDSCs

As MDSCs possuem dois grupos principais em humanos e camundongos, as MDSCs granulocíticas polimorfonucleares (PMN-MDSCs) e as MDSCs monocíticas (M-MDSCs), as quais são classificadas de acordo com a origem na linhagem de células mieloides granulocíticas ou monocíticas. Um outro pequeno grupo de células precursoras mieloides também foi identificado em humanos, sendo estas denominadas MDSCs iniciais, este grupo de células com características imunossupressoras potentes é composto principalmente de progenitores e precursores mieloides e representa menos de 5% da população total de MDSC (VEGLIA e colab., 2021). MDSCs prejudicam as funções dos linfócitos T pela regulação positiva da expressão de fatores imunossupressores, como arginase 1 (Arg-1) e óxido nítrico induzível sintase, aumentando a produção de NO e EROs, e induzindo células Treg (Figura 3) (DURGEAU e colab., 2018)

A ativação de células mielóides clássicas ocorre devido a resposta gerada a patógenos e danos aos tecidos, sendo principalmente conduzida por meio de padrões moleculares associados a dano celular (DAMPs), padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e ativação de receptores Toll-like (TLR), o que leva ao recrutamento de neutrófilos e monócitos da medula óssea e conseqüentemente a fagocitose, explosão respiratória, degranulação e formação de armadilha extracelular de neutrófilos (neutrophil extracellular traps, NETs) (VEGLIA e colab., 2021). A ativação patológica surge a partir da estimulação contínua de fatores de crescimento mielóides e sinais inflamatórios devidos a tumores, infecções

crônicas ou inflamação e doenças auto-imunes. Dentre esses sinais de ativação estão citocinas e fatores de crescimento, atuando como fator estimulador de colônia de macrófagos-granulocíticos (GM-CSF), fator estimulador de colônia de macrófago (M-CSF), IL-6, IL-1 $\beta$ , sinalização de adenosina ou sinalização de estresse do retículo endoplasmático de PMN-MDSCs e M-MDSCs (CONDAMINE e colab., 2015).

Figura 3 - Diferentes mecanismos empregados por MDSCs para mediar a imunossupressão



Como dito anteriormente, na inflamação aguda, uma ampla gama de estímulos inflamatórios podem desencadear a geração de MDSCs. Esses fatores podem ser classificados em três grupos: fatores de crescimento necessários para a expansão (por exemplo, G-CSF, M-CSF, GM-CSF e S-CSF), citocinas para maturação funcional (citocinas da família IL-1, IL-4, IL-6, IL-13 e TNF), e quimiocinas para mobilização no TME (IL-8, CCL2 e CXCL12) (NAKAMURA e SMYTH, 2020). As MDSCs regulam positivamente a expressão de fatores imunossupressores como EROs, óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e Arg-1, reduzindo a atividade antitumoral das células T, tornando assim os fatores listados importantes alvos terapêuticos (VANHAVER e colab., 2021). A ativação seletiva do fator nuclear



eritroide 2 reduziu a produção de EROs intracelular anulando a imunossupressão de MDSC e reduzindo a metástase tumoral. Fármacos anticâncer promissores foram testados em ensaios clínicos de fase I em pacientes com tumores, descobrindo-se que tadalafil reduz a atividade de iNOS e Arg-1 em MDCs e Tregs. Enquanto o entinostat, inibidor de histona desacetilase de classe I, neutralizou MDSC por meio da expressão de Arg-1 e iNOS, em modelos de camundongos com câncer de pâncreas (MORTEZAEE, 2018).

M-MDSCs e PMN-MDSCs compartilham características bioquímicas importantes que permitem a supressão de respostas imunes, incluindo a regulação positiva da expressão do transdutor de sinal e ativador da transcrição 3 (STAT3), indução de estresse do retículo endoplasmático, expressão de Arg-1 e expressão de S100A8/A9. No TME as MDSCs são capazes de esgotar nutrientes essenciais às células T através da via de sinalização STAT/MyD88 devido a supregulação de enzimas metabólicas como Arg-1 e iNOS. Além dos papéis de supressão nas células T, as MDSCs também induzem a apoptose e bloqueio da migração dessas células, o que é essencial para a atuação das mesmas. (KUMAR e colab., 2016)

## MDSCs e o Câncer

De forma a constatar as vias de regulação citadas, GAO ilustra em seus dados a regulação negativa das respostas imunes antitumorais por MDSC, durante o processo crônico de transição da inflamação para o câncer, e a regulação positiva da expressão de fatores imunossupressores, como Arg-1 e iNOS, além de apontar as MDSCs como bloqueadoras a resposta antitumoral de células T através do aumento na produção de EROs e espécies reativas nitrogênio (ERNs) (GAO e colab., 2021). M-MDSCs e PMN-MDSCs possuem características distintas em certos pontos quanto as respostas imunológicas geradas, por exemplo, PMN-MDSCs usam preferencialmente EROs, peroxinitrito, Arg-1 e prostaglandina E2 (PGE2) para mediar a supressão imunológica, enquanto as M-MDSCs utilizam óxido nítrico, citocinas imunossupressoras como as IL-10 e TGF $\beta$ , e a expressão de moléculas regulatórias imunológicas como PDL1. (OSTRAND-ROSENBERG e colab., 2020).

Os neutrófilos contidos nos aglomerados mostraram um perfil de expressão gênica semelhante ao dos PMN-MDSCs, as MDSCs são mais imunossupressoras no local do tumor do que em órgãos linfóides, a migração de neutrófilos e PMN-MDSCs para tumores é impulsionada principalmente pelo receptor de quimiocina CXCR2 em resposta a CXCL1 e CXCL2 em camundongos e humanos, bem como em resposta a IL-8 (também conhecido como CXCL8) em humanos (SCHALPER e colab., 2020). Alguns estudos demonstraram que o bloqueio do recrutamento de PMN-MDSCs para tumores por ablação genética de CXCR2 ou com pequenas moléculas inibidoras de CXCR2, melhorou o resultado do sarcoma metastático e aumentou a eficácia do tratamento anti-PD1 em tumores estabelecidos. Em um estudo recente foi demonstrado como a terapia epigenética pode influenciar o acúmulo de MDSC, utilizando baixas doses de inibidores de metiltransferase e histona desacetilase, demonstraram redução do acúmulo de MDSC mediado por CCR2 e CXCR2 em nichos pré-metastáticos no pulmão e aumento da sobrevivência global em camundongos após ressecção cirúrgica dos tumores primários (STADTMANN e ZARBOCK, 2012; YUEN e colab., 2020).

A metástase representa a maior causa de morte em pacientes com câncer, esta requer a circulação de células tumorais do local do tumor primário para órgãos distantes, onde o local é preparado por células tumorais em disseminação em um processo conhecido como formação do nicho pré-metastático. Recentemente, foi demonstrado que os neutrófilos derivados da medula óssea em estágios iniciais do câncer não possuem a capacidade imunossupressora que caracteriza as MDSCs, mas exibem maior migração espontânea, e produção de moléculas influenciadoras do tumor, como glicólise e maior produção de trifosfato de adenosina (ATP) em comparação com neutrófilos ingênuos. Os perfis transcriptômicos dessas células demonstraram enriquecimento de vias associadas ao estresse do retículo endoplasmático. Já os NETs são estruturas extracelulares liberadas por neutrófilos em resposta a estímulos e compostas por proteínas citosólicas e granulares, bem como por DNA, estes são capazes de promover metástase, além de facilitarem a colonização do câncer de ovário e promoverem o extravasamento do câncer colorretal circulante para o fígado e pulmão, comprovado em modelos pré-clínicos de câncer colorretal. Os NETs são capazes de recrutar células tumorais para o nicho pré-metastático via CDC25. Embora ainda não se saiba se os NETs são produzidos

com mais frequência por PMN-MDSCs do que por neutrófilos, foi relatado recentemente que as células granulocíticas de camundongos com tumor são mais propensas a produzir NETs do que neutrófilos de camundongos sem tumor. Assim, o direcionamento farmacológico de NETs pode ser uma forma promissora de reduzir a colonização metastática do tumor. (KUMAR e colab., 2016; VEGLIA e colab., 2021)

Uma boa vantagem para melhorar a resposta antitumoral é através do bloqueio de MDSC. Modelos pré-clínicos atuais de câncer de mama demonstraram a depleção de MDSC por meio do tratamento com ácido trans-retinóico (all-trans retinoic acid [ATRA]), sendo possível verificar melhora na eficácia dos inibidores de receptores para o fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR2) como uma terapia antiangiogênica. Assim, a combinação tripla de ATRA com um inibidor de VEGFR2 e com a quimioterapia convencional atrasou significativamente o crescimento do tumor. A terapia com ATRA também foi combinada ao bloqueio de checkpoint imunitário utilizando antiCTLA4 em pacientes com melanoma, onde foi possível notar uma redução no número de MDSC circulantes e na expressão de genes imunossupressores de MDSC. Outro tratamento testado em camundongos foi com o inibidor de proteína de transporte de ácidos graxos 2 (FATP2), o qual reduziu significativamente o crescimento de tumor, sendo este sinergizado com o tratamento utilizando anticorpo antiCTLA4. O direcionamento seletivo de FATP2 em PMN-MDSCs permite inibir PGE2 apenas nessas células patologicamente ativadas e principalmente no local do tumor, onde a expressão de FATP2 é a mais alta (VEGLIA e colab., 2021).

A imunoterapia de PD-L1 / PD-1 tem sido amplamente aplicada em tumores. Houve evidências crescentes de que a função de imunossupressão de MDSC mediada por PD-L1 foi constitutivamente expressa em células que se ligam a PD-1 como um ligante inibitório, para suprimir a ativação de células T. Em cânceres de bexiga de rato a expressão de PD-L1 em MDSC foi associada à expressão de ciclooxigenase-2 (COX2), prostaglandina E microssomal sintase 1 (mPGES1) e PGE2, bem como sua capacidade de induzir apoptose de células T CD8+. A interação entre PD-L1 / PD-1 e miRNAs foi necessária para a função de MDSC tumorais, em relatório recente emitido por GAO cinco membros da família miR-15, incluindo miR-15a, miR-15b, miR-16, miR-195 e miR-503, regularam negativamente

a função supressora de MDSC e / ou Treg no TME, através do bloqueio da via de sinalização PD-L1 / PD-1. A expressão de PD-L1 em MDSCs tumorais foi modulada pelo agrupamento de miRNA miR-93 / 106b da família miR-17 através da via STAT3, esses níveis de expressão de PD-L1 em MDSC podem ser reduzidos significativamente após o tratamento de miR-93 mimics, assim, essas vias PD-1 / miRNA / STAT3 fornecem uma nova ideia de tratamento para impedir a metástase tumoral associada a MDSC. (GAO e colab., 2021)

Fármacos citotóxicos como a carboplatina, cisplatina, citarabina, dacarbazina, docetaxel, doxorubicina, ecteinascidina, etoposídeo, fluorouracil, gencitabina, irinotecano, oxaliplatina, paclitaxel e pemetrexedo podem ser citados como exemplo de fármacos que possuem a capacidade de regular a expressão de PD-L1 em células cancerosas, podendo ser combinados ao anti-PD-L1, como estratégia para minimizar a ativação de respostas imunossupressoras e sobrevivência de células cancerígenas. E para promover a imunogenicidade antitumoral, via ativação de linfócitos T citotóxicos, maturação de APCs, depleção de imunossupressores de Treg e de MDSC (BAILLY e colab., 2020; TANIURA e colab., 2020)

