



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

João Manuel Barbedo Soares Gonçalves

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “A Vasculatura Tumoral e a Potenciação do Acesso das Imunoterapias ao Tumor” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Sandra Almeida, do Dr. Paulo Monteiro e do Professor Doutor João Nuno Sereno de Almeida Moreira, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022



FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

João Manuel Barbedo Soares Gonçalves

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “A Vasculatura Tumoral e a Potenciação do Acesso das Imunoterapias ao Tumor” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Sandra Almeida, do Dr. Paulo Monteiro e do Professor Doutor João Nuno Sereno de Almeida Moreira, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022

Eu, João Manuel Barbedo Soares Gonçalves, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2017262709, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “A Vasculatura Tumoral e a Potenciação do Acesso das Imunoterapias ao Tumor” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 7 de setembro de 2022,

João Manuel Barbedo Soares Gonçalves

(João Manuel Barbedo Soares Gonçalves)

Agradecimentos

Aos meus pais, irmã e avós por todo o apoio que me deram ao longo deste percurso, por acreditarem em mim, por me motivarem e por terem sido tudo o que eu precisei nestes cinco anos.

Aos meus amigos, por fazerem estes cinco anos os melhores que pude desejar.

A todas as equipas da Bluepharma que tive a oportunidade de integrar, pela boa disposição e pelas experiências, valências e conhecimentos transmitidos.

À equipa da Farmácia São José, pela amizade, pela confiança depositada e pelo empenho dedicado à partilha de conhecimentos.

Ao Professor Doutor João Nuno Sereno de Almeida Moreira, pelos conhecimentos transmitidos, pela orientação na realização da monografia e pela sua disponibilidade.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, pela formação e valores de excelência transmitidos.

A Coimbra, pelas memórias partilhadas, levo-te comigo para a vida.

A todos vós, muito obrigado!

Índice

Capítulo I – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Lista de Abreviaturas	8
1. Introdução.....	9
2. Bluepharma Indústria Farmacêutica S.A.	9
3. Análise SWOT	10
3.1. Pontos Fortes.....	10
3.1.1. Sessão de acolhimento.....	10
3.1.2. Dispensa de material de trabalho.....	10
3.1.3. Espírito de equipa	11
3.1.4. Plano de estágio.....	11
3.1.5. Multidisciplinaridade de conhecimentos adquiridos.....	12
3.1.6. Estágio em regime presencial	12
3.1.7. Subsídio de alimentação	13
3.2. Pontos Fracos	13
3.2.1. Duração do Estágio	13
3.2.2. Integração da aprendizagem em contexto de prática profissional.....	13
3.2.3. Falta de conhecimentos práticos sobre a HPLC e o <i>Empower™ Software</i>	14
3.3. Oportunidades.....	14
3.3.1. Plano de formações	14
3.3.2. Acesso ao suporte de documentação oficial	15
3.3.3. <i>Kaizen</i> Diário.....	15
3.3.4. Desenvolvimento de <i>soft skills</i>	15
3.3.5. Consolidação dos conhecimentos teóricos do MICF.....	16
3.4. Ameaças	16
3.4.1. Pandemia da COVID-19.....	16
3.4.2. Inadequação da componente prático-laboratorial do MICF à perspetiva profissional analítica futura	17
3.4.3. Ataques informáticos	17
4. Considerações Finais	17
Bibliografia	19

Capítulo II – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas	21
1. Introdução.....	22
2. Farmácia São José.....	23
3. Análise SWOT	23
3.1. Pontos Fortes.....	23
3.1.1. Localização privilegiada e horário de funcionamento alargado	23
3.1.2. Equipa	24
3.1.3. Instalações vanguardistas.....	24
3.1.4. Prestação de uma pluralidade de serviços	25
3.1.5. Multiplicidade de produtos	26

3.1.6. Plano de estágio.....	26
3.1.7. Duração do estágio	27
3.2. Pontos Fracos	27
3.2.1. Profusão de estagiários.....	27
3.2.2. Medicamentos manipulados.....	27
3.3. Oportunidades.....	28
3.3.1. Ciclo de formações	28
3.3.2. Familiarização com os dois módulos do Sifarma®	28
3.3.3. Metodologia <i>Kaizen</i>	28
3.3.4. Papel ativo na comunidade	29
3.4. Ameaças	29
3.4.1. Pandemia da COVID-19.....	29
3.4.2. Conhecimento limitado em determinadas áreas	30
3.4.3. Medicamentos esgotados	30
3.4.4. Iliteracia em saúde da população.....	30
3.4.5. Inseguranças do utente.....	31
4. Casos Clínicos.....	31
4.1. Caso Clínico 1: Obstipação	31
4.2. Caso Clínico 2: Eritema solar	32
4.3. Caso Clínico 3: Rinite Alérgica	32
4.4. Caso Clínico 4: Pele oleosa com tendência acneica.....	33
4.5. Caso Clínico 5: Onicomicose.....	34
5. Considerações Finais	35
Bibliografia	36

Capítulo III – Monografia: A Vasculatura Tumoral e a Potenciação do Acesso das Imunoterapias ao Tumor

Lista de Abreviaturas	39
Resumo	42
Abstract	43
1. Introdução.....	44
2. Microambiente tumoral	45
2.1. Angiogénese tumoral.....	45
2.2. Processos de neovascularização alternativos.....	46
2.3. Vasculatura tumoral: um elemento essencial do microambiente tumoral	46
3. O Amensalismo entre o tumor e o sistema imunológico.....	47
3.1. O ciclo imuno-tumoral	47
3.2. Estados imunológicos do tumor	48
3.3. Mecanismos de evasão do tumor ao sistema imunológico.....	49
3.3.1. O microambiente tumoral influencia a natureza das células do sistema imunológico	49
3.3.2. Imunossupressão como um <i>hallmark</i> do microambiente tumoral	50
3.3.3. Anergia endotelial tumoral	51
4. Estratégias antiangiogénicas clássicas	52
5. Inibidores de <i>immune checkpoint</i> - uma imunoterapia antitumoral atrativa.....	52

6. Estratégias centradas na vasculatura tumoral para potenciar o acesso tumoral das imunoterapias	53
6.1. Normalização vascular	53
6.1.1. Terapia antiangiogénica.....	54
6.1.1.1. Racional sinérgico na combinação de agentes antiangiogénicos com inibidores de <i>immune checkpoint</i>	55
6.1.1.2. Marcadores preditivos da janela de normalização	56
6.1.2. Agentes adicionais contribuidores da normalização vascular	56
6.2. Citocinas imunoestimuladoras	58
6.3. Vénulas endoteliais altas	59
6.4. Superação da anergia endotelial tumoral.....	60
6.5. Reprogramação endotelial.....	61
6.6. Estratégias dirigidas a alvos alternativos.....	62
6.7. O recrutamento de células dendríticas.....	65
7. Imunoterapia celular adotiva - uma imunoterapia antitumoral personalizada.....	66
8. Viroterapia oncolítica – uma imunoterapia emergente	67
9. Vacinas antitumorais conjugadas - o futuro da imunoterapia?.....	67
10. Conclusão	68
Bibliografia	69
Anexos	84
Anexo I: Estratégias relacionadas com a vasculatura potenciadoras do acesso intratumoral das células imunoestimuladoras ou das imunoterapias.....	84
Anexo II: Ensaios clínicos terminados ou a decorrer assentes em estratégias relacionadas com a vasculatura tumoral	88
Anexo III: Terapias antiangiogénicas aprovadas pela FDA para o tratamento de tumores sólidos.....	9%
Anexo IV: Ensaios clínicos principais a decorrer que combinam agentes antiangiogénicos e inibidores de <i>immune checkpoint</i>	9&
Anexo V: Combinações entre agentes anti-VEGF e inibidores de <i>immune checkpoint</i> dirigidos ao eixo PD-1/PD-L1 que foram aprovadas pela FDA ou concluíram os ensaios clínicos de fase III.....	9'

Capítulo I

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Bluepharma Indústria Farmacêutica S.A.

Sob a orientação da Dra. Sandra Almeida

Lista de Abreviaturas

DAG – Departamento do Desenvolvimento Analítico e Galénico

EC – Estágio Curricular

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

IF – Indústria Farmacêutica

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SOPs – Procedimentos Operacionais Normalizados

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) apresentado pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) é um curso que além de extremamente abrangente e multidisciplinar, transporta uma enorme relevância no âmbito das Ciências da Saúde. É um curso que incute os estudantes de um conjunto de conhecimentos e competências necessários para a preparação dos mesmos para o mundo profissional. No último semestre, os estudantes são introduzidos à concretização de um estágio curricular (EC) em Farmácia Comunitária, dispondo da possibilidade de realizar um segundo EC inerente a um outro setor farmacêutico. Graças ao meu interesse pela área da Tecnologia Farmacêutica e pela oportunidade única de alargar os meus horizontes no que concerne à dinâmica de funcionamento de uma empresa e às funções que o farmacêutico pode desempenhar neste campo de ação, decidi eleger a Indústria Farmacêutica (IF) como o meu segundo EC.

Pela razão de se tratar de um grupo altamente inovador e com valores de excelência, a Bluepharma Indústria Farmacêutica S.A. solidificou a minha escolha como um primeiro contacto com a IF. Terminado o processo de seleção alicerçado à submissão do *Curriculum Vitae* e à concretização de uma entrevista, outorgaram-me a oportunidade de estagiar, entre os meses de janeiro e março de 2022, no departamento do Desenvolvimento Analítico e Galénico (DAG), sob a orientação da Dra. Sandra Almeida.

O presente relatório tem como objetivo a análise crítica do EC com a duração de três meses, realizado na Bluepharma, tendo em consideração a adequação do MICF à perspetiva profissional, concebido sob a estrutura de uma análise *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats* (SWOT), contemplando, a nível interno, os Pontos Fortes e os Pontos Fracos e, a nível externo, as Oportunidades e as Ameaças.

2. Bluepharma Indústria Farmacêutica S.A.

A Bluepharma, fundada em 2001 em São Martinho do Bispo, Coimbra, é uma empresa farmacêutica privada, cuja missão se prende na excelência, na qualidade, na inovação e na promessa de investigação e desenvolvimento de medicamentos com um elevado valor acrescentado. Transformou uma unidade industrial de 58 pessoas no Grupo Bluepharma, um grupo farmacêutico, com um claro reconhecimento internacional, composto por 20 empresas e mais de 750 colaboradores, possuindo delegações no estrangeiro e exportando a incontestável maioria da sua produção para mais de 40 países.¹

3. Análise SWOT

Na Figura I encontra-se ilustrado a Análise SWOT referente ao EC concretizado na Bluepharma.

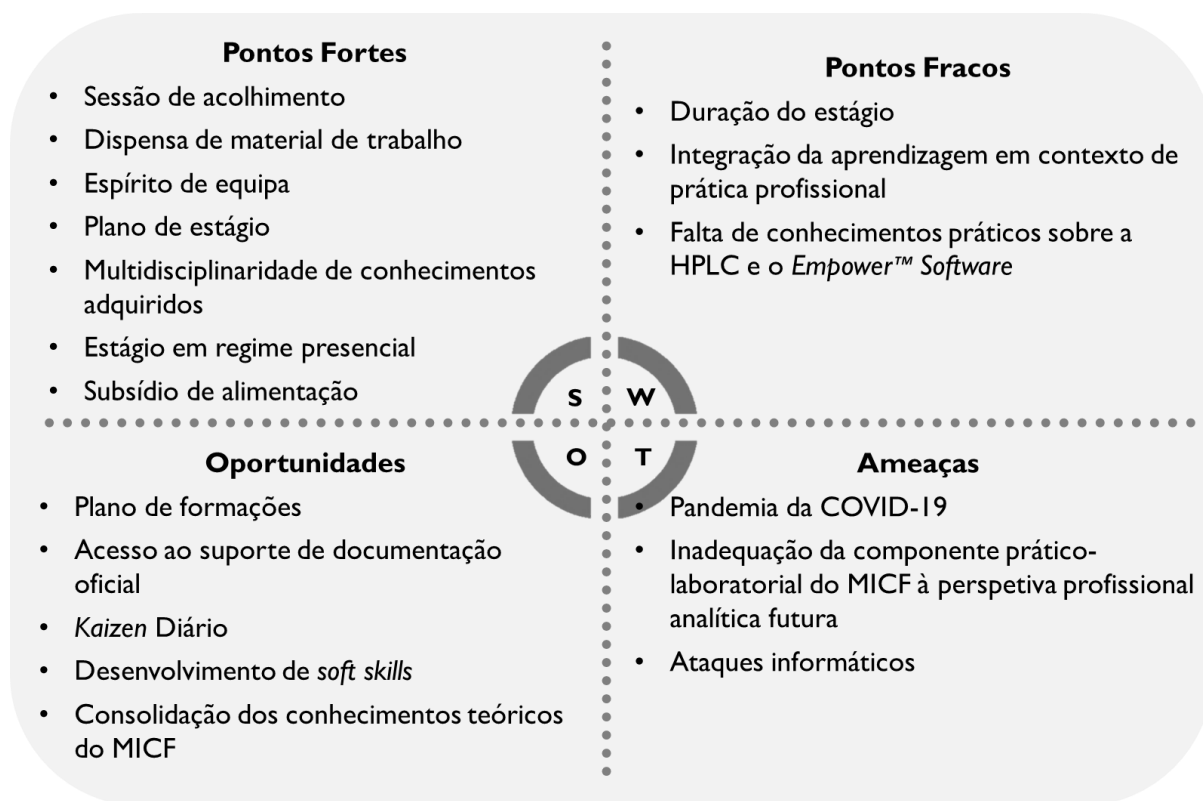


Figura I. Análise SWOT do Estágio Curricular – Bluepharma Indústria Farmacêutica S.A.

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Sessão de acolhimento

No primeiro dia do EC, realizou-se uma sessão de acolhimento para os estagiários, organizada pelo departamento dos Recursos Humanos, com a intenção de conhecer não apenas a história, as proezas alcançadas e as atividades farmacêuticas, comerciais e sociais da Bluepharma, como também a sua organização hierárquica e a sua dinâmica de funcionamento. Posteriormente, foi-me atribuído uma tutora, Isabel Rebelo, que me apresentou as instalações da Bluepharma e as funções dos vários colaboradores e equipas pertencentes ao DAG. Além de extremamente elucidativa e proativa, a receção pela Bluepharma transmitiu uma sensação de integração e de aproximação, tendo facilitado a adaptação social na empresa.

3.1.2. Dispensa de material de trabalho

O programa de receção dos estagiários, de forma que o estágio fosse iniciado com a maior harmonia e equidade com os restantes colaboradores, passou pela cedência de uma

mochila, um computador e material adicional de suporte informático. Uma vez que o meu EC decorreu no DAG, a Bluepharma ainda facultou equipamentos de proteção individual. Tal conferiu uma sensação de igualdade para com os colaboradores da empresa, tendo acesso aos mesmos recursos materiais.

3.1.3. Espírito de equipa

Um pilar fulcral do sucesso do presente EC foi a equipa da Bluepharma. Desde a referida receção calorosa, o bom ambiente e a cumplicidade entre os colaboradores de todas as equipas que me acolheram e por nunca me ter sentido como um estagiário, mas como um colaborador, facilitaram, sem dúvida, a minha integração e o processo evolutivo de aquisição de conhecimentos. A disponibilidade, empatia e espírito de equipa evidenciados pelos membros das várias equipas aliadas ao facto de os mesmos, embora jovens, serem competentes e profissionais no seu trabalho, provaram-se essenciais para o meu desenvolvimento, tanto profissional como interpessoal.

3.1.4. Plano de estágio

O meu plano de estágio compreendeu um programa de integração inicial apoiado na realização de várias formações e na leitura de Procedimentos Operacionais Normalizados (SOPs) alusivas ao DAG. Posteriormente, fui inserido no setor das Estabilidades ao abrigo da equipa dos Cálculos Automáticos, sob tutela da Isabel Rebelo e auxílio do João Mestre. Foi-me solicitado o acompanhamento das equipas dos Analistas e da Documentação, ambas referentes ao setor das Estabilidades, com a intenção de contabilizar os tempos dispensados pelos mesmos na realização das suas tarefas inerentes à utilização do *Empower™ Software* com a integração ou não da ferramenta dos cálculos automáticos.

O *Empower™ Software* é um sistema de dados de cromatografia fornecido pela *Waters Corporation* desenhado para a maximização da produtividade de uma forma versátil, relativamente à aquisição, o processamento, a geração e a revisão de relatórios de dados cromatográficos.⁴ A ferramenta dos cálculos automáticos providencia os recursos para a personalização dos campos de cálculo e para uma utilização otimizada e intuitiva do sistema de dados de cromatografia. Tal permite não apenas minimizar os potenciais erros associados ao uso dos cálculos manuais ou de folhas de cálculo para a exportação de dados cromatográficos, como também diminuir o *lead time* de análise, os custos associados e facilitar a libertação de recursos para outras incumbências.^{2,3}

Considerarei, deste modo, a tarefa por mim concretizada valorosa no sentido de a empresa precisar de um *feedback* relativamente à utilidade da ferramenta dos cálculos automáticos no que concerne à produtividade das equipas e à rentabilidade de recursos, tanto humanos, como materiais e financeiros.

3.1.5. Multidisciplinaridade de conhecimentos adquiridos

Por um lado, pude acompanhar o percurso das tarefas transversais ao *Empower™ Software*, realizado por vários analistas, como, por exemplo, a construção de sequências automáticas de análise, a integração, o processamento e o *reporting* automático dos dados obtidos. Por outro, foi-me igualmente possibilitado o acompanhamento e observação do trabalho prático-laboratorial efetuado pelos mesmos, desde a preparação das soluções-padrão, das amostras, das fases móveis, etc. até à sua colocação no Sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) para serem analisadas. Pude, portanto, verificar a ética e a dinâmica de trabalho dos diferentes analistas e pude contactar com vários instrumentos laboratoriais, muitos dos quais apenas mencionados, de forma teórica, no MICF.

Além de ter aprendido as funcionalidades do *Empower™ Software*, com e sem a funcionalidade dos cálculos automáticos, aplicadas às várias etapas analíticas e de revisão da documentação, tive a oportunidade de interpretar os protocolos analíticos e contactar com a realidade e a dinâmica laboratorial de uma IF. Considero esta familiarização com ambas as vertentes uma oportunidade única que me permitiu crescer profissionalmente.

3.1.6. Estágio em regime presencial

Como a maioria das empresas, a Bluepharma, ao abrigo da pandemia da COVID-19, adotou, sempre que praticável, um regime de teletrabalho, de forma a mitigar o cruzamento dos turnos e a maximizar a higienização dos locais de trabalho. Em oposição ao EC em regime remoto proposto a alguns dos meus colegas, e uma vez que o meu plano de estágio exigia a minha assiduidade nos laboratórios de forma a poder contabilizar os tempos dos colaboradores, foi-me garantido o regime presencial como sistema de realização do EC.

Este contacto pessoal com a IF permitiu-me conhecer de perto a realidade e a dinâmica profissional do DAG, podendo desenvolver várias competências tanto comunicacionais e de aprendizagem contínua, como relacionadas com o trabalho em equipa, podendo progredir na execução do meu trabalho, algo que não teria acontecido com tanta tranquilidade, caso tivesse estado em regime remoto.

3.1.7. Subsídio de alimentação

A Bluepharma disponibilizou um cartão refeição representando o valor do subsídio de alimentação com vista ao pagamento das despesas associadas à mesma. Tal caracterizou-se como uma mais-valia, não apenas pelas claras razões monetárias, como também pela razão, mais uma vez, de me sentir incluído como um colaborador e não como um estagiário.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Duração do Estágio

O EC na Bluepharma decorreu entre os dias 10 de janeiro e 31 de março de 2022. Ainda que a duração prevista de três meses do EC em IF seja a necessária para viabilizar uma conciliação com o EC em Farmácia Comunitária, considero a frequência do EC insuficiente para um investimento aceitável, em termos de experiências adquiridas neste ramo profissional. Não obstante a todo o conhecimento e competências transmitidas, a curta duração do EC permitiu apenas uma introdução e consciencialização do funcionamento de uma IF. Considero que um EC mais prolongado poderia ter sido suficiente para eu poder alargar os horizontes, abraçar outras funções e contactar com outras equipas, podendo ficar a conhecer de forma mais abrangente e mais intrínseca as tarefas desempenhadas no DAG.

3.2.2. Integração da aprendizagem em contexto de prática profissional

Como mencionado anteriormente, o meu trabalho passou pela observação dos colaboradores, a nível laboratorial e a nível documental, com a posterior contabilização dos tempos dispensados inerentes à realização das suas tarefas no *Empower™ Software*. Pude constatar que a privação da autonomia e a inércia do trabalho realizado proativamente por mim foram constantes ao longo do EC. Percebendo perfeitamente que a natureza das responsabilidades e das tarefas desempenhadas pelos analistas caracterizam-se pelo elevado impacto no sucesso dos seus resultados, o facto de não ter contactado pessoalmente com os desafios por eles enfrentados, testemunhei uma impossibilidade de aquisição de competências laboratoriais e de progressão profissional. A propósito, devido ao regime quase que exclusivamente observacional, verifiquei a inviabilidade de poder aplicar proativamente, em contexto prático-laboratorial, os conhecimentos adquiridos no MICF e nas formações realizadas na Bluepharma.

3.2.3. Falta de conhecimentos práticos sobre a HPLC e o *Empower™ Software*

Apesar da leitura de SOPs específicas à HPLC e ao *Empower™ Software*, da formação de carácter teórico, adequadamente ministrada pelo João Mestre, e das elucidações prestadas pelos vários analistas, observei uma dificuldade inicial na compreensão dos vários conceitos divulgados. Assim, denoto que uma formação de cariz prático teria sido crucial, não só para a aquisição, integração e consolidação da aprendizagem teórica relativa aos conceitos inerentes à utilização do cromatógrafo e das funcionalidades do *Empower™ Software*, como também para a sua posterior aplicação em contexto prático. No entanto, ao longo do percurso do meu EC, tais inconvenientes foram, maioritariamente, colmatados através dos ensinamentos repetitivamente transmitidos pelos vários analistas.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Plano de formações

Com a intenção de promover o acolhimento e o enquadramento da política, do sistema organizacional e documental e, no fundo, da dinâmica e da gestão de funcionamento da empresa, a Bluepharma providenciou um plano de formações online iniciais, de índole obrigatória. Estas são atinentes a uma série de âmbitos cruciais no funcionamento de uma empresa farmacêutica, como o Sistema de Gestão Integrado, a Melhoria Contínua, a Segurança e Saúde no Trabalho, os Sistemas de Informação, a Segurança Informática, noções de Farmacovigilância e de Assuntos Regulamentares do Medicamento, entre outros.

Complementarmente, ao longo do EC, foi-nos promovido formações ajustadas ao DAG, não obrigatoriamente relacionadas com a nossa função no mesmo. Instruíram-nos acerca das Regras da Indústria Farmacêutica e Procedimentos Laboratoriais, da Segurança nos Laboratórios, das Boas Práticas de Pesagem, da Validação de Métodos Analíticos, do Desenvolvimento de Métodos de Dissolução, etc. Tal permitiu-me adquirir uma visão mais alargada sobre o DAG, além dos cálculos automáticos e do trabalho decorrente no setor das Estabilidades. Além disso, tivemos a oportunidade de integrar várias formações não dedicadas especificamente aos estagiários, podendo ficar a conhecer um pouco mais sobre as atividades do departamento.

Considero que o ciclo de formações facultado aos estagiários foi extremamente proveitoso, na medida em que me permitiu integrar e adaptar de uma forma mais rápida e

profunda ao sistema de funcionamento da empresa, tendo adquirido e atualizado conhecimentos pertinentes para o meu percurso profissional.

