

TÉCNICAS E PERSPECTIVAS EM IMUNOTERAPIA DO CÂNCER

Giovana Giacomini

Bióloga, Mestranda em Imunologia, ICB-USP, São Paulo. E-mail: giovanag@rc.unesp.br

Hercules Menezes

Docente Livre Docência no Instituto de Biociência na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - IB-UNESP, Rio Claro, SP. E-mail: hermes@rc.unesp.br

RESUMO: Os tumores malignos são um dos principais focos da imunoterapia, não apenas no tratamento, mas também na sua prevenção. Embora as células cancerosas sejam menos imunogênicas do que microorganismos, o sistema imunológico é capaz de reconhecer e eliminar células tumorais. Entretanto, assim como os parasitas desenvolvem mecanismos de escape ao sistema imune, os tumores também conseguem evadir-se de diversas maneiras, muitas vezes interferindo nas respostas imunes contra eles. Nos últimos anos, a imunoterapia do câncer vem obtendo significativos avanços, aplicando os conhecimentos de imunologia celular e molecular para o desenvolvimento de estratégias imunomoduladoras eficazes e seguras, aumentando as respostas antitumorais.

PALAVRAS-CHAVE: Imunoterapia; Câncer; Vacinas.

TECHNIQUES AND PERSPECTIVES IN CANCER IMMUNOTHERAPY

ABSTRACT: Malign tumors are the main focus of immunotherapy for treatment and prevention. Although cancerous cells are less immunogenic than microorganisms, the immunological system recognizes and eliminates tumor cells. However, similar to the activity of parasites that develop escape mechanisms to the immune system, tumors also evade in several ways and frequently interfere in the immune responses against them. In recent years, much progress has been made in cancer immunotherapy through a deeper knowledge on cell and molecular immunology for the development of efficacious and warranted immune-modulating strategies, with an increase in anti-tumor responses.

KEYWORDS: Immunotherapy; Cancer; Vaccines.

INTRODUÇÃO

A utilização do sistema imune para fins terapêuticos tem uma longa história, que remonta a utilização de cowpox para induzir a imunidade à varíola em 1796, por Edward Jenner. Desde então a imunoterapia, na forma de vacinas profiláticas e terapêuticas, vem permitindo que a medicina possa tratar e prevenir uma variedade de doenças infecciosas.

A imunoterapia não se restringiu às doenças infecciosas e passou a ser vista como possibilidade de tratamento de doenças degenerativas.

As células normais de um organismo vivem, dividem-se e morrem de forma controlada. No entanto, algumas podem não obedecer a este controle e dividirem-se rápido e desordenadamente devido um defeito na sua maquinaria, que acomete, principalmente, o seu material genético. Uma vez com danos, ela utiliza-se de mecanismos de reparo para tentar consertá-los. Contudo, estes recursos podem não funcionar, originando-se, assim, as células cancerosas (MALUMBRES; BARBACID, 2009).

Uma vez fora do controle, o que conseqüentemente leva à produção cada vez maior de células anormais, estas formam uma massa denominada tumor ou neoplasia maligna. Essas células atípicas podem também invadir tecidos e órgão vizinhos ou distantes, caracterizando a metástase. Porém, elas também podem se dividir lentamente assemelhando-se ao tecido original, formando chamadas neoplasias benignas, não constituindo risco de morte (RUDDON, 2007).

A maioria dos cânceres é designada de acordo com o órgão atingido ou o tipo celular onde se inicia. Todas as neoplasias são diferentes e necessitam de tratamento diferenciado, mesmo quando atingem o mesmo órgão, como acontece com cânceres de próstata extremamente agressivos e outros com desenvolvimento mais lento (RUDDON, 2007).

Ao contrário da neoplasia maligna no qual as células são cancerosas, dividem-se rapidamente, sofrem um processo de angiogênese e possui grande capacidade de invasão; a benigna é simplesmente uma massa localizada de células que se assemelham ao tecido original e que se multiplicam vagarosamente, raramente constituindo risco de morte; apesar disto merecem atenção e podem exigir tratamento dependendo do local onde aparecerem (RUDDON, 2007).

Algumas pessoas apresentam uma

predisposição genética ao câncer, isto é, já nascem apresentando mutações genéticas; em famílias com esta predisposição, a identificação do gene defeituoso permite o diagnóstico pré-clínico e o tratamento profilático.

A cirurgia preventiva é um dos tratamentos utilizados dentre os pacientes que possuem um perfil genético que os enquadra dentro de um grupo de risco. Este procedimento, principalmente a mastectomia, começa a ganhar foco no Brasil. É sobre este prisma que pesquisadores estão utilizando vacinas como uma nova arma contra o câncer e, assim, melhorar a qualidade de vida dos pacientes e evitar que apenas cirurgias preventivas desarmem a bomba relógio que muitos acreditam ter dentro de si (COLLUCCI, 2009).

O tratamento do câncer pode ser feito através de cirurgia, radioterapia, quimioterapia ou imunoterapias. Em muitos casos, é necessário combinar mais de uma modalidade (NISHIKAWA; SAKAGUCHI, 2010).

O objetivo deste trabalho foi de elaborar uma revisão sucinta sobre as modalidades e perspectivas de emprego das diferentes imunoterapias atualmente utilizadas contra o câncer.