O 5-Fluorouracil (5-FU), é um antimetabólito de pirimidina, que tem como alvo principal a timidilato sintase, atuando na síntese de DNA. O tratamento de ciclos repetidos com 5-FU tende a reprimir as funções imunes antitumorais e elevar a expressão de PD-L1 em células tumorais. Ele regula positivamente PD-L1, podendo haver sinergia se combinado a um anticorpo anti-PD-L1 . O tratamento combinado de 5-FU com um mAb anti-PD-L1 apresenta uma eficácia maior em comparação com 5-FU em imunoterapia sozinho. Os papéis imunorreguladores do 5-FU e dos produtos relacionados a capecitabina (pró-fármaco), trifluridina e gencitabina, foram relatados em diferentes estudos. O fármaco ajuda os mAbs anti-PD-1 a reativar uma resposta imune em células tumorais dormentes e a restringir a disseminação e recorrência do tumor. A ultraregulação da expressão de membrana de PD-L1 foi observada também em linhagens celulares de câncer pancreático murino e humano, e efeitos semelhantes foram observados com 5-FU e paclitaxel. (BAILLY e colab., 2020; KWONG e colab., 2021)

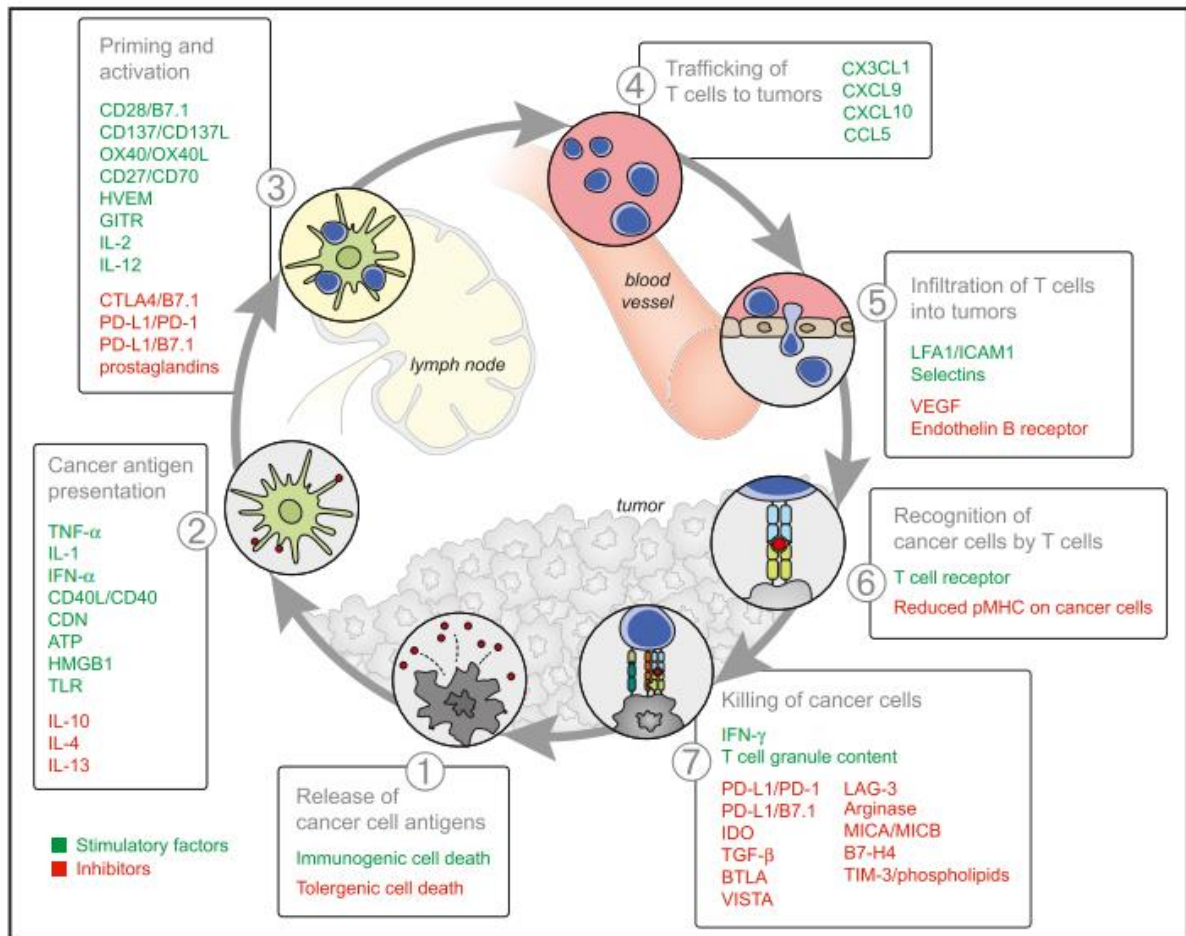
## Checkpoints Imunológicos

Células cancerosas com instabilidade genética inerente formam proteínas anormais que não foram previamente reconhecidas pelo sistema imunológico e essas proteínas se tornam antígenos imunogênicos (neoantígenos) que podem desencadear espontaneamente respostas celulares, as células cancerígenas que apresentam neoantígenos extremamente imunogênicos são eliminadas do hospedeiro por meio do processo de vigilância imunológica. Para prevenir qualquer dano indesejado, causado por células T citotóxicas, aos tecidos circundantes, o sistema imunológico utiliza de checkpoints que são usados para modular a duração e a amplitude da resposta imunológica, amortecendo assim a resposta e protegendo contra danos causados por inflamação e autoimunidade. Isso é conseguido principalmente pela regulação positiva de receptores coinibidores, como o CTLA-4 e o receptor de morte programada -1 (PD-1), que atuam para inibir as células T ativadas. Em última análise, é o equilíbrio entre os sinais coestimuladores e coinibidores que dita o destino das células T ativadas. (Figura 2) (STEVEN e colab., 2016a)

CTLA-4 ameniza as respostas das células T através das vias intrínsecas e extrínsecas da célula. Os eventos intrínsecos incluem a inibição da tradução de proteínas, recrutamento de fosfatases, ativação de ubiquitina ligases, inibição da sinalização do receptor de citocinas e inibição da formação de microdomínios lipídicos na superfície das células T. Este atua principalmente por competição com os receptores CD28 por ligação ao ligante B7 (B7/CD80 e B7/CD86) em APCs, durante a ativação das células T, com afinidade mais alta e com uma densidade superficial menor, resultando em uma depleção significativa dos ligantes em sua superfície. (BRUNNER-WEINZIERL e RUDD, 2018; ROTTE, 2019)

Alguns estudos mostraram que o engajamento de CTLA-4 ativou cascatas de sinalização intrínseca em células T. A ativação de CTLA-4 foi relatada por inibir a produção de IL-2, fator estimulador da imunidade, proliferação celular e induzirem a parada do ciclo celular cross-talks com vias que regulam a sobrevivência celular e proliferação, incluindo as vias PI3K, NF $\kappa$ B e MAPK. Tendo por base o potencial do bloqueio de CTLA-4 para o tratamento de câncer, foram desenvolvidos os anticorpos anti-CTLA-4. (ROTTE, 2019)

Figura 4 - Fatores estimuladores e inibidores no ciclo de ataque do sistema imunitário ao tumor. Cada etapa do ciclo de ataque do sistema imunitário ao tumor requer a coordenação de vários fatores, tanto de natureza estimulatória quanto inibitória. Os fatores estimuladores mostrados em verde promovem a imunidade, enquanto os inibidores mostrados em vermelho ajudam a manter o processo sob controle e reduzem a atividade imunológica e/ou previnem a autoimunidade. Proteínas de checkpoint imunológico, como CTLA-4, podem inibir o desenvolvimento de uma resposta imune ativa agindo principalmente no nível de desenvolvimento e proliferação de células T (etapa 3). Enquanto fatores de rheostat imunológico ("imunostat"), como PD-L1, que pode ter uma função inibitória atua principalmente para modular as respostas imunes ativas no leito tumoral (etapa



7).

Fonte: (CHEN e MELLMAN, 2013)

O PD-1 é um membro da super família CD28 que regula negativamente a ativação de células T. O bloqueio do co-receptor inibitório PD-1 ou seu ligante PD-L1 mostrou aumento nas taxas de sobrevivência de 20 a 30% no tratamento de vários tipos de câncer. Os sinais negativos são gerados por um motivo de troca baseado em tirosina de imunorreceptor citoplasmático que se liga à proteína tirosina fosfatase SHP-2 e que pode limitar a sinalização de células B e T. Enquanto PD-1-SHP-2 inibe a sinalização de TCR e/ou CD28, não está claro se PD-1 sinaliza da

mesma maneira em diferentes subconjuntos de células T. Até o momento, descobriu-se que o PD-1 regula principalmente a função efetora citolítica das células CD8+. Sendo a imunoterapia anti-PD-1 também dependente da expressão de CD28. Após a ligação com seus ligantes, os receptores PD-1 inibem a proliferação celular, a secreção de citocinas e a capacidade citotóxica das células imunes efetoras, acentuando assim, a resposta imune. (BRUNNER-WEINZIERL e RUDD, 2018; PARRY e colab., 2005)

Atualmente, mais de 100 ensaios clínicos de bloqueio neoadjuvante anti PD-1 / PD- L1, como monoterapia ou terapia combinada, estão em andamento. O PD-L1 é um ligante de checkpoint que se liga ao PD-1, a ligação anti PD-1 / PD-L1 é considerada uma abordagem de resposta tardia devido à atividade deste checkpoint no desenvolvimento tardio de células T (a fase efetora), ou seja, manutenção e expansão de células T. O CTLA-4 é outro checkpoint de supressão, considerado de abordagem precoce devido à atividade de CTLA-4 no priming de células T (MORTEZAEI, 2021). Em estudos citados por GAO, os checkpoints foram divididos em formas estimulantes e inibitórias, que regulam com precisão a ativação das células T. A regulação positiva dos checkpoints inibitórios levou à exaustão das células T ao inibir o receptor dessa célula e fazer interações entre as moléculas coestimuladoras e os ligantes presentes nas APCs, os pontos de verificação inibitórios incluíram CTLA-4 e PD-1. (GAO e colab., 2021)

### 3. JUSTIFICATIVA

Reafirmando a necessidade atual de novos tratamentos para a terapia anticâncer, faz-se necessário partir do estudo do sistema imunitário, visto que, a partir da imunoterapia é possível reduzir consideravelmente os níveis de células que levam a um prognóstico negativo da doença. Possibilitando-se através dessa revisão a contribuição para trabalhos com foco em imunoterapia anticâncer, favorecendo assim a futuras pesquisas que objetivem tratamentos mais eficazes e menos invasivos.

A ativação do sistema imunitário contra antígenos tumorais é uma alternativa com grande potencial para ser mais eficaz e segura que as terapias anticâncer atuais. Atualmente, a modalidade farmacoterápica mais utilizada para o tratamento do câncer é a quimioterapia com agentes citotóxicos, tendo como alvo as células cancerosas. Uma alternativa que vem sendo estudada é o uso de fármacos direcionados ao sistema imunitário, seja para promover diretamente a ativação de células imunitárias contra antígenos tumorais, seja para inibir ou eliminar células não cancerosas que suprimem a resposta imunitária antitumoral.

A ciclofosfamida e o 5-fluorouracil, exemplos de terapias tratadas pelo presente trabalho, além de sua ação citotóxica contra células cancerosas, classicamente caracterizada, apresentam citotoxicidade mais pronunciada contra células T regulatórias (Tregs) e contra células supressoras de origem mieloide (MDSC), respectivamente. Assim, apesar de o uso de ciclofosfamida e 5-fluorouracil já estar amplamente estabelecido na literatura como modalidade de quimioterapia convencional, o seu uso para a redução de populações de células imunitárias que promovem o crescimento tumoral ainda carece de fundamentação empírica.

Observa-se na literatura que a dose desses fármacos é uma variável essencial não apenas no resultado dessa terapia, mas também no seu mecanismo de ação: doses mais altas reduzem a massa tumoral por seu efeito citotóxico direto contra células cancerosas, enquanto doses mais baixas podem reduzir a massa tumoral por meio de efeitos diretos sobre o sistema imunitário. Uma eventual redução farmacológica da imunossupressão caracteristicamente induzida por tumores poderia ser utilizada terapêuticamente em combinação com outras ferramentas de imunoterapia, tais como os anticorpos bloqueadores de checkpoints



imunitários.