3.3.2. Acesso ao suporte de documentação oficial

Ao longo do EC, tive a oportunidade de aceder, a qualquer momento, ao suporte documental oficial da Bluepharma, podendo ler diversas SOPs sobre os mais variados temas alusivos ao DAG e ao seu funcionamento. Uma vez que estas constituem um conjunto de instruções sequenciais a fim de auxiliar os colaboradores na realização das suas tarefas rotineiras, a sua leitura permitiu-me a aprendizagem de vários procedimentos laboratoriais. A aquisição de conhecimentos inerentes à interpretação das SOPs foi alicerçada com a observação das tarefas diárias concretizadas pelos analistas, a nível laboratorial e a nível informático, permitindo solidificar o meu conhecimento, às vezes, um pouco difuso apenas pela leitura das mesmas.

3.3.3. Kaizen Diário

Em virtude da parceria entre a Bluepharma e o *Kaizen Institute*, surgiu o Bluelean, um sistema fundamentado nas metodologias Lean (cultura empresarial a longo prazo) e 6-sigma (gestão e controlo de processos) que visa a melhoria contínua aplicada à realidade da Bluepharma. Deste modo, uma das estratégias implementadas pela empresa foi a realização do *Kaizen Diário*⁵, uma ferramenta de gestão e comunicação visual, com o foco na criação de uma rotina de trabalho e na transmissão transparente de informação, a fim de incentivar os colaboradores e comprometer as equipas para a Melhoria Contínua.⁶

O *Kaizen Diário* permitiu-me certamente sentir motivado na minha tarefa e incluído na equipa, não apenas pelo facto de observar a comunicação entre os colaboradores, a exposição dos seus obstáculos e, no fundo, contemplar a melhoria diária organizacional, como também por poder comunicar e partilhar questões com a equipa. Denoto que esta vertente possibilitou a aquisição de conhecimentos acerca do valor do trabalho em equipa e entreaajuda, com a intenção final de maximizar a produtividade e a qualidade do trabalho realizado.

3.3.4. Desenvolvimento de soft skills

A oportunidade de estagiar na Bluepharma permitiu-me compreender e adquirir uma nova perspetiva sobre a realidade do funcionamento de uma IF. Graças à intercolaboração com diferentes equipas do DAG, à multidisciplinaridade das diversas áreas profissionais dos colaboradores, e ao facto de poder ter realizado um estágio em regime presencial, convergiu para uma aquisição de competências polivalentes e de *soft skills* abrangentes, profícuos para

uma melhor preparação para o meu futuro profissional. A evolução do sentido crítico na observação dos procedimentos laboratoriais, na interpretação dos resultados cromatográficos e na investigação das falhas laboratoriais e dos desvios de qualidade, aliado à constante gestão temporal das várias tarefas que os analistas tinham de concretizar, permitiu-me constatar a importância da comunicação assertiva, da proatividade, da adaptabilidade e da resiliência que uma equipa necessita de dominar.

3.3.5. Consolidação dos conhecimentos teóricos do MICF

O MICF possui um plano de estudos assaz abrangente, de modo que os estudantes possam enveredar por qualquer uma das várias saídas profissionais farmacêuticas. Ao longo do EC detetei a adequação da componente teórica das unidades curriculares inerentes à área da tecnologia e desenvolvimento farmacêutico ao entendimento das diversas tarefas realizadas no DAG. O EC na Bluepharma permitiu-me claramente consolidar conhecimentos e aprofundar noções acerca de alguns temas, como a técnica de HPLC, podendo fortalecer e interligar conceitos, de um modo prático, com a realidade da IF.

3.4. Ameaças

3.4.1. Pandemia da COVID-19

A pandemia da COVID-19 obrigou o estabelecimento de diversas medidas de mitigação da transmissão do vírus SARS-CoV-2. A empresa implementou medidas de renovação da realidade profissional como a criação de turnos de trabalho desfasados. Esta divisão impossibilitou-me o contacto com sensivelmente metade dos analistas, inviabilizando não apenas a partilha de conhecimentos, como também a confraternização e convivência com a restante equipa. Além destas repercussões ao nível do DAG, o impacto da pandemia foi também observado ao nível das atividades normalmente organizadas pela empresa como, por exemplo, a não realização do *Brunch with the CEO*, ou seja, o convívio com o presidente da Bluepharma, o Dr. Paulo Barradas Rebelo, algo que seria altamente interessante.

A impossibilidade de participar nestes e noutros eventos pela obrigação do distanciamento social ameaçou a criação de afinidades com os colaboradores, tendo prejudicado, de certo modo, a fomentação da minha aprendizagem.

3.4.2. Inadequação da componente prático-laboratorial do MICF à perspectiva profissional analítica futura

A meu ver, as unidades curriculares do plano de estudos do MICF, especialmente a sua componente teórica, bem como o conjunto de Professores que as lecionam, encontram-se adequadamente estabelecidas para a correta formação de futuros farmacêuticos. No entanto, após a concretização do EC na Bluepharma, reconheci a insatisfação de aspetos da componente prático-laboratorial do plano de estudos do MICF, no que concerne, por exemplo, ao manuseio empírico de sistemas de HPLC e ao ensinamento das suas funcionalidades práticas. Tal é o meu juízo de valor, visto que senti dificuldades a respeito da compreensão das funcionalidades práticas da HPLC, da sua preparação para a iniciação das corridas cromatográficas e dos seus cuidados de manutenção.

3.4.3. Ataques informáticos

Por intermédio da participação na formação intitulada de Segurança Informática, foi claramente evidenciado a preocupação da Bluepharma pela proteção dos dados informáticos. No entanto, os ataques cibernéticos podem, por alguma razão, ocorrer espontaneamente, prejudicando toda a base de dados da empresa. Decorrente do meu acompanhamento da equipa dos Analistas e da Documentação, necessitei de elaborar um documento Excel com toda a informação obtida. Assim, a ínfima probabilidade de ocorrer um ataque informático e a destruição do documento por mim estruturado constitui um fator danoso que, embora fora do alcance de atuação da empresa, deve ser reconhecido e evitado.

4. Considerações Finais

O meu desejo de poder contactar com o universo da IF ainda em contexto académico e poder experienciar o quotidiano profissional concretizou-se com a aceitação da minha candidatura pela Bluepharma. Desde o início do meu EC, senti rapidamente uma sensação de acolhimento e integração que me fez identificar como um colaborador e não como um estagiário. Tal solidificou-se quando me incluíram na equipa dos Cálculos Automáticos e no setor das Estabilidades, ambos pertencentes ao DAG. Posso assegurar que, sem a presença de um ambiente tão agradável transversal a toda a Bluepharma, o meu *feedback* em IF não seria o mesmo.

O contacto com a constante inovação e desenvolvimento de projetos aliados à aquisição de novas visões e conhecimentos sobre esta área das Ciências Farmacêuticas e o desenvolvimento de várias competências demonstraram ser um triunfo no meu percurso

enquanto futuro profissional. A observação do espírito de equipa e de entreaajuda, da deontologia no trabalho e da gestão de recursos como o suporte para o desenvolvimento de uma equipa e de uma empresa, permitiu-me crescer enquanto estagiário e futuro profissional.

Concluo com um agradecimento a todo o grupo da Bluepharma, em especial às equipas que me acolheram, pela dedicação na partilha de ensinamentos, pela sua cultura de excelência e de qualidade e pela oportunidade única de me permitirem escolher a Bluepharma como o primeiro local para eu poder vivenciar a realidade da IF.

Bibliografia

1. BLUEPHARMA - **A BLUEPHARMA . EMPRESA** [Consult. 2 abr. 2022]. Disponível em: <https://www.bluepharmagroup.com/pt/sobre-nos/empresa>
2. CORPORATION, Waters - **Empower 3 Chromatography Data Software** [Consult. 3 abr. 2022]. Disponível em: https://www.waters.com/waters/pt_PT/Empower-Chromatography-Data-System/nav.htm?locale=pt_PT&cid=513188
3. CORPORATION, Waters - **Empower 3 Chromatography Data Software** [Consult. 3 abr. 2022]. Disponível em: https://www.waters.com/waters/pt_PT/Empower-Chromatography-Data-System/nav.htm?locale=pt_PT&cid=513188
4. CORPORATION, Waters - **Empower 3 Software: Automated Tailored Calculations** [Consult. 3 abr. 2022]. Disponível em: https://www.waters.com/waters/library.htm?locale=en_US&lid=1530921
5. BLUEPHARMA - **Bluepharma promotes SMED Wet Granulation workshop** [Consult. 10 abr. 2022]. Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/communication-news.php?id=192>
6. KAIZEN INSTITUTE - **Cultura e organização** [Consult. 10 abr. 2022]. Disponível em: <https://pt.kaizen.com/gestao-mudanca/cultura-organizacao>

Capítulo II

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia São José

Sob a orientação do Dr. Paulo Monteiro

Lista de Abreviaturas

DCI – Denominação Comum Internacional

EC – Estágio Curricular

FC – Farmácia Comunitária

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FSJ – Farmácia São José

LVMNSRM – Locais de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

OF – Ordem dos Farmacêuticos

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

VALORMED – Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos

I. Introdução

O Farmacêutico é um profissional de saúde com qualificações para executar todas as tarefas respeitantes ao ciclo de vida do medicamento e outras tecnologias de saúde, de modo a contribuir para a salvaguarda da saúde pública, no âmbito da promoção da saúde e prevenção da doença.¹ O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) apresentado pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) faculta os conteúdos programáticos necessários e vitais para a formação de futuros profissionais de saúde. De modo a completar o ciclo de estudos, os estudantes são incutidos à concretização de um estágio curricular (EC) em Farmácia Comunitária (FC) com a intenção de possibilitar a aplicação, num contexto prático, dos conhecimentos adquiridos inerentes à atividade central do farmacêutico comunitário.

A FC, outrora principalmente conhecida por Farmácia de Oficina, é o local preferencial que os cidadãos recorrem perante questões de saúde menores. Ao ser um setor estratégico na gestão do sistema de saúde, os utentes reconhecem a FC como um local onde a disponibilidade, a proximidade e a confiança são virtudes ubíquas de um farmacêutico comunitário. Desde a dispensa e aconselhamento farmacoterapêutico no sentido de promover o uso racional do medicamento e de produtos de saúde, até à gestão da terapêutica, promoção de serviços farmacêuticos, da literacia em saúde e da adoção de estilos de vida saudáveis, o farmacêutico comunitário atua como uma peça central nas vertentes preventiva e terapêutica da saúde do utente.² No entanto, o seu papel não é estacionário. A procura de oportunidades de promoção da saúde e prevenção da doença, bem como a mitigação de ameaças no setor e a atualização constante acerca dos medicamentos e produtos de saúde existentes no mercado, têm vindo a obrigar o farmacêutico a adaptar-se a novas realidades e a contornar os desafios emergentes.

Realizei o EC em FC na Farmácia São José (FSJ), em Coimbra, no período entre 4 de abril e 31 de julho, sob a orientação do Dr. Paulo Monteiro e o auxílio de toda a equipa da FSJ.

O presente relatório visa uma abordagem crítica, sob o formato de uma análise *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats* (SWOT), do EC na FSJ, tendo em consideração a adequação do MICF à perspetiva profissional futura, refletindo, a nível interno, os Pontos Fortes e os Pontos Fracos e, a nível externo, as Oportunidades e as Ameaças. Além disso, são apresentados cinco casos práticos reais representativos da atualidade da FC, que me promoveram o entendimento de certas temáticas e valorizaram a minha aprendizagem.

2. Farmácia São José

A FSJ, primordialmente localizada nos Arcos do Jardim, em Coimbra, conquistou o seu alvará em 1949, tendo sido aberta ao público no ano seguinte. Em 1984, o Dr. Paulo Monteiro assume a direção técnica da farmácia, sendo esta transferida para a Avenida Calouste Gulbenkian, permanecendo neste local até aos dias de hoje. Apesar dos longos anos de história, as instalações da FSJ sofreram inúmeras remodelações, tendo sido as últimas concretizadas em 2020, adquirindo uma imagem mais contemporânea.

3. Análise SWOT

Na Figura 1 encontra-se ilustrado a Análise SWOT referente ao EC concretizado na FSJ.



Figura 1. Análise SWOT do Estágio Curricular – Farmácia São José

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Localização privilegiada e horário de funcionamento alargado

A FSJ localiza-se na Avenida Calouste Gulbenkian, em Celas. Encontra-se inserida numa zona residencial próxima do Centro Hospitalar Universitário de Coimbra, do Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil E.P.E., do Centro de Saúde de Celas, da Maternidade Bissaya Barreto, de vários consultórios médicos e do Pólo Universitário das

Ciências da Saúde. Esta localização claramente vantajosa associada à notoriedade e renome da FSJ convergem numa profusão prodigiosa de utentes. Foi-me possível, portanto, contactar com vários utentes de diferentes estratos demográficos, socioeconómicos, culturais e, conseqüentemente, com quadros clínicos e necessidades terapêuticas distintas. Tal permitiu-me não apenas adaptar constantemente o meu discurso à capacidade literária do utente, como também familiarizar-me com diferentes realidades e contactar com uma abrangência de temas com diferentes indicações farmacêuticas, fomentando, assim, a minha aprendizagem.

A FSJ encontra-se aberta entre as 8h30 e as 21h, nos dias de semana, e entre as 9h e as 20h, no sábado. Esta extensão do horário de funcionamento permitiu-me contactar com diferentes estratos demográficos e sociais da população, pois aferi claramente uma relação entre a hora do dia e a tipologia de utente. Aliás, esta tipologia também se verificou heterógena, em função dos dias de semana, em detrimento dos fins de semana. Se no primeiro, são os utentes fidelizados a grande maioria, nos sábados, são sobretudo pessoas de passagem. Tal obrigou-me a adotar um atendimento personalizado a cada situação, com táticas tanto de manuseamento do Sifarma®, como de comunicação diferentes. Considerei, por sinal, estas circunstâncias pontos fortes, pois permitiram-me desenvolver várias competências de comunicação e de relação interpessoal.

3.1.2. Equipa

Um ponto integrante do êxito do EC em FC foi decisivamente a equipa da FSJ. Apesar do grande número de encargos diários, a equipa demonstrou estar sempre disponível para qualquer questão por mim colocada, exibindo um interesse pela aprendizagem do estagiário. A constante predisposição da equipa aliada à empatia, boa disposição e espírito de entreatajuda foram basilares para me sentir integrado no seio da equipa como um colaborador e foram essenciais na minha aprendizagem e autoconfiança, o que se refletiu no meu desempenho. Aliás, a equipa contribuiu para o desenvolvimento, ao longo do EC, de competências de organização e iniciativa, além de comunicação e de relação interpessoal, permitindo-me ter uma execução cada vez mais autónoma e exímia, satisfazendo, gradualmente, os padrões de qualidade e exigência de um farmacêutico comunitário.

3.1.3. Instalações vanguardistas

A FSJ sempre apostou na contemporização das suas instalações, quer seja em remodelações das suas infraestruturas, como a introdução de equipamentos tecnológicos para melhorar a produtividade e a eficiência da atividade farmacêutica. Como exemplo, a FSJ tem instalado um robô de arrumação e dispensa de medicamentos. O investimento nesta

tecnologia previne a criação de longas e cansativas filas de espera e oferece um atendimento mais eficiente e mais centralizado no utente, visto que minimiza o tempo de procura dos medicamentos e os erros associados à sua troca. No *backoffice*, o robô apresenta igualmente vantagens, pois além de otimizar o espaço e de controlar os prazos de validade, permite rentabilizar o tempo empregue a arrumar os medicamentos e, deste modo, a equipa pode dedicar a atenção a outras tarefas.

Outra tecnologia que a FSJ dispõe é o *cashguard*, um sistema de depósito do dinheiro proveniente do atendimento, com a vantagem de realizar os trocos de forma rápida e automática e de controlar mais idoneamente o valor de fim de dia da caixa. Esta ferramenta minimiza as preocupações inerentes ao troco, garantindo um atendimento mais eficiente, mais cómodo e, no fundo, mais focalizado no utente.

Termino o tópico por inferir que a existência destes equipamentos na FSJ conferiu uma dinâmica de funcionamento mais eficiente, simplificada e tranquila, refletindo-se num melhor desempenho da minha parte.

3.1.4. Prestação de uma pluralidade de serviços

Primeiramente, as Farmácias de Oficina centravam a sua atividade na venda de medicamentos, bem como na sua preparação oficial.² Com o regime jurídico das Farmácias de Oficina, previsto no Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, atribuiu a oportunidade de as farmácias prestarem serviços farmacêuticos de promoção da saúde e do bem-estar dos utentes,³ consagrando a designação de FC o mais apropriado.²

A FSJ não foi exceção. Relativamente aos Serviços Farmacêuticos, pude observar e realizar a medição de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, como a medição da glicémia, colesterol, triglicéridos, tensão arterial e frequência cardíaca, com a posterior interpretação e transmissão dos resultados ao utente. A FSJ também disponibiliza outros cuidados farmacêuticos, como a preparação individualizada da medicação, a preparação de medicamentos manipulados, a administração de vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação e de medicamentos injetáveis, a realização de testes rápidos de antigénio do SARS-CoV-2, a promoção de consultas de nutrição e de campanhas de informação e tantos outros serviços. Enquanto estagiário, o contacto com esta pluralidade de serviços farmacêuticos permitiu-me não apenas consolidar e aplicar conceitos adquiridos durante o MICF, como também adquirir uma visão mais abrangente da multidisciplinaridade do papel do farmacêutico em FC e ser um interveniente ativo na promoção da saúde e do bem-estar do utente.

3.1.5. Multiplicidade de produtos

A FSJ é reconhecida por dispor de um inventário volumoso e diversificado, não apenas em medicamentos, dispositivos médicos e suplementos alimentares, mas também em produtos de dermofarmácia e cosmética. Identifico este ponto como forte pois a variedade e quantidade apreciável de produtos fomentou a minha curiosidade e aprendizagem para poder ser o mais autónomo e competente na hora do atendimento ao público. Assumo que inicialmente a compreensão de todos os produtos foi difícil. No entanto, ao longo do EC, com o auxílio da equipa técnica e através da procura de informação, consegui aprofundar e consolidar vários conceitos e transmitir, de modo cientificamente correto e o mais acessível, a informação aos utentes. Finalmente, o grande número de embalagens de cada referência medicamentosa ou de produtos de saúde e do bem-estar facilitou a dispensa dos mesmos no momento do atendimento, sem a necessidade de os encomendar, contribuindo para um maior conforto para mim e para o utente.

3.1.6. Plano de estágio

A meu ver, o plano de estágio proposto pela equipa da FSJ foi um ponto forte, porque pude contactar gradualmente com as diferentes vertentes da farmácia antes de iniciar o atendimento ao público. Primeiramente, pude compreender as tarefas do *backoffice*. A equipa habilitou-me de conhecimentos relativos à gestão e receção de encomendas, à gestão e regularização de devoluções, à logística do sistema integrado de recolha de embalagens e medicamentos fora de uso, coordenado pela Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos (VALORMED), à conferência do receituário, e tantas outras tarefas. Simultaneamente, pude observar os atendimentos ao público e familiarizar-me com o Sifarma®. Gradualmente, comecei a atender sozinho, mas com a assistência, sempre que precisa, dos colaboradores da FSJ até ao momento que me senti autónomo e competente o suficiente para realizar o atendimento ao público de forma confiante.

Acredito que esta sequência de atribuição de tarefas foi contribuidora de uma melhor prestação da minha parte, uma vez que pude adquirir uma visão mais abrangente da dinâmica do funcionamento de uma farmácia e pude familiarizar-me com determinados conceitos para, finalmente, concretizar o atendimento ao público de forma autónoma e confortável. Termino este tópico por reconhecer que a integração da aprendizagem teórica no decorrer do EC na FSJ e a sua aplicação em contexto simulado na prática profissional foram positivas, confirmando que toda a motivação e autonomia depositadas me muniram de aptidões profissionais que de outra forma não seria possível.

3.1.7. Duração do estágio

O EC em FC tem a duração de um total de 810 horas, no caso de não ter sido realizado um estágio de verão em FC ou em Farmácia Hospitalar, que é a minha situação. Considero que a duração do EC parece ser adequada. Após a inicial aquisição de conhecimentos à primeira vista complexos, com o decorrer do EC e com o ganho de competências, as atividades da FC foram tornando-se cada vez fáceis de executar, sendo possível consolidar e aplicar, com sucesso, os conhecimentos adquiridos durante o MICF e durante o EC.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Profusão de estagiários

No decorrer do meu EC na FSJ, partilhei as tarefas com vários estagiários, estando às vezes um total de seis estagiários na farmácia. Embora a constante entreaajuda, espírito de equipa e a partilha de conhecimentos e experiências entre os estagiários e apesar do esforço da equipa técnica em tentar estar sempre presente no auxílio dos mesmos, considero esta multiplicidade de estagiários um elemento negativo à minha aprendizagem, captação de conhecimentos e desenvolvimento de competências. Graças à grande afluência de utentes, a FSJ dispõe de um elevado número de colaboradores que, quando associado à abundância de estagiários, impediu-me, por vezes, a realização de tarefas, resultando num menor número de oportunidades de treino.

3.2.2. Medicamentos manipulados

A FSJ dispõe de um laboratório, onde realiza a preparação de medicamentos manipulados. No entanto, apenas participei na realização de um manipulado, não tendo sido praticamente possível recordar, aplicar nem consolidar os conhecimentos adquiridos nas unidades curriculares de Farmácia Galénica e Tecnologia Farmacêutica. Aliás, não contactei com as fichas de preparação dos medicamentos manipulados, nem com o cálculo do preço dos mesmos, nem com outras vertentes inerentes a esta temática. Considero, portanto, esta falta de contacto laboratorial com os medicamentos manipulados um ponto negativo, na medida em que não me foi passível de consolidar os conhecimentos adquiridos no MICF nem de me sentir capacitado relativamente a esta vertente para o meu futuro profissional.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Ciclo de formações

O Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos (OF) preconiza que a atualização contínua de conhecimentos técnicos e científicos é crucial para o aperfeiçoamento da atividade profissional do Farmacêutico e para o atingimento das exigências propostas pelo cidadão.⁴ De tal forma, julgo que a plenitude de formações ao longo do meu EC foram essenciais para recordar alguns conceitos, aprofundar outros e, no fundo, consolidar conhecimentos para, no atendimento ao público, poder aplicá-los. Várias foram as formações coordenadas pelos Delegados de Informação Médica sobre uma multidisciplinaridade de produtos. Alguns membros da equipa da FSJ especializados em diferentes temáticas também conduziram algumas formações e partilharam casos práticos hipotéticos como treino. Por último, a equipa da FSJ facultou o acesso ao correio eletrónico da farmácia para podermos aceder a várias formações tanto de carácter online como físico, como por exemplo, a formação realizada no Hotel Tryp acerca da Coenzima Q10, organizada pela Pharma Nord, que tive a sorte de participar. Considero que este ciclo de formações disponibilizada pela FSJ incentivou a minha aprendizagem e constituiu uma oportunidade para poder adquirir novos conhecimentos e aplicá-los na prática profissional.

3.3.2. Familiarização com os dois módulos do Sifarma®

A FSJ pertence às 2477 (90%) farmácias portuguesas que utilizam o Sifarma®.⁵ Além disso, é uma das farmácias que já utiliza o Novo Módulo de Atendimento do Sifarma®, o que me facilitou o atendimento, pois ao ser mais intuitivo e interativo que o Sifarma 2000®, providenciou uma rapidez e facilidade no atendimento com uma minimização de erros cometidos por mim e um maior foco no utente. No *backoffice*, por sua vez, a FSJ utiliza o Sifarma 2000® como sistema informático de gestão da atividade farmacêutica. Assim, a utilização destes dois módulos constituiu uma oportunidade, uma vez que consegui conhecer as funcionalidades de cada plataforma, resultando numa vantagem para o meu eventual futuro profissional como farmacêutico comunitário.

3.3.3. Metodologia Kaizen

A FSJ tem implementado a Metodologia Kaizen como estratégia de Melhoria Contínua, pois objetiva a filosofia *kai*, mudar, *zen*, para melhor.⁶ Pude constatar a existência de uma hierarquia inerente a vários serviços e a designação de tarefas específicas para cada colaborador. Considero que tal promoveu uma organização do funcionamento da farmácia,

uma minimização do tempo despendido na realização de tarefas e uma prevenção na ocorrência de lapsos. A aplicação da Metodologia *Kaizen* facilitou certamente a minha organização e diminuiu o tempo por mim despendido na resolução de problemas, potenciando a minha capacidade em ser minucioso e de superar eventuais obstáculos.