2 DESENVOLVIMENTO

O sistema imune pode responder às células cancerosas de duas maneiras: reagindo contra antígenos tumorais específicos (moléculas que são originais de células cancerosas), ou contra antígenos associados a tumor (TAA) (moléculas que são expressas diferentemente pelas cancerosas e normais) (FINN, 2008).

Este sistema de defesa possui dois tipos de células T: as auxiliares CD4⁺ que reconhecem antígenos ligados às moléculas de classe II do complexo MHC; e as citotóxicas CD8⁺, que distinguem antígenos tumorais pelas moléculas do MHC de classe I e matam as células cancerosas (ZITVOGEL; ANGEVIN; TURSZ, 2000).

O desenvolvimento de métodos de propagação de células T humanas de pacientes com câncer levou a identificação do antígeno específico do melanoma: MAGE-1. Estudos com este antígeno apontaram que o sistema imune poderia responder aos antígenos tumorais, proporcionando a identificação de uma vasta lista de antígenos conhecidos atualmente (FINN, 2008).

Recentes avanços tecnológicos permitiram o desenvolvimento de abordagens na imunoterapia passiva que utilizam a especificidade de anticorpos e receptores de células T (TCR) para marcar antígenos selecionados nas células tumorais (KING; WAXMAN; STAUSS, 2008).

Atualmente, diversos tipos de imunoterapias estão sob estudos. Dentre elas destacam-se as que têm como alvo apenas um tipo celular ou antígeno (específicas), as não específicas estimulando todo o sistema imune, com a possibilidade de serem usadas juntamente com outros tratamentos para aumentar a ofensiva ao câncer (adjuvantes); as terapias alvo com a marcação de um tipo celular sem danos as outras células; a imunoterapia com anticorpos monoclonais; e as vacinas de câncer (ZITVOGEL; ANGEVIN; TURSZ, 2000).

3 INFLAMAÇÕES

A ligação entre câncer e inflamações foi evidenciada desde 1863, quando o patologista alemão Rudolf Virchow notou a presença de “um suposto linforreticular infiltrado em tecidos malignos” (STIX, 2008).

A partir de 1891, as imunoterapias não específicas começaram a desempenhar um papel efetivo no tratamento do câncer. Foi observado que inflamações e infecções tinham efeitos anticâncer em pacientes em estágios avançados da doença. Depois de constatar que severas infecções causaram sua regressão, foi desenvolvida uma vacina feita de culturas de *Streptococcus pyogenes* que eram injetadas no tumor resultando em uma resposta inflamatória

generalizada e que células do sistema imunológico inato tendem a se reunir em torno de alguns tumores (STIX, 2008).

No final de 1990 foram realizadas pesquisas sobre os efeitos da citocina TNF- α , devido a sua habilidade em matar células cancerosas quando administrada diretamente no tumor em altos níveis. Com este objetivo, o laboratório de Frances Balkwill desativou o gene responsável pelo TNF- α em ratos, e estes, conseqüentemente, não produziram a proteína; contudo, para surpresa de todos, os roedores não apresentaram tumores. Desta forma, observou-se que esta citocina também é desenvolvida em cânceres e pode agir como um promotor de tumor endógeno (STIX, 2008).

Em busca de novos tratamentos, a terapia antiinflamatória é estudada por sua competência em prevenir células pré-malignas de se tornarem totalmente cancerosas, ou por impedir metástases em um tumor existente (STIX, 2008). Com a relação entre inflamação e câncer evidenciada, alguns tratamentos utilizam-se de aspirina ou de outras drogas anti-inflamatórias não esteroidais (NSAIDs) para evitar o início de tumores sólidos; principalmente no bloqueio à produção de prostaglandinas, moléculas regulatórias que são limitadas por NSAIDs. Estas drogas podem refrear a inflamação e o crescimento do tumor, enquanto evita os efeitos colaterais cardiovasculares e gastrointestinais de outros medicamentos (STIX, 2008).

Um tratamento efetivo em algumas doenças inflamatórias é a terapia antagonista de citocinas, especialmente com o uso de inibidores do TNF- α . Este tipo de terapêutica apresenta impactos negativos em relação ao câncer: o TNF- α , como promotor de tumor endógeno, pode aumentar a susceptibilidade às infecções oportunistas, impedindo o seu uso em larga escala, além de elevar a incidência de linfoma em pacientes com artrite reumatoide em comparação com a população em geral e pacientes tratados com placebo. Apesar disto, esta terapia sozinha ou em combinação com outras têm demonstrado atividade

contra cânceres avançados de ovário e células renais (BALKWILL; CHARLES; MANTOVANI, 2005).

Cientistas da Universidade de Sheffield, na Inglaterra, projetaram um tipo de Cavalo-de-Tróia molecular, no qual macrófagos carregam um vírus terapêutico às regiões hipóxicas dos tumores que respondem pobremente aos tratamentos convencionais (quimioterapia e radioterapia) devido ao baixo suprimento sanguíneo (STIX, 2008).