Assim, o presente trabalho visou elucidar a contribuição de dois mecanismos de ação de ciclofosfamida e 5-fluorouracil, quais sejam, a citotoxicidade direta contra células tumorais e a citotoxicidade contra células imunitárias, em diferentes doses, no tratamento de melanoma experimental.

Ressalta-se aqui, portanto, que o presente trabalho não trata de um protocolo convencional de quimioterapia citotóxica direcionada primariamente às células cancerosas, mas sim do uso de ciclofosfamida e 5-fluorouracil, com o objetivo primário de reduzir a população de células imunitárias supressoras pró-tumorais.

A literatura sugere que as doses atualmente utilizadas na quimioterapia mediada por esses fármacos são altas demais para que haja um efeito antitumoral decorrente da redução de células imunossupressoras, provavelmente porque, em altas doses, várias populações de células imunitárias podem ser atingidas, incluindo aquelas que poderiam eliminar as células cancerosas.

Pelo seu potencial imunoterapêutico, ainda pouco explorado, esses produtos poderiam representar um avanço significativo no tratamento de pacientes com câncer, uma doença altamente incapacitante e muitas vezes letal. Assim, espera-se que o desenvolvimento do presente artigo forneça informações importantes para o contínuo aperfeiçoamento da imunoterapia do câncer.

A ativação do sistema imunitário contra antígenos tumorais é uma alternativa com grande potencial para ser mais eficaz e segura que as terapias anticâncer atuais. Porém, ainda não foi desenvolvido um protocolo imunoterápico robusto contra diferentes tipos de câncer. Pelo seu potencial terapêutico superior, o conhecimento aqui ilustrado pode auxiliar em um avanço significativo no tratamento de pacientes com câncer, uma doença altamente incapacitante e muitas vezes letal.

A preocupação com a temática e obtenção de conhecimentos capazes de serem utilizados ativamente na clínica, refletem o compromisso com a sociedade.

#### 4. OBJETIVOS

Analisar a produção científica disponível a cerca de imunoterapia anticâncer. Revisando na literatura a interação do sistema imunológico ao câncer, focando na atuação das células supressoras de mieloides e células T regulatórias, bem como analisar possíveis fármacos disponíveis para a redução dos níveis dessas células no TME.

##### Objetivos Específicos

- Analisar mecanismos de MDSCs e Tregs na imunidade antitumoral
- Analisar terapias moduladores de MDSCs e Tregs
- Analisar doses de quimioterápicos 5FU e Ciclofosfamida na modulação das células de interesse

## 5. METODOLOGIA

O presente artigo foi construído partindo-se de uma revisão da literatura com busca definida por descritores. Para o levantamento documental foram consultadas as bases de dados National Library of Medicine (PubMed), ScienceDirect, Scopus e Biblioteca Virtual de Saúde (BVS). Partindo-se dos seguintes descritores para a busca: imunoterapia, câncer, MDSC, Treg, CTLA-4 E PD-1, utilizando sempre imunoterapia e câncer como descritores fixos e os outros como variáveis; tendo como estratégias de busca as seguintes combinações: 1 – MDSC + imunoterapia + câncer; 2 – Treg + imunoterapia + câncer; 3 – CTLA4 + imunoterapia + câncer; 4 – PD1 + imunoterapia + câncer.

Os artigos obtidos foram analisados e organizados na plataforma Mendeley de acordo com as características apresentadas, utilizando-se como critério de elegibilidade a ênfase na imunoterapia aplicada ao câncer, abordando como tema a ação das MDSC e Treg nesse contexto e/ou o uso de checkpoints imunológicos para amenizar a ação dessas células no TME . Após a leitura foram selecionados para uso 41 artigos, levando também em consideração na seleção o ano de publicação, priorizando publicações mais recentes.

## **CAPÍTULO II**

Artigo a ser submetido na revista X

**CÉLULAS SUPRESSORAS MIELOIDES E CÉLULAS T REGULATÓRIAS NA  
IMUNOTERAPIA ANTICÂNCER**  
**MYELOID SUPPRESSOR CELLS AND REGULATORY T CELLS IN ANTI-  
CANCER IMMUNOTHERAPY**

*Thayná Mundim de Amorim<sup>1</sup>, Eliana Fortes Gris<sup>1</sup>, Victor Carlos Mello da Silva<sup>1\*</sup>.*

*1. Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brazil;*

**RESUMO**

Artigos atuais demonstram amplos estudos para novos tratamentos em oncologia que incluem a ação do sistema imunitário. Assim, pode-se explorar na imunoterapia anticâncer novas possibilidades de tratamentos que possibilitem a redução de efeitos adversos quando comparada as terapias convencionais, como a quimioterapia. Nesse seguimento, as células supressoras de mielóide (MDSC) e as células T regulatórias (Treg), veem sendo alvo de diversos estudos, visto que elas se apresentam relacionadas à progressão do câncer, estando presentes em níveis elevados no tecido tumoral de pacientes com a doença. Nesta revisão, são abordados dados sobre as características das MDSCs e Tregs em relação à imunidade tumoral, observando-se como os mecanismos de ação dessas células poderão ser alvos de terapias antitumorais. Sendo, portanto, um avanço na imunoterapia anticâncer a redução dessas células no microambiente tumoral (TME), aumentando assim a imunidade antitumoral, visto que tanto MDSC quanto Treg estão associadas ao prognóstico negativo do câncer. Observando-se no bloqueio de checkpoints imunitários por anticorpos, um caminho promissor para buscar alcançar tal objetivo de redução dessas células.

**Palavras-chave:** Imunoterapia, Câncer, MDSC, Treg.

**ABSTRACT**

Current articles demonstrate extensive studies for new treatments in oncology that include the action of the immune system. Thus, new possibilities of treatments can be explored in anticancer immunotherapy that allow the reduction of adverse effects when compared to conventional therapies, such as chemotherapy. In this follow-up, myeloid suppressor cells (MDSC) and regulatory T cells (Treg) have been the target of several studies, since they are related to cancer progression, being present in high levels in the tumor tissue of patients with the disease. In this review, data on the characteristics of MDSCs and Tregs in relation to tumor immunity are discussed, observing how the mechanisms of action of these cells may be targets of antitumor therapies. Therefore, an advance in anticancer immunotherapy is the reduction of these cells in the tumor microenvironment (TME), thus increasing antitumor immunity, since both MDSC and Treg are associated with a negative prognosis of cancer. Observing the blocking of immune checkpoints by antibodies, a promising way to seek to achieve this objective of reducing these cells.

**Keywords:** Immunotherapy, Cancer, MDSC, Treg.

## 6. INTRODUÇÃO

Observando o cenário contemporâneo, que abrange as últimas décadas é possível aferir o evidente problema de saúde pública mundial no qual o câncer se tornou. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que em 2030 ocorrerão 27 milhões de novos casos da doença (INCA, 2016). Diante desse cenário e tendo em vista mecanismos de resistência apresentados pelas células tumorais e à toxicidade dos fármacos anticâncer, faz-se necessário o estudo e desenvolvimento de terapias que possam auxiliar no tratamento da doença de forma mais eficaz e menos agressiva ao paciente (PERCHE e colab., 2012)

Artigos atuais demonstram amplos estudos para novos tratamentos em oncologia que incluem a ação do sistema imunitário. Assim, pode-se explorar na imunoterapia anticâncer novas possibilidades de tratamentos que possibilitem a redução de efeitos adversos quando comparada as terapias convencionais, como a quimioterapia. Nesse seguimento, as células supressoras de mielóide (MDSC) e as células T regulatórias (Treg), veem sendo alvo de diversos estudos, visto que elas se apresentam relacionadas à progressão do câncer, estando presentes em níveis elevados no tecido tumoral de pacientes com a doença (HUPPERT e colab., 2021; ZAHRAN e colab., 2021).

MDSCs são neutrófilos ou monócitos patologicamente ativados com potente atividade imunossupressora, elas estão relacionadas a regulação de respostas imunes em muitas condições patológicas (VEGLIA e colab., 2021). As células T regulatórias são um subconjunto de linfócitos T CD4+, elas se infiltram nos locais com tumor suprimindo a atividade das células T citotóxicas de agir contra células cancerosas. Um avanço na imunoterapia anticâncer seria a redução dessas células no microambiente tumoral (TME), aumentando assim a imunidade antitumoral, visto que tanto MDSC quanto Treg estão associadas ao prognóstico negativo do câncer (DEES e colab., 2021).

Diante do contexto apresentado o presente trabalho tem por objetivo realizar uma revisão narrativa da literatura, se comprometendo a investigar a ação das MDSCs e Tregs em relação à imunidade tumoral.

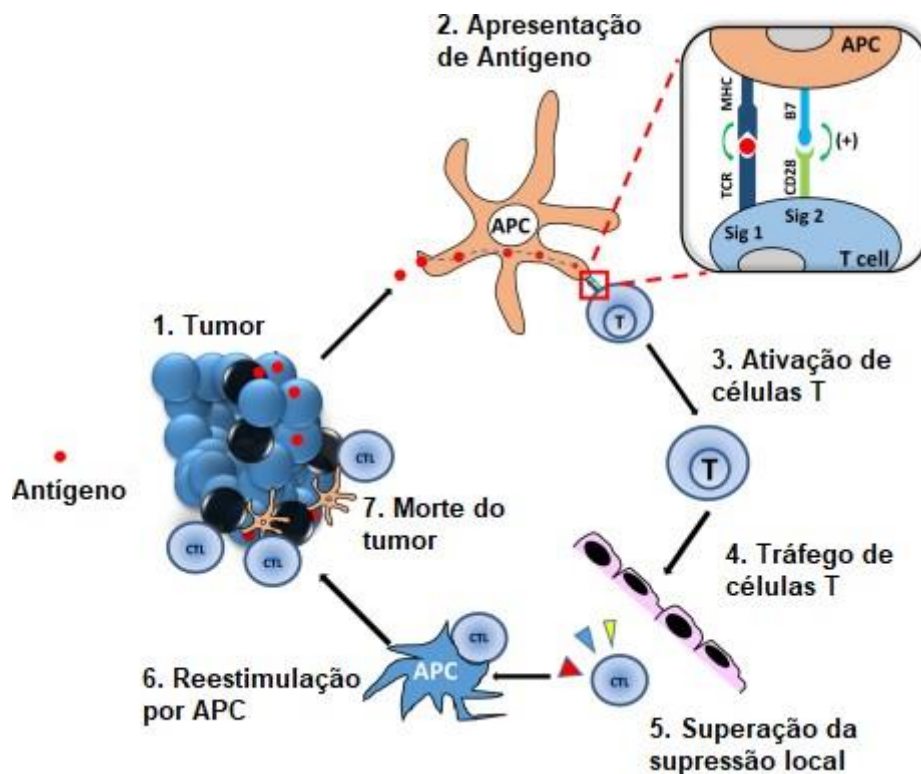
## 7. REFERENCIAL BIBLIOGRAFICO

### Imunoterapia Anticâncer

Pesquisas recentes demonstram a ativação do sistema imunológico como uma importante ferramenta para o tratamento do câncer, em 2013 a imunoterapia anticâncer foi nomeada pela Science como a revolução do ano. O principal obstáculo a ser superado na imunoterapia é a imunoevasão tumoral ao sistema imunitário, pois essa pode diminuir a regulação dos principais complexos de histocompatibilidade, anular os sinais coestimulatórios, secretar agentes imunossupressores e agentes pró-inflamatórios, criando assim, um ambiente propício para a progressão do câncer (ZENG e colab., 2020).