3.3.4. Papel ativo na comunidade

Os utentes depositam confiança no farmacêutico comunitário, por ser um profissional de saúde pública competente e pela sua proximidade e disponibilidade. Tal é a segurança depositada que, ao longo do EC, pude observar a procura, por parte de certos utentes fidelizados, de determinados elementos da equipa, o que demonstra uma relação de confiança entre o utente e o farmacêutico. Considero a interação com utentes uma oportunidade, pois pude conversar e ouvir os seus problemas, algo importante para o seu bem-estar social e emocional e, porém, cada vez mais subvalorizado. Além disso, o facto de a FSJ possuir um leque abrangente de utentes fidelizados constituiu uma oportunidade para realizar um atendimento mais simplificado e confortável, ao possuímos uma informação completa sobre o utente e as suas preferências medicamentosas.

Além da função de comunicar e ouvir o utente, o farmacêutico possui igualmente um papel ativo na promoção da literacia em saúde. Apesar dos medicamentos genéricos terem sido introduzidos em Portugal há três décadas,⁷ muitos utentes não compreendem o seu conceito, nem o da prescrição por Denominação Comum Internacional (DCI). Assim, considero esta falha uma oportunidade para esclarecer os utentes e os assegurar da qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos genéricos. Concluo o tópico por referir que o EC em FC evidenciou a praticidade do conceito promoção da saúde e prevenção da doença referido no Estatuto da OF publicado na Lei n.º 131/2015, de 4 de setembro,¹ uma vez que a interação com os utentes me permitiu não só consciencializá-los para diversas situações, como adquirir valências profissionais, sociais e interpessoais.

3.4. Ameaças

3.4.1. Pandemia da COVID-19

Durante o período do EC, o uso de máscaras e de vitrinas e o distanciamento social constituíram exigências solicitadas às farmácias, ao abrigo do plano de contingência da pandemia da COVID-19. Devido a estas barreiras físicas à comunicação, foi difícil ouvir o utente, especialmente nos primeiros dias de atendimento ao público, já que ainda não estava familiarizado com os nomes comerciais dos medicamentos, nem com a imensidão de produtos

disponíveis na farmácia, o que se traduziu inevitavelmente num constrangimento tanto para o utente como para mim. Assim, considero que a pandemia inviabilizou o meu desempenho profissional e interpessoal, ao não conseguir comunicar de modo natural com o utente.

3.4.2. Conhecimento limitado em determinadas áreas

A meu ver, o plano de estudos do MICF é adequado para a perspetiva profissional de um farmacêutico comunitário. No entanto, existem algumas particularidades que poderiam ser melhoradas. Ao longo do EC, nomeadamente no início, identifiquei dificuldades inerentes à associação entre o nome comercial e a DCI, transparecendo uma sensação de incapacidade minha ao utente. Além disso, o atendimento tornava-se mais demorado, o que se traduzia num constrangimento para ambos. Outro contratempo que pude experienciar assenta no desconhecimento de alguns produtos comercializados na farmácia, à custa da não abordagem ou abordagem incompleta de algumas temáticas no MICF como, por exemplo, os produtos dietéticos. Esta adversidade aliada à grande quantidade de produtos, de diferentes marcas, existente na farmácia constituiu uma ameaça, pois senti dificuldades no aconselhamento de alguns produtos. Todavia, ao longo do EC, fui gradualmente ultrapassando este impasse, através da familiarização com os vários produtos e com o auxílio da equipa técnica.

3.4.3. Medicamentos esgotados

A existência de medicamentos esgotados afeta a prestação de cuidados de saúde pelas farmácias devido ao comprometimento da continuidade do tratamento dos utentes, especialmente em referências medicamentosas sem medicamentos genéricos e especialmente em utentes inflexíveis quanto à alteração do medicamento usualmente utilizado. Considero a rutura de stocks pelo surgimento de medicamentos esgotados uma ameaça porque, além de provocar uma desilusão no utente, alguns ficavam notoriamente descontentes pois pensavam que a impossibilidade de encomendar o produto era devido à incapacidade do estagiário, não percebendo que o problema transcendia a farmácia.

3.4.4. Iliteracia em saúde da população

Um problema inerente à iliteracia em saúde da população prende-se com a desvalorização do medicamento. O acesso a fontes de informação não cientificamente fidedignas e a venda de medicamentos em Locais de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (LVMNSRM), comumente conhecidos por parafarmácias, ou nas grandes superfícies potenciam a automedicação. Além disso, a preferência pela aquisição de medicamentos e outros produtos de saúde em LVMNSRM, à custa dos preços reduzidos,

afetou indubitavelmente a minha motivação, pois muitos utentes mostravam-se indiferentes aos aconselhamentos farmacêuticos por mim dispensados. Considero a automedicação e a desvalorização das farmácias e do medicamento um problema de saúde pública e uma ameaça ao meu desempenho como futuro profissional de saúde.

3.4.5. Inseguranças do utente

No decorrer do meu EC, pude observar a recusa de alguns utentes em serem atendidos por estagiários, por motivos de desconfiança das competências dos mesmos. Outros aceitavam, mas demonstravam-se claramente insatisfeitos e céticos pelas capacidades do estagiário. Assim, considero esta falta de cooperação e de compreensão uma ameaça ao meu EC, uma vez que me colocava numa situação indelicada e com mais receio de errar.

4. Casos Clínicos

4.1. Caso Clínico I: Obstipação

Um senhor de meia-idade dirigiu-se à farmácia e referiu que tinha obstipação há uma semana e que sentia muito desconforto gastrointestinal. Perguntei se a obstipação era um evento frequente, ao qual o senhor respondeu que sim, mas que agora estava pior. Ao colocar outras questões e perceber que o senhor não costuma tomar nenhum laxante, não toma nenhum medicamento cujo efeito adverso é a obstipação e não apresenta outros sinais ou sintomas relacionados com o problema, tais como náuseas, vômitos ou flatulência, decidi dispensar um Microlax[®] 450 mg/5 ml + 45 mg/5 ml. Ao fazer efeito dentro de cinco a vinte minutos, considerei que esta referência medicamentosa seria a melhor opção para aliviar, o mais depressa possível, o seu desconforto. Questionei se já tinha utilizado alguma vez este medicamento, respondendo-me que já estava familiarizado com a forma de administração, pois já tinha usado uma vez e tinha resultado.⁸

Adicionalmente, indiquei a toma de um laxante osmótico que por ser mais seguro do que os laxantes expansores de volume fecal, e por ser indicado para situações de obstipação crónica, seria adequado para o senhor, uma vez que costuma ter obstipação frequentemente. Após o senhor considerar importante e concordar com a minha recomendação, indiquei o Laevolac[®] 666,7 mg/ml, xarope, um laxante cujo princípio ativo é a lactulose, uma a duas colheres de sopa por dia. Uma vez que este medicamento pode ter, em alguns doentes, um efeito persistente na regulação do trânsito intestinal, referi a toma do mesmo em dias alternados, após o medicamento ter ajustado os hábitos intestinais do senhor, de modo a tentar diminuir a dose de laxante necessária para regular o trânsito intestinal.⁹

Terminei por recordar a importância da adoção de estilos de vida saudáveis, como o aumento da ingestão de líquidos e de fibras, não ignorar os reflexos de defecação e fazer caminhadas regularmente.¹⁰

4.2. Caso Clínico 2: Eritema solar

Uma senhora deslocou-se à farmácia para pedir alguma coisa para o marido que desenvolveu um eritema solar, no dia anterior, e sente algum desconforto. Perguntei se o senhor já usou algum medicamento para aliviar os sintomas. A senhora mencionou que o marido começou a aplicar Biafine® emulsão cutânea, 6,7 mg/g, no dia anterior, mas as dores não passaram. Além disso, mostrou-me uma fotografia que tirou ao eritema localizado nas costas do senhor, em que pude observar a existência de um aspeto claramente ruborizado, sem sinais de inflamação ou de bolhas. Referi que o Biafine® não alivia as dores, apenas que iria promover uma hidratação e cicatrização da pele. Todavia, apontei a importância de continuar a aplicar o Biafine® no local afetado, de acordo com a informação descrita no Folheto Informativo, ou seja, aplicar de dez em dez minutos até recusa pela pele, massajar suavemente e renovar a aplicação de duas a quatro vezes por dia.¹¹

Tendo em conta que a senhora tinha assinalado as dores que o marido tinha na zona do eritema solar, indiquei a aplicação de uma compressa embebida em água fria ou em Água Termal d'Avène® e posteriormente a sua vaporização regular na área e deixar absorver sem limpar, no sentido de acalmar o desconforto. A senhora aceitou a recomendação e eu referi a colocação da Água Termal d'Avène® no frigorífico para aumentar o efeito refrescante e calmante.¹²

Terminei por aconselhar o aumento da ingestão de água, para o marido não desidratar, e a não exposição solar nos próximos dois dias. Lembrei as medidas de proteção solar, como a aplicação de um protetor solar com um Fator de Proteção Solar de pelo menos trinta a cada duas horas e a não exposição solar durante as horas de maior intensidade de raios solares.¹³

4.3. Caso Clínico 3: Rinite Alérgica

Uma senhora de nacionalidade brasileira deslocou-se, no mês de maio, à farmácia a queixar-se de lacrimejo nos olhos, muito prurido nasal, com o nariz entupido ou a pingar, e sempre a espirrar. Além disso, disse que tinha dor e inflamação na garganta, mas que não tinha COVID-19 porque já tinha feito o autoteste em casa e deu negativo. Pediu algo para aliviar a dor de garganta e uma caixa de Neosoro®, que já fazia há cinco dias, mas não estava a resultar. Como eu não conhecia este medicamento, procurei no Sifarma® para aferir a sua composição,

ao passo que descobri que não é comercializado em Portugal. Após uma pesquisa rápida no Google, descobri que contém nafazolina, um descongestionante nasal tópico, comercializado no Brasil, indicado para vários quadros clínicos de congestão nasal.¹⁴ Perguntei à senhora se costuma ter alergias sazonalmente, respondendo-me que sim. Deparando-me com um quadro sintomático típico de rinite alérgica, decidi aconselhar a suspensão da toma do Neosoro[®] que, por ser um descongestionante nasal tópico, deve ser utilizado no máximo durante três a cinco dias, para não ocorrer o efeito descongestionante *rebound* e para a congestão nasal da senhora não se tornar mais grave.¹⁴

De modo a diminuir os sintomas inerentes à rinorreia, prurido nasal, e espirros, dispensei o Vibrocil Anti-Alergias[®] 50 µg/dose suspensão para pulverização nasal, que é um corticosteróide nasal tópico contendo a fluticasona. Informei a utente para fazer duas aplicações em cada narina, uma vez por dia e, assim que os sintomas estivessem controlados, passaria a fazer a dose de manutenção, ou seja, uma aplicação em cada narina, uma vez por dia, até o período de exposição aos alérgenos terminar. Além disso, referi que a ponta do aplicador deve ser direcionada para a parte lateral do nariz e afastado do septo nasal.¹⁵

Uma vez que a utente ainda apresentava lacrimejo nos olhos, indiquei a toma do Telfast 120, comprimidos, uma vez por dia antes da refeição até alívio sintomático. Ao ser um anti-histamínico de segunda geração (fexofenadina), não provoca sonolência, tornando-se mais conveniente.¹⁶

Por último, indiquei o Tantum Verde[®] Pastilhas 3 mg + 2,5 mg, que ao conter benzidamina, um anti-inflamatório, e benzocaína, um anestésico, consegue aliviar eficazmente a inflamação e dor na garganta.¹⁷

Finalmente, referi à utente algumas medidas de evicção dos alérgenos, a ingestão de quantidades suficientes de água e a realização regular de uma lavagem nasal com soluções isotónicas de água do mar, de modo a minimizar a intensidade do prurido nasal.

4.4. Caso Clínico 4: Pele oleosa com tendência acneica

Um jovem chegou à FSJ à procura de um produto para a pele oleosa, muito brilhante, com algumas borbulhas e pontos negros. Perguntei se já utilizou ou se utiliza algum produto para esta situação, ao que me respondeu que não. Assim, indiquei a utilização diária de um gel de limpeza indicado para a pele oleosa com tendência acneica e, uma vez que ele não tinha preferência por nenhuma marca, indiquei o EFFACLAR Gel Mousse Purificante da La Roche

Posay[®], pois auxilia na remoção do excesso de sebo e de brilho e na redução de imperfeições, como borbulhas e pontos negros.¹⁸

Posteriormente, perguntei se pretendia levar, de modo complementar, algum creme também indicado para a pele oleosa com tendência acneica para ajudar ainda mais no controlo do brilho e nas imperfeições da pele deixadas pelo acne. Respondeu-me que sim e referiu que também precisava de um protetor solar. Sabendo da existência de formulações de dermofarmácia que combinam um creme para a pele oleosa com tendência acneica e filtros ultravioleta, e pela sua praticidade, indiquei o SEBIACLEAR Creme SPF50+ da SVR[®].¹⁹ O utente concordou e agradeceu a recomendação, pelo facto de lhe facilitar muito a vida. Terminei por lhe recordar a renovação do creme com protetor solar, de duas em duas horas a fim de evitar o reaparecimento de imperfeições e marcas do acne resultantes de uma exposição solar desprotegida.

4.5. Caso Clínico 5: Onicomicose

Uma senhora, por volta dos 30 anos, deslocou-se à farmácia a queixar-se de uma unha do pé que estava amarela e a começar a desfazer-se. Perguntei se a unha estava mais espessa e frágil, acabando por esfarelar e quebrar, e se apresentava um certo odor. A utente confirmou-me a existência destes sinais e sintomas. Acabei por perceber, ao longo do diálogo com a utente, que a mesma não faz exercício físico regular, podendo descartar a hipótese de estes sinais serem provenientes de uma situação de desporto intenso e haver uma perda de fortalecimento da unha. Ao estar diante de uma situação de onicomicose, questionei o local de comprometimento da unha, respondendo-me que havia um comprometimento na ponta e na superfície da unha, não havendo nenhum comprometimento na porção proximal da mesma.

Tendo em conta todos estes sinais e sintomas, dispensei o Locetar EF[®] 50 mg/ml, verniz para as unhas medicamentoso, cujo princípio ativo é a amorolfina, um antifúngico. Mencionei que a embalagem traz limas, compressas embebidas em álcool e um frasco com aplicador (pincel). Expliquei que a senhora teria de uma vez por semana limar as áreas afetadas da unha, limpá-las com as compressas e aplicar o verniz em toda a superfície da unha afetada. Alertei a importância de realizar este procedimento, uma vez que ajudava a diminuir a espessura da unha para haver uma maior penetração do ativo e uma melhor eficácia do tratamento. Referi que este tratamento para ser eficiente tem a duração de nove a doze meses e que se, ao fim de três meses não houvesse melhoria da unha infetada, aconselhei a senhora a consultar o médico para aferir da necessidade de iniciar uma medicação antifúngica oral, a qual é sujeita a receita médica.²⁰

Indiquei também a utilização do gel de lavagem Mycogel da Biorga® para lavar os pés, de modo a prevenir a disseminação do fungo da unha para as partes da pele adjacentes à mesma. A senhora achou importante e acabou por levar também o gel de lavagem. Terminei por aconselhar a não partilha de objetos pessoais, como toalhas, corta-unhas e calçado e evitar andar descalço em pisos constantemente húmidos, como piscinas e vestiários.

5. Considerações Finais

O EC em FC demonstrou ser uma experiência bastante enriquecedora para o meu percurso académico e pessoal, superando as minhas expectativas e alargando notoriamente os meus horizontes inerentes à compreensão da dinâmica de funcionamento de uma farmácia. Pude presenciar a imprescindibilidade do *backoffice* da farmácia para um atendimento ao público tranquilo e concordante com os padrões de exigência e qualidade de um farmacêutico comunitário. A propósito, pude observar que o farmacêutico possui um papel ativo na comunidade a nível da promoção da literacia em saúde, da navegação do cidadão dentro do sistema de saúde, do uso racional e correto do medicamento e de produtos de saúde e da promoção de estilos de vida mais saudáveis.

No decorrer dos quatro meses do EC, tive a oportunidade de desenvolver competências que me fizeram crescer do ponto de vista profissional, interpessoal e social. Aliás, fui capaz de consolidar os conhecimentos adquiridos ao longo do MICF e ao longo de todas as formações que a FSJ me proporcionou, podendo, finalmente, aplicá-los, com sucesso, em contexto real na prática profissional farmacêutica.

Termino por endereçar os meus sinceros agradecimentos a toda a equipa da FSJ por todos os conhecimentos, lições e experiências partilhadas, por estar sempre disponível e pela preocupação em ajudar os estagiários a atingir um melhor desempenho. Posso certamente afirmar que termino o EC em FC mais preparado e capacitado para o mundo profissional e com uma visão mais abrangente do valor do farmacêutico comunitário na sociedade.

Bibliografia

1. ASSEMBLEIA DA REPÚBLICA - Estatuto da Ordem dos Farmacêuticos. **Diário da República**. 1ª série-no 173 (2015) 7010–7048.
2. FARMACÊUTICOS, Ordem Dos - **A Farmácia Comunitária** [Consult. 24 jul. 2022]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
3. INFARMED - Portaria n.o 1429/2007, de 2 de novembro. **Legislação Farmacêutica Compilada**. 2007) 3–4.
4. REPÚBLICA, Diário - Ordem Dos Farmacêuticos - **Código Deontológico**. 2021).
5. GLINTT - **Sifarma** [Consult. 20 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/SoftwareSolutions/Paginas/Sifarma.aspx>
6. INSTITUTE, Kaizen - **Definição de KAIZEN** [Consult. 23 ago. 2022]. Disponível em: <https://pt.kaizen.com/o-que-e-kaizen>
7. AUROBINDO, Generis Grupo - **Os primeiros genéricos chegaram a Portugal há 29 anos** [Consult. 23 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.generis.pt/os-primeiros-genericos-chegaram-a-portugal-ha-29-anos/>
8. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento: MICROLAX, 450 mg/5 ml + 45 mg/5 ml, Solução retal** [Consult. 25 ago. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/>
9. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento: Laevolac, 666,7 mg/ml, xarope** [Consult. 25 ago. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/>
10. DRUGS.COM - **Constipation** [Consult. 25 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.drugs.com/cg/constipation.html>
11. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento: Biafine 6,7 mg/g emulsão cutânea** [Consult. 25 ago. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/>
12. AVÈNE, Eau Thermale - **Escaldões** [Consult. 25 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.eau-thermale-avene.pt/a-sua-pele/sol/os-beneficios-e-danos-do-sol-sobre-a-pele/escaldoes>

13. FARMÁCIAS, Associação Nacional Das - **FLUXOGRAMA DE INDICAÇÃO FARMACÊUTICA QUEIMADURA SOLAR** [Consult. 25 ago. 2022]. Disponível em: https://mediafolder2mil15.anf.pt/esc021we2328qw/ModeloCapacitacao/MNSRM/Queimadura_Solar/Fluxograma_Queimadura_Solar.pdf
14. QUÍMICA, Neo - **Neosoro** [Consult. 25 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.neoquimica.com.br/nossas-marcas/neosoro>
15. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento: Vibrocil Anti-Alergias 50 microgramas/dose suspensão para pulverização nasal** [Consult. 25 ago. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/>
16. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento: Telfast 120, 120 mg comprimido revestido por película** [Consult. 25 ago. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/>
17. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento: Tantum Verde 3 mg + 2,5 mg pastilhas** [Consult. 25 ago. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/>
18. ROCHE-POSAY, La - **EFFACLAR GEL MOUSSE PURIFICANTE GEL DE LIMPEZA** [Consult. 25 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.laroche-posay.pt/effaclar/effaclar-gel-mousse-purificante>
19. SVR - **SEBIACLEAR Creme SPF50+** [Consult. 25 ago. 2022]. Disponível em: <https://pt.labo-svr.com/products/sebiaclear-creme-spf50-1?variant=39747324477543>
20. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento: Locetar EF 50 mg/ml verniz para as unhas medicamentoso** [Consult. 26 ago. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/>

Capítulo III

Monografia

“A Vasculatura Tumoral e a Potenciação do Acesso das
Imunoterapias ao Tumor”

Sob a orientação do Professor Doutor João Nuno Sereno de Almeida Moreira

Lista de Abreviaturas

ACT – Imunoterapia celular adotiva

ANGPT – Angiopoietina

APC – Célula apresentadora de antígeno

CAR – *Chimeric antigen receptor*

CBD – Domínio de ligação do colagénio

CCL – *C-C motif chemokine ligand*

CD137 – Membro 9 da superfamília do fator de necrose tumoral

CLEVER-1 – *Common lymphatic endothelial and vascular endothelial receptor-1*

COX – Ciclooxygenase

CRC – Cancro colorretal

CRISPR/Cas9 – Repetições palindrómicas curtas agrupadas e regularmente interespaçadas associada à proteína 9

CSF1R – *Colony stimulating factor 1 receptor*

CTL – Célula T citotóxica

CTLA4 – Antígeno 4 do linfócito T citotóxico

CXCL – *C-X-C motif chemokine ligand*

CXCR – *C-X-C motif chemokine receptor*

DC – Célula dendrítica

EAM – Molécula de adesão endotelial

EC – Célula endotelial

ET – Endotelina

FDA – *U.S. Food and Drug Administration*

FGF – Fator de crescimento fibroblástico

HCC – Carcinoma hepatocelular

HEV – Vénula endotelial alta

HIF1A – *Hypoxia inducible factor 1 subunit alpha*

ICAMI – Molécula de adesão intercelular I

ICI – Inibidor de *immune checkpoint*

IDO1 – Indolamina-2,3-dioxigenase I

IFNG– Interferão gama

IL – Interleucina

LIGHT – Membro 14 da superfamília do fator de necrose tumoral

mAb – Anticorpo monoclonal

MAPK – Proteína cinase ativada por mitogénio

MDSC – Célula supressora derivada da linhagem mielóide

MHC – Complexo major de histocompatibilidade

MTORC1 – *Mammalian target of rapamycin complex 1*

NFKB – Fator nuclear kappa B

NK – *Natural Killer*

NSCLC – Cancro pulmonar de células não pequenas

PAK4 – *P21 (RAC1) activated kinase 4*

PDGF – Fator de crescimento derivado de plaquetas

PF4 – Fator 4 das plaquetas

PGE2 – Prostaglandina E2

PHD2 – *HIF prolyl hydroxylase 2*

RCC – Carcinoma das células renais

SI – Sistema imunológico

siRNA – *Small interfering RNA*

STING – Estimulador de genes do interferão

TAA – Antígeno associado ao tumor

TAM – Macrófago associado ao tumor

TCPI – *t-complex 1*

TCR – Recetor das células T

TEC – Célula endotelial tumoral

TGFB – *Transforming growth factor beta*

Th – T auxiliar

TIE2 – Recetor da angiopoietina I

TIL – *Tumor-infiltrating lymphocytes*

TIM3 – *T-cell immunoglobulin mucin family member 3*

TKI – Inibidores da tirosina cinase

TLS – Estrutura linfoide terciária

TME – Microambiente tumoral

TNF – Fator de necrose tumoral

TRAIL – *Tumor necrosis factor (ligand) superfamily member 10*

Treg – Células T reguladoras

VCAMI – Molécula de adesão celular vascular I

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

VEGFR – Recetor do fator de crescimento endotelial vascular

VTP – Peptídeo direcionado para a vasculatura

Resumo

O crescimento tumoral é profundamente dependente de um microambiente de suporte, onde se inclui a vasculatura tumoral. As células endoteliais tumorais, sendo estruturalmente caóticas e funcionalmente anérgicas, são críticas no suporte da evasão imunológica e na subversão da imunovigilância mediada pelas células T, convergindo para o estabelecimento de um fenótipo imunológico tumoral *frio*. Por este motivo, e uma vez que a eficácia dos inibidores de *immune checkpoint* (ICI) está intimamente relacionada com a densidade intratumoral de células T, apenas um subconjunto de doentes oncológicos responde ao tratamento. A terapia antiangiogénica está extensivamente relacionada com a inibição dos efeitos imunossupressores sobre as células do sistema imunológico e sobre as células endoteliais, tendo sido confirmado o seu efeito promotor de normalização vascular e neutralizador da anergia endotelial. Tais efeitos foram cruciais para determinar o racional sinérgico entre a terapia antiangiogénica e os ICIs, estando algumas combinações aprovadas pela U.S. Food and Drug Administration para o tratamento de estadios mais críticos de determinados tumores sólidos. A evidência de benefícios a nível da sobrevida dos doentes oncológicos constituiu a força motriz para o desenvolvimento de terapias vascularmente dirigidas a fim de converter os tumores *frios* em tumores *immune-inflamed* e potenciar o acesso das imunoterapias ao parênquima tumoral, encontrando-se algumas terapias em ensaios clínicos.