3.1 ANTICORPOS MONOCLONAIS

A imunoterapia que emprega anticorpos monoclonais (MAbs) (BELDA-INIESTA; IBÁÑEZ DE CÁCERES; CASTRO, 2011) é considerada passiva, pois os anticorpos são produzidos em culturas celulares, ou em ratos, e, em seguida, injetados no paciente suprimindo, assim, a ação de seu sistema imune na produção de anticorpos (STIX, 2008).

O MAb muromonab-CD3 (Orthoclone ou OKT3) foi o primeiro a ser aprovado e tem como alvo o elemento CD3 do complexo receptor de antígeno de célula T. Ao longo do tempo demais MAbs foram liberados como basiliximab (Simulect), um anticorpo quimérico, e daclizumab (Zenapax), constituiu o primeiro anticorpo humanizado liberado pela Food and Drug Administration (FDA) (WALDMANN, 2003).

Onze tipos de MAbs não modificados e com toxinas ou radionuclídeos foram aprovados para a prevenção de rejeição ou para o tratamento do câncer e doenças autoimunes devido a algumas de suas características, como superfície celular com alvos antigênicos e receptores especialmente para citocinas, além dos mais de 400 tipos de anticorpos em ensaios clínicos (WALDMANN, 2003).

Estes exercem seus efeitos desencadeando a apoptose, ativação de anticorpos dependentes de citotoxicidade celular, bloqueio de receptores de fatores de transcrição e ativação de complementos. Tais tipos de imunoterápicos crescem rapidamente em virtude de sua baixa toxicidade quando

comparados com tratamentos padrões (quimioterapia e radioterapia) (KING; WAXMAN; STAUSS, 2008).

Dois tipos de MAbs são utilizados como imunoterapias: os desprovidos de moléculas associadas (*naked*) e os conjugados. Os *naked* são utilizados mais comumente e neste grupo estão incluídos:

- Rituximab (Rituxan): o primeiro a ser aprovado pela FDA, em 1997, tem como alvo antígenos CD20 nas células B.
- Trastuzumab (Herceptin): desenvolvido contra a proteína HER2, que ajuda no crescimento celular, além de, entre outras coisas, inibir a angiogênese tumoral pela indução de fatores antiangiogênicos e repressão de fatores pró-angiogênicos.
- Bevacizumab (Avastin): um anticorpo contra o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF, do inglês vascular endothelial growth factor). Sua ligação com receptores VEGF na superfície de células endoteliais previne a proliferação celular e a formação de novos vasos sanguíneos *in vitro* em modelos de angiogênese.
- Cetuximab (Erbix): dirigido contra o domínio de ligação dos receptores de fatores de crescimento epidérmico (EGFR, do inglês epidermal growth factor receptors), e é aplicado em alguns cânceres colorretal em estágio avançado e tumores de cabeça e pescoço (KING; WAXMAN; STAUSS, 2008).

A administração de MAbs em linfoma de célula B, em tumores de mama e nos que expressam EGFR (cânceres de cabeça e pescoço, pulmão e colorretal) já é conhecido; as pesquisas em andamento visam o desenvolvimento de anticorpos com novas funções contra alvos conhecidos ou a identificação de novos alvos para terapia com anticorpos (FINN, 2008).

Os MAb conjugados (ou carregados) estão providos de toxinas, drogas ou substâncias radioativas e circulam pelo corpo até encontrarem e se prenderem ao antígeno alvo, liberando as substâncias tóxicas onde é mais necessário e diminuindo o dano causado às células normais (RUDDON, 2007).

Contudo, o uso de MAb também possui suas limitações (BELDA-INIESTA; IBÁÑEZ DE CÁCERES; CASTRO, 2011): se não for gerada memória, são necessárias repetidas infusões; os anticorpos são potencialmente imunogênicos, devido sua origem quimérica ou humana e a retenção de componentes murínicos; e os possíveis alvos são limitados, uma vez que os anticorpos podem reconhecer somente proteínas específicas apresentadas na superfície celular (KING; WAXMAN; STAUSS, 2008).

Além destas limitações, pacientes em tratamento com anticorpos já licenciados apresentaram efeitos secundários inesperados, como cardiotoxicidade associada ao trastuzumab e risco de perfuração intestinal ligada ao bevacizumab (KING; WAXMAN; STAUSS, 2008).

Os ensaios clínicos envolvendo MAb estão sendo realizados para quase todos os tipos de neoplasias (BELDA-INIESTA; IBÁÑEZ DE CÁCERES; CASTRO, 2011). Conforme os pesquisadores encontram novos antígenos que estão ligados ao câncer, eles se tornam aptos a produzirem MAb contra mais tipos dessas patogenias (RUDDON, 2007).

3.2 VACINAS

Relacionadas ao sistema imune adaptativo, que necessita de tempo para se desenvolver e abrange a geração de anticorpos, ativação de células imunes e memória, as vacinas envolvem uma imunização ativa, no qual o paciente recebe injeções de antígenos, geralmente junto com outra molécula auxiliar, para que se inicie uma resposta imune. No entanto, os antígenos tumorais são mais difíceis de serem identificados que os patogênicos, porque as

células cancerosas são formas mutantes de células do próprio organismo. Dessa maneira, o sistema imune adaptativo não consegue perceber estas células como estranhas e, assim, o câncer pode enganar o corpo desligando qualquer resposta que possivelmente surja (STIX, 2008).