Compreendendo como o sistema imunitário acomete o tumor, pode-se separar o processo em sete etapas para facilitar o entendimento. Onde, essas etapas serão essenciais para o ataque eficaz ao tumor, podendo cada uma delas ser regulada para fortalecer ou reduzir a resposta imunológica e evitar efeitos adversos causados devido á danos aos tecidos não tumorais. Iniciando-se pela presença de antígenos tumorais presentes no tumor (etapa 1), os quais serão processados e apresentados, por células apresentadoras de antígenos (APCs), ás células T efetoras (etapa 2). Esse reconhecimento pelas células T será realizado através do receptor de células T (TCR) ao reconhecimento do complexo principal de histocompatibilidade II (MHCII), havendo um sinal coestimulatório pelo emparelhamento da proteína CD28 presente na célula T á proteína de membrana B7 presente na APC (etapa 3). Assim ativadas, as células T deixarão o linfonodo de drenagem e trafegarão através dos vasos sanguíneos periféricos retornando ao local do tumor (etapa 4). Após os linfócitos T CD8 estarem ativados precisarão superar os mecanismos imunossupressores do tumor no TME (etapa 5), e provavelmente também serão requisitados para reestimulação pelas APCs dentro do tumor (etapa 6). Por fim, na etapa 7, as células T citotóxicas reconhecerão e matarão células tumorais contendo antígeno. (Figura 1) (PALUSKIEVICZ e colab., 2019; STEVEN e colab., 2016a).

Figura 6 - Ataque do sistema imunitário ao tumor, em sete etapas.



Fonte: (STEVEN e colab., 2016)

As abordagens de tratamento mais comuns nesse contexto são por inibidores de checkpoint imunológico, terapia de transferência de células T por receptor de antígeno quimérico e métodos não específicos de estimulação imunológica. Sendo de suma importância para eficácia da resposta imunológica a presença de células T efetoras no TME, assim, as vias de sinalização de células imunossupressoras, como as MDSCs e Tregs, podem afetar a atividade de células T citotóxicas, ressaltando a necessidade de reduzir a presença ou atividade dessas células.

As MDSCs promovem o crescimento tumoral e a metástase pela supressão da resposta imune antitumoral e por meio de secreções parácrinas que estimulam a proliferação, motilidade e angiogênese das células tumorais. As MDSCs devido ao seu recurso de supressão imunológica, são um importante inibidor da ativação de linfócitos T, havendo múltiplas moléculas efetoras e vias de sinalização utilizadas por MDSCs para regular a supressão imunológica. Os principais mecanismos abordados envolvem a depleção de aminoácidos necessários, produção de óxido nítrico (NO), espécies reativas de oxigênio (EROs), fator de crescimento



transformador- $\gamma$  (TGF- $\gamma$ ) e outras citocinas, expressão de PD-L1, downregulation de L- e E-selectinas e assim por diante. Além disso, MDSC também pode prejudicar a função das células T indiretamente pela indução de outras células imunoinibitórias, como células Tregs. (LI, Tianhang e colab., 2021)

A infiltração de células Treg no TME ocorre em vários tumores murinos e humanos. As Tregs suprimem as funções imunológicas através de vários mecanismos como a supressão por linfócito T citotóxico associado a proteína - 4 (CTLA-4) da função de APC, consumo de interleucina - 2 (IL-2, citocina pró-inflamatória) e produção de metabólitos imunossupressores. Quando comparadas as Tregs presentes em tecidos linfoides ou não linfoides ou no sangue, células Treg infiltrantes de tumor expressam níveis mais elevados de moléculas da superfície celular associado à ativação de células T, dentre as várias moléculas da superfície celular expressas por Treg, o CD25 e CTLA-4, levam a alterações nessas moléculas capazes de causar autoimunidade grave em camundongos e humanos, que parecem contribuir para a supressão mediada por células Treg. (OHUE e NISHIKAWA, 2019)

## TREGS

As células T regulatórias, residem no sistema circulatório sistêmico e em todos os tecidos. Elas são conhecidas como controladoras mestres da autotolerância e funcionam para manter a homeostase imunológica e coordenar a supressão da ativação imunológica excessiva para prevenir respostas autoimunes. A observação de que essas células T supressoras potentes também são onipresentes em tumores, foi descrita pela primeira vez por Robert North em 1980 (BERENDT e NORTH, 1980). No entanto, embora as Tregs constituam um subconjunto de células imunes que está entre os mais extensivamente estudados em oncologia por décadas, o direcionamento eficaz de Tregs para imunoterapia contra o câncer tem sido difícil devido essas células raramente serem estudadas no contexto de suas propriedades críticas específicas de tecido (SAKAGUCHI e colab., 2020).

Evidências recentes sugerem que Tregs demonstram notável adaptabilidade ao seu ambiente local e facilitam a homeostase imunológica por meio de vias específicas de tecido altamente especializadas. Após os tumores adquirem

neoantígenos para induzir uma resposta imune, supressores imunológicos potentes, como Tregs, são normalmente regulados positivamente. Sendo um grande desafio para a imunoterapia de precisão eficaz contra o câncer a metástase, devido a decodificação e compreensão dos processos regulatórios adaptados ao tecido, que evoluíram explicitamente para proteger os vários locais de tecido cooptados em casos de câncer metastático, fazendo-se necessário diferentes estratégias para alcançar a imunidade antitumoral. (COOPER e ALDER, 2006; SAKAGUCHI e colab., 2020)

Além de manter a autotolerância, as Tregs adaptaram funções especializadas de órgãos específicos que suportam o tecido, contribuindo para a imunidade antitumoral ineficaz. Tregs em órgãos diferentes desempenham funções distintas por meio de mediadores diferentes, no cérebro expressam receptores de neurotransmissores, respondem às células microgliais para amortecer a autoimunidade e facilitam o reparo de lesão neuronal, incluindo o reparo de lesão isquêmica. Já nos pulmões podem expressar proteínas sensíveis ao oxigênio, mediar a tolerância a aeroalérgenos inalados de imunidade tipo 2 e apoiar a reparação e remodelação de tecidos após infecções das vias aéreas. As Tregs no fígado podem responder a metabólitos derivados da microbiota, mediar a tolerância oral da dieta, regular a imunidade aos comensais intestinais, apoiar a reparação e regeneração de tecidos, e possivelmente manter a quiescência das células-tronco hematopoéticas durante o desenvolvimento fetal. Na glândula adrenal, Tregs, expressam receptores de glicocorticóides e podem responder à sinalização de resposta ao estresse. As Tregs nos nódulos linfáticos mantêm a tolerância ao controlar as células T foliculares auxiliares e as células B. Na pele amortecem a autoimunidade, regulam a tolerância aos comensais, medeiam a cicatrização de feridas e apoiam o crescimento do cabelo. Finalmente, as Tregs no osso mantêm a quiescência das células-tronco hematopoéticas e facilitam a osteogênese. (HAERTEL e colab., 2018; HUPPERT e colab., 2021)

### Tregs e o Câncer

Da perspectiva do TME e do nicho metastático, os mecanismos de multicamadas das Tregs para reparo de tecido podem ser cooptados para promover

a progressão do câncer porque simultaneamente preparam o "solo" local para a regeneração e crescimento tumoral enquanto protegem a "semente" contra a rejeição imunológica. Dessa forma, é de suma importância compreender o papel das Tregs no crescimento e proliferação do câncer dentro do TME. Geralmente, Tregs infiltrantes de tumor, expressam níveis mais elevados de moléculas de superfície celular associadas à ativação de células T, como CD25, CTLA-4, PD-1, LAG3, TIGIT, ICOS, 4-1BB, OX-40 e GTRF (VIGNALI e colab., 2008). Supondo-se que essas células suprimem as células T efetoras diretamente, contribuindo para a ruptura metabólica das células T efetoras e modulando a maturação e a função das células dendríticas necessárias para a ativação das células T efetoras.

Acredita-se que as Tregs também desempenham um papel na promoção de metástases tumorais, facilitando a disseminação tumoral, evasão imunológica e preparação de focos metastáticos. Por exemplo, frequências de Treg aumentadas estão associadas a um risco maior de metástase em muitos cânceres, incluindo câncer de mama, ovário, próstata, pulmão, tireóide, gástrico, colorretal e de pele. Sendo que níveis mais altos de Tregs infiltrantes de tumor estão associados ao aumento do tamanho do tumor, enquanto maiores proporções de Tregs do sangue periférico estão associadas ao estágio clínico, diferenciação patológica e metástase.

Nesse contexto, pesquisas a respeito da atuação direta das Tregs na metástase do câncer estão em andamento, sabe-se que Tregs infiltrantes de tumor geralmente expressam níveis mais elevados de moléculas de superfície celular associadas à ativação de células T, como CD25, CTLA-4, PD-1, LAG3, TIGIT, ICOS, 4-1BB, OX-40 e GTRF (SAINSON e colab., 2019). Acredita-se que as Tregs também desempenham um papel na promoção de metástases tumorais, facilitando a disseminação tumoral, evasão imunológica e preparação de focos metastáticos, devido frequências de Treg aumentadas estarem associadas a um risco maior de metástase em muitos cânceres, incluindo câncer de mama, ovário, próstata, pulmão, tireóide, gástrico, colorretal e de pele. Níveis mais altos de Tregs infiltrantes de tumor estão associados ao aumento do tamanho do tumor, enquanto maiores proporções de Treg no sangue periférico estão associadas ao estágio clínico, diferenciação patológica e metástase. (HUPPERT e colab., 2021)

As células Treg desempenham um papel vital na manutenção da autotolerância, da homeostase imunológica, prevenindo a autoimunidade e doenças

inflamatórias. Evidências anteriores mostram que as Tregs fazem parte da população de células T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>. Como o CD25 é um marcador de células T efetoras, os pesquisadores estavam céticos sobre a propriedade imunossupressora das células T, posteriormente, foi demonstrada uma diferença entre as células T efetoras CD25<sup>+</sup> e as células Treg. Embora, devido à complexidade de seu mecanismo, este ainda não está totalmente compreendido (SHARMA e colab., 2019). Pesquisas do início dos anos 2000 revelaram que as células Treg funcionam principalmente por meio do fator de transcrição FoxP3 (forkhead box P3), demonstrando que a deleção de FoxP3 nas células T de camundongos levou ao desenvolvimento impróprio de células Treg e aumento da autoimunidade (ZENG e colab., 2020).

O FOXP3 é um membro da família de fatores de transcrição forkhead. Ao contrário de outros membros, é expresso principalmente em um subconjunto de células T CD4<sup>+</sup> que desempenham um papel supressor no sistema imunológico (ABDELRAHMAN e colab., 2021). O FOXP3 leva à supressão a expressão de muitos genes, incluindo IL-2 e citocinas de células T efetoras, atua também como um ativador de transcrição para muitos genes, incluindo CD25 e CTLA4. As células T FOXP3<sup>+</sup> são produzidas no timo e na periferia, elas migram para os tecidos linfoides secundários e suprimem o estímulo antigênico dos linfócitos. As células T de memória FOXP3<sup>+</sup> são eficazes na supressão da função das células T efetoras, enquanto as células T FOXP3<sup>+</sup> são hábeis em suprimir as respostas imunes iniciais em tecidos linfoides. Tanto as células T FOXP3<sup>+</sup> iniciais quanto as de memória são necessárias para a manutenção eficaz da tolerância e prevenção de doenças autoimunes. (KIM, 2010; SALEH e ELKORD, 2020)

Um anticorpo monoclonal antiCCR4 com alta citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos (ADCC) foi usado para depletar Tregs e aumentar as respostas antitumorais, da mesma forma, os anticorpos monoclonais contra CD25, OX-40 e GITR aumentaram a depleção de Treg mediada por ADCC e retardaram o crescimento do tumor. Assim, quando a modulação específica do tecido é levada em consideração com mais detalhes, as proteínas de superfície expressas em níveis elevados em Tregs intratumorais podem ser alvos de maior depleção de Treg tumoral por anticorpos monoclonais ADCC. (HUPPERT e colab., 2021)

Um aspecto importante da ação das células Treg é por meio da via beta do fator transformador de crescimento (TGF). As células Treg são conhecidas por produzirem TGF $\beta$ , o qual pode promover a diferenciação de células T CD4 + naive em células Treg por meio da expressão de FOXP3, o TGF $\beta$  também é conhecido por neutralizar as células T efectoras e as APCs, geralmente as Tregs podem suprimir a resposta imune antitumoral por meio dele, enquanto as células tumorais escapam dessa via, o que leva ao TME imunossupressor, resultando posteriormente na progressão do câncer. (PALUSKIEVICZ e colab., 2019)