Palavras-chave: anergia endotelial tumoral, direcionamento vascular, imunoterapia, evasão imunológica, angiogénese tumoral, terapia combinada.

Abstract

Tumor growth is profoundly dependent on a supportive microenvironment, where the tumor vasculature is included. Tumor endothelial cells, being structurally chaotic and functionally anergic, are critical in supporting immune evasion and in subverting T cell-mediated immunosurveillance, converging towards the establishment of a *cold* tumor immune phenotype. For this reason, and since the efficacy of immune checkpoint inhibitors (ICI) is closely related to the intratumor density of T cells, only a subset of cancer patients responds to the treatment. Antiangiogenic therapy is extensively related to the inhibition of immunosuppressive effects on immune cells and endothelial cells, and its effect has been confirmed as a promoter of vascular normalization and neutralizer of endothelial anergy. These effects were crucial to determine the synergistic rationale between antiangiogenic therapy and ICIs, with some combinations approved by the U.S. Food and Drug Administration for the treatment of more critical stages of certain solid tumors. The evidence of survival benefits of cancer patients was the driving force for the development of vascular targeting therapies to convert *cold* tumors into immune-inflamed tumors and enhance the access of immunotherapies to the tumor parenchyma, being some of these therapies in clinical trials.

Keywords: tumor endothelial anergy; vascular targeting, immunotherapy, immune evasion, tumor angiogenesis, combination therapy.

I. Introdução

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, o cancro é atualmente definido como um vasto grupo de patologias que podem iniciar-se em praticamente qualquer tecido ou órgão do organismo, caracterizando-se por um crescimento incontrolável de células anormais que se podem propagar além dos seus limites e invadir outros órgãos.¹

É irrefutável que o impacto do cancro na sociedade mundial é assombroso. Não só a nível epidemiológico, por ser a segunda causa de morte a nível global e a primeira nos Estados Unidos da América², como a nível social, dado a falta de oportunidades e a deterioração da saúde mental, a nível económico e também em termos da qualidade de vida³. Não é, portanto, surpreendente que a maior parte do *pipeline* das Indústrias Farmacêuticas seja atinente à oncologia e que a mesma tenha sido a área terapêutica com a maior quota de mercado em 2019.⁴

O desequilíbrio entre os fatores pró e antiangiogénicos no microambiente tumoral (TME) é um fator chave para a angiogénese tumoral incontrolada, transversal aos tumores sólidos. A vasculatura aberrante resultante representa um papel crucial no desenvolvimento de um ambiente imunossupressor e de uma barreira seletiva ao tráfico de leucócitos em direção ao tumor.⁵ A presença de determinados subtipos de leucócitos no tumor está intimamente relacionada com um prognóstico mais favorável para os doentes oncológicos.⁶ Assim, a habilidade dos leucócitos conseguirem realizar imunovigilância de um modo eficaz depende do seu potencial para serem recrutados, para migrarem transendotelialmente e, finalmente, para serem infiltrados no parênquima tumoral.⁷

Uma parte dos tumores sólidos são *frios*, onde as células T CD8⁺ ou estão ausentes ou localizam-se na periferia tumoral.⁸ Com o intuito de superar esta anergia endotelial e imunológica, foram concebidas várias estratégias direcionadas para a vasculatura tumoral a fim de potenciar o acesso tanto das células do sistema imunológico (SI), como das imunoterapias, encontrando-se muitas em investigação.⁹

A presente monografia focar-se-á na importância da angiogénese tumoral na origem da vasculatura errática e na imunossupressão em tumores sólidos, nos vários fenótipos imunológicos do tumor e nos mecanismos de evasão do tumor ao SI. Finalmente serão ilustradas terapias, aprovadas e em desenvolvimento, dirigidas a elementos da vasculatura tumoral ou dirigidas a componentes relacionados com a mesma com a finalidade de estimular o acesso do SI e das imunoterapias ao parênquima tumoral.

2. Microambiente tumoral

Os tumores sólidos compreendem o parênquima e o estroma. O primeiro, composto por células tumorais, regula o segundo, o qual, por sua vez, oferece suporte e assiste o crescimento do tecido tumoral. Ambos interagem entre si e o complexo formado pelos dois constitui o TME.¹⁰ O estroma tumoral, porção não-neoplásica do TME, é composto por uma multiplicidade de células, onde se inserem os fibroblastos associados ao tumor, as células endoteliais (EC) tumorais (TEC), os pericitos, as células do SI, entre outras. Além de componentes celulares, também se testemunha a existência de exossomas e da matriz extracelular, uma estrutura de suporte rica em colagénio, fibronectina, elastina e outras proteínas especializadas.¹¹ Através de uma rede de sinalização complexa de citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento, microRNA, entre outros fatores, a interação entre os componentes estromais com as células tumorais regula não só a manutenção do tumor e as vias metabólicas tumorais, como também a sua progressão e a sua capacidade de invasão metastática, fazendo com que surjam resistências à terapias antitumorais.¹²

2.1. Angiogénese tumoral

Assim que, no TME, ocorra um desequilíbrio entre os níveis de oxigénio, de nutrientes e de produtos resultantes do metabolismo, decorrente da proliferação do tecido tumoral, verifica-se a instalação de um ambiente hipóxico e, conseqüentemente, ácido.¹³

De forma a ultrapassarem este ambiente inóspito, os tumores são pressionados a desenvolver a sua própria vasculatura, através de vários processos. Em condições de normoxia, a *HIF prolyl hydroxylase 2* (PHD2) hidrolisa e degrada o *hypoxia inducible factor 1 subunit alpha* (HIF1A). Em hipoxia, por sua vez, a PHD2 é inativada, fazendo com que o fator de transcrição HIF1A consiga escapar a sua degradação.¹⁴ Quando em excesso, o HIF1A induz a expressão de genes responsáveis por não só controlarem as funções vasculares e promoverem a angiogénese, como também relacionados com a proliferação e sobrevivência celulares, a eritropoiese e o metabolismo.^{14,15} Inicia-se, assim, o *switch angiogénico*, i.e., a progressão da vascularização tumoral, a qual, a propósito, pode ser igualmente desencadeada por mutações adquiridas nos fatores de crescimento pró-angiogénicos, incitando o aumento da expressão de oncogenes ou a perda de genes supressores tumorais.⁵

A angiogénese, processo complexo que envolve a ativação, migração, proliferação e diferenciação das ECs acompanhadas pela sua reorganização em novas estruturas tubulares é motivada por fatores pró-angiogénicos. Estes compreendem o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), os fatores de crescimento fibroblástico (FGF) 1 e 2, o fator de crescimento

derivado de plaquetas (PDGF) e as angiopoietinas (ANGPT). Estas, ao ligarem-se ao recetor da angiopoietina I (TIE2), controlam a ativação das TECs.¹⁶ De entre os quatro membros da família do VEGF: A, B, C e D, o VEGFA é o que apresenta uma maior relevância na angiogénese tumoral. Os recetores do VEGF (VEGFR): 1, 2, e 3, são influenciados pela via de sinalização *Notch*, a qual participa na regulação da conversão das ECs *tip/stalk*, onde as *tip cells* localizam-se na frente dos capilares em crescimento e as *stalk cells* constituem as ECs contíguas às primeiras. Esta premissa comprova a adoção de um fenótipo pró-migratório pelas TECs.¹⁴

2.2. Processos de neovascularização alternativos

Além da angiogénese, o tumor dispõe de outros mecanismos de neovascularização. Um deles é a angiogénese intussusceptiva, onde a parede do capilar sanguíneo se prolonga para o lúmen de um vaso existente, dividindo-o em dois. Um outro mecanismo caracterizado pela capacidade das células tumorais em se organizarem em estruturas vasculares-like é intitulado de mimetismo vascular.¹⁴ Outros mecanismos são igualmente presenciados, como é o caso da vasculogénese, da cooptação de vasos, do recrutamento de células progenitoras endoteliais e da transdiferenciação de células tumorais em células estaminais tumorais, as quais se diferenciam, por sua vez, em ECs.¹⁷

2.3. Vasculatura tumoral: um elemento essencial do microambiente tumoral

Extensamente motivado pelo VEGF, os vasos sanguíneos no TME são incapazes de atingirem a fase de maturação, resultando numa vasculatura estrutural e funcionalmente imatura¹⁸, diferenciada por uma natureza dilatada, sinuosa, altamente ramificada e irregularmente distribuída.¹⁶ Os pericitos, células de suporte perivasculares envolvidas no revestimento e estabilização dos vasos sanguíneos e na regulação da permeabilidade vascular,¹⁹ encontram-se numa densidade inferior à normalidade e dissociados das TECs, originando uma vasculatura tumoral permeável.²⁰ A membrana basal encontra-se, do mesmo modo, desigualmente distribuída.¹⁷ Por conseguinte, ocorre um aumento da pressão do fluido intersticial,¹³ o que favorece o colapso vascular e uma perfusão sanguínea na área tumoral progressivamente deficiente. Aliado ao fornecimento de nutrientes e à oxigenação tecidual insuficientes,²⁰ geram-se locais com inóxia de oxigénio e ácidos, devido à necessidade de as células tumorais recorrerem à glicólise anaeróbica para obterem energia.¹³ Tal conduz a uma constante secreção de fatores pró-angiogénicos, iniciando-se um ciclo vicioso.⁵ Esta imaturidade das ECs pode, finalmente, facilitar a entrada de células tumorais na corrente sanguínea e invadir outros tecidos (Figura 1).¹⁴

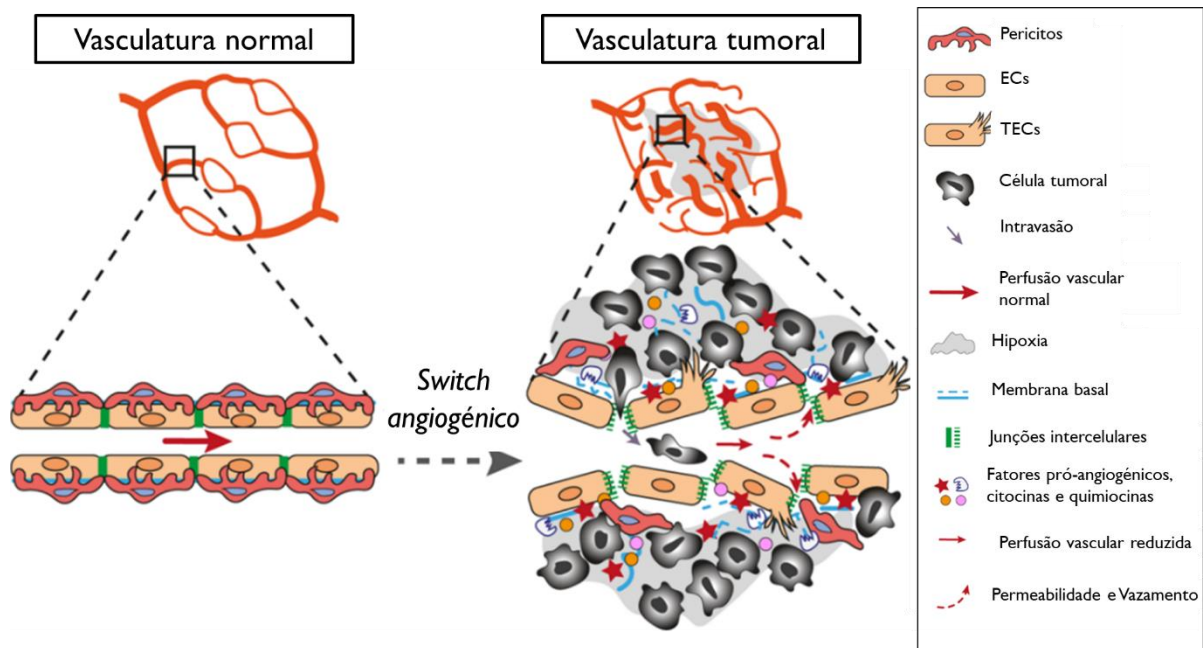


Figura 1. Características morfológicas e funcionais da vasculatura normal e da vasculatura tumoral. Fisiologicamente, as ECs estão firmemente conectadas. Devido à hipoxia e à desarmonia entre a quantidade de fatores pró e antiangiogénicos, as TECs apresentam um perfil migratório sem uma divisão hierárquica vascular. Ocorre uma disrupção tanto das adesões intercelulares e da membrana basal, como da adesão dos poucos pericitos existentes. O vazamento sanguíneo resultante origina mais hipoxia e as células tumorais podem migrar para o lúmen endotelial. EC: célula endotelial; TEC: célula endotelial tumoral. Adaptado do ¹⁷

3. O Amensalismo entre o tumor e o sistema imunológico

Embora o SI se encontre dividido em inato e adquirido, ambos interagem fortemente entre si. Na sua globalidade, o SI é composto por células de linhagens mielóide e linfóide, com um progenitor comum, as células estaminais hematopoiéticas. Estas podem diferenciar-se, entre outras populações, em linfócitos ou células T citotóxicas (CTL), igualmente designadas por células T $CD8^+$, e em células T auxiliares (Th), comumente designadas por células T $CD4^+$, as quais dividem-se ainda em células Th1 e células Th2.²¹

3.1. O ciclo imuno-tumoral

Para uma resposta imunológica antitumoral ser eficaz na eliminação do tumor, um conjunto de acontecimentos sequenciais terão de repetitivamente ocorrer. Inicialmente, os neoantígenos libertados pelas células tumorais são reconhecidos pelas células apresentadoras de antígeno (APC), as quais os apresentam às células T, ativando-as. Estas migram em direção ao tumor e, após o reconhecimento dos antígenos associados ao tumor (TAA), eliminam as células tumorais, através de mecanismos apoptóticos mediados pela perforina e granzima, pelo fator de necrose tumoral (TNF) ou através da via Fas-FasL. A libertação de novos neoantígenos tumorais promove a continuação do ciclo imuno-tumoral.²²

Uma vez que, em doentes oncológicos, pelo menos um destes passos é deficiente, o tumor consegue desviar-se dos mecanismos imunológicos e progredir. Em função do fenótipo imunológico do tumor, o subconjunto de etapas afetadas varia, como evidenciado na Figura 2. Como tal, a combinação de abordagens terapêuticas com alvos farmacológicos distintos tem concedido um impacto clínico positivo.²²

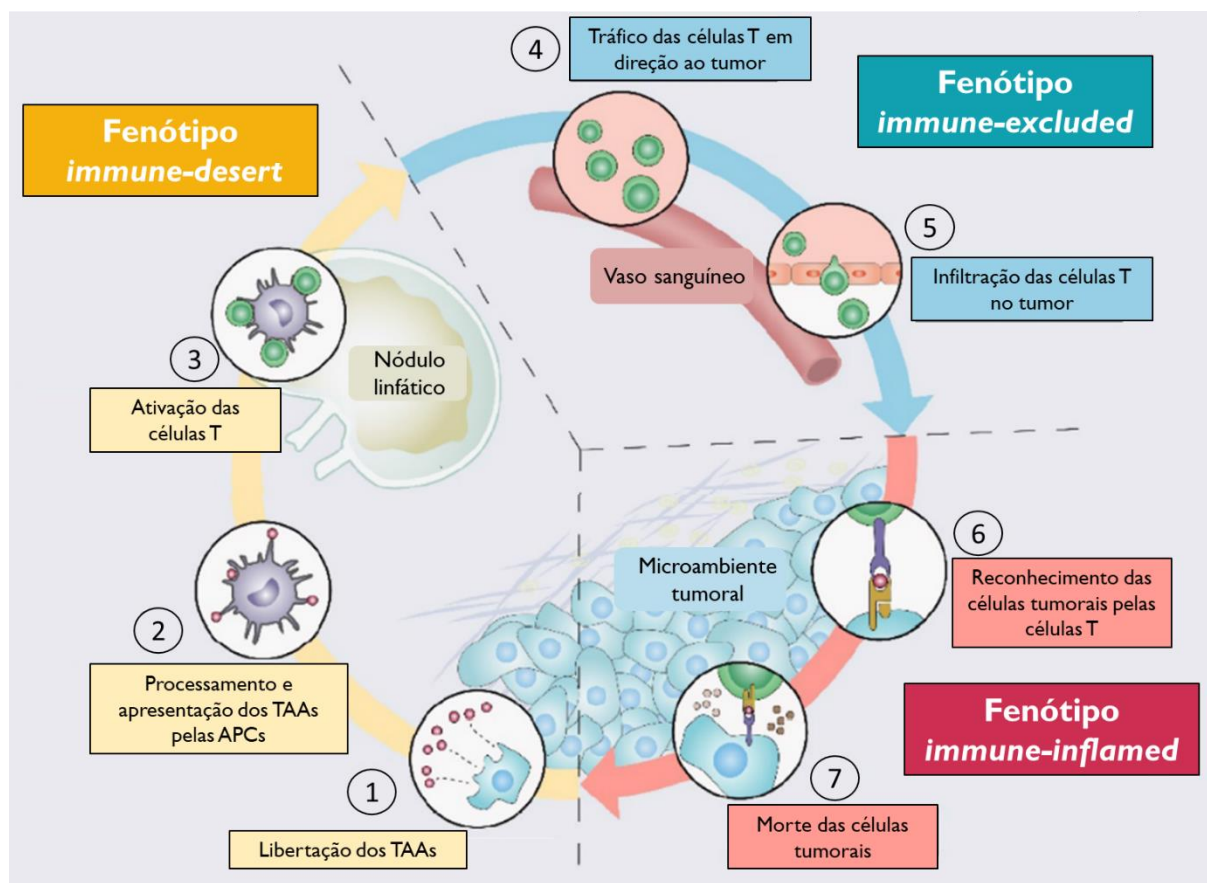


Figura 2. O ciclo imuno-tumoral e os três fenótipos imunológicos do tumor. O ciclo imuno-tumoral é composto por uma série de etapas sequenciais, desde a liberação dos TAAAs até à destruição das células tumorais, através de mecanismos apoptóticos, mediados pelas células T. Os tumores com um fenótipo *immune-desert* (amarelo), *immune-excluded* (azul) e *immune-inflamed* (vermelho) não conseguem atravessar as etapas de 1-3, de 4-5 e de 6-7, respetivamente. APC: célula apresentadora de antígeno; TAA: antígeno associado ao tumor. Adaptado do⁸

3.2. Estados imunológicos do tumor

O reconhecimento eficiente de TAAAs, a ativação das células T e o seu recrutamento endotelial em direção ao tecido tumoral são requisitos para um fenótipo tumoral *immune-inflamed*, i.e., um tumor *quente*. Em contraste, os tumores *frios* são caracterizados por uma reduzida densidade de células do SI no tecido tumoral e podem dividir-se em dois fenótipos. O *immune-excluded*, onde as células T CD8⁺ encontram-se restritas ao estroma tumoral, e o *immune-desert*, com um absentismo das células T CD8⁺, tanto no parênquima como no estroma tumorais.²³

3.3. Mecanismos de evasão do tumor ao sistema imunológico

A vasculatura incoerente e contraproducente do tumor associada ao *switch angiogénico* e à secreção desregulada de fatores pró-angiogénicos fundamenta a presença de um TME notoriamente hipóxico e ácido, o qual é reconhecido por ser imunorresistente.²⁴

3.3.1. O microambiente tumoral influencia a natureza das células do sistema imunológico

A sinalização induzida pela hipóxia e o acréscimo de fatores pró-angiogénicos, especialmente do VEGFA, promove a atração e acumulação preferencial de uma complexidade de células imunossupressoras,⁵ onde se incluem as células T reguladoras (Treg), as células supressoras derivadas da linhagem mielóide (MDSC), os macrófagos associados ao tumor (TAM), os neutrófilos associados ao tumor, as células dendríticas (DC) imaturas, as Th17 e as células B reguladoras.²⁵ Numa tentativa de aliviar o stress hipóxico, vários dos presentes subconjuntos celulares segregam citocinas e fatores de crescimento, muitos dos quais possuem atributos imunossupressores.⁵

A ativação da via de sinalização mediada pelo fator nuclear kappa B (NFkB), induzido pelo TNF, é basilar para a maturação funcional das DCs. Uma vez que o VEGFA interfere com esta via, assiste-se a uma redução da diferenciação e maturação das DCs.¹³ Devido à sua incapacidade de expressar moléculas do complexo major de histocompatibilidade (MHC)-I e -II e moléculas coestimuladoras,²⁵ ocorrem repercussões ao nível da apresentação dos TAAs e, conseqüentemente, na ativação dos linfócitos.⁵ Além disso, as DCs imaturas expressam moléculas imunossupressoras, como o triptofano-2,3-dioxigenase e a indolamina-2,3-dioxigenase I (IDO1), a qual, ao interferir no metabolismo do triptofano, promove a ativação de células Treg, sob pena de prejudicar a função das CTLs.¹³

As células Treg, um subgrupo imunossupressor das células T CD4⁺ que expressam a proteína *forkhead box P3*, são caracterizadas por preservarem a tolerância imunológica. Estas células segregam várias citocinas imunossupressoras, como é o caso do *transforming growth factor beta* (TGFB), o qual reduz a função tanto das células *Natural Killer* (NK), como das CTLs.²⁶

Os macrófagos dividem-se formalmente em dois fenótipos primordiais, M1 e M2, os quais se polarizam constantemente entre si.²⁷ Os macrófagos M1 apresentam um perfil pró-inflamatório capazes de segregar citocinas estimuladoras do SI adaptativo, enquanto os macrófagos M2 possuem um fenótipo anti-inflamatório, com tendência imunossupressora e promotora da angiogénese e da tumorigénese.²⁸ Em processos tumorais, em função da

presença de zonas hipóxicas, constata-se a acumulação de TAMs,⁵ os quais apresentam um fenótipo predominantemente M2.²⁹

Em função de determinados estímulos patológicos, há a indução da mielopoiese de emergência, a qual, se continuada no tempo, pode dar origem à acumulação de células mielóides imaturas, *i.e.*, de MDSCs.³⁰ Este subgrupo celular, ao ser responsável pela produção de óxido nítrico e de TGF β , entre outros mecanismos, interfere diretamente com a ativação dos linfócitos T.³¹ Adicionalmente, as MDSCs constituem uma fonte essencial de prostaglandina E2 (PGE2), a qual tanto promove a polarização pró-tumorigénica de TAMs e de neutrófilos associados ao tumor, como a expansão de células Treg e de MDSCs.¹³

3.3.2. Imunossupressão como um *hallmark* do microambiente tumoral

A vasculatura funcionalmente imatura aliada à secreção de fatores com atributos imunossupressores, como o VEGF, o TGF, a interleucina (IL)10 e a PGE2, são responsáveis pelo ambiente imunossupressor característico do TME.¹³