As moléculas auxiliares, chamadas adjuvantes, possuem um papel importante na determinação da quantidade e qualidade da resposta imune ao antígeno; no entanto, a identificação dos adjuvantes apropriados representa um problema universal no desenvolvimento de vacinas (BANCHEREAU et al., 2001).

As vacinas de câncer são medicamentos pertencentes a uma classe de substâncias conhecidas como modificadores de respostas biológicas, que trabalham na estimulação ou restauração da habilidade do sistema imune de lutar contra infecções e doenças. Existem dois tipos de vacinas contra o câncer: as preventivas ou profiláticas, que se destinam à prevenção do desenvolvimento do câncer em pessoas saudáveis; e as vacinas de tratamento ou terapêuticas, as quais são projetadas para o tratamento de cânceres já existentes através do reforço das defesas naturais do organismo (FINN, 2008).

As vacinas imunoprofiláticas têm como alvo agentes infecciosos que causam ou contribuem para o desenvolvimento do câncer. Estas vacinas têm sido desenvolvidas a partir de abordagens já comprovadas, envolvendo a indução de anticorpos neutralizantes pela administração de organismos mortos ou atenuados, ou de proteínas recombinantes da parede das células ou de capsídeos (FRAZER; LOWY; SCHILLER, 2007).

Já as vacinas terapêuticas estimulam o sistema imune a lutar contra as células cancerosas considerando-as como estranhas. Várias vacinas estão sob estudo, como as que apresentam antígenos associados a tumor, células autólogas ou alogênicas, vetores virais, DNA, células dendríticas, dentre outras (FINN, 2008).

O uso das vacinas contra o câncer requer: a

utilização de antígenos alvo apropriados; a otimização da interação entre o peptídeo antigênico, as células apresentadoras de antígeno (APCs) e as células T; e o bloqueio simultâneo de mecanismos regulatórios negativos que impedem efeitos imunoterapêuticos (WALDMANN, 2003).

O microambiente tumoral é imunossupressor e reprime os efeitos das vacinas durante a indução de imunidade e na fase de resposta. Na busca para driblar este obstáculo, o bloqueio da proteína CTLA-4 leva a expansão da população de células T. No entanto, em estudos envolvendo pacientes com melanoma tratados com vacina e anticorpos anti-CTLA-4 observou-se a regressão do câncer acompanhado de manifestações autoimunes (dermatite, enterocolite, hepatite, dentre outras) em 43% dos pacientes (FINN, 2008).

3.3 VACINAS TERAPÊUTICAS

O objetivo no desenvolvimento de vacinas a partir de TAAs é que estes sejam apresentados ao sistema imune e estimulem uma forte resposta, uma vez que sozinhos, os antígenos são fracamente imunogênicos ou não apresentam esta característica (FINN, 2008). Os antígenos utilizados nestas vacinas devem apresentar certas peculiaridades como: limitar-se às células tumorais para que os tecidos normais não sejam atacados; serem amplamente expressos na maioria das células tumorais aumentando o número de alvos; e em altos níveis para sua identificação (FINN, 2008).

Algumas vacinas são construídas com células do próprio tecido tumoral do paciente (autólogas) ou de outro indivíduo ou linhagem celular (alógenas), cultivadas e manipuladas em laboratório e depois injetadas nos pacientes. No entanto, a necessidade de cultivar células suficientes para a produção da vacina, bem como o tempo e os altos custos envolvidos nesta técnica são fatores limitantes no desenvolvimento deste tratamento (FINN, 2008).

As vacinas com vetores virais e DNA usam sequências de ácido nucleico de proteínas dos

antígenos virais. Neste tipo de imunização ativa, DNA contendo o gene de um antígeno específico tumoral é processado por células APCs do paciente que estimulará uma resposta imune. Os vetores virais (adenovírus e vírus da varíola, por exemplo) embora infectando as APCs, não incorporam seus DNAs nas células humanas. Existem diferentes estratégias de vacinação empregadas como terapia, a escolha de uma delas depende do mecanismo usado para desenvolver a vacina e estimular o sistema imune (FINN, 2008).

3.4 INFECÇÕES

Durante a década de 1960, cientistas observaram que o vírus que causa a doença aviária de Newcastle apresentava uma preferência por células tumorais. Em 1970 e em 1980, dois grupos de pesquisadores descreveram pacientes com diminuição do linfoma depois de terem contraído sarampo (NETTELBECK; ALVAREZ; CURIEL, 2008).

O conceito moderno da viroterapia começou a ser aplicado em 1990, quando pesquisas modificaram geneticamente alguns vírus para se replicarem seletivamente e matar células tumorais. Atualmente, muitos tratamentos que envolvem a injeção intratumoral mostraram sinais de eficácia por meio de respostas imunes completas, parciais ou pela estabilização da doença; contudo, estes resultados evidenciam que há pouco ou nenhum espalhamento dos vírus a partir do local da primeira injeção, demonstrando, assim, que a administração intratumoral não é totalmente efetiva contra doenças que se alastram (KHURI et al., 2000).