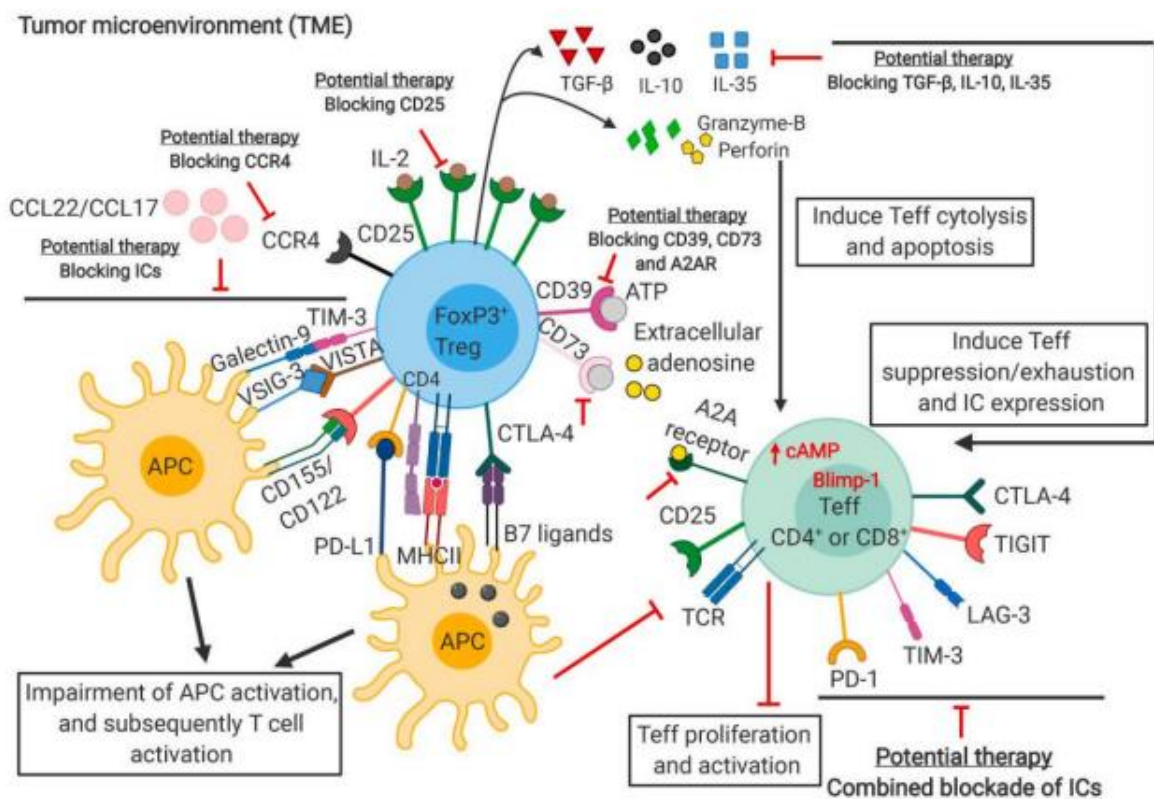
As células Treg por meio da secreção de interleucina-10 (IL10), citocina antiinflamatória também conhecida como fator inibidor da síntese de citocinas humanas, desempenham um papel significativo na regulação das respostas imunes. Em condições tumorigênicas, as células Treg secretam IL10 dentro do TME prejudicando a atividade anticâncer mediada por células T auxiliares Tipo 1. Outro aspecto importante das células Treg que causam a progressão do câncer é a promoção da angiogênese, a infiltração de Treg no TME ativa marcadores angiogênicos, como o fator de crescimento endotelial vascular, promovendo a angiogênese tumoral por meio de vários mecanismos diretos e indiretos. Por exemplo, as células Treg promovem a angiogênese tumoral ao inibir as células T reativas ao tumor. (ZENG e colab., 2020)

Os checkpoints imunológicos são uma cascata de vias cruciais para células saudáveis, permitindo-lhes prevenir a autoimunidade e danos. O CTLA-4 ativa a infiltração de células Treg através da regulação negativa de moléculas coestimulatórias em APCs, levando à progressão do câncer e prevenção da resposta imune (ROMANO e colab., 2015). Assim, vários estudos têm tentado suprimir a expressão de CTLA-4 para prevenir a infiltração de células Treg, avaliando seu desfecho clínico. Romano e colab. mostra pela primeira vez que o ipilimumabe, um anticorpo IgG1 anti-CTLA4, foi capaz de induzir a lise mediada por monócitos CD16 + de células Treg, em um modo de citotoxicidade mediada por ADCC, em pacientes com melanoma metastático. Huppert também relata estudos sobre Ipilimumab e Tremelimumab, onde esses foram testados em pacientes com vários tipos de câncer, incluindo melanoma, câncer de próstata e carcinomas de células renais, demonstrando resultados de um grande estudo clínico de fase III, randomizado e multicêntrico para o ipilimumabe com uma vantagem significativa em

pacientes com melanoma metastático. (CALABRÒ e colab., 2013; SHARMA e colab., 2019)

Apesar dos resultados pré-clínicos promissores obtidos ao longo de décadas, a aplicação clínica da terapia com Treg direcionada tem sido difícil como imunoterapia contra o câncer. Em primeiro lugar, as Tregs e as células T efetoras ativadas compartilham muitos dos mesmos marcadores de superfície celular, como CD25 e CTLA-4, tornando difícil depletar especificamente as Tregs sem afetar as células T efetoras. Em segundo lugar, Tregs também desempenham um papel indispensável na prevenção da autoimunidade e, até agora, tem sido um desafio esgotar especificamente Tregs dirigidas ao tumor sem afetar Tregs periféricas (por exemplo, Tregs circulantes, Tregs residentes em linfoides e Tregs residentes em tecido), para prevenir efeitos colaterais autoimunes (WEI e colab., 2019).

Figura 7 - Mecanismos de imunossupressão mediados por Tregs e potencial terapêutico na imunossupressão.



Fonte: (SALEH e ELKORD, 2020)

Buscando superar esses problemas e alcançar maior eliminação de Tregs tumorais mediada por anticorpos específicos, a depleção de células Treg dependente de anticorpos pode explorar as diferenças entre as células Treg tumorais, as cinéticas e os alvos das células T efetoras, embora existam muitas semelhanças nos marcadores de superfície celular expressos em células Tregs se comparados às células T efetoras, existem diferenças nos níveis de expressão do TME e na cinética atualmente em estudo, que podem ser exploradas. Por exemplo, um anticorpo monoclonal anti-CTLA-4 dentro da subclasse IgG2a depletou Tregs especificamente no tecido tumoral e, assim, aumentou a imunidade antitumoral (SAINSON e colab., 2019). As Tregs expressam constitutivamente CTLA-4, mas as células T convencionais expressam apenas CTLA-4 quando são ativadas, e as células T convencionais expressam-no em níveis muito mais baixos do que as Tregs; assim, é possível projetar anticorpos com regiões Fc específicas para esgotar Tregs sem reduzir significativamente a população de células T efetoras. (CURRAN e colab., 2010)

Os fármacos pembrolizumab e nivolumab são anticorpos monoclonais humanizados que bloqueiam a interação PD-1 / PD-L1, previnem a atividade das células Treg e promovem a atividade antitumoral (CHAE e colab., 2018). Alguns estudos apontam que o bloqueio de TGF $\beta$  junto com o bloqueio de PD-1 é uma opção viável para suprimir as células Treg que se infiltram no tumor e promover a infiltração de células T efetoras, resultando na destruição citotóxica do tumor. Além disso, a combinação de um inibidor PD-1 com o inibidor CTLA-4 demonstrou eficácia superior contra o melanoma e o carcinoma de pulmão. Tal terapia demonstrou efetivamente esgotar as células Treg enquanto expande as células T CD8 + dentro do TME, em comparação com a monoterapia com qualquer um dos inibidores. (ZENG e colab., 2020)

A ciclofosfamida tem sido usada como terapia anticâncer desde 1959. No entanto, devido à alta citotoxicidade e efeitos colaterais, o uso rotineiro desta é limitado, com exceção da administração de baixas doses contínuas (também chamadas de dosagem metronômica). Demonstrou-se que a dosagem metronômica de ciclofosfamida tem efeitos imunoestimuladores que incluem a expansão de CTLA-4, uma depleção transitória de Treg e a restauração da homeostase das

células dendríticas . Em um modelo murino de câncer de cólon, a combinação de IL 12 e ciclofosfamida elimina Treg intratumoral e MDSC, enquanto simultaneamente induz células mieloides próinflamatórias dentro do TME, um componente essencial para facilitar a infiltração de células T efetoras e subsequente rejeição do tumor. Em acordo a esta abordagem, foi demonstrado que o bloqueio de PD-1, com ciclofosfamida de baixa dose e a administração de peptídeos combinatórios induzem sinergicamente uma forte resposta imune antígeno-específica aumentando a infiltração de células T , gerando potente atividade antitumoral. (LE e JAFFEE, 2012; LI, Ping e colab., 2021; ZHANG e colab., 2018)

## MDSCs

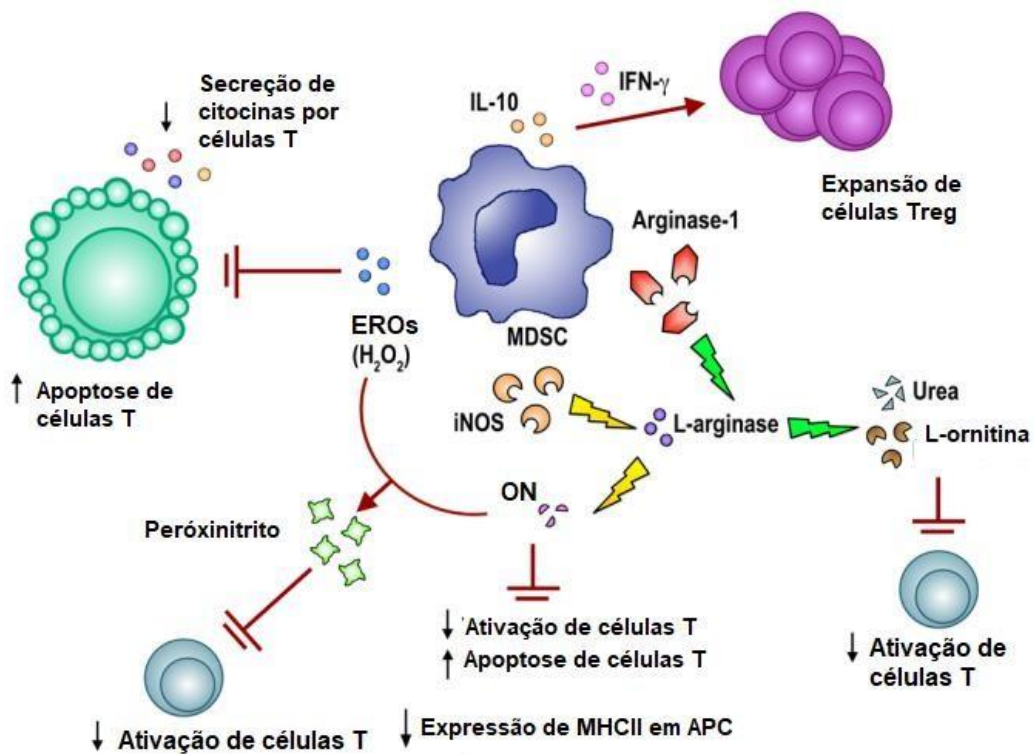
As MDSCs possuem dois grupos principais em humanos e camundongos, as MDSCs granulocíticas polimorfonucleares (PMN-MDSCs) e as MDSCs monocíticas (M-MDSCs), as quais são classificadas de acordo com a origem na linhagem de células mieloides granulocíticas ou monocíticas. Um outro pequeno grupo de células precursoras mieloides também foi identificado em humanos, sendo estas denominadas MDSCs iniciais, este grupo de células com características imunossupressoras potentes é composto principalmente de progenitores e precursores mieloides e representa menos de 5% da população total de MDSC (VEGLIA e colab., 2021). MDSCs prejudicam as funções dos linfócitos T pela regulação positiva da expressão de fatores imunossupressores, como arginase 1 (Arg-1) e óxido nítrico induzível sintase, aumentando a produção de NO e EROs, e induzindo células Treg (Figura 3) (DURGEAU e colab., 2018)

A ativação de células mielóides clássicas ocorre devido a resposta gerada a patógenos e danos aos tecidos, sendo principalmente conduzida por meio de padrões moleculares associados a dano celular (DAMPs), padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e ativação de receptores Toll-like (TLR), o que leva ao recrutamento de neutrófilos e monócitos da medula óssea e consequentemente a fagocitose, explosão respiratória, degranulação e formação de armadilha extracelular de neutrófilos (neutrophil extracellular traps, NETs) (VEGLIA e colab., 2021). A ativação patológica surge a partir da estimulação contínua de fatores de crescimento mielóides e sinais inflamatórios devidos a tumores, infecções



crônicas ou inflamação e doenças auto-imunes. Dentre esses sinais de ativação estão citocinas e fatores de crescimento, atuando como fator estimulador de colônia de macrófagos-granulocíticos (GM-CSF), fator estimulador de colônia de macrófago (M-CSF), IL-6, IL-1 $\beta$ , sinalização de adenosina ou sinalização de estresse do retículo endoplasmático de PMN-MDSCs e M-MDSCs (CONDAMINE e colab., 2015).