As moléculas *immune checkpoint*, em condições fisiológicas, permitem a manutenção de uma tolerância saudável ao SI.³² As células T CD8⁺ expressam os recetores *immune checkpoint* à sua superfície, como é o caso do PD-1, do *T-cell immunoglobulin mucin family member 3* (TIM3) e do antígeno 4 do linfócito T citotóxico (CTLA4). Em condições tumorais, sob concentrações elevadas de VEGFA, verifica-se a sobre-expressão de moléculas *immune checkpoint*, nomeadamente dos ligandos PD-L1 e PD-L2, nas células tumorais e nas TECs.¹³ Assim, as células T tornam-se particularmente vulneráveis a sofrerem inibição, exaustão funcional¹³ e apoptose.²⁵ Além disso, dado a diferenciação das células T CD4⁺ em células Treg induzida pela via PD-1/PD-L1,²⁵ vários estudos indicam uma acumulação preferencial de células Treg no parênquima tumoral, em detrimento das células T.⁹

A anergia das células T não é exclusivamente motivada pela ação das *immune checkpoint*.⁵ A expressão de FasL nas TECs encontra-se igualmente estimulada. Mediante a sua ligação com o recetor Fas, expresso à superfície das células T CD8⁺, é desencadeada a apoptose destas.¹³ Por sinal, outras vias apoptóticas são também induzidas. É o caso da galectina I⁹ e do *tumor necrosis factor (ligand) superfamily member 10* (TRAIL).¹³ Embora as Treg expressem estes ligandos apoptóticos à sua superfície, graças à expressão de proteínas supressoras destas vias de apoptose, este subgrupo celular ou não sofre ou sofre menos perturbações.⁹

Estes fenómenos contribuem sinergicamente para a criação de uma barreira seletiva à infiltração das células do SI no parênquima tumoral, atributo dos tumores *frios*.⁹

3.3.3. Anergia endotelial tumoral

O processo de infiltração endotelial leucocitário envolve uma série de etapas, divididas entre a sua captura, a firme adesão e a migração para ou transcelular. Estas são reguladas não só pela perfusão vascular, como também por um conjunto de moléculas de adesão endotelial (EAM) e de um gradiente de concentração de fatores quimiotáticos.²⁴

No que respeita as EAMs, as selectinas são cruciais na captura dos leucócitos, enquanto a adesão firme dos mesmos ao endotélio e a subsequente migração transendotelial são garantidos, em parte, pela interação entre as integrinas, na superfície dos leucócitos, e os membros da superfamília das imunoglobulinas, como a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM1) e a molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM1), na superfície do endotélio.³³

Decorrente de um processo inflamatório, graças à interação de citocinas pró-inflamatórias, como o INFG,⁹ o TNF, e a IL1A, com os seus recetores endoteliais, a via de sinalização mediada pelo fator de transcrição NFkB é ativada, a qual, por sua vez, estimula a expressão de EAMs e de quimiocinas, processo designado por ativação endotelial.³⁴ Em desenvolvimentos tumorais, a produção espontânea de fatores pró-angiogénicos, como o VEGF e o FGF2, interfere com inúmeras vias responsáveis pela expressão das EAMs, assistindo-se à inibição da ativação endotelial. Quer seja através do bloqueio da via de sinalização mediada pelo fator NFkB,⁹ como através da hiperfosforilação da via de sinalização da proteína cinase ativada por mitogénio (MAPK) p38 nas TECs³⁵, ou através da estimulação do óxido nítrico e da conseqüente redução da expressão da caveolina-1. Isto resulta não só num decréscimo da transcrição e expressão das EAMs, bem como numa aglomeração anormal das presentes moléculas à superfície das TECs.⁹ Observa-se, finalmente, uma adesão endotelial ineficaz dos leucócitos, nomeadamente das células T CD8⁺, em oposição à migração intratumoral aumentada das células Treg.⁵

A expressão de quimiocinas é igualmente alterada. Em consequência da expressão de recetores *decoy* das quimiocinas ou devido a processos proteolíticos, verifica-se a inibição da expressão tanto das quimiocinas *C-C motif chemokine ligand* (CCL)2 e CCL5, como das *C-X-C motif chemokine ligand* (CXCL)9, 10 e 11, as quais são essenciais no recrutamento endotelial leucocitário. Uma vez que as células Treg expressam recetores quimiotáticos à sua superfície e graças à expressão incrementada das quimiocinas CCL22, CCL28 e CXCL12, motivada pela hipóxia, a sua infiltração transendotelial é incentivada.⁵ A migração intratumoral das MDSCs é

igualmente impulsionada, graças à nitrosilação e, conseqüente, alteração estrutural do recetor das células T (TCR) e da quimiocina CCL2, provocada pela presença de espécies reativas de azoto, prejudicando, por sua vez, a infiltração das células T.¹³

A falta de resposta das TECs às citocinas imunoestimuladoras associada a um recrutamento e infiltração transendoteliais deficientes das células imunoestimuladoras evidencia a existência de uma anergia endotelial tumoral, também designada por *vascular immune checkpoint*. O seu encadeamento com um TME imunossupressor e com a presença de outros mecanismos de evasão do tumor ao SI, pressupõe uma barreira endotelial seletiva às células do SI.⁹ Tal possibilita a disseminação metastática do tumor e dificulta o estabelecimento de respostas antitumorais eficazes.¹³

4. Estratégias antiangiogénicas clássicas

A vasculatura morfológicamente caótica e funcionalmente imatura é um atributo transversal aos tumores sólidos. Como tal, a idealização de uma terapia antiangiogénica com base na interrupção das trocas gasosas e nutricionais com vista à disrupção vascular e desnutrição tumoral, convergiu ao desenvolvimento do bevacizumab, o primeiro anticorpo anti-VEGFA.³⁶ Embora a sua utilização monoterapêutica em doses elevadas tenha conduzido a uma primeira diminuição do tamanho do tumor, a confirmação de recidivas associadas a um efeito *rebound* angiogénico altamente agressivo²⁵ levou à atribuição de uma sobrevida global baixa⁵ e de uma sobrevida livre de doença razoável.³⁷ Uma vez que tal deveu-se, em parte, à estimulação compensatória de outros fatores pró-angiogénicos, presenciou-se o desenvolvimento de estratégias antiangiogénicas direcionadas para vários alvos angiogénicos. No entanto, associado ao estabelecimento de mecanismos de vascularização compensatórios, o sucesso clínico do seu uso monoterapêutico demonstrou-se limitado.³⁶

5. Inibidores de *immune checkpoint* - uma imunoterapia antitumoral atrativa

Desde as últimas décadas, o interesse pela imunoterapia antitumoral, definida como a modulação do SI do hospedeiro de modo a promover a imunidade antitumoral, tem crescido pelo desenvolvimento de meios capazes de potenciar as respostas do SI e alcançar estados de longo termo de remissão. Embora existam vários tipos de imunoterapia, como a imunoterapia celular adotiva (ACT) e as vacinas antitumorais, uma descoberta imunoterapêutica revolucionária presenciou-se pelo desenvolvimento de anticorpos monoclonais (mAb) dirigidos ao bloqueio de moléculas *immune checkpoint*, denominados por inibidores de *immune checkpoint* (ICI). Além da aprovação do primeiro ICI, intitulado de ipilimumab (anti-CTLA4), cujo efeito imunoestimulante explicou a melhoria da sobrevida global em doentes com

melanoma avançado ou metastático, sucedeu-se à aprovação de outros mAbs dirigidos a diferentes alvos.²⁵

6. Estratégias centradas na vasculatura tumoral para potenciar o acesso tumoral das imunoterapias

Embora a manipulação da ativação dos linfócitos T tenha sido um sucesso em determinados subconjuntos de doentes, os ICIs pressupõem a existência de uma resposta imunológica em curso. Por esta razão, em tumores *frios*, com uma clara exclusão das células imunoestimuladoras, é de esperar a entrega ineficaz dos ICIs e a manifestação de resistências intrínsecas.⁸ O desenvolvimento de estratégias relacionadas com a vasculatura tumoral capazes de reprogramar o TME imunossupressor, através do recrutamento endotelial de células imunoestimuladoras, num que suporte a imunoterapia antitumoral, compreende um racional terapêutico para a sua utilização articulada.³⁴ No Anexo I encontram-se sumariadas as várias estratégias, de alguma forma, relacionadas com a vasculatura tumoral potenciadoras do acesso intratumoral das células imunoestimuladoras ou das imunoterapias. Tendo em conta os resultados promissores de algumas terapias, algumas delas encontram-se a ser estudadas em ensaios clínicos, estando ilustradas no Anexo II.

6.1. Normalização vascular

Ao invés de tentar alcançar a deleção completa do tumor através do uso de doses elevadas de agentes antiangiogénicos, a premissa, introduzida por Rakesh Jain em 2001,³⁸ confirmada por estudos posteriores, preconiza a existência de um período transitório caracterizado pela restauração da estrutura e função vasculares através de doses submáximas de agentes antiangiogénicos.¹⁷ O processo de normalização vascular, entendido como a reversão do fenótipo vascular aberrante, permite que as ECs adquiram um perfil mais quiescente.³⁹ A correção estrutural e funcional das junções entre as ECs, em particular das *tight junctions* e da VE-caderina, a restauração da cobertura pericitária e a redução da densidade microvascular⁴⁰ conduzem à regressão da morfologia sinuosa vascular, à redução da permeabilidade e consequentemente à estabilização da perfusão sanguínea. Através da simultânea redução da pressão do fluido intersticial, a entrega de compostos farmacológicos é otimizada.¹³ A maturidade vascular adquirida conduz à redução da hipoxia e ao retorno da expressão de EAMs e de quimiocinas, neutralizando a anergia endotelial tumoral.^{35,34}

A idealização de terapias capazes de converter o TME *frio* num ambiente imunoestimulador, através do aumento da infiltração de CTLs, da redução do desenvolvimento de populações celulares imunossupressoras e do potencial sinérgico que

essas terapias partilham com as imunoterapias, despertou a investigação de estratégias promotoras de normalização vascular.⁹

6.1.1. Terapia antiangiogénica

Os agentes antiangiogénicos foram os primeiros a demonstrar o seu potencial de normalização vascular. Em doentes com carcinoma das células renais (RCC) metastático, após tratamento monoterapêutico com doses promotoras de normalização vascular de bevacizumab, evidenciou-se um aumento intratumoral de células T CD8⁺. Estudos em murganhos demonstraram que a normalização vascular induzida pelo VEGF-Trap, uma proteína de fusão VEGFR conjugada com a região Fc de uma imunoglobulina humana, resultou tanto num aumento de DCs maduras, através do aumento da expressão de MHC-II e de moléculas coestimuladoras, como num aumento da função das células T CD8⁺, pela observação de níveis reduzidos de PD-1 e TIM3.⁴¹ Pode, portanto, inferir-se que a imunidade antitumoral pode ser igualmente alcançada através da estimulação da captação de TAAs pelas DCs.²⁵ Resultados similares acerca da maturação das DCs foram obtidos com a utilização do bevacizumab em doentes com carcinoma pulmonar de células não pequenas metastático.¹⁷ Tendo em consideração a importância da presente terapia, a *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) aprovou vários fármacos antiangiogénicos para o tratamento de tumores, nomeadamente de tumores sólidos, explicitados no Anexo III.

Num outro estudo, a administração de baixas doses de DC-101, um anticorpo específico para o VEGFR2 do murganho, conduziu, além de uma distribuição vascular mais homogénea e redução da hipoxia, à acumulação intratumoral de células T CD4⁺ e CD8⁺ e a uma polarização dos TAMs para um fenótipo M1. Aliás, estas alterações no TME permitiram melhorar o efeito da vacinação antitumoral e da acumulação de células T adotivamente transferidas.¹³

Uma vez que a resistência associada ao uso monoterapêutico de agentes direcionados para a antagonização da via de sinalização VEGF/VEGFR está, em parte, relacionada com a produção de fatores pró-angiogénicos compensatórios, investigou-se a combinação de estratégias centradas no bloqueio dual das vias angiogénicas. Estudos pré-clínicos em murganhos confirmaram que a inibição dupla das vias do VEGF e da ANGPT2 contribuiu para o prolongamento da janela de normalização e para um aumento da infiltração intratumoral de células T CD8⁺ e de TAMs M1.⁵ Verificou-se também a superioridade de benefícios terapêuticos, quando comparados com o seu uso isolado, bem como o aumento da eficiência

de ICIs, nomeadamente do anticorpo anti-PD-I. Atualmente, há ensaios clínicos a decorrer para investigar o benefício desta combinação em doentes oncológicos.⁴²

Num estudo realizado em murganhos, em 2020, evidenciou-se que, além de uma infiltração aprimorada das células T CD8⁺, a ativação das DCs também ocorreu, por meio do uso conjugado do anticorpo biespecífico A2V (anti-VEGFA/ANGPT2) com agonistas do CD40, o qual, através da via de sinalização CD40L/CD40, são conhecidos por promoverem a ativação das APCs e a imunidade antitumoral mediada pelas células T CD8⁺.⁴³ Em circunstâncias pré-clínicas, o anticorpo ABTAA, antagonista da ANGPT2 e agonista do TIE2, apesar de não alterar significativamente a infiltração de células T CD8⁺, conseguiu promover a infiltração de TAMs M1 e a redução da infiltração de células Treg.⁴⁴

6.1.1.1. Racional sinérgico na combinação de agentes antiangiogénicos com inibidores de *immune checkpoint*

Embora haja um benefício dos agentes antiangiogénicos na transformação dos tumores *frios* em tumores com um fenótipo *immune-inflamed*, o seu uso tem sido correlacionado com um aumento da expressão endotelial de PD-L1, justificando um racional complementar na sua conjugação com os ICIs (Figura 3).⁴⁰ Com efeito, o primeiro ensaio clínico de fase I, conjugando o bevacizumab com o ipilimumab, confirmou o benefício da terapia antiangiogénica ao demonstrar uma indução da expressão da E-selectina e um aumento da infiltração das DCs e das células T CD4⁺ e CD8⁺, quando comparado com os seus tratamentos singulares.^{45,46} De forma análoga, a combinação do bevacizumab com o atezolizumab (anti-PD-L1) possibilitou a estimulação não só do recrutamento de células T CD8⁺ e de outros linfócitos, como da expressão de quimiocinas, em doentes com RCC metastático.⁴⁷ Schmittnaegel *et al.* demonstraram, em vários modelos pré-clínicos tumorais, o benefício antitumoral de uma outra conjugação, anticorpo A2V com um ICI anti-PD-I, enunciando a facilidade do acesso das CTLs e a salvaguarda da sua exaustão.⁴⁸ Tendo em conta a solidariedade recíproca de benefícios que os agentes antiangiogénicos e os ICIs partilham, encontram-se ensaios clínicos a decorrer que combinam as duas estratégias, enunciados no Anexo IV, sendo que algumas completaram estudos de fase III e outras já foram aprovadas pela FDA, estando ambas salientadas no Anexo V.

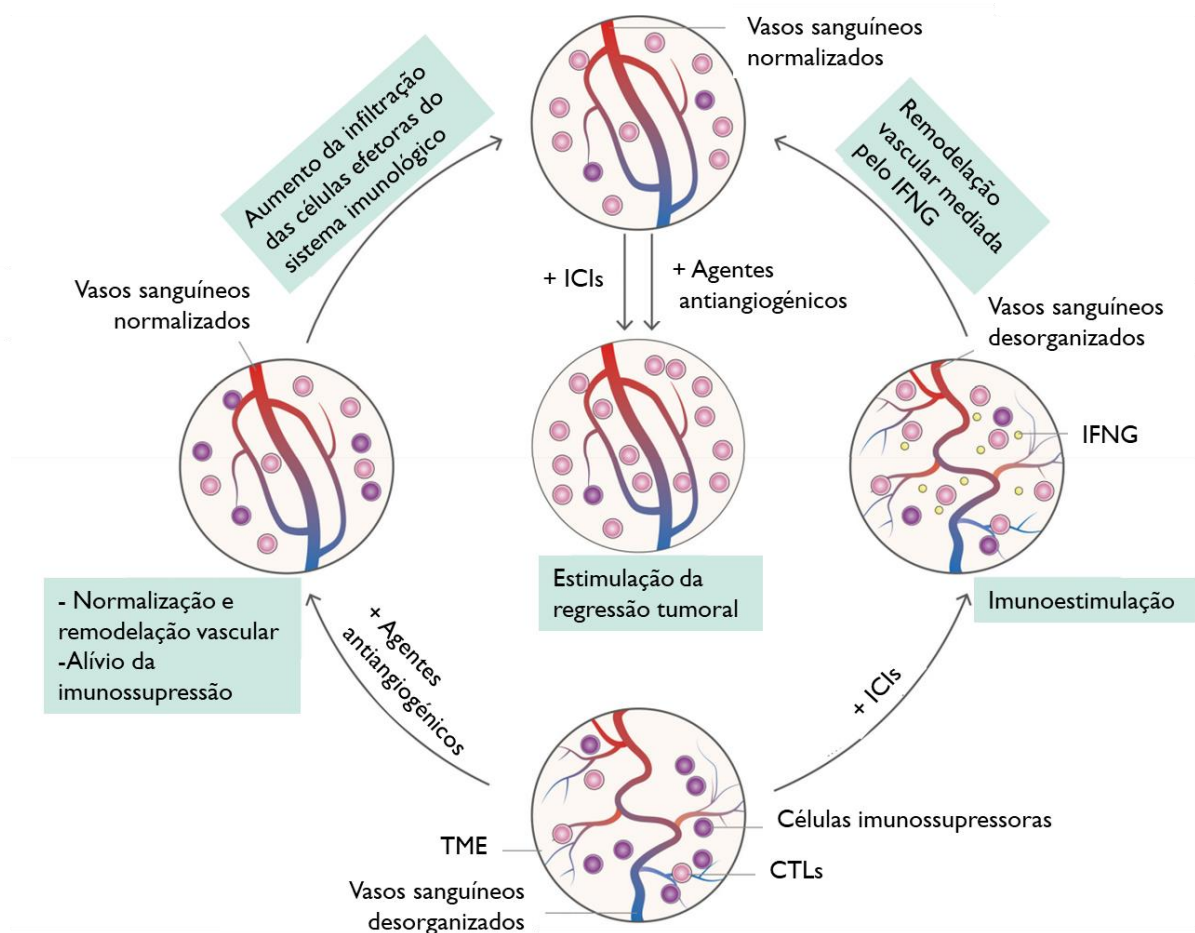


Figura 3. Sinergia entre os agentes antiangiogênicos e os ICIs. A combinação dos agentes antiangiogênicos, promotores de normalização vascular e do aumento da infiltração das células imunoestimuladoras, com os ICIs, contribuidores da imunoestimulação e da remodelação vascular, potencia a regressão tumoral. CTL: célula T citotóxica. IFNG: interferão gama; SI: sistema imunológico TME: microambiente tumoral. Adaptado do ⁵⁴

6.1.1.2. Marcadores preditivos da janela de normalização

Os ensaios clínicos têm enfrentado um desafio contínuo, já que a janela terapêutica dos agentes antiangiogênicos depende da origem tumoral e da dose administrada, a qual deve ser individualizada e submáxima em prol da estimulação da remodelação vascular e da potenciação dos efeitos dos ICIs. Caso contrário, pode ocorrer uma falta de eficácia ou, por outro lado, uma regressão vascular e hipoxia desfavoráveis. Com o intuito de compreender melhor o intervalo de normalização ótimo, desenvolveram-se marcadores preditivos.⁵ Contudo, atualmente, não existe nenhum biomarcador universalmente aceito.⁴⁰

6.1.2. Agentes adicionais contribuidores da normalização vascular

Os agentes antiangiogênicos não são os únicos agentes capazes de promover a normalização vascular. Curiosamente, demonstrou-se que, em alguns modelos tumorais de murghão, as estratégias anti-PD-1 e anti-CTLA4, provavelmente mediante ativação das

células T CD8⁺ através da via de sinalização do interferão gama (IFNG), podem conduzir a uma remodelação da vasculatura tumoral, evidenciado pelo aprimoramento da perfusão vascular e da amenização da hipoxia, com um aumento da infiltração e da ativação das células T CD8⁺.⁴⁹ Aliás, a normalização vascular induzida pela terapia anti-CTLA4 foi acompanhada por um aumento da infiltração intratumoral de eosinófilos.⁵⁰

Como enunciado anteriormente, o fortalecimento da expressão da VE-caderina consiste num meio contribuidor da normalização vascular. Tal levou ao desenvolvimento do CD5-2, um inibidor oligonucleotídico que se liga à VE-caderina e interrompe a sua degradação provocada pelo microRNA 27a. Além disso, também estabiliza as *tight junctions* e ativa a via ANGPT1-TIE2, acabando por remodelar a função endotelial e por aumentar a infiltração de células T CD8⁺, em murganhos portadores de tumor. Aliás, a sua administração concomitante, em termos pré-clínicos, com um anticorpo anti-PD-1 fez com que se obtivesse melhores resultados.⁵¹

Já que a expressão de FasL está intimamente relacionada com a presença de VEGFA, da IL10 e da PGE2, a interrupção destes traduz, teoricamente, a sua inibição.⁵² Através da administração conjugada da aspirina, inibidor indireto da síntese das prostaglandinas por inibir as enzimas das ciclooxigenase (COX)⁵³, com um inibidor do VEGF, em murganhos, confirmou-se esta premissa ao presenciarem-se um aumento significativo do influxo das CTLs em detrimento das células Treg, o que se converteu num melhor controlo do tumor.⁵⁴

As semaforinas são proteínas reguladoras da angiogénese e da migração das ECs.⁵⁵ Estudos baseados em modelos de murganho identificaram a semaforina 3A como um novo agente normalizador que, através da redução da hipoxia, conseguiu prolongar a janela de normalização e abriu caminho para a infiltração intratumoral das células T.²⁴ Curiosamente, uma outra molécula que alivia a hipoxia, o pró-fármaco TH-302, promoveu, em modelos tumorais de murganho, o influxo das células T em direção às zonas hipóxicas tumorais, efeito que se amplificou aquando da sua conjugação com ICIs.⁵⁶

A via de sinalização mediada pelo estimulador de genes do interferão (STING), uma proteína predominantemente expressa nas ECs das vénulas endoteliais altas (HEV), constituiu um agente motivador da ativação das células T, mediante secreção do interferão do tipo I, especialmente o interferão beta.⁵² Yang *et al.* demonstraram que agonistas do STING proporcionaram a maturação vascular e a expressão de EAMs, revelando o seu efeito normalizador. Tal conferiu um aumento notável na infiltração das células T CD8⁺ e um prolongamento da sobrevida em doentes oncológicos. Além destes resultados promissores,

estudos pré-clínicos indicaram uma efetividade superior quando os agonistas STING foram conjugados com inibidores do VEGFR2 ou com ICIs. Notavelmente, a tripla combinação destes agentes possibilitou a completa regressão tumoral em mais de metade dos murganhos portadores de tumor com uma melhoria da sobrevida global.⁵⁷ Downey *et al.* verificaram por sua vez que, em modelos tumorais de murganho, os agonistas do STING DMXAA e 2'3'-cGAMP induziram a repolarização dos TAMs M2 para um fenótipo imunoestimulador M1.⁵⁸

6.2. Citocinas imunoestimuladoras

A entrega dirigida de citocinas imunoestimuladoras, como a IL2, o TNF e o IFNG, tem revelado benefícios antitumorais. No entanto, vários doentes demonstraram uma tolerância associada ao desenvolvimento de toxicidade aguda inerentes às doses administradas, obrigando o surgimento de abordagens tecnológicas visadas para uma dose inferior.¹³ Um exemplo auspicioso consiste na entrega direcionada de doses baixas do TNF através da sua fusão com um dos peptídeos direcionados para a vasculatura (VTP), o peptídeo NGR, formando o peptídeo de fusão TNF-NGR. Como o NGR interage de uma forma específica com a aminopeptidase CD13 expressa nas ECs, o TNF é eficazmente entregue e estudos indicam uma estimulação da normalização vascular, tanto através da expressão de ICAMI e de VCAMI,⁶ bem como através da estabilização e perfusão vasculares aprimoradas⁵⁹. Tal aumentou a extravasão das células T para o parênquima tumoral e permitiu melhorar a eficácia das imunoterapias em vários modelos tumorais de murganho, nomeadamente da ACT e da vacinação antitumoral.^{6,59} Resultados similares foram obtidos mediante utilização do peptídeo de fusão TNF-RGR. Estes resultados promissores possibilitaram o avanço da terapia TNF-NGR para os ensaios clínicos.