Os grupos de pesquisas, respectivamente liderados por Frank McCormick e Daniel R. Henderson usaram o adenovírus na viroterapia, pois o mesmo tem sua biologia muito bem conhecida e, ao contrário do retrovírus, não integra o seu DNA aos genes da célula infectada. Os genes do adenovírus são passados às células e ficam ativos por um determinado tempo; outros vírus também estão

sob estudo: herpes simples, sarampo, parvovírus, reovírus, vaccinia e o da doença aviária de Newcastle (NETTELBECK; ALVAREZ; CURIEL, 2008).

Algumas estratégias na viroterapia estão sendo elaboradas para combater o câncer e, assim, atingir seus objetivos com eficiência e sem efeitos secundários danosos. Uma delas é a transdução em células alvo, uma prática necessária uma vez que os vírus não evoluíram para infectar e matar células cancerosas. Como o adenovírus não se liga às células cancerosas tão eficientemente, são usadas moléculas especiais, produzidas a partir de anticorpos cuidadosamente escolhido, que se ligam seletivamente a uma proteína específica das células presentes no tumor, para que, modificado, seja incapaz de se ligar a qualquer célula, com exceção das cancerosas; assim, as moléculas funcionam se encaixando nas proteínas de revestimento na superfície do vírus (NETTELBECK; ALVAREZ; CURIEL, 2008).

Uma vez ligado à membrana celular, o vírus é fagocitado e, assim que a vesícula de fagocitose se desintegra, este se dirige a um poro no núcleo celular e injeta seu DNA. Logo, o DNA viral direciona a célula à produção de mais cópias de seu material genético, sintetiza proteínas virais e combina ambos em milhares de novos adenovírus, até a capacidade máxima da célula; neste momento, o vírus induz o seu rompimento liberando os novos vírus para a propagação em outras células (NETTELBECK; ALVAREZ; CURIEL, 2008). Outra estratégia proposta é a transcrição nas células alvo. Todas as células de um organismo contêm a mesma informação genética; no entanto, algumas usam informações específicas mais do que outras para cumprir suas tarefas, como por exemplo, os melanócitos que produzem mais melanina que as células do fígado (NETTELBECK; ALVAREZ; CURIEL, 2008).

Os terapeutas gênicos trabalham no desenvolvimento de vetores virais, mais seguros para que a replicação não ocorra em células erradas,

uma vez que a viroterapia tem o intuito de matar as células infectadas por vírus e, assim, produzir uma nova geração de vírus infecciosos (NETTELBECK; ALVAREZ; CURIEL, 2008).

Além destas estratégias descritas acima, outra está em estudo. As células normais produzem a proteína retinoblastoma que para a divisão celular e, conseqüentemente, a replicação de vírus se esta estiver infectada. Contudo, as células cancerosas possuem uma mutação ou inativação do gene responsável por esta proteína, e alguns vírus, como o adenovírus, podem então se replicar e matar estas células (NETTELBECK; ALVAREZ; CURIEL, 2008).

Algumas pesquisas visam à construção de vírus com genes que permitem às células infectadas uma susceptibilidade singular à quimioterapia, transformando precursores não tóxicos em quimioterapias nocivas pela ação das enzimas codificadas (NETTELBECK; ALVAREZ; CURIEL, 2008).

Muitos pacientes sofrem com a metástase do câncer e, nesses casos, a administração intravenosa dos vírus oncológicos pode ser o procedimento adotado. Contudo, este tipo de administração acarreta efeitos secundários sistêmicos, como inchaço no local de aplicação devido à liberação aguda de citocinas, resultando em sintomas gripais. Algumas pesquisas apontam que a minimização destas seqüelas ocorre com medicação prévia ou diminuição nas doses de vírus (LORENCE et al., 2003).

Dentre as infecções que podem causar câncer, atualmente somente duas possuem vacinas profiláticas licenciadas para o uso comercial emitidas pela FDA. Uma delas, mais recente, é a vacina contra o HPV relacionado com o desenvolvimento do câncer do colo do útero; e outra, licenciada desde 1986, é a vacina contra o HBV, associado com o câncer hepatocelular (FINN, 2008; FRAZER; LOWY; SCHILLER, 2007).

Em 1980, com a técnica de clonagem de

genes de células eucarióticas *in vitro*, foi possível a produção da proteína L1 do capsídeo viral do HPV a partir de seus vários subtipos. Corretamente expressa, esta proteína se reúne e retorna a forma do invólucro, apresentando os principais epítomos neutralizantes do vírus na sua superfície. Esta cápsula oca, denominada partículas semelhantes ao vírus (VLP), é a base de duas vacinas licenciadas utilizadas na prevenção da infecção do HPV (FRAZER; LOWY; SCHILLER, 2007).

Conforme estudos em animais, estas vacinas estimulam anticorpos neutralizantes suficientes para a proteção contra o vírus; e estes anticorpos HPV específicos podem ser mantidos em alto nível por cinco anos após a imunização (FRAZER; LOWY; SCHILLER, 2007). Atualmente, nos países em desenvolvimento, a vacina tem como alvo mulheres na faixa etária de 9 a 26 anos, com preferência para sua administração ser anterior ao possível contato com o vírus, o que a pode tornar responsável pela prevenção de 70% do câncer do colo do útero (FRAZER; LOWY; SCHILLER, 2007).