Figura 8 - Diferentes mecanismos empregados por MDSCs para mediar a imunossupressão



Como dito anteriormente, na inflamação aguda, uma ampla gama de estímulos inflamatórios podem desencadear a geração de MDSCs. Esses fatores podem ser classificados em três grupos: fatores de crescimento necessários para a expansão (por exemplo, G-CSF, M-CSF, GM-CSF e S-CSF), citocinas para maturação funcional (citocinas da família IL-1, IL-4, IL-6, IL-13 e TNF), e quimiocinas para mobilização no TME (IL-8, CCL2 e CXCL12) (NAKAMURA e SMYTH, 2020). As MDSCs regulam positivamente a expressão de fatores imunossupressores como EROs, óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e Arg-1, reduzindo a atividade antitumoral das células T, tornando assim os fatores listados importantes alvos terapêuticos (VANHAVER e colab., 2021). A ativação seletiva do fator nuclear

eritroide 2 reduziu a produção de EROs intracelular anulando a imunossupressão de MDSC e reduzindo a metástase tumoral. Fármacos anticâncer promissores foram testados em ensaios clínicos de fase I em pacientes com tumores, descobrindo-se que tadalafil reduz a atividade de iNOS e Arg-1 em MDCs e Tregs. Enquanto o entinostat, inibidor de histona desacetilase de classe I, neutralizou MDSC por meio da expressão de Arg-1 e iNOS, em modelos de camundongos com câncer de pâncreas (MORTEZAEI, 2018).

M-MDSCs e PMN-MDSCs compartilham características bioquímicas importantes que permitem a supressão de respostas imunes, incluindo a regulação positiva da expressão do transdutor de sinal e ativador da transcrição 3 (STAT3), indução de estresse do retículo endoplasmático, expressão de Arg-1 e expressão de S100A8/A9. No TME as MDSCs são capazes de esgotar nutrientes essenciais às células T através da via de sinalização STAT/MyD88 devido a superegulação de enzimas metabólicas como Arg-1 e iNOS. Além dos papéis de supressão nas células T, as MDSCs também induzem a apoptose e bloqueio da migração dessas células, o que é essencial para a atuação das mesmas. (KUMAR e colab., 2016)

## MDSCs e o Câncer

De forma a constatar as vias de regulação citadas, GAO ilustra em seus dados a regulação negativa das respostas imunes antitumorais por MDSC, durante o processo crônico de transição da inflamação para o câncer, e a regulação positiva da expressão de fatores imunossupressores, como Arg-1 e iNOS, além de apontar as MDSCs como bloqueadoras a resposta antitumoral de células T através do aumento na produção de EROs e espécies reativas nitrogênio (ERNs) (GAO e colab., 2021). M-MDSCs e PMN-MDSCs possuem características distintas em certos pontos quanto as respostas imunológicas geradas, por exemplo, PMN-MDSCs usam preferencialmente EROs, peroxinitrito, Arg-1 e prostaglandina E2 (PGE2) para mediar a supressão imunológica, enquanto as M-MDSCs utilizam óxido nítrico, citocinas imunossupressoras como as IL-10 e TGF $\beta$ , e a expressão de moléculas regulatórias imunológicas como PDL1. (OSTRAND-ROSENBERG e colab., 2020).

Os neutrófilos contidos nos aglomerados mostraram um perfil de expressão gênica semelhante ao dos PMN-MDSCs, as MDSCs são mais imunossupressoras no local do tumor do que em órgãos linfóides, a migração de neutrófilos e PMN-MDSCs para tumores é impulsionada principalmente pelo receptor de quimiocina CXCR2 em resposta a CXCL1 e CXCL2 em camundongos e humanos, bem como em resposta a IL-8 (também conhecido como CXCL8) em humanos (SCHALPER e colab., 2020). Alguns estudos demonstraram que o bloqueio do recrutamento de PMN-MDSCs para tumores por ablação genética de CXCR2 ou com pequenas moléculas inibidoras de CXCR2, melhorou o resultado do sarcoma metastático e aumentou a eficácia do tratamento anti-PD1 em tumores estabelecidos. Em um estudo recente foi demonstrado como a terapia epigenética pode influenciar o acúmulo de MDSC, utilizando baixas doses de inibidores de metiltransferase e histona desacetilase, demonstraram redução do acúmulo de MDSC mediado por CCR2 e CXCR2 em nichos pré-metastáticos no pulmão e aumento da sobrevivência global em camundongos após ressecção cirúrgica dos tumores primários (STADTMANN e ZARBOCK, 2012; YUEN e colab., 2020).

A metástase representa a maior causa de morte em pacientes com câncer, esta requer a circulação de células tumorais do local do tumor primário para órgãos distantes, onde o local é preparado por células tumorais em disseminação em um processo conhecido como formação do nicho pré-metastático. Recentemente, foi demonstrado que os neutrófilos derivados da medula óssea em estágios iniciais do câncer não possuem a capacidade imunossupressora que caracteriza as MDSCs, mas exibem maior migração espontânea, e produção de moléculas influenciadoras do tumor, como glicólise e maior produção de trifosfato de adenosina (ATP) em comparação com neutrófilos ingênuos. Os perfis transcriptômicos dessas células demonstraram enriquecimento de vias associadas ao estresse do retículo endoplasmático. Já os NETs são estruturas extracelulares liberadas por neutrófilos em resposta a estímulos e compostas por proteínas citosólicas e granulares, bem como por DNA, estes são capazes de promover metástase, além de facilitarem a colonização do câncer de ovário e promoverem o extravasamento do câncer colorretal circulante para o fígado e pulmão, comprovado em modelos pré-clínicos de câncer colorretal. Os NETs são capazes de recrutar células tumorais para o nicho pré-metastático via CDC25. Embora ainda não se saiba se os NETs são produzidos

com mais frequência por PMN-MDSCs do que por neutrófilos, foi relatado recentemente que as células granulocíticas de camundongos com tumor são mais propensas a produzir NETs do que neutrófilos de camundongos sem tumor. Assim, o direcionamento farmacológico de NETs pode ser uma forma promissora de reduzir a colonização metastática do tumor. (KUMAR e colab., 2016; VEGLIA e colab., 2021)

Uma boa vantagem para melhorar a resposta antitumoral é através do bloqueio de MDSC. Modelos pré-clínicos atuais de câncer de mama demonstraram a depleção de MDSC por meio do tratamento com ácido trans-retinóico (all-trans retinoic acid [ATRA]), sendo possível verificar melhora na eficácia dos inibidores de receptores para o fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR2) como uma terapia antiangiogênica. Assim, a combinação tripla de ATRA com um inibidor de VEGFR2 e com a quimioterapia convencional atrasou significativamente o crescimento do tumor. A terapia com ATRA também foi combinada ao bloqueio de checkpoint imunitário utilizando antiCTLA4 em pacientes com melanoma, onde foi possível notar uma redução no número de MDSC circulantes e na expressão de genes imunossupressores de MDSC. Outro tratamento testado em camundongos foi com o inibidor de proteína de transporte de ácidos graxos 2 (FATP2), o qual reduziu significativamente o crescimento de tumor, sendo este sinergizado com o tratamento utilizando anticorpo antiCTLA4. O direcionamento seletivo de FATP2 em PMN-MDSCs permite inibir PGE2 apenas nessas células patologicamente ativadas e principalmente no local do tumor, onde a expressão de FATP2 é a mais alta (VEGLIA e colab., 2021).

A imunoterapia de PD-L1 / PD-1 tem sido amplamente aplicada em tumores. Houve evidências crescentes de que a função de imunossupressão de MDSC mediada por PD-L1 foi constitutivamente expressa em células que se ligam a PD-1 como um ligante inibitório, para suprimir a ativação de células T. Em cânceres de bexiga de rato a expressão de PD-L1 em MDSC foi associada à expressão de ciclooxigenase-2 (COX2), prostaglandina E microssomal sintase 1 (mPGES1) e PGE2, bem como sua capacidade de induzir apoptose de células T CD8+. A interação entre PD-L1 / PD-1 e miRNAs foi necessária para a função de MDSC tumorais, em relatório recente emitido por GAO cinco membros da família miR-15, incluindo miR-15a, miR-15b, miR-16, miR-195 e miR-503, regularam negativamente

a função supressora de MDSC e / ou Treg no TME, através do bloqueio da via de sinalização PD-L1 / PD-1. A expressão de PD-L1 em MDSCs tumorais foi modulada pelo agrupamento de miRNA miR-93 / 106b da família miR-17 através da via STAT3, esses níveis de expressão de PD-L1 em MDSC podem ser reduzidos significativamente após o tratamento de miR-93 mimics, assim, essas vias PD-1 / miRNA / STAT3 fornecem uma nova ideia de tratamento para impedir a metástase tumoral associada a MDSC. (GAO e colab., 2021)

Fármacos citotóxicos como a carboplatina, cisplatina, citarabina, dacarbazina, docetaxel, doxorubicina, ecteinascidina, etoposídeo, fluorouracil, gencitabina, irinotecano, oxaliplatina, paclitaxel e pemetrexedo podem ser citados como exemplo de fármacos que possuem a capacidade de regular a expressão de PD-L1 em células cancerosas, podendo ser combinados ao anti-PD-L1, como estratégia para minimizar a ativação de respostas imunossupressoras e sobrevivência de células cancerígenas. E para promover a imunogenicidade antitumoral, via ativação de linfócitos T citotóxicos, maturação de APCs, depleção de imunossupressores de Treg e de MDSC (BAILLY e colab., 2020; TANIURA e colab., 2020)

O 5-Fluorouracil (5-FU), é um antimetabólito de pirimidina, que tem como alvo principal a timidilato sintase, atuando na síntese de DNA. O tratamento de ciclos repetidos com 5-FU tende a reprimir as funções imunes antitumorais e elevar a expressão de PD-L1 em células tumorais. Ele regula positivamente PD-L1, podendo haver sinergia se combinado a um anticorpo anti-PD-L1 . O tratamento combinado de 5-FU com um mAb anti-PD-L1 apresenta uma eficácia maior em comparação com 5-FU em imunoterapia sozinho. Os papéis imunorreguladores do 5-FU e dos produtos relacionados a capecitabina (pró-fármaco), trifluridina e gencitabina, foram relatados em diferentes estudos. O fármaco ajuda os mAbs anti-PD-1 a reativar uma resposta imune em células tumorais dormentes e a restringir a disseminação e recorrência do tumor. A ultraregulação da expressão de membrana de PD-L1 foi observada também em linhagens celulares de câncer pancreático murino e humano, e efeitos semelhantes foram observados com 5-FU e paclitaxel. (BAILLY e colab., 2020; KWONG e colab., 2021)