Curiosamente, um estudo debruçou-se na combinação de baixas doses de TNF-NGR com anticorpos anti-CTLA4 ou anti-PD-1 e inferiu, da mesma forma, uma estimulação das EAMs, uma infiltração aprimorada das células T CD8⁺ e uma redução das populações de células Treg, resultando num aumento da atividade terapêutica da ACT e da vacinação antitumoral.³⁵ Um outro método de entrega de citocinas imunoestimuladoras surgiu com a conjugação do *t-complex 1* (TCPI), um outro peptídeo vascularmente dirigido, com o TNF ou com o IFNG. A combinação promoveu a normalização vascular e a infiltração das células T CD4⁺ e CD8⁺.¹³

Os VTPs não são os únicos capazes de entregarem eficazmente as citocinas imunoestimuladoras (Figura 4). A fusão destas com anticorpos orientados para moléculas apenas detetadas na vasculatura tumoral, como os domínios EDA, EDB e A1 da fibronectina, originando imunocitocinas, também é uma opção.⁵ Por exemplo, a imunocitocina, que conjuga

a citocina IL2 com o anticorpo L19 específico para o domínio EDB, contribuiu, a nível pré-clínico, para a acumulação intratumoral de células T CD4⁺ e CD8⁺ e de células NK.⁶⁰ Tal é o seu interesse, que ensaios clínicos a respeito dos benefícios antitumorais das imunocitocinas L19-IL2 e L19-TNF encontram-se a decorrer, em doentes com melanoma em estadio III ou IV.⁵

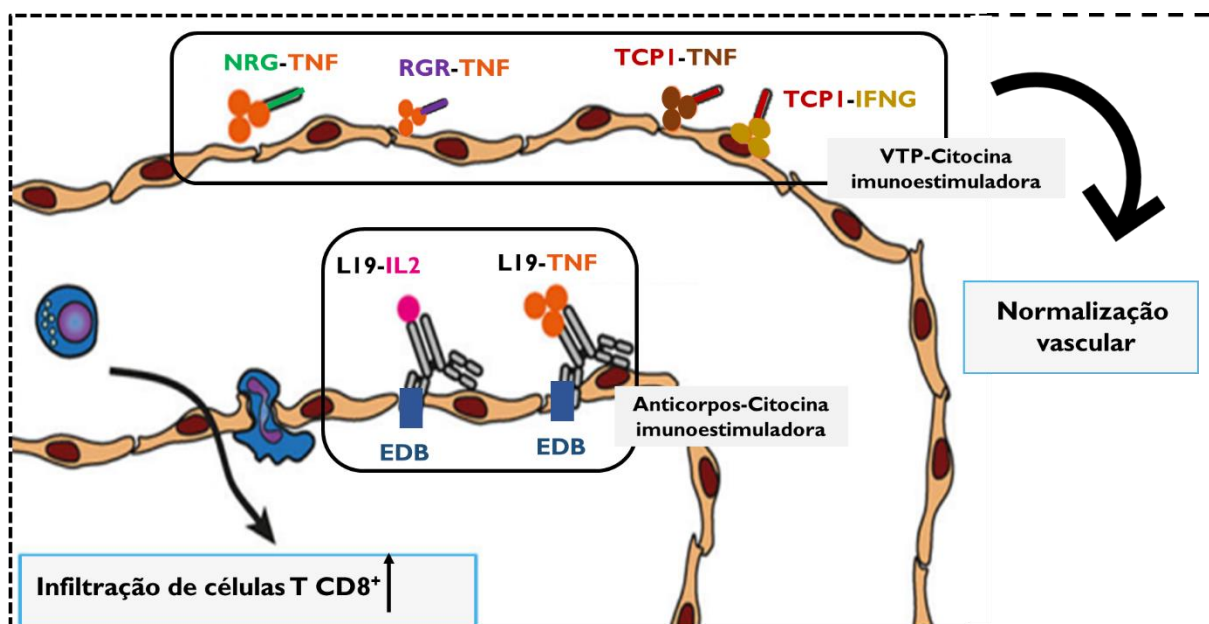


Figura 4. Entrega das citocinas imunoestimuladoras. A entrega eficaz e segura de citocinas imunoestimuladoras pode ser alcançada através da sua fusão com um VTP ou mediante auxílio de um anticorpo, formando as imunocitocinas. As citocinas imunoestimuladoras são entregues eficazmente ao endotélio, conseguindo aumentar a infiltração das células T CD8⁺. EC: célula endotelial. VTP: peptídeo direcionado para a vasculatura. Adaptado do ⁵

6.3. Vénulas endoteliais altas

As HEVs são vénulas pós-capilares morfológica e funcionalmente especializadas, compostas por ECs cubóides que expressam um subgrupo específico de EAMs. Funcionam como portais de entrada dos linfócitos nos nódulos linfáticos e noutros órgãos linfoides secundários, facilitando não só a interação entre as células T e as DCs como também a infiltração tumoral dos linfócitos.⁶¹ Constatou-se que as HEVs podem surgir espontaneamente em processos tumorais⁵⁹ e a sua densidade tumoral está diretamente relacionada com a quantidade intratumoral de células T CD3⁺ e CD8⁺ e, subseqüentemente, com o resultado terapêutico.⁶² Através do interesse destacado pela sua possível contribuição na imunoterapia antitumoral, em particular em tumores *frios*, não tardou à concretização de diligências para desenvolver estratégias que induzissem a sua formação. A combinação, a nível pré-clínico, do DC-101 (anticorpo anti-VEGFR2) com um anticorpo anti-PD-L1 induziu, mediante ativação do recetor da linfotoxina beta, a formação de HEVs, resultando numa infiltração das células T amplificada, comparativamente ao pequeno aumento alcançado pelo efeito de normalização

vascular dos agentes anti-VEGF/VEGFR. O recrutamento de linfócitos foi de tal forma positivo, que a presente estratégia conduziu à formação de estruturas linfoides terciárias (TLS) no TME.⁶³ Uma vez que as TLSs, áreas ricas em células T, células B e DCs, facilitam as interações entre as APCs e os linfócitos, as TLSs foram recentemente identificadas com um marcador preditivo do resultado terapêutico em vários tipos de tumores.⁵²

O membro 14 da superfamília TNF (LIGHT) é um ligando do recetor da linfotoxina beta. A sua entrega intratumoral induziu, em termos pré-clínicos, não apenas a normalização vascular, pelo restabelecimento da integridade da barreira endotelial e da contagem de pericitos, como também a formação intratumoral de HEVs e de TLSs, impulsionando a infiltração de linfócitos T.^{9,40} Adicionalmente, desenvolveram-se estratégias baseadas na entrega do LIGHT através da sua fusão com VTPs tumorais, nomeadamente com o peptídeo CGKRRK, estratégias estas conhecidas, na sua generalidade, por LIGHT-VTP. A estratégia LIGHT-CGKRRK aumentou a expressão de EAMs, aumentando ainda mais a formação de HEVs e de TLSs, o que impulsionou significativamente a acumulação de células T.^{62,64} A conjugação do LIGHT-VTP com os ICIs ou com a vacinação antitumoral aumentou ainda mais a formação de HEVs, de TLSs e do infiltrado de células T, melhorando o tempo de sobrevivência.^{52,65} Finalmente a combinação tripla consistindo no LIGHT-CGKRRK, num anticorpo anti-VEGF e num anticorpo anti-PD-L1 induziu ainda mais a formação de HEVs, de TLSs⁹ e a infiltração das células T CD8⁺ e CD4⁺, além de suprimir a expressão da proteína *forkhead box P3*, convergindo num efeito superior na destruição tumoral.⁶⁴

6.4. Superação da anergia endotelial tumoral

Vários estudos suportam a premissa da inibição da anergia endotelial a fim da reindução das interações entre os linfócitos e as ECs. Vários estudos identificaram uma supressão da angiogénese tumoral mediada pelo fator 4 das plaquetas (PF4), uma citocina anti-FGF2, ou mediada por agentes angiostáticos, como o peptídeo anginex, o SU6668, a endostatina ou a angiostatina, através do bloqueio de diferentes fatores pró-angiogénicos. Todos eles conseguiram provar o seu efeito antagonista da anergia endotelial e confirmaram um aumento do número das células T infiltradas no tumor, tanto *in vitro* como *in vivo* em murinhos.^{9,24} Um outro agente angiostático, o I6K PRL, um fragmento de 16kDa da prolactina humana, demonstrou ser um regulador genético capaz de aumentar os níveis de RNA mensageiro da ICAMI, VCAMI e E-selectina, o que melhorou igualmente a contagem de linfócitos infiltrados no tumor.⁹

Outros estudos apontaram, por sua vez, a importância da regulação epigenética na restrição da anergia endotelial. Observou-se que terapias alicerçadas na inibição da DNA metiltransferase ou da histona desacetilase promoveram uma ação angiostática⁹, além de aumentarem a expressão endotelial da ICAMI e de potenciarem a acumulação de linfócitos, em modelos tumorais de murghano.²⁴ Assim, poderá vir a ser confirmado o uso das presentes estratégias angiostáticas como adjuvantes potenciadores da eficácia das imunoterapias antitumorais.⁹ A anergia endotelial foi igualmente ultrapassada em ratos submetidos à hipertermia sistêmica (39,5°C durante 6 horas). Observou-se a expressão da citocina inflamatória IL6, a qual aumentou os níveis das E- e P-selectina e da ICAMI, o que fez aumentar a eficácia da terapia ACT.⁶⁶

Huang *et al.* formularam uma nanopartícula co-carregada com um agente antifibrótico, a α -mangostina, e com a imunocitocina LIGHT, denominando-a de nano-sapper. A sua administração em murghanos com adenocarcinoma pancreático do tipo *immune-excluded*, conduziu a uma redução dos obstáculos físicos, ao presenciarem-se a reversão dos fibroblastos associados ao tumor, a redução da deposição de colagénio e da compressão dos vasos. Também houve a indução da normalização vascular, através do aumento da expressão da ICAMI, da VE-caderina e de fatores quimiotáticos (CCL21 e CXCL13), o que abriu caminho à infiltração de CTLs e à indução de HEVs e de TLSs. Tais efeitos promotores da remodelação do TME expressaram uma supressão tumoral ainda melhor quando combinados com um ICI anti-PD-1, demonstrando o seu interesse numa possível conjugação com a terapia *chimeric antigen receptor (CAR) T Cell* ou com a vacinação antitumoral.⁶⁷

6.5. Reprogramação endotelial

Para além dos mecanismos angiogénicos desencadeadores de uma vasculatura tumoral errática, esta pode igualmente surgir através de uma programação genética das TECs. Por exemplo, as ECs podem sofrer uma transição endotelial-mesenquimal, onde retêm as funções endoteliais, mas adquirem um fenótipo mesenquimal.⁶⁸ Ma *et al.* identificaram que a *p21 (RAC1) activated kinase 4 (PAK4)* interfere com a homeostasia das ECs, promovendo uma inibição da expressão de EAMs e uma indução da transição endotelial-mesenquimal em ECs derivadas de glioblastoma humano. Tal contribui para a habilidade proliferativa e migratória das TECs, arquitetando uma vasculatura aberrante que desfavorece a adesão endotelial e a infiltração tumoral das células T. Atentaram que, em murghanos, a inibição farmacológica da PAK4 normalizou a vasculatura tumoral, aumentando a expressão de EAMs e o recrutamento das células T. Esta estratégia tornou os tumores mais sensíveis à imunoterapia *CAR T Cell*,

otimizando o seu tempo de permanência intratumoral e prolongando o tempo de sobrevivência dos murganhos portadores de glioblastoma.⁶⁹

6.6. Estratégias dirigidas a alvos alternativos

Existem outros alvos relacionados com a vasculatura que interferem com o acesso intratumoral das células do SI, estando alguns exemplos ilustrados na Figura 5. O *C-X-C motif chemokine receptor* (CXCR)4 é um recetor sobre-expresso em vários tumores. Uma vez que o eixo mediado pelo CXCR4 e o seu ligando, CXCL12, promove a infiltração intratumoral de células imunossupressoras, inibindo indiretamente a infiltração e ativação das células T, a realização de estudos sobre este eixo não tardaram a surgir. O inibidor CXCR4 AMD3100 promoveu a acumulação intratumoral de células T e, conseqüentemente, a regressão tumoral. Por sua vez, o inibidor CXCR4 BL8040, em conjugação com o Pembrolizumab (anti-PD-1), além de aumentar a infiltração das células T CD8⁺, reduziu a densidade de MDSCs e de células Treg, tornando o efeito imunológico deste ICI substancialmente superior, quando comparado com o seu uso monoterapêutico em tumores *frios*.⁸ Além da inibição farmacológica das quimiocinas, a entrega direcionada de *small interfering RNA* (siRNA) pode interferir localmente com a sinalização quimiotática e, dessa forma, alterar o tráfico leucocitário. Jung *et al.* encontraram níveis anormalmente elevados da quimiocina CX3CL1 em modelos tumorais humanos e em murganhos, alvos de uma terapia anti-VEGFR2, o que resultou num recrutamento intratumoral de monócitos Ly6C^{lo}.⁷⁰ Estes têm demonstrado um efeito inibitório sobre a infiltração intratumoral e função das CTLs.⁷¹ Assim, a entrega de nanopartículas contendo siRNA anti-CX3CL1, denominado por siCX3CL1, reduziu o recrutamento de monócitos Ly6C^{lo}, o que permitiu melhorar a eficácia da terapia antiangiogénica e reduzir o crescimento tumoral.⁷⁰

Uma abordagem alternativa prende-se com o bloqueio do *common lymphatic endothelial and vascular endothelial receptor-1* (CLEVER-1), pelo facto de ser conhecido por contribuir para o influxo intratumoral de células Treg e de TAMs. O seu bloqueio geneticamente induzido, em murganhos, contribuiu para a transformação dos TAMs com um fenótipo imunossupressor num imunoestimulador e, com isso, contribuiu para a infiltração e ativação das células T CD8⁺.⁷² Para perceber o seu impacto em contexto clínico, realizou-se o primeiro ensaio clínico de fase I/II, usando um anticorpo anti-CLEVER-1 (FP-1305) em doentes com tumores sólidos avançados ou metastáticos. Constatou-se uma clara expansão das células T periféricas, as quais têm sido reportadas como preditivas da infiltração tumoral das células T e da eficácia da terapia anti-PD-L1. A propósito, verificou-se uma diminuição da expressão de várias moléculas

immune checkpoint em populações de células T CD4⁺ e observou-se um aumento da expressão da CXCR3 em células T CD8⁺ com um incremento da sua migração intratumoral, sugerindo que o FP-1305 pode ter um impacto direto no TME.⁷³

Um outro eixo de sinalização é formado pela endotelina (ET)I e os seus recetores ETAR e ETBR. Analisando perfis de expressão génica, a presença de ETBR é concordante com a ausência de linfócitos intratumorais e o facto de o óxido nítrico ser um efetor a jusante do eixo ETI/ETBR, demonstrou-se uma relação negativa com a expressão e aglomeração da ICAMI. Assim, atendendo a modelos pré-clínicos, mediante a neutralização do ETBR com o agente BQ-788, um antagonista seletivo do ETBR, testemunhou-se uma estimulação da expressão da ICAMI e um aumento dos linfócitos intratumorais. Aliás, também possibilitou a resposta antitumoral das imunoterapias, nomeadamente da vacinação antitumoral e da ACT, promovendo também um efeito do B7-788 superior, comparativamente ao seu uso em monoterapia.⁶ Estas evidências realçam um mecanismo molecular com potencial para ser farmacologicamente manipulado a fim de, mais tarde, melhorar a eficácia das imunoterapias antitumorais em contexto clínico.

O conhecimento de que a hipoxia induz a expressão seletiva do membro 9 da superfamília do fator de necrose tumoral (CD137), uma molécula coestimuladora também designada por 4-1BB, nas TECs, conduziu a esforços investigacionais que convergiram para o desenvolvimento de mAbs agonistas direcionados para a mesma, encontrando-se a sua combinação com o nivolumab (anti-PD-1) em ensaios clínicos de fase Ib/II.²² Verificou-se, em ensaios clínicos, a estimulação da ICAMI, da VCAMI e da E-selectina e, naturalmente, do tráfico, da infiltração e da atividade antitumoral das células T CD8⁺.⁵ Ensaios clínicos adicionais usando um novo anticorpo biespecífico 4-1BB×PD-L1, denominado de ABL503, confirmaram uma resposta antitumoral mais eficaz, comparativamente aos seus efeitos isolados.⁷⁴ O interessante crescente pelo agente 4-1BB fez com que vários investigadores estudassem o seu benefício num contexto de terapia *CAR T Cell*. Tendo em conta que a otimização da persistência e da citotoxicidade das Células *CAR T* constitui um foco crítico para a sua eficácia,⁷⁵ diferentes estudos apontaram que as Células *CAR T* expressoras de 4-1BB exibiram não só uma expansão e sobrevivência aprimoradas, como uma persistência citotóxica maior, tanto *in vitro* como em modelos tumorais de murganho, comparativamente à terapia *CAR T Cell* isolada.⁷⁶

A galectina I é uma molécula expressa tanto em células tumorais como em TECs que, mediante diversos mecanismos imunossupressores, está intimamente associada a um pior prognóstico.⁹ Um deles consiste na indução da expressão endotelial de PD-L1. Assim, diferentes investigadores comprovaram que, em modelos tumorais de murganho, mediante

silenciamento genético ou mediante anticorpos anti-galectina I, a acumulação de linfócitos intratumorais aumentou. Esta abordagem, aliás, demonstrou ser sinérgica quando combinada com anticorpos anti-PD-I e anti-TIM3.⁷⁷

O TGF β é conhecido por apresentar propriedades imunossupressoras e contribuidoras de metástases tumorais.⁵² Um estudo correlacionou a secreção deste fator com a incapacidade de as células T CD4⁺ ativadas se diferenciarem em células Th2, o que conduziu à formação de uma vasculatura permeável e tortuosa e ao crescimento do tumor. No entanto, mediante ligação do anticorpo biespecífico 4T-Trap às células T CD4⁺, inibiu-se a ligação do TGF β aos seus recetores à superfície destas células, havendo uma indução da normalização vascular que levou à destruição do tumor.⁷⁸ Um outro estudo, além de correlacionar o TGF β com a falta de resposta imunológica em tumores *frios*, verificou que a sua inibição promoveu um aumento da infiltração de células T. Aliás, ao combinar anticorpos anti-TGF β com anticorpos anti-PD-L1, num modelo tumoral *immune-excluded* de murganho, houve uma redução da carga tumoral com um incremento do infiltrado de linfócitos T, em especial das células T CD8⁺.⁷⁹

A correlação proporcional entre a presença de TAMs, o estabelecimento de um fenótipo tumoral excluído de células T e um pior prognóstico, foi demonstrada em modelos tumorais humanos e em murganhos. Num modelo tumoral de murganho, a depleção de TAMs, induzida pelo inibidor do *colony stimulating factor 1 receptor* (CSF1R), um recetor expresso à superfície dos macrófagos,⁸⁰ promoveu a migração e infiltração das células T CD8⁺. Embora o efeito no crescimento tumoral tenha sido mínimo, a sua combinação com a terapia anti-PD-I conseguiu aumentar ainda mais a acumulação tumoral de células T CD8⁺, evidenciando-se, desta vez, um atraso da progressão tumoral.⁸¹

Outro mecanismo envolve a inibição da molécula imunossupressora IDO1, a qual é sobre-expressa pelas TECs em resposta ao estímulo do interferão do tipo I (alfa ou beta) e tipo II (gama).⁵² A inibição da IDO1 tem demonstrado conseguir aumentar a eficácia dos ICIs, encontrando-se efetivamente ensaios clínicos a decorrer de forma a estabelecer o seu impacto. Georganaki *et al.* verificaram que, em murganhos, o epacadostat (inibidor da IDO1), quando combinado com o anticorpo agonista CD40, induziu a ativação das células T CD8⁺ e reduziu o crescimento tumoral. Contudo, evidenciou-se um mecanismo de *feedback* imunossupressor, uma vez que, mediante estimulação da imunoterapia CD40, em resposta ao aumento do IFN γ secretado pelas células T, as TECs induzem a expressão da IDO1, prejudicando, por sua vez, a ação das CTLs.⁸²

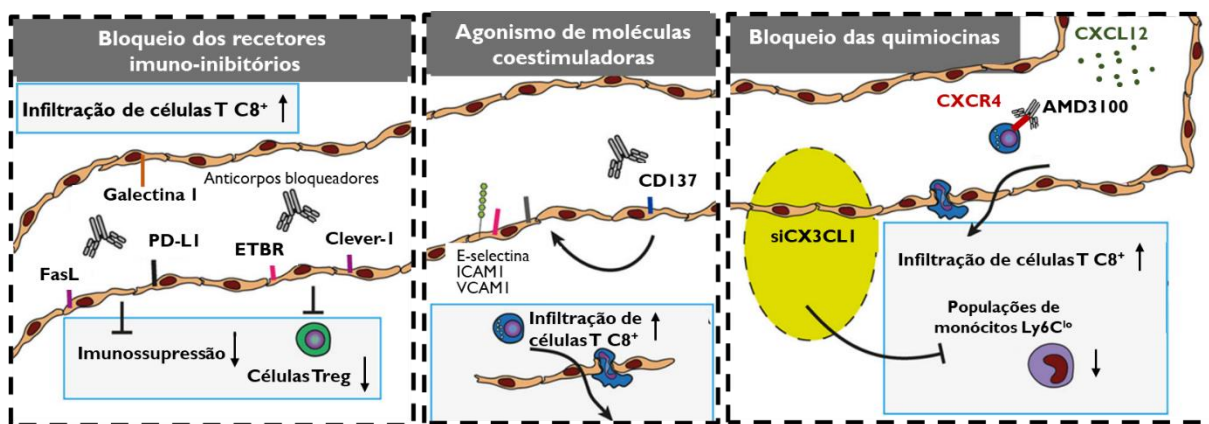


Figura 5. Exemplos de estratégias dirigidas a alvos alternativos. Estão representados anticorpos antagonistas de receptores imunoinibitórios expressos à superfície do endotélio, o anticorpo agonista da molécula coestimuladora CD137 e o bloqueio de quimiocinas através de anticorpos ou através de nanopartículas contendo siRNA anti-CXC3CI (siCX3CLI). Adaptado do ⁵

6.7. O recrutamento de células dendríticas

As DCs atuam como comandantes da resposta imunológica, pois possuem a habilidade de desencadear e modular a resposta do SI adaptativo, facilitando a geração da resposta imunológica antitumoral mediada pelas células T. No entanto, o seu potencial antitumoral depende da sua entrega e migração através do endotélio em direção a locais tumorais ricos em células T.²⁴ Várias são as estratégias que visam esta premissa. Uma delas consiste na depleção das enzimas COX, a qual estimulou, em modelos tumorais de murganho, o tráfico das DCs e a viabilidade das células NK⁸³ e demonstrou uma sinergia com a terapia anti-PD-I, a nível pré-clínico⁸⁴. Uma outra estratégia consiste no tratamento de DCs com sarcosina, a qual aumentou a expressão de CXCL1, CXCL3 e CXCR2, aumentando a sua migração em direção aos nódulos linfáticos. Como o tráfico eficiente das DCs em direção aos nódulos linfáticos é preditivo da eficácia da vacinação de DCs, esta estratégia possibilitou o aumento da sua efetividade.⁸⁵ Williford e os seus colegas demonstraram que a falta da quimiocina CCL4, no TME, conduz a uma ausência intratumoral das CD103⁺ DCs, evento com um impacto negativo na eficácia dos ICIs. Criaram, portanto, uma estratégia direcionada para o estroma tumoral, à base de uma proteína de fusão constituída pelo domínio de ligação do colagénio (CBD) do fator *von Willebrand* com a CCL4, a fim de melhorar a entrega desta no tumor. Concluíram que, em vários modelos tumorais, a estratégia CBD-CCL4 melhorou o recrutamento tanto de CD103⁺ DCs, como de células T CD8⁺, conseguindo melhorar o efeito dos ICIs.⁸⁶ O *mammalian target of rapamycin complex 1* (MTORC1) é um mediador de uma via de sinalização que envolve vários fatores angiogénicos, no endotélio. Wang *et al.* observaram que a administração de doses baixas de RAD001 (everolimus), um inibidor do MTORC1, em

murganhos, reduziu a hipoxia, induziu a normalização vascular, aumentou a infiltração de CD103⁺ DCs e de linfócitos T e melhorou a eficácia da terapia ACT.⁸⁷

7. Imunoterapia celular adotiva - uma imunoterapia antitumoral personalizada

A ACT, igualmente conhecida por transferência adotiva de células T, consiste na expansão ou modificação das células T, após a sua recolha do doente, com a sua posterior transferência para o mesmo, a fim de auxiliar a resposta antitumoral do SI.⁸⁸ Curiosamente, a transferência adotiva de células T CD4⁺ demonstrou-se indutora da normalização vascular, ao reduzir a hipoxia e a permeabilidade e ao aumentar a perfusão vascular. No entanto, similarmente à imunoterapia mediada pelos ICIs, graças às barreiras físicas e fisiológicas e aos mecanismos de imunoresistência do tumor, a ACT tem demonstrado dificuldades no acesso às células tumorais.¹³ Têm sido desenvolvidas estratégias direcionadas para a vasculatura tumoral e outras estão sob investigação, a fim de melhorar a sua sobrevivência e eficácia em tumores sólidos. A propósito, a combinação de agentes antiangiogénicos anti-VEGF ou anti-VEGFR2 (DC-101) com a ACT, em murganhos, permitiu um aumento da infiltração tumoral das células T, comparativamente aos efeitos isolados de ambas as terapias.^{9,13} Resultados similares foram obtidos mediante utilização da terapia *CAR T Cell*.