A vacina para a prevenção de uma infecção aguda com o HBV foi inicialmente produzida com plasma fervido contendo a proteína de superfície HBsAg do capsídeo viral. Posteriormente, vacinas baseadas em partículas recombinantes desta proteína foram desenvolvidas e sua alta imunogenicidade foi comprovada quando administrada com um adjuvante (FRAZER; LOWY; SCHILLER, 2007).

Já a bactéria *Helicobacter pylori* está relacionada com aproximadamente 60% dos cânceres gástricos. O desenvolvimento de uma vacina profilática demonstrou ser possível, através de experimentos em modelos murinos, nos quais a resposta imune, induzida pela urease bacteriana, protegeu contra a infecção bacteriana; no entanto, testes clínicos com apenas um antígeno têm se mostrado decepcionantes, o que estimulou a busca por vacinas compostas de vários antígenos (FRAZER; LOWY; SCHILLER, 2007).

3.5 CÉLULAS DENDRÍTICAS

As células dendríticas (DCs) possuem longos dendritos e estão alocadas no grupo de células das APCs, responsáveis pelo controle e início das respostas imunes (BANCHEREAU; STEINMAN, 1998).

Provenientes dos monócitos, as DCs são inicialmente imaturas e consideradas como um fraco imunógeno; no entanto, a sua maturação é crítico para o seu uso na imunização ativa (BANCHEREAU et al., 2001).

Existem vários tipos de DCs que, ainda imaturas, fixam-se na pele, mucosas e órgãos como pulmões e baço (BANCHEREAU, 2008). Dois destes grupos são as epidérmicas de Langerhans (LC) e as intersticiais; ambas induzem a proliferação de células T auxiliares CD4⁺, mas somente estas últimas incitam a diferenciação das T citotóxicas CD8⁺ (CTLs) em células plasmáticas secretoras de imunoglobulinas (BANCHEREAU et al., 2001).

Maduras, as DCs também possuem a capacidade de induzir diferentes tipos de respostas imunes de células T dependendo do sinal original de maturação, se proveniente de citocinas Th1 (por meio de DNA bacterial CpG, lipopolissacarídeos, dentre outros) ou Th2 (devido a moléculas antiinflamatórias como IL-10, TGF- β , corticosteróides, e outros) (LIU, 2001).

A resposta imunológica que o organismo apresenta, seja por anticorpos ou pelas células matadoras, depende do tipo DC e das citocinas que estas células proporcionarão às T auxiliares. Se a DC apresentar o tipo errado de citocina, o corpo pode receber uma ofensiva equivocada, levando a um problema de vida ou morte (BANCHEREAU, 2008).

Enquanto imaturas elas têm grande capacidade de capturar invasores e até matar vírus imediatamente devido à ação do interferon-alfa (IFN α), uma proteína do sistema imune. Após a fagocitose do invasor, estas células apresentam

os antígenos para o restante do sistema imune pelas moléculas de classe I ou II do MHC (BANCHEREAU, 2008).

Após o processamento do antígeno, as DCs encaminham-se para o baço ou nódulos linfáticos (por meio do sangue ou da linfa, respectivamente), para completarem sua maturação e apresentar o antígeno (BANCHEREAU, 2008). Os antígenos intracelulares apresentados por moléculas de classe I do MHC são reconhecidos por CTLs e, uma vez ativadas, estas podem matar uma célula alvo diretamente. Já os antígenos extracelulares também são processados pelas APCs e estão, geralmente, ligados às moléculas de classe II do MHC para ativação de células T auxiliares puras, que possuem efeitos regulatórios imunes (BANCHEREAU; STEINMAN, 1998).

Para auxiliar na ativação e interação com as células T, as DCs secretam quimiocinas recrutantes pró-inflamatórias, como as derivadas de macrófagos, e expressam moléculas de adesão (DC-SIGN) (ZITVOGEL; ANGEVIN; TURSZ, 2000). A sua ativação, pela apresentação dos antígenos ligados às moléculas do MHC, também é mediada por moléculas coestimulatórias na superfície das APCs (WALDMANN, 2003). Estas moléculas permitem que as DCs sejam as únicas que consigam educar células T auxiliares puras; além de serem responsáveis pela tolerância imune, na qual esse sistema aprende a não atacar outras partes do corpo. Uma vez educadas, as células T auxiliares estimulam as células B, por meio de citocinas do tipo 2, a produzirem anticorpos que tornarão o antígeno inativo. Assim como as DCs podem ativar células matadoras, as células T auxiliares, por sua vez, o fazem por citocinas do tipo 1 (BANCHEREAU, 2008).

Com sua grande capacidade de captura, as DCs apanham e apresentam os antígenos tumorais em suas superfícies e iniciam uma resposta imune contra tumores de seus próprios hospedeiros. Entretanto, em algumas pessoas este processo de apresentação acaba não ocorrendo ou é deficitário,

resultando no subsequente desenvolvimento do tumor (BANCHEREAU et al., 2001).

Os primeiros estudos em camundongos apontaram que as DCs mediaram respostas imunológicas levando à redução no crescimento do tumor ou sua completa erradicação; da mesma forma, estas células pulsadas com peptídeos tumorais apropriados, poderiam proteger o hospedeiros contra cânceres letais (ZITVOGEL; ANGEVIN; TURSZ, 2000).