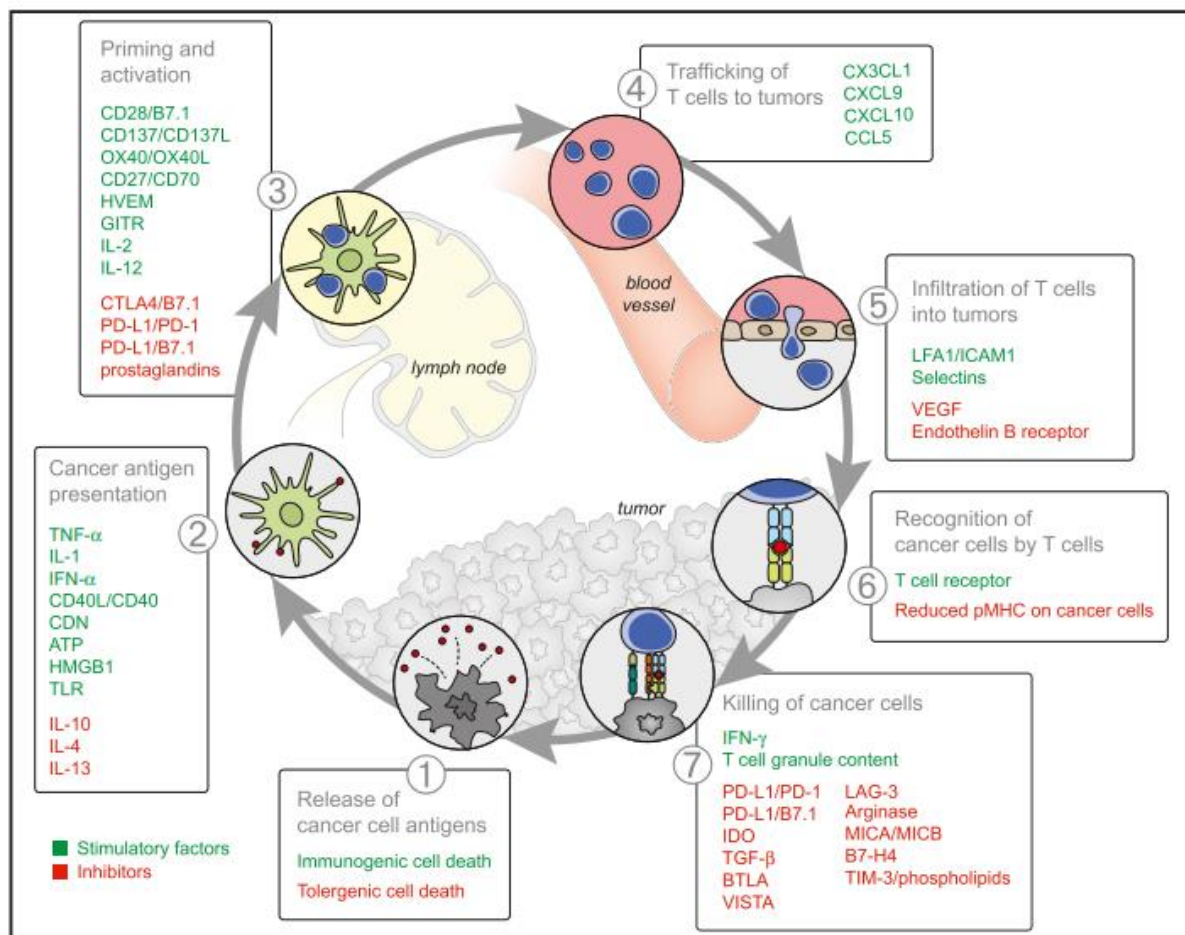
## CHECKPOINTS IMUNOLÓGICOS

Células cancerosas com instabilidade genética inerente formam proteínas anormais que não foram previamente reconhecidas pelo sistema imunológico e essas proteínas se tornam antígenos imunogênicos (neoantígenos) que podem desencadear espontaneamente respostas celulares, as células cancerígenas que apresentam neoantígenos extremamente imunogênicos são eliminadas do hospedeiro por meio do processo de vigilância imunológica. Para prevenir qualquer dano indesejado, causado por células T citotóxicas, aos tecidos circundantes, o sistema imunológico utiliza de checkpoints que são usados para modular a duração e a amplitude da resposta imunológica, amortecendo assim a resposta e protegendo contra danos causados por inflamação e autoimunidade. Isso é conseguido principalmente pela regulação positiva de receptores coinibidores, como o CTLA-4 e o receptor de morte programada -1 (PD-1), que atuam para inibir as células T ativadas. Em última análise, é o equilíbrio entre os sinais coestimuladores e coinibidores que dita o destino das células T ativadas. (Figura 2) (STEVEN e colab., 2016a)

CTLA-4 ameniza as respostas das células T através das vias intrínsecas e extrínsecas da célula. Os eventos intrínsecos incluem a inibição da tradução de proteínas, recrutamento de fosfatases, ativação de ubiquitina ligases, inibição da sinalização do receptor de citocinas e inibição da formação de microdomínios lipídicos na superfície das células T. Este atua principalmente por competição com os receptores CD28 por ligação ao ligante B7 (B7/CD80 e B7/CD86) em APCs, durante a ativação das células T, com afinidade mais alta e com uma densidade superficial menor, resultando em uma depleção significativa dos ligantes em sua superfície. (BRUNNER-WEINZIERL e RUDD, 2018; ROTTE, 2019)

Alguns estudos mostraram que o engajamento de CTLA-4 ativou cascatas de sinalização intrínseca em células T. A ativação de CTLA-4 foi relatada por inibir a produção de IL-2, fator estimulador da imunidade, proliferação celular e induzirem a parada do ciclo celular cross-talks com vias que regulam a sobrevivência celular e proliferação, incluindo as vias PI3K, NF $\kappa$ B e MAPK. Tendo por base o potencial do bloqueio de CTLA-4 para o tratamento de câncer, foram desenvolvidos os anticorpos anti-CTLA-4. (ROTTE, 2019)

Figura 9 - Fatores estimuladores e inibidores no ciclo de ataque do sistema imunitário ao tumor. Cada etapa do ciclo de ataque do sistema imunitário ao tumor requer a coordenação de vários fatores, tanto de natureza estimulatória quanto inibitória. Os fatores estimuladores mostrados em verde promovem a imunidade, enquanto os inibidores mostrados em vermelho ajudam a manter o processo sob controle e reduzem a atividade imunológica e/ou previnem a autoimunidade. Proteínas de checkpoint imunológico, como CTLA-4, podem inibir o desenvolvimento de uma resposta imune ativa agindo principalmente no nível de desenvolvimento e proliferação de células T (etapa 3). Enquanto fatores de rheostat imunológico ("imunostat"), como PD-L1, que pode ter uma função inibitória atua principalmente para modular as respostas imunes ativas no leito tumoral (etapa 7).



Fonte: (CHEN e MELLMAN, 2013)

O PD-1 é um membro da super família CD28 que regula negativamente a ativação de células T. O bloqueio do co-receptor inibitório PD-1 ou seu ligante PD-L1 mostrou aumento nas taxas de sobrevivência de 20 a 30% no tratamento de vários tipos de câncer. Os sinais negativos são gerados por um motivo de troca baseado em tirosina de imunorreceptor citoplasmático que se liga à proteína tirosina fosfatase SHP-2 e que pode limitar a sinalização de células B e T. Enquanto PD-1-SHP-2 inibe a sinalização de TCR e/ou CD28, não está claro se PD-1 sinaliza da

mesma maneira em diferentes subconjuntos de células T. Até o momento, descobriu-se que o PD-1 regula principalmente a função efetora citolítica das células CD8+. Sendo a imunoterapia anti-PD-1 também dependente da expressão de CD28. Após a ligação com seus ligantes, os receptores PD-1 inibem a proliferação celular, a secreção de citocinas e a capacidade citotóxica das células imunes efetoras, acentuando assim, a resposta imune. (BRUNNER-WEINZIERL e RUDD, 2018; PARRY e colab., 2005)

Atualmente, mais de 100 ensaios clínicos de bloqueio neoadjuvante anti PD-1 / PD- L1, como monoterapia ou terapia combinada, estão em andamento. O PD-L1 é um ligante de checkpoint que se liga ao PD-1, a ligação anti PD-1 / PD-L1 é considerada uma abordagem de resposta tardia devido à atividade deste checkpoint no desenvolvimento tardio de células T (a fase efetora), ou seja, manutenção e expansão de células T. O CTLA-4 é outro checkpoint de supressão, considerado de abordagem precoce devido à atividade de CTLA-4 no priming de células T (MORTEZAEI, 2021). Em estudos citados por GAO, os checkpoints foram divididos em formas estimulantes e inibitórias, que regulam com precisão a ativação das células T. A regulação positiva dos checkpoints inibitórios levou à exaustão das células T ao inibir o receptor dessa célula e fazer interações entre as moléculas coestimuladoras e os ligantes presentes nas APCs, os pontos de verificação inibitórios incluíram CTLA-4 e PD-1. (GAO e colab., 2021)

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos conceitos e explicações expostos nessa revisão, é possível a compreensão a respeito da atuação das MDSCs e Tregs no TME, possibilitando a investigação direcionada de imunoterapias anticâncer. Iniciando-se pela explicação de como o sistema imunitário acomete o tumor, visto ser de suma importância para a eficácia da resposta imunológica a presença de células T efetoras no TME, e devido a sinalização de células imunossupressoras, como as MDSCs e Tregs, afetarem a atividade de células T citotóxicas.

A imunoevasão tumoral ao sistema imunitário compreende um importante obstáculo a ser superado na imunoterapia, devido a mesma diminuir a regulação



dos principais complexos de histocompatibilidade, anular os sinais coestimulatórios, secretar agentes imunossupressores e agentes pró-inflamatórios. Contribuindo assim para um ambiente propício à progressão do câncer. Mantendo-se o foco na regulação do sistema imunitário para manutenção eficaz da resposta anticâncer, foi visto nessa revisão da literatura ser um bom método a se seguir a redução de MDSC e Tregs no TME.

Devido o sistema imunitário utilizar de checkpoints para modular a duração e amplitude da resposta imunológica, pode ser visto nesse meio uma possibilidade de imunoterapia antitumoral. Observando-se receptores coinibidores, que atuam para inibir células T ativadas, como o CTLA-4 e o PD-1. Alguns estudos demonstraram que a regulação positiva de checkpoints inibitórios levou à exaustão células T, ao inibirem o receptor dessa célula e fazerem interações entre moléculas coestimuladoras e seus ligantes.

O CTLA-4 atua principalmente através da competição com os receptores CD28, pelo ligante B7 em APCs, durante a ativação das células T, possuindo afinidade mais alta e menor densidade superficial, resultando assim em uma depleção significativa dos ligantes em sua superfície. Enquanto os receptores PD-1 inibem a proliferação celular, a secreção de citocinas e a capacidade citotóxica das células imunes efetoras, sabe-se até o momento que o PD-1 regula principalmente a função efetora citolítica das células CD8+, sendo que a imunoterapia anti-PD-1 também é dependente da expressão de CD28 devido inibirem a sinalização das mesmas.

As MDSCs regulam positivamente a expressão de fatores imunossupressores como EROs, iNOS E Arg-1, reduzindo assim a atividade antitumoral das células T, além de induzirem a apoptose e bloqueio da migração dessas células. Foi demonstrado em dados de estudos científicos publicados a regulação negativa da resposta imune antitumoral por MDSC, durante o processo crônico de transição da inflamação para o câncer e a regulação positiva da expressão de fatores imunossupressores. Nessa revisão podemos constatar como destaque dentre as terapias citadas a combinação de ATRA ao bloqueio de checkpoint imunitário utilizando antiCTLA4 em pacientes com melanoma, e a inibição de FATP2, sinergizando o tratamento utilizando anticorpo antiCTLA4. Sendo possível através dessas terapias notar uma redução no número de MDSC circulantes e na expressão

de genes imunossupressores de MDSC, frizando-se através dessa observação a eficácia de tratamentos aliados ao uso de anticorpo antiCTLA4.