A terapia de *CAR T Cell* é um tipo de ACT e consiste na administração de células T geneticamente reprogramadas para expressarem um recetor quimérico de antigénio, que se liga a proteínas específicas expressas à superfície das células tumorais.⁶² A sua combinação com agentes antiangiogénicos, particularmente com o bevacizumab e com o sunitinib, permitiu melhorar a infiltração e a eficácia das Células CAR T.^{89,90} Aliás, a componente antiangiogénica, i.e., os mAbs ou os inibidores da tirosina cinase (TKI) anti-VEGF, pode ser substituída por Células CAR T especificamente dirigidas para a vasculatura. Por exemplo, verificou-se que a administração simultânea de Células CAR T anti-VEGFR2 com Células CAR T especificamente direcionadas para os TAAs aumentou a infiltração, expansão e persistência das Células CAR T TAAs-específicas, assistindo-se a um aumento dramático do tempo de sobrevivência *tumor-free* em murganhos.⁶ Tal é o interesse pela abordagem das Células CAR T direcionadas para o VEGFR2, que o seu benefício está, atualmente, a ser avaliado em ensaios clínicos, em doentes com tumores sólidos em estado avançado.⁹

Um mecanismo alternativo indutor da anergia endotelial compreende a secreção tumoral de endoglina (CD105), uma molécula de adesão solúvel. Estudos evidenciaram que, por meio de efeitos sinérgicos com o VEGF e de mecanismos competitivos com outros

recetores endoteliais, a endogлина diminuiu a eficácia da terapia *tumor-infiltrating lymphocytes* (TIL), um outro tipo de ACT.⁵² Em 2021, Mo *et al.*, através da tecnologia de edição génica de repetições palindrómicas curtas agrupadas e regularmente interespaçadas associada à proteína 9 (CRISPR/Cas9) e da manipulação de nanocorpos, criaram Células CAR T anti-CD105. Em modelos tumorais de murganho, esta formulação conseguiu reduzir a expressão tumoral de CD105, aumentar a infiltração intratumoral de células T e a apoptose das células tumorais e, finalmente, prolongar o tempo de sobrevivência.⁹¹

Tendo conhecimento da importância da IL7 e da quimiocina CCL19 na manutenção das zonas das células T nos órgãos linfoides, Adachi *et al.* projetaram Células CAR T para expressarem estes dois fatores e, através de modelos de tumores sólidos em murganhos, verificaram um aumento substancial da infiltração das células T comparativamente à terapia *CAR T Cell* convencional. Aliás, observou-se a infiltração de DCs no tecido tumoral, evento apenas observado com as Células CAR T inovadoras.⁹²

8. Viroterapia oncolítica – uma imunoterapia emergente

Os vírus oncolíticos, um tipo de imunoterapia, são vírus especificamente dirigidos à infeção e lise das células tumorais, que podem ocorrer naturalmente ou podem ser modificados em termos laboratoriais.⁹³ O seu efeito benéfico na infiltração intratumoral de células T encontra-se largamente demonstrado em vários estudos, tanto em animais, como em humanos, uma vez que, ao estimular a expressão do interferão do tipo I, do TNF e da IL1B, induz a expressão de selectinas, integrinas e de quimiocinas recrutadoras de células T.⁹⁴ Num ensaio clínico de fase Ib, a combinação do *Talimogene laherparepvec*, um vírus oncolítico, com o pembrolizumab (anti-PD-1) aumentou a infiltração de células T CD8⁺ e melhorou a resposta antitumoral.⁹⁵

9. Vacinas antitumorais conjugadas - o futuro da imunoterapia?

As vacinas conjugadas consistem na fusão de um antigénio do hospedeiro com uma proteína estranha ao SI. Ao reconhecer o antígeno do hospedeiro como algo estranho, o SI induz uma resposta humoral anti-antigénio mais forte. Um exemplo consiste na abordagem composta pela conjugação dos domínios EDA e EDB da fibronectina, marcadores da vasculatura tumoral, com a tiorredoxina bacteriana, uma proteína estranha ao SI, abordagem esta que conseguiu inibir eficazmente o crescimento tumoral. Assim, a vacinação imunoterapêutica especificamente direcionada para a vasculatura tumoral possui um alto potencial para ser usada, futuramente, em contexto clínico.⁹

10. Conclusão

O cancro pode indubitavelmente ocorrer em indivíduos saudáveis, porque ainda que o seu SI seja vigoroso, muitos tumores possuem mecanismos de sobrevivência para se evadirem da resposta imunológica do hospedeiro, os quais são, em grande parte, fruto da sua vasculatura morfológica e funcionalmente imatura.

Os ICIs foram responsáveis por um avanço clínico bastante positivo. No entanto, em consequência da sua dependência ao fenótipo imunológico tumoral, apenas uma minoria de doentes oncológicos responde aos mesmos. Uma vez que a angiogénese, associada à imunossupressão característica do TME, parece ser a força motriz por detrás da anergia endotelial e do recrutamento seletivo das células do SI, inferiu-se uma oportunidade estratégica para antagonizar as limitações dos ICIs. Com isso, surgiram as primeiras terapias antiangiogénicas que, embora profícuas em determinados doentes, revelaram-se ineficazes noutros, pelo surgimento de um efeito *rebound* angiogénico altamente agressivo. Quando usadas em doses submáximas, todavia, o seu efeito promotor de normalização vascular conduziu à aprovação de combinações terapêuticas entre os agentes antiangiogénicos e os ICIs. Apesar do prolongamento apreciável da sobrevida dos doentes, a incapacidade de otimizar a janela de normalização vascular associada à incompreensão da dose e da sequência terapêutica apropriadas, a sua translação para constituir o padrão de tratamento de tumores sólidos tem se tornado, pelo menos para já, improvável.

Graças às fortes evidências entre a infiltração tumoral de células T e o melhor prognóstico clínico, várias estratégias direcionadas para componentes distribuídos na vasculatura tumoral ou para moléculas relacionadas com a mesma, com o intuito de converterem um tumor *frio* num *quente*, encontram-se em desenvolvimento. No entanto, a maioria delas assentam em estudos *in vitro* ou pré-clínicos, por isso ainda é prematuro a sua extrapolação para a utilização clínica. Ainda assim, em virtude de resultados promissores de algumas estratégias, tem se observado a iniciação de ensaios clínicos com o intuito de compreender não apenas a eficácia, mas também a tolerabilidade e a toxicidade destas terapias.

Por mérito da emergência das presentes estratégias vascularmente dirigidas e o seu potencial para melhorar a resposta às imunoterapias, sejam elas os ICIs, a terapia *CAR T Cell*, as vacinas antitumorais ou a viroterapia oncolítica, novas abordagens tanto farmacológicas como tecnológicas, por exemplo em nanotecnologia, estão em desenvolvimento e poderão vir a tornar-se os esquemas padronizados de tratamento de tumores sólidos no futuro.

Bibliografia

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Cancer**. [Consult. 4 abr. 2022]. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1
2. SIEGEL, Rebecca L. *et al.* - Cancer statistics, 2022. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**. ISSN 0007-9235. 72:1 (2022) 7–33. doi: 10.3322/caac.21708.
3. YABROFF, K. Robin *et al.* - Economic Burden of Cancer in the United States: Estimates, Projections, and Future Research. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**. ISSN 1055-9965. 20:10 (2011) 2006–2014. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0650.
4. EVALUATE - World Preview 2020, Outlook to 2026. **EvaluatePharma**. June (2020) 1–39.
5. DURU, Gizem; EGMOND, Marjolein VAN; HEEMSKERK, Niels - A Window of Opportunity: Targeting Cancer Endothelium to Enhance Immunotherapy. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 11:November (2020) 1–23. doi: 10.3389/fimmu.2020.584723.
6. LANITIS, Eviropidis; IRVING, Melita; COUKOS, George - Targeting the tumor vasculature to enhance T cell activity. **Current Opinion in Immunology**. ISSN 09527915. 33:2015) 55–63. doi: 10.1016/j.coi.2015.01.011.
7. WELSH, Michael - Perspectives on Vascular Regulation of Mechanisms Controlling Selective Immune Cell Function in the Tumor Immune Response. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 1422-0067. 23:4 (2022) 2313. doi: 10.3390/ijms23042313.
8. LIU, Yuan-Tong; SUN, Zhi-Jun - Turning cold tumors into hot tumors by improving T-cell infiltration. **Theranostics**. ISSN 1838-7640. 11:11 (2021) 5365–5386. doi: 10.7150/thno.58390.
9. HUINEN, Zowi R. *et al.* - Anti-angiogenic agents — overcoming tumour endothelial cell anergy and improving immunotherapy outcomes. **Nature Reviews Clinical Oncology**. ISSN 1759-4774. 18:8 (2021) 527–540. doi: 10.1038/s41571-021-00496-y.
10. TAKABATAKE, Kiyofumi *et al.* - Impact of the Stroma on the Biological Characteristics of the Parenchyma in Oral Squamous Cell Carcinoma. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 1422-0067. 21:20 (2020) 7714. doi: 10.3390/ijms21207714.
11. BAGHBAN, Roghayeh *et al.* - Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance. **Cell Communication and Signaling**. ISSN 1478-811X. 18:1 (2020) 59. doi: 10.1186/s12964-020-0530-4.

12. RODRIGUES, João *et al.* - 3D In Vitro Model (R)evolution: Unveiling Tumor–Stroma Interactions. **Trends in Cancer**. ISSN 24058033. 7:3 (2021) 249–264. doi: 10.1016/j.trecan.2020.10.009.
13. SCHAAF, Marco B.; GARG, Abhishek D.; AGOSTINIS, Patrizia - Defining the role of the tumor vasculature in antitumor immunity and immunotherapy. **Cell Death & Disease**. ISSN 2041-4889. 9:2 (2018) 115. doi: 10.1038/s41419-017-0061-0.
14. VIALARD, Claire; LARRIVÉE, Bruno - Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets. **Angiogenesis**. ISSN 0969-6970. 20:4 (2017) 409–426. doi: 10.1007/s10456-017-9562-9.
15. MASOUD, Georgina N.; LI, Wei - HIF-1 α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy. **Acta Pharmaceutica Sinica B**. ISSN 22113835. 5:5 (2015) 378–389. doi: 10.1016/j.apsb.2015.05.007.
16. LEONE, Patrizia *et al.* - Insights into the Regulation of Tumor Angiogenesis by Micro-RNAs. **Journal of Clinical Medicine**. ISSN 2077-0383. 8:12 (2019) 2030. doi: 10.3390/jcm8122030.
17. LUGANO, Roberta; RAMACHANDRAN, Mohanraj; DIMBERG, Anna - Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. **Cellular and Molecular Life Sciences**. ISSN 1420-682X. 77:9 (2020) 1745–1770. doi: 10.1007/s00018-019-03351-7.
18. MOHLA, Suresh - Tumor microenvironment. **Journal of Cellular Biochemistry**. ISSN 07302312. 101:4 (2007) 801–804. doi: 10.1002/jcb.21320.
19. AVOLIO, Elisa *et al.* - Perivascular cells and tissue engineering: Current applications and untapped potential. **Pharmacology & Therapeutics**. ISSN 01637258. 171:(2017) 83–92. doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.11.002.
20. HUANG, Yuhui *et al.* - Improving immune–vascular crosstalk for cancer immunotherapy. **Nature Reviews Immunology**. ISSN 1474-1733. 18:3 (2018) 195–203. doi: 10.1038/nri.2017.145.
21. PEÑA-ROMERO, Alicia Cristina; ORENES-PIÑERO, Esteban - Dual Effect of Immune Cells within Tumour Microenvironment: Pro- and Anti-Tumour Effects and Their Triggers. **Cancers**. ISSN 2072-6694. 14:7 (2022) 1681. doi: 10.3390/cancers14071681.
22. KIM, Seong Keun; CHO, Sun Wook - The Evasion Mechanisms of Cancer Immunity and Drug Intervention in the Tumor Microenvironment. **Frontiers in Pharmacology**. ISSN 1663-9812. 13:May (2022) 1–16. doi: 10.3389/fphar.2022.868695.

23. GEORGE, Andrew *et al.* - Strategies to sensitize cancer cells to immunotherapy. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**. ISSN 2164-5515. 17:8 (2021) 2595–2601. doi: 10.1080/21645515.2021.1891817.
24. ZHAO, Yang *et al.* - The Tumour Vasculature as a Target to Modulate Leucocyte Trafficking. **Cancers**. ISSN 2072-6694. 13:7 (2021) 1724. doi: 10.3390/cancers13071724.
25. SONG, Yuxiao *et al.* - Anti-angiogenic Agents in Combination With Immune Checkpoint Inhibitors: A Promising Strategy for Cancer Treatment. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 11:August (2020) 1–17. doi: 10.3389/fimmu.2020.01956.
26. KOYAMA, Shohei; NISHIKAWA, Hiroyoshi - Mechanisms of regulatory T cell infiltration in tumors: implications for innovative immune precision therapies. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**. ISSN 2051-1426. 9:7 (2021) e002591. doi: 10.1136/jitc-2021-002591.
27. BOUTILIER, Ava J.; ELSAWA, Sherine F. - Macrophage Polarization States in the Tumor Microenvironment. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 1422-0067. 22:13 (2021) 6995. doi: 10.3390/ijms22136995.
28. PAN, Yueyun *et al.* - Tumor-Associated Macrophages in Tumor Immunity. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 11:December (2020). doi: 10.3389/fimmu.2020.583084.
29. LIN, Yuxin; XU, Jianxin; LAN, Huiyin - Tumor-associated macrophages in tumor metastasis: biological roles and clinical therapeutic applications. **Journal of Hematology & Oncology**. ISSN 1756-8722. 12:1 (2019) 76. doi: 10.1186/s13045-019-0760-3.
30. YANG, Yuhui *et al.* - Myeloid-Derived Suppressor Cells in Tumors: From Mechanisms to Antigen Specificity and Microenvironmental Regulation. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 11:July (2020) 1–22. doi: 10.3389/fimmu.2020.01371.
31. LI, Tianhang *et al.* - Targeting MDSC for Immune-Checkpoint Blockade in Cancer Immunotherapy: Current Progress and New Prospects. **Clinical Medicine Insights: Oncology**. ISSN 1179-5549. 15:2021) 117955492110355. doi: 10.1177/11795549211035540.
32. MIKO, Eva *et al.* - Immune Checkpoint Molecules in Reproductive Immunology. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 10:APR (2019). doi: 10.3389/fimmu.2019.00846.
33. HARJUNPÄÄ, Heidi *et al.* - Cell Adhesion Molecules and Their Roles and Regulation in the Immune and Tumor Microenvironment. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 10:MAY (2019). doi: 10.3389/fimmu.2019.01078.

34. GEORGANAKI, Maria; HOOREN, Luuk VAN; DIMBERG, Anna - Vascular Targeting to Increase the Efficiency of Immune Checkpoint Blockade in Cancer. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 9:December (2018) 1–9. doi: 10.3389/fimmu.2018.03081.
35. KLEIN, Diana - The Tumor Vascular Endothelium as Decision Maker in Cancer Therapy. **Frontiers in Oncology**. ISSN 2234-943X. 8:SEP (2018) 1–10. doi: 10.3389/fonc.2018.00367.
36. LOPES-COELHO, Filipa *et al.* - Anti-Angiogenic Therapy: Current Challenges and Future Perspectives. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 1422-0067. 22:7 (2021) 3765. doi: 10.3390/ijms22073765.
37. BROSSA, Alessia *et al.* - Alternative Strategies to Inhibit Tumor Vascularization. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 1422-0067. 20:24 (2019) 6180. doi: 10.3390/ijms20246180.
38. JAIN, Rakesh K. - Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: A new paradigm for combination therapy. **Nature Medicine**. United States. ISSN 1078-8956. 7:9 (2001) 987–989. doi: 10.1038/nm0901-987.
39. MAGNUSSEN, Anette L.; MILLS, Ian G. - Vascular normalisation as the stepping stone into tumour microenvironment transformation. **British Journal of Cancer**. ISSN 0007-0920. 125:3 (2021) 324–336. doi: 10.1038/s41416-021-01330-z.
40. YANG, Ting *et al.* - Vascular Normalization: A New Window Opened for Cancer Therapies. **Frontiers in Oncology**. ISSN 2234-943X. 11:August (2021) 1–20. doi: 10.3389/fonc.2021.719836.
41. MALO, Courtney S. *et al.* - Immunomodulation mediated by anti-angiogenic therapy improves CD8 T cell immunity against experimental glioma. **Frontiers in Oncology**. ISSN 2234943X. 8:AUG (2018) 320. doi: 10.3389/FONC.2018.00320/XML/NLM.
42. BOURHIS, Morgane *et al.* - Direct and Indirect Modulation of T Cells by VEGF-A Counteracted by Anti-Angiogenic Treatment. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 12:March (2021) 1–9. doi: 10.3389/fimmu.2021.616837.
43. RAGUSA, Simone *et al.* - Antiangiogenic immunotherapy suppresses desmoplastic and chemoresistant intestinal tumors in mice. **The Journal of Clinical Investigation**. ISSN 0021-9738. 130:3 (2020) 1199–1216. doi: 10.1172/JCI129558.
44. PARK, Jin Sung *et al.* - Normalization of Tumor Vessels by Tie2 Activation and Ang2 Inhibition Enhances Drug Delivery and Produces a Favorable Tumor Microenvironment. **Cancer Cell**. ISSN 18783686. 30:6 (2016) 953–967. doi: 10.1016/j.ccell.2016.10.018.

45. HODI, F. Stephen *et al.* - Bevacizumab plus Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. **Cancer Immunology Research**. ISSN 23266074. 2:7 (2014) 632–642. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0053/470348/AM/BEVACIZUMAB-PLUS-IPILIMUMAB-IN-PATIENTS-WITH.
46. OTT, Patrick A.; STEPHEN HODI, F.; BUCHBINDER, Elizabeth I. - Inhibition of immune checkpoints and vascular endothelial growth factor as combination therapy for metastatic melanoma: An overview of rationale, preclinical evidence, and initial clinical data. **Frontiers in Oncology**. ISSN 2234943X. 5:SEP (2015) 202. doi: 10.3389/FONC.2015.00202/XML/NLM.
47. WALLIN, Jeffrey J. *et al.* - Atezolizumab in combination with bevacizumab enhances antigen-specific T-cell migration in metastatic renal cell carcinoma. **Nature Communications**. ISSN 2041-1723. 7:1 (2016) 12624. doi: 10.1038/ncomms12624.
48. SCHMITTNAEGEL, Martina *et al.* - Dual angiopoietin-2 and VEGFA inhibition elicits antitumor immunity that is enhanced by PD-1 checkpoint blockade. **Science Translational Medicine**. ISSN 1946-6234. 9:385 (2017). doi: 10.1126/scitranslmed.aak9670.
49. ZHENG, Xichen *et al.* - Increased vessel perfusion predicts the efficacy of immune checkpoint blockade. **The Journal of Clinical Investigation**. ISSN 0021-9738. 128:5 (2018) 2104–2115. doi: 10.1172/JCI96582.
50. ZHENG, Xichen *et al.* - CTLA4 blockade promotes vessel normalization in breast tumors via the accumulation of eosinophils. **International Journal of Cancer**. ISSN 0020-7136. 146:6 (2020) 1730–1740. doi: 10.1002/ijc.32829.
51. ZHAO, Yang *et al.* - Targeting Vascular Endothelial-Cadherin in Tumor-Associated Blood Vessels Promotes T-cell-Mediated Immunotherapy. **Cancer Research**. ISSN 0008-5472. 77:16 (2017) 4434–4447. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-3129.
52. NAGL, Laurenz *et al.* - Tumor Endothelial Cells (TECs) as Potential Immune Directors of the Tumor Microenvironment – New Findings and Future Perspectives. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**. ISSN 2296-634X. 8:August (2020) 1–18. doi: 10.3389/fcell.2020.00766.
53. ORNELAS, Argentina *et al.* - Beyond COX-1: the effects of aspirin on platelet biology and potential mechanisms of chemoprevention. **Cancer and Metastasis Reviews**. ISSN 0167-7659. 36:2 (2017) 289–303. doi: 10.1007/s10555-017-9675-z.
54. LI, Shu-Jin; CHEN, Jia-Xian; SUN, Zhi-Jun - Improving antitumor immunity using antiangiogenic agents: Mechanistic insights, current progress, and clinical challenges. **Cancer**

Communications. ISSN 2523-3548. 41:9 (2021) 830–850. doi: 10.1002/cac2.12183.

55. ZHANG, Huayu *et al.* - Endothelial Semaphorin 3F Maintains Endothelial Barrier Function and Inhibits Monocyte Migration. **International Journal of Molecular Sciences.** ISSN 1422-0067. 21:4 (2020) 1471. doi: 10.3390/ijms21041471.

56. JAYAPRAKASH, Priyamvada *et al.* - Targeted hypoxia reduction restores T cell infiltration and sensitizes prostate cancer to immunotherapy. **Journal of Clinical Investigation.** ISSN 0021-9738. 128:11 (2018) 5137–5149. doi: 10.1172/JCI96268.

57. YANG, Hannah *et al.* - STING activation reprograms tumor vasculatures and synergizes with VEGFR2 blockade. **Journal of Clinical Investigation.** ISSN 0021-9738. 129:10 (2019) 4350–4364. doi: 10.1172/JCI125413.

58. DOWNEY, Charlene M. *et al.* - DMXAA Causes Tumor Site-Specific Vascular Disruption in Murine Non-Small Cell Lung Cancer, and like the Endogenous Non-Canonical Cyclic Dinucleotide STING Agonist, 2'3'-cGAMP, Induces M2 Macrophage Repolarization. **PLoS ONE.** ISSN 1932-6203. 9:6 (2014) e99988. doi: 10.1371/journal.pone.0099988.

59. GANSS, Ruth - Tumour vessel remodelling: new opportunities in cancer treatment. **Vascular Biology.** ISSN 2516-5658. 2:1 (2020) R35–R43. doi: 10.1530/VB-19-0032.