Os antígenos mais adequados às imunoterapias são os tumores-específicos compartilhados com diferentes degenerescências ou proteínas mutantes expressas unicamente por células cancerosas (LUDEWIG et al., 2000). Um grupo de pesquisadores obteve sucesso na identificação e caracterização de alguns antígenos específicos de melanomas; muitos estão sendo amplamente utilizados em vários estudos clínicos com humanos. Um grande número de bibliografias demonstra que DCs carregadas com antígenos associados a tumor são capazes de induzir uma resposta imune antitumoral (BANCHEREAU et al., 2001).

Atualmente existem diversos antígenos tumorais já identificados, como a ciclina B1 e o NY-ESO-1. Sua identificação, além da precisão de diagnósticos, tem contribuído para o desenvolvimento de uma nova geração de vacinas contra câncer, como é o caso de algumas contra o câncer de mama utilizando o MUC1 (FINN, 2008). Durante estudos com o NY-ESO-1, pesquisadores encontraram que populações de DCs diferem na capacidade de apresentação de antígenos e estímulos necessários à maturação, e que o principal fator para a proteólise citosólica das DCs é modo como são entregues e não o antígeno em si (NISHIKAWA; SAKAGUCHI, 2010).

Uma estratégia desenvolvida contra melanomas consiste em isolar DCs do paciente, apresentá-las *in vitro* a estes antígenos e, posteriormente, introduzi-las no mesmo paciente, agora carregadas com peptídeos tumorais ou células

mortas do tumor. Este tipo de estratégia foi a primeira tentativa no uso delas em vacinas de câncer, realizada no Stanford Medicine Cancer Center. As células dendríticas de pacientes com linfoma não Hodgkin foram isoladas, carregadas com imunoglobulinas obtidas dos tumores e injetadas naqueles indivíduos; como resultado, a maioria desenvolveu repostas imunes mediadas por células T contra seus antígenos tumorais (NOLZ; HARTY, 2011).

No entanto, apesar dos avanços que vêm sendo descritos, são necessários alguns fatores críticos para uma eficiente estimulação das células T, dentre outros, o grupo a ser utilizado, a via administrada, o modo de ativação, a estratégia de entrega do antígeno e a combinação com outras terapias (BANCHEREAU, 2008).

Além disso, o uso de vacinas com células dendríticas pode provocar doenças autoimunes graves (LUDEWIG et al., 2000). Algumas pesquisas apontam que elas poderiam induzir uma resposta do sistema imune aos tecidos saudáveis, como ocorre com o vitiligo em pacientes que receberam as primeiras vacinas antimelanoma (FRAZER; LOWY; SCHILLER, 2007). Ludewig e seus colaboradores apontam que, como consequência do tratamento de melanoma, essas reações autoimunes são aceitáveis durante a terapêutica; no entanto, quando esta interferência acomete células do sistema cardiovascular e neuronal há limitações no uso da terapia com DCs a partir de antígenos também expressos por células de órgãos vitais (LUDEWIG et al., 2000).

Os experimentos que utilizam DCs humanas carregadas com antígenos tumorais para a indução de respostas imunológicas vêm se avolumando nos anos recentes, inclusive contra outros cânceres como linfoma (BANCHEREAU, 2008). Em 2001 Jacques Banchereau e seus colaboradores demonstraram que aproximadamente 90% dos pacientes com melanoma, tratados com vacinas de DCs carregadas com antígenos, tiveram como resultado um aumento na resposta imune contra o câncer. Além disso,

em alguns pacientes houve uma queda na taxa de crescimento do tumor devido à resposta a mais de dois dos antígenos empregados (BANCHEREAU, 2008).

Com os resultados que estão sendo obtidos nos experimentos realizados atualmente, os cientistas trabalham para testar este tipo de vacina em um número maior de pacientes e não apenas nos que apresentam esta degenerescência em estágio avançado. Os tumores em estágio inicial têm uma maior probabilidade de responder a este tipo de tratamento, uma vez que o sistema imune destes pacientes ainda não arriscou e falhou em sua tentativa de erradicar o tumor (BANCHEREAU, 2008).

Novas perspectivas para esta imunoterapia estão sendo estudadas com o uso injeções de DCs puras diretamente em tumores tratados com terapia fotodinâmica ou remoção por radiofrequência (NOLZ; HARTY, 2011).

Inversamente, as células cancerosas podem mutar para escapar do ataque imunológico acionado pelas DCs, assim como ocorre nas terapias padrões. Ademais, a fabricação de vacinas a partir de DCs particulares do paciente não é uma abordagem economicamente viável. Com isso, muitos pesquisadores estão trabalhando para driblar custos e o tempo gasto durante o isolamento e manipulação das células do paciente. Dentre estes estudos, alguns apontam que células tumorais geneticamente construídas para secretar uma quantidade maior de citocina têm maior potencial para serem utilizadas como vacinas de câncer (BANCHEREAU, 2008).