As Tregs são reconhecidas por seu papel na imunotolerância, atuando para manter a homeostase imunológica e coordenar a supressão da ativação excessiva do sistema imunitário, para prevenir respostas autoimunes. Porém a imunoterapia anticâncer tem sido um desafio, pois as Tregs e as células T efetoras ativadas compartilham muitos dos mesmos marcadores de superfície celular, como CD25 e CTLA-4, tornando difícil depletar especificamente as Tregs sem afetar as células T efetoras, além delas também serem indispensáveis na prevenção da autoimunidade, tornando difícil a deleção apenas de Tregs direcionados ao tumor. Uma saída sugerida para tal problema seria explorar as diferenças nos níveis de expressão do TME e na cinética atualmente em estudo, das células Treg tumorais, cinéticas e os alvos de células T efetoras, para assim alcançar maior eliminação de Tregs tumorais mediada por anticorpos específicos, alguns estudos demonstraram o aumento da imunidade antitumoral utilizando anticorpo monoclonal antiCTLA-4 dentro da subclasse IgG2a. Assim como alguns estudos também demonstraram eficácia superior da combinação de inibidor PD-1 ao inibidor CTLA-4, em melanoma e carcinoma de pulmão, quando comparados a monoterapia com qualquer um desses inibidores.

Fármacos que possuem a capacidade de regular a expressão de checkpoints imunológicos, são vistos como grandes aliados na busca por opções de imunoterapia anticâncer. O 5-fluorouracil regula positivamente PD-L1, podendo haver sinergia se combinado a um anticorpo antiPD-L1, sendo essa uma estratégia para minimizar a ativação de respostas imunossupressoras e sobrevivência de células cancerígenas. Promovendo também a imunogenicidade antitumoral, através da ativação de linfócitos T citotóxicos e maturação de APCs havendo depleção de imunossupressores de Tregs e MDSC.

O uso terapêutico do 5-fluorouracil, aliado ao uso de ciclofosfamida de baixa dose induzem sinergicamente uma forte resposta imune antígeno-específica, resultando em potente atividade antitumoral, com eliminação de Tregs e MDSCs. Abrindo caminho para novas pesquisas no âmbito da imunoterapia anticâncer, as quais poderam trabalhar na otimização do uso de fármacos que atuem no bloqueio de PD-1 e CTLA-4, até mesmo de forma sinérgica.

## REFERÊNCIAS

ABDELRAHMAN, Aziza E. e colab. **Clinicopathological significance of the immunologic signature (PDL1, FOXP3+ Tregs, TILs) in early stage TNBC treated with neoadjuvant chemotherapy.** *Annals of Diagnostic Pathology*, v. 51, 1 Abr 2021.

BAILLY, Christian e THURU, Xavier e QUESNEL, Bruno. **Combined cytotoxic chemotherapy and immunotherapy of cancer: modern times.** *NAR Cancer*, v. 2, n. 1, 1 Mar 2020.

BERENDT, Michael J e NORTH, Robert J. **T-cell-mediated suppression of anti-tumor immunity. An explanation for progressive growth of an immunogenic tumor.** *The Journal of Experimental Medicine*, v. 151, p. 69–80, 1980.

BRUNNER-WEINZIERL, Monika C. e RUDD, Christopher E. **CTLA-4 and PD-1 control of T-cell motility and migration: Implications for tumor immunotherapy.** *Frontiers in Immunology*, v. 9, n. NOV, 27 Nov 2018.

CALABRÒ, Luana e colab. **Tremelimumab for patients with chemotherapy-resistant advanced malignant mesothelioma: an open-label, single-arm, phase 2 trial.** *Lancet Oncology*, v. 14, n. 11, p. 1104–1111, Out 2013.

CHAE, Young Kwang e colab. **Current landscape and future of dual anti-CTLA4 and PD-1/PD-L1 blockade immunotherapy in cancer; lessons learned from clinical trials with melanoma and non-small cell lung cancer(NSCLC).** *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. [S.l.]: BioMed Central Ltd., 16 Maio 2018

CHEN, Daniel S. e MELLMAN, Ira. **Oncology meets immunology: The cancer-immunity cycle.** *Immunity*. [S.l.: s.n.], 25 Jul 2013

CONDAMINE, Thomas e MASTIO, Jérôme e GABRILOVICH, Dmitry I. **Transcriptional regulation of myeloid-derived suppressor cells.** *Journal of Leukocyte Biology*, v. 98, n. 6, p. 913–922, Dez 2015.

COOPER, Max D e ALDER, Matthew N. **The Evolution of Adaptive Immune Systems.** *Cell*, v. 124, n. 4, p. 815–822, 24 Feb 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.001>>.

CURRAN, Michael A. e colab. **PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 107, n. 9, p. 4275–4280, 2 Mar 2010.

DEES, Sundee e colab. **Regulatory T cell targeting in cancer: Emerging strategies in immunotherapy.** European Journal of Immunology. [S.l.]: Wiley-VCH Verlag. , 1 Feb 2021

DURGEAU, Aurélie e colab. **Recent advances in targeting CD8 T-cell immunity for more effective cancer immunotherapy.** Frontiers in Immunology. [S.l.]: Frontiers Media S.A. , 22 Jan 2018

GAO, Xidan e colab. **Immunotherapy Targeting Myeloid-Derived Suppressor Cells (MDSCs) in Tumor Microenvironment.** Frontiers in Immunology. [S.l.]: Frontiers Media S.A. , 4 Feb 2021

HAERTEL, Eric e colab. **Regulatory T cells are required for normal and active promoted wound repair in mice.** European Journal of Immunology, v. 48, 2018.

HUPPERT, Laura A. e colab. **Tissue-specific tregs in cancer metastasis: opportunities for precision immunotherapy.** Cellular and Molecular Immunology. [S.l.]: Springer Nature. , 2021

INSTITUTO NACIONAL DE CANCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA - INCA. **Estimativa | 2016 Incidência de Câncer no Brasil.**

KIM, Chang H. FOXP3 and Its Role in the Immune System. MAIESE, K. (Org.). . Forkhead Transcription Factors: Vital Elements in Biology and Medicine. New York, NY: Springer New York, 2010. p. 17–29. Disponível em: <[https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1599-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1599-3_2)>.

KONG, YY e colab. **Running Title: Myeloid Derived Suppressor Cells in Diseases Myeloid Derived Suppressor Cells and Their Role in Diseases.** . [S.l: s.n.], [S.d.].

KUMAR, Vinit e colab. **The Nature of Myeloid-Derived Suppressor Cells in the Tumor Microenvironment.** Trends in Immunology. [S.l.]: Elsevier Ltd. , 1 Mar 2016

KWONG, Tsz Tung e colab. **Chemotherapy-induced recruitment of myeloid-derived suppressor cells abrogates efficacy of immune checkpoint blockade.** JHEP Reports, v. 3, n. 2, 1 Abr 2021.

LE, Dung T. e JAFFEE, Elizabeth M. **Regulatory T-cell modulation using cyclophosphamide in vaccine approaches: A current perspective.** Cancer Research. [S.l: s.n.]. , 15 Jul 2012

LI, Ping e colab. **Cyclophosphamide abrogates the expansion of CD4+Foxp3+ regulatory T cells and enhances the efficacy of bleomycin in the treatment of mouse B16-F10 melanomas.** Cancer Biology and Medicine, v. 18, n. 4, p. 1010–1020, 1 Nov 2021.

LI, Tianhang e colab. **Targeting MDSC for Immune-Checkpoint Blockade in Cancer Immunotherapy: Current Progress and New Prospects**. Clinical Medicine Insights: Oncology. [S.l.]: SAGE Publications Ltd., 2021

MORTEZAEE, Keywan. **Myeloid-derived suppressor cells in cancer immunotherapy-clinical perspectives**. LifeSciences. [S.l.]: Elsevier Inc, 15 Jul 2021

MORTEZAEE, Keywan. **Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase (NOX) and liver fibrosis:A review**. Cell Biochemistry and Function, v. 36, n. 6, p. 292–302, 20 Jul 2018.

NAKAMURA, Kyohei e SMYTH, Mark J. **Myeloid immunosuppression and immune checkpoints in the tumor microenvironment**. Cellular and Molecular Immunology. [S.l.]: Springer Nature. , 1 Jan 2020

OHUE, Yoshihiro e NISHIKAWA, Hiroyoshi. **Regulatory T (Treg) cells in cancer: Can Treg cells be a new therapeutic target?** Cancer Science. [S.l.]: Blackwell Publishing Ltd. , 1 Jul 2019

OSTRAND-ROSENBERG, Suzanne e colab. **Survival of the fittest: how myeloid-derived suppressor cells survive inthe inhospitable tumor microenvironment**. Cancer Immunology, Immunotherapy. [S.l.]: Springer. , 1 Feb 2020

PALUSKIEVICZ, Christina M. e colab. **T regulatory cells and priming the suppressive tumor microenvironment**.Frontiers in Immunology. [S.l.]: Frontiers Media S.A. , 2019

PARRY, Richard V. e colab. **CTLA-4 and PD-1 Receptors Inhibit T-Cell Activation by Distinct Mechanisms**. Molecular and Cellular Biology, v. 25, n. 21, p. 9543–9553, Nov 2005.

PERCHE, F. e PATEL, N. R. e TORCHILIN, V. P. **Accumulation and toxicity of antibodytargeted doxorubicin-loadedPEG-PE micelles in ovarian cancer cell spheroid model**. Journal of Controlled Release, p. 95–102, 2012.

ROMANO, Emanuela e colab. **Ipilimumab-dependent cell-mediated cytotoxicity of regulatory T cells ex vivo bynonclassical monocytes in melanoma patients**. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 112, n. 19, p. 6140–6145, 12 Maio 2015.

ROTTE, Anand. **Combination of CTLA-4 and PD-1 blockers for treatment of cancer**. Journal of Experimental and Clinical Cancer Research. [S.l.]: BioMed Central Ltd. , 13 Jun 2019

SAINSON, Richard C.A. e colab. **A novel antibody targeting ICOS increases intratumoural cytotoxic to regulatoryT cell ratio and induces tumour regression**. bioRxiv, 2019.

SAKAGUCHI, Shimon e colab. **Regulatory T Cells and Human Disease**. Annual Review of Immunology, v. 38, n. 1, p. 541–566, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042718-041717>>.

SALEH, Reem e ELKORD, Eyad. **FoxP3+ T regulatory cells in cancer\_ Prognostic biomarkers and therapeutic targets \_ Elsevier Enhanced Reader**. Cancer Letters, v. 490, p. 174–185, 2020.

TANIURA, Takahito e colab. **Immunogenic chemotherapy in two mouse colon cancer models**. Cancer Science, v. 111, n. 10, p. 3527–3539, 1 Out 2020.

VANHAVER, Christophe e VAN DER BRUGGEN, Pierre e BRUGER, Annika M. **Mdsc in mice and men: Mechanisms of immunosuppression in cancer**. Journal of Clinical Medicine. [S.l.]: MDPI. , 1 Jul 2021

VEGLIA, Filippo e SANSEVIERO, Emilio e GABRILOVICH, Dmitry I. **Myeloid-derived suppressor cells in the era of increasing myeloid cell diversity**. Nature Reviews Immunology. [S.l.]: Nature Research. , 1 Ago 2021

VIGNALI, Dario A.A. e COLLISON, Lauren W. e WORKMAN, Creg J. **How regulatory T cells work**. Nature Reviews Immunology. [S.l.: s.n.]. , Jul 2008

ZHANG, Xudong e colab. **Engineering PD-1-Presenting Platelets for Cancer Immunotherapy**. Nano Letters, v. 18, n. 9, p. 5716–5725, 12 Set 2018.

ANEXAR AS NORMAS DA REVISTA ESCOLHIDA