60. CARNEMOLLA, Barbara *et al.* - Enhancement of the antitumor properties of interleukin-2 by its targeted delivery to the tumor blood vessel extracellular matrix. **Blood.** ISSN 1528-0020. 99:5 (2002) 1659–1665. doi: 10.1182/blood.V99.5.1659.

61. VELLA, Gerlanda; GUELF, Sophie; BERGERS, Gabriele - High Endothelial Venules: A Vascular Perspective on Tertiary Lymphoid Structures in Cancer. **Frontiers in Immunology.** ISSN 1664-3224. 12:August (2021) 1–15. doi: 10.3389/fimmu.2021.736670.

62. ZHAO, Yang; YU, Xiangrong; LI, Jia - Manipulation of immune–vascular crosstalk: new strategies towards cancer treatment. **Acta Pharmaceutica Sinica B.** ISSN 22113835. 10:11 (2020) 2018–2036. doi: 10.1016/j.apsb.2020.09.014.

63. ALLEN, Elizabeth *et al.* - Combined antiangiogenic and anti–PD-L1 therapy stimulates tumor immunity through HEV formation. **Science Translational Medicine.** ISSN 1946-6234. 9:385 (2017). doi: 10.1126/scitranslmed.aak9679.

64. HE, Bo *et al.* - Vascular targeting of LIGHT normalizes blood vessels in primary brain cancer and induces intratumoural high endothelial venules. **The Journal of Pathology.** ISSN 00223417. 245:2 (2018) 209–221. doi: 10.1002/path.5080.

65. JOHANSSON-PERCIVAL, Anna *et al.* - De novo induction of intratumoral lymphoid

structures and vessel normalization enhances immunotherapy in resistant tumors. **Nature Immunology**. ISSN 1529-2908. 18:11 (2017) 1207–1217. doi: 10.1038/ni.3836.

66. FISHER, Daniel T. *et al.* - IL-6 trans-signaling licenses mouse and human tumor microvascular gateways for trafficking of cytotoxic T cells. **Journal of Clinical Investigation**. ISSN 0021-9738. 121:10 (2011) 3846–3859. doi: 10.1172/JCI44952.

67. HUANG, Yukun *et al.* - Dual-mechanism based CTLs infiltration enhancement initiated by Nano-sapper potentiates immunotherapy against immune-excluded tumors. **Nature Communications**. ISSN 2041-1723. 11:1 (2020) 622. doi: 10.1038/s41467-020-14425-7.

68. LAMPLUGH, Zachary; FAN, Yi - Vascular Microenvironment, Tumor Immunity and Immunotherapy. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 12:December (2021) 1–12. doi: 10.3389/fimmu.2021.811485.

69. MA, Wenjuan *et al.* - Targeting PAK4 to reprogram the vascular microenvironment and improve CAR-T immunotherapy for glioblastoma. **Nature Cancer**. ISSN 2662-1347. 2:1 (2021) 83–97. doi: 10.1038/s43018-020-00147-8.

70. JUNG, Keehoon *et al.* - Ly6Clo monocytes drive immunosuppression and confer resistance to anti-VEGFR2 cancer therapy. **Journal of Clinical Investigation**. ISSN 0021-9738. 127:8 (2017) 3039–3051. doi: 10.1172/JCI93182.

71. JEONG, Juhee; SUH, Yoorock; JUNG, Keehoon - Context Drives Diversification of Monocytes and Neutrophils in Orchestrating the Tumor Microenvironment. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 10:2019). doi: 10.3389/fimmu.2019.01817.

72. VIITALA, Miro *et al.* - Immunotherapeutic Blockade of Macrophage Clever-1 Reactivates the CD8+ T-cell Response against Immunosuppressive Tumors. **Clinical Cancer Research**. ISSN 1078-0432. 25:11 (2019) 3289–3303. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3016.

73. VIRTAKOIVU, Reetta *et al.* - Systemic Blockade of Clever-1 Elicits Lymphocyte Activation Alongside Checkpoint Molecule Downregulation in Patients with Solid Tumors: Results from a Phase I/II Clinical Trial. **Clinical Cancer Research**. ISSN 1078-0432. 27:15 (2021) 4205–4220. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-4862.

74. JEONG, Seongju *et al.* - Novel anti-4-1BB×PD-L1 bispecific antibody augments anti-tumor immunity through tumor-directed T-cell activation and checkpoint blockade. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**. ISSN 2051-1426. 9:7 (2021) e002428. doi: 10.1136/jitc-2021-002428.

75. DAI, Qiang *et al.* - 4-1BB Signaling Boosts the Anti-Tumor Activity of CD28-Incorporated

2nd Generation Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 11:2020). doi: 10.3389/fimmu.2020.539654.

76. SAFARZADEH KOZANI, Pouya *et al.* - Recent Advances in Solid Tumor CAR-T Cell Therapy: Driving Tumor Cells From Hero to Zero? **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 13:2022). doi: 10.3389/fimmu.2022.795164.

77. NAMBIAR, Dhanya K. *et al.* - Galectin-I-driven T cell exclusion in the tumor endothelium promotes immunotherapy resistance. **Journal of Clinical Investigation**. ISSN 0021-9738. 129:12 (2019) 5553–5567. doi: 10.1172/JCI129025.

78. BU, Melissa T. *et al.* - The roles of TGF- β and VEGF pathways in the suppression of antitumor immunity in melanoma and other solid tumors. **Pharmacology & Therapeutics**. ISSN 01637258. 240:2022) 108211. doi: 10.1016/j.pharmthera.2022.108211.

79. MARIATHASAN, Sanjeev *et al.* - TGF β attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells. **Nature**. ISSN 0028-0836. 554:7693 (2018) 544–548. doi: 10.1038/nature25501.

80. JANSSEN, Bienenke; MACH, Robert H. - Development of brain PET imaging agents: Strategies for imaging neuroinflammation in Alzheimer's disease. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S187711731930064X>. p. 371–399.

81. PERANZONI, Elisa *et al.* - Macrophages impede CD8 T cells from reaching tumor cells and limit the efficacy of anti-PD-1 treatment. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. ISSN 0027-8424. 115:17 (2018). doi: 10.1073/pnas.1720948115.

82. GEORGANAKI, Maria *et al.* - Tumor endothelial cell up-regulation of IDO1 is an immunosuppressive feed-back mechanism that reduces the response to CD40-stimulating immunotherapy. **Oncotarget**. ISSN 2162-402X. 9:1 (2020). doi: 10.1080/2162402X.2020.1730538.

83. BÖTTCHER, Jan P. *et al.* - NK Cells Stimulate Recruitment of cDC1 into the Tumor Microenvironment Promoting Cancer Immune Control. **Cell**. ISSN 00928674. 172:5 (2018) 1022-1037.e14. doi: 10.1016/j.cell.2018.01.004.

84. ZELENAY, Santiago *et al.* - Cyclooxygenase-Dependent Tumor Growth through Evasion of Immunity. **Cell**. ISSN 00928674. 162:6 (2015) 1257–1270. doi: 10.1016/j.cell.2015.08.015.

85. DASTMALCHI, Farhad *et al.* - Sarcosine promotes trafficking of dendritic cells and improves efficacy of anti-tumor dendritic cell vaccines via CXC chemokine family signaling. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**. ISSN 2051-1426. 7:1 (2019) 321.

86. WILLIFORD, John-Michael *et al.* - Recruitment of CD103 + dendritic cells via tumor-targeted chemokine delivery enhances efficacy of checkpoint inhibitor immunotherapy. **Science Advances**. ISSN 2375-2548. 5:12 (2019). doi: 10.1126/sciadv.aay1357.
87. WANG, Shan *et al.* - Selective inhibition of mTORC1 in tumor vessels increases antitumor immunity. **JCI Insight**. ISSN 2379-3708. 5:15 (2020). doi: 10.1172/jci.insight.139237.
88. INSTITUTE, National Cancer - **Adoptive cell transfer** [Consult. 2 jun. 2022]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/adoptive-cell-transfer>
89. LI, Huizhong *et al.* - CAIX-specific CAR-T Cells and Sunitinib Show Synergistic Effects Against Metastatic Renal Cancer Models. **Journal of Immunotherapy**. ISSN 1524-9557. 43:1 (2020) 16–28. doi: 10.1097/CJI.0000000000000301.
90. BOCCA, Paola *et al.* - Bevacizumab-mediated tumor vasculature remodelling improves tumor infiltration and antitumor efficacy of GD2-CAR T cells in a human neuroblastoma preclinical model. **OncImmunology**. ISSN 2162-402X. 7:1 (2018) e1378843. doi: 10.1080/2162402X.2017.1378843.
91. MO, Fengzhen *et al.* - Nanobody-based chimeric antigen receptor T cells designed by CRISPR/Cas9 technology for solid tumor immunotherapy. **Signal Transduction and Targeted Therapy**. ISSN 2059-3635. 6:1 (2021) 80. doi: 10.1038/s41392-021-00462-1.
92. ADACHI, Keishi *et al.* - IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor. **Nature Biotechnology**. ISSN 1087-0156. 36:4 (2018) 346–351. doi: 10.1038/nbt.4086.
93. HEMMINKI, Otto; SANTOS, João Manuel DOS; HEMMINKI, Akseli - Oncolytic viruses for cancer immunotherapy. **Journal of Hematology & Oncology**. ISSN 1756-8722. 13:1 (2020) 84. doi: 10.1186/s13045-020-00922-1.
94. TWUMASI-BOATENG, Kwame *et al.* - Oncolytic viruses as engineering platforms for combination immunotherapy. **Nature Reviews Cancer**. ISSN 1474-175X. 18:7 (2018) 419–432. doi: 10.1038/s41568-018-0009-4.
95. RIBAS, Antoni *et al.* - Oncolytic Virotherapy Promotes Intratumoral T Cell Infiltration and Improves Anti-PD-1 Immunotherapy. **Cell**. ISSN 00928674. 170:6 (2017) 1109–1119.e10. doi: 10.1016/j.cell.2017.08.027.
96. CLINICALTRIALS.GOV - **Azacitidine Combined With Pembrolizumab and**

Epacadostat in Subjects With Advanced Solid Tumors (ECHO-206) [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02959437?term=epacadostat%2C+tumor&draw=2&rank=2>

97. CLINICALTRIALS.GOV - **Study Evaluating the Safety, Pharmacokinetics (PK), Pharmacodynamics (PD), and Therapeutic Activity of Selicrelumab (RO7009789) With Vanucizumab or Bevacizumab in Participants With Metastatic Solid Tumors** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02665416?term=Vanucizumab%2C+tumor&draw=2&rank=1>

98. CLINICALTRIALS.GOV - **CAR T Cell Receptor Immunotherapy Targeting VEGFR2 for Patients With Metastatic Cancer** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01218867?term=NCT01218867&draw=1&rank=1>

99. CLINICALTRIALS.GOV - **Study of Autologous T-cells in Patients With Metastatic Pancreatic Cancer** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03638193?term=4-1bb%2C+tumor&draw=2&rank=16>

100. CLINICALTRIALS.GOV - **Combining PD-1 Blockade, CD137 Agonism and Adoptive Cell Therapy for Metastatic Melanoma** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02652455?term=4-1bb%2C+nivolumab%2C+tumor&draw=2&rank=5>

101. CLINICALTRIALS.GOV - **Study of NGR-hTNF as Single Agent in Patients Affected by Colorectal Cancer (CRC)** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00483080?term=NGR%2C+cancer&draw=2&rank=3>

102. CLINICALTRIALS.GOV - **Study of NGR-hTNF as Single Agent in Patients Affected by Advanced or Metastatic Malignant Pleural Mesothelioma (NGR010)** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00484276?term=NGR%2C+cancer&draw=3&rank=22>

103. CLINICALTRIALS.GOV - **Study of NGR-hTNF as Single Agent in Patients Affected by Advanced or Metastatic Hepatocellular Carcinoma (HCC)** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00484211?term=NGR%2C+cancer&draw=3&rank=21>

104. CLINICALTRIALS.GOV - **A Modified Phase I Study of NGR-hTNF in Advanced Solid Tumors** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/>

show/NCT00419328?term=NGR%2C+cancer&draw=3&rank=11

105. CLINICALTRIALS.GOV - **Study of NGR-hTNF Administered at High Doses in Patient With Advanced or Metastatic Solid Tumour** [Consult. 16 ago. 2022].

Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00878111?term=NGR%2C+cancer&draw=3&rank=10>

106. CLINICALTRIALS.GOV - **tTF-NGR Phase I Study** [Consult. 16 ago. 2022].

Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02902237>

107. CLINICALTRIALS.GOV - **A Dose Finding Pharmacokinetic Study of the Tumour-targeting Human LI9IL2 Monoclonal Antibody-Cytokine Fusion Protein in Patients With Advanced Solid Tumours** [Consult. 16 ago. 2022].

Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01058538?term=tumor%2C+LI9-IL2&draw=2&rank=2>

108. CLINICALTRIALS.GOV - **Phase I Clinical Study Combining LI9-IL2 With SABR in Patients With Oligometastatic Solid Tumor (LI9-IL2)** [Consult. 16 ago. 2022].

Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02086721?term=tumor%2C+LI9-IL2&draw=2&rank=1>

109. CLINICALTRIALS.GOV - **Safety and Efficacy of LI9TNF in Patients With Isocitrate Dehydrogenase (IDH) Wildtype WHO Grade III / IV Glioma at First Relapse (GLIOMOON)** [Consult. 16 ago. 2022].

Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03779230?term=tumor%2C+LI9-TNF&draw=2&rank=4>

110. CLINICALTRIALS.GOV - **Efficacy and Safety of LI9TNF in Previously Treated Patients With Advanced Stage or Metastatic Soft-tissue Sarcoma (FLASH)** [Consult. 16 ago. 2022].

Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04733183?term=tumor%2C+LI9-TNF&draw=2&rank=8>

111. CLINICALTRIALS.GOV - **Intratumoral Administration of Daromun in Non-melanoma Skin Cancer Patients (DUNCAN)** [Consult. 16 ago. 2022].

Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04362722?term=tumor%2C+LI9-IL2&draw=2&rank=4>

112. CLINICALTRIALS.GOV - **LI9IL2/LI9TNF in Skin Cancer Patients (IntriNSiC)** [Consult. 16 ago. 2022].

Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05329792?term=tumor%2C+LI9-IL2&draw=2&rank=5>

113. CLINICALTRIALS.GOV - **Neoadjuvant LI9IL2/LI9TNF- Pivotal Study (Pivotal)**

[Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02938299?term=NCT02938299&draw=2&rank=1>

114. CLINICALTRIALS.GOV - **Study of Intratumorally Administered Stimulator of Interferon Genes (STING) Agonist E7766 in Participants With Advanced Solid Tumors or Lymphomas - INSTAL-101** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04144140?term=STING%2C+tumor&draw=2&rank=2>

115. CLINICALTRIALS.GOV - **Study of SNX281 in Subjects With Advanced Solid Tumors and Lymphoma** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04609579?term=STING%2C+tumor&draw=2&rank=13>

116. CLINICALTRIALS.GOV - **A Study of TAK-676 as Single Agent and TAK-676 in Combination With Pembrolizumab in Adults With Advanced or Metastatic Solid Tumors** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04420884?term=STING%2C+tumor&draw=2&rank=16>

117. CLINICALTRIALS.GOV - **Study of YH004 (4-1BB Agonist Antibody) in Advanced or Metastatic Malignancy** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05040932?term=4-1bb%2C+tumor&draw=2&rank=8>

118. CLINICALTRIALS.GOV - **A Study to Evaluate the Combination of Nivolumab With ADGI06 in Metastatic NSCLC (ADIVO Lung)** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05236608?term=4-1bb%2C+nivolumab%2C+tumor&draw=2&rank=1>

119. CLINICALTRIALS.GOV - **A Study Of 4-1BB Agonist PF-05082566 Plus PD-1 Inhibitor MK-3475 In Patients With Solid Tumors (BI641003/KEYNOTE-0036)** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02179918?term=4-1bb%2C+tumor&draw=2&rank=2>

120. CLINICALTRIALS.GOV - **This is a Study to Evaluate the Safety and Tolerability of ABL503, and to Determine the Maximum Tolerated Dose (MTD) and Recommended Phase 2 Dose (RP2D) of ABL503 in Subjects With Any Progressive Locally Advanced or Metastatic Solid Tumors** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04762641?term=abl503%2C+tumor&draw=2&rank=1>

121. CLINICALTRIALS.GOV - **A Study of ESI01 (PD-L1x4-1BB Bispecific Antibody) in Patients With Advanced Solid Tumors** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04009460?term=4-1bb%2C+tumor&draw=2&rank=3>
122. CLINICALTRIALS.GOV - **Study of INBRX-105 in Patients With Solid Tumors (PDL1x41BB)** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03809624?term=4-1bb%2C+tumor&draw=2&rank=14>
123. CLINICALTRIALS.GOV - **A Study of NM21-1480 in Adult Patients With Advanced Solid Tumors** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04442126?term=4-1bb%2C+tumor&draw=2&rank=9>
124. CLINICALTRIALS.GOV - **Testing Whether the Combination of Two Immunotherapy Drugs Have Activity in Recurrent or Persistent Clear Cell Ovarian Cancer** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03602586?term=epacadostat%2C+tumor&draw=2&rank=3>
125. CLINICALTRIALS.GOV - **Pembrolizumab in Combination With Epacadostat or Placebo in Cisplatin-ineligible Urothelial Carcinoma (KEYNOTE-672/ECHO-307)** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03361865?term=epacadostat%2C+tumor&phase=2&draw=2&rank=2>
126. CLINICALTRIALS.GOV - **Pembrolizumab + Epacadostat vs Pembrolizumab + Placebo in Recurrent or Progressive Metastatic Urothelial Carcinoma** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03374488?term=epacadostat%2C+tumor&phase=2&draw=2&rank=4>
127. CLINICALTRIALS.GOV - **Pembrolizumab Plus Epacadostat, Pembrolizumab Monotherapy, and the EXTREME Regimen in Recurrent or Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (KEYNOTE-669/ECHO-304)** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03358472?term=epacadostat%2C+tumor&phase=2&draw=2&rank=5>
128. CLINICALTRIALS.GOV - **A Study of Epacadostat (INCB024360) in Combination With Durvalumab (MEDI4736) in Subjects With Selected Advanced Solid Tumors (ECHO-203)** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02318277?term=epacadostat%2C+tumor&draw=2&rank=4>

129. CLINICALTRIALS.GOV - **A Study of Epacadostat and Nivolumab in Combination With Immune Therapies in Participants With Advanced or Metastatic Malignancies (ECHO-208)** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03347123?term=epacadostat%2C+tumor&draw=2&rank=7>
130. CLINICALTRIALS.GOV - **A Study of Epacadostat in Combination With Pembrolizumab and Chemotherapy in Participants With Advanced or Metastatic Solid Tumors (ECHO-207/KEYNOTE-723)** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03085914?term=epacadostat%2C+tumor&draw=2&rank=8>
131. CLINICALTRIALS.GOV - **A Study to Evaluate Safety, Tolerability and Preliminary Efficacy of FP-1305 in Cancer Patients (MATINS)** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03733990?term=FP-1305&draw=2&rank=1>
132. CLINICALTRIALS.GOV - **Dose Escalation Trial of Bexmarilimab (FP-1305) Plus Pembrolizumab in Non-Small Cell Lung Cancer** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05171062?term=FP-1305&draw=2&rank=2>
133. GREINER, John W.; MORILLON, Y. Maurice; SCHLOM, Jeffrey - NHS-IL12, a Tumor-Targeting Immunocytokine. **ImmunoTargets and Therapy**. ISSN 2253-1556. Volume 10:2021) 155–169. doi: 10.2147/ITT.S306150.
134. INSTITUTE, National Cancer - **Angiogenesis Inhibitors** [Consult. 25 jul. 2022]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/immunotherapy/angiogenesis-inhibitors-fact-sheet>
135. MATUSZEWSKA, Kathy *et al.* - Normalizing Tumor Vasculature to Reduce Hypoxia, Enhance Perfusion, and Optimize Therapy Uptake. **Cancers**. ISSN 2072-6694. 13:17 (2021) 4444. doi: 10.3390/cancers13174444.
136. HU, Haoyue *et al.* - The Research Progress of Antiangiogenic Therapy, Immune Therapy and Tumor Microenvironment. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 13:February (2022) 1–11. doi: 10.3389/fimmu.2022.802846.
137. CLINICALTRIALS.GOV - **Study With Atezolizumab Plus Bevacizumab in Patients With Chemotherapy Resistant, MSI-like, Colorectal Cancer** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02982694?term=>

Bevacizumab%2C+Atezolizumab%2C+colorectal+cancer&draw=2&rank=1

138. CLINICALTRIALS.GOV - **A Study of Ramucirumab (LY3009806) Plus MEDI4736 in Participants With Advanced Gastrointestinal or Thoracic Malignancies** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02572687?term=NCT02572687&draw=2&rank=1>

139. CLINICALTRIALS.GOV - **A Study of the Safety and Efficacy of Atezolizumab Administered in Combination With Bevacizumab and/or Other Treatments in Participants With Solid Tumors** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02715531?term=Vanucizumab%2C+Atezolizumab&draw=2&rank=2>

140. CLINICALTRIALS.GOV - **A Study of Vanucizumab (RO5520985) Alone or in Combination With Atezolizumab in Participants With Locally Advanced or Metastatic Solid Tumors** [Consult. 16 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01688206?term=Vanucizumab%2C+Atezolizumab&draw=2&rank=1>

Anexos

Anexo I: Estratégias relacionadas com a vasculatura potenciadoras do acesso intratumoral das células imunoestimuladoras ou das imunoterapias

Estratégia	Composto(s)	Combinação com outras estratégias	Resultados
Indução da normalização vascular			
Terapia antiangiogénica	Bevacizumab	-	Aumento da infiltração de células T CD8 ⁺
		Ipilimumab	Aumento da infiltração de células T CD4 ⁺ , CD8 ⁺ e DCs
		Atezolizumab	Aumento da infiltração de células T CD8 ⁺
	VEGF-Trap	-	Aumento de DCs maduras, Aumento da função das células T CD8 ⁺
	DC-101 (anti-VEGFR2)	-	Aumento da infiltração de células T CD4 ⁺ e CD8 ⁺ , Polarização dos TAMs para um fenótipo M1
		ACT	Aumento do efeito da imunoterapia
		Vacinação antitumoral	
	Inibição dupla das vias do VEGF e da ANGPT2	-	Aumento da janela de normalização vascular, Aumento da infiltração de células T CD8 ⁺ e de TAMs M1
		ICI anti-PD-1	Aumento da eficácia do ICI
		A2V (anti-VEGFA/ANGPT2) + agonista do CD40	-
ABTAA (antagonista da ANGPT2 e agonista da TIE2)	ICI anti-PD-1	Aumento da infiltração de CTLs	
	-	Aumento da infiltração de TAMs M1, Redução da infiltração de células Treg	
ICIs	Anti-PD-1	-	Aumento da infiltração e da ativação de células T CD8 ⁺
	Anti-CTLA4	-	Aumento da infiltração e da ativação de células T CD8 ⁺ Aumento da infiltração de eosinófilos
Aumento dos níveis de VE-caderina	CD5-2 (inibidor oligonucleotídico da ligação microRNA 27 a-VE-caderina)	-	Aumento da infiltração de células T CD8 ⁺
		ICI anti-PD-1	Melhoria dos resultados terapêuticos
Inibição do FasL	Aspirina	Anti-VEGF	Aumento da infiltração de CTLs
Neutralização da hipoxia	Semaforina 3A	-	Prolongamento da janela de normalização vascular, Aumento da infiltração de células T
		-	Aumento da infiltração de células T
	TH-302	ICIs	Melhoria dos efeitos, comparativamente à utilização de TH-302 em monoterapia
STING	Agonistas do STING (DMXAA e 2'3'-cGAMP)	-	Aumento da expressão de EAMs, Aumento da infiltração de células T, Polarização dos TAMs para um fenótipo M1
		Inibidores do VEGFR2 ou ICIs	Efetividade superior do que os efeitos em monoterapia