No entanto, em alguns distúrbios autoimunes como artrite reumatoide, diabetes tipo 1 e lúpus eritematoso sistêmico, este mecanismo parece não funcionar. Isto foi observado em pacientes com lúpus, os quais possuem DCs intensamente ativas com altos níveis de IFN α . Além disso, algumas doenças infecciosas como a malária, sarampo e citomegalovírus, manipulam as DCs para seu benefício (BANCHEREAU, 2008).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de ser uma opção de tratamento para os pacientes com câncer, as vacinas apresentam seu lado negativo, uma vez que podem provocar o ataque às células saudáveis, além de exigirem um alto custo para a sua produção, bem como na demanda de tempo de elaboração (FINN, 2008).

No entanto, apesar das evidências apontando para o sucesso no uso destas células, reconhece-se que ainda são necessárias mais informações a seu respeito para o estabelecimento dos fatores críticos para sua estimulação, além da manipulação racional devido à complexidade deste sistema e, até mesmo, sua desativação por agravarem algumas doenças. Somado a isso, como estas vacinas são desenvolvidas para cada paciente, sua produção para a população em geral é limitada em virtude do alto custo e tempo requerido.

Assim mesmo, os cientistas buscam o progresso no uso deste tipo de imunoterapia, dando ênfase a redução de custos e do tempo despendido para a produção da vacina, já que essa é mais uma alternativa clínica na procura pela melhora na qualidade de vida dos pacientes.

REFERÊNCIAS

- BALKWILL, F.; CHARLES, K. A.; MANTOVANI, A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. **Cancer Cell**, v. 7, n. 3, p. 211-217, 2005.
- BANCHEREAU, J. et al. Dendritic cells as vectors for therapy. **Cell**, v. 106, n. 3, p. 271-274, 2001.
- BANCHEREAU, J. The long arm of the immune system. **Scientific American**, v. 18, n. 3, p. 56-63, 2008.
- BANCHEREAU, J.; STEINMAN, R. M. Dendritic cells and the control of immunity. **Nature**, v. 392, p. 245-252, 1998.
- BELDA-INIESTA, C.; IBÁÑEZ DE CÁCERES, I.; CASTRO, J. Monoclonal antibodies for medical oncology: a few critical perspectives. **Clinical & translational oncology**, v. 13, n. 2, p. 84-87, 2011.
- COLLUCCI, C. Economista retira seios sem tumores para evitar doença causada por mutação genética. **Folha Online**, São Paulo, 25 jan. 2009. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/folha/ciencia/ult306u494219.shtml>[cited2012]>. Acesso em: 16 jan. 2012.
- FINN, O. J. Cancer Immunology. **The New England journal of Medicine**, v. 358, n. 25, p. 2704-2715, 2008.
- FRAZER, I. H.; LOWY, D. R.; SCHILLER, J. T. Prevention of cancer through immunization: prospects and challenges for the 21st century. **European Journal of Immunology**, v. 37, supl. 1, p. 148-155, 2007.
- KHURI, F. R. et al. A controlled Trial of intratumoral ONYX-015, a selectively- replicating adovirus, in combination with cisplatin and 5- fluorouracil in patients with recurrent head and neck cancer. **Nature medicine**, v. 6, n. 8, p. 879-885, 2000.
- KING, J.; WAXMAN, J.; STAUSS, H. Advances in tumor immunotherapy. **The Quarterly Journal of Medicine**, v. 101, n. 9, p. 675-683, 2008.
- LIU, Y. J. dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate and adaptative immunity. **Cell**, v. 106, n. 3, p. 259-262, 2001.
- LORENCE, R. M. et al. Overview of phase I studies of intravenous administration of PV701, an oncolytic virus. **Current Opinion in Molecular Therapeutics**, v. 5, n. 6, p. 618-624, 2003.
- LUDEWIG, B. et al. Immunotherapy with Dendritic Cells Directed against Tumor Antigens Shared with Normal Host Cells Results in Severe Autoimmune Disease. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 191, n. 5, p. 795-804, 2000.
- MALUMBRES, M.; BARBACID, M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. **Nature reviews. Cancer**, v. 9, p. 153-166, 2009.
- NETTELBECK, D. M.; ALVAREZ, R. D.;

CURIEL, D. T. Tumor-busting viruses. **Scientific American**, v. 18, n. 3, p. 73-79, 2008.

NISHIKAWA, H.; SAKAGUCHI, S. Regulatory T cells in tumor immunity. **International Journal of Cancer**, v. 127, n. 4, p. 759-767, 2010.

NOLZ JC, HARTY JT. Strategies and implications for prime-boost vaccination to generate memory CD8 T cells. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 780, p. 69-83, 2011.

RUDDON, R. W. **Cancer Biology**. 4th ed. USA: Oxford University Press, 2007.

STIX, G. A malignant flame. **Scientific American**, v. 18, n. 3, p. 48-55, 2008.

WALDMANN, T. A. Immunotherapy: past, present and future. **Nature medicine**, v. 9, n. 3, p. 269-277, 2003.

ZITVOGEL, L.; ANGEVIN, E.; TURSZ, T. Dendritic Cell-based immunotherapy of cancer. **Annals of oncology**, v. 11, supl 3, p. 199-205, 2000.

Recebido em: 17 de janeiro de 2012

Aceito em: 22 de setembro de 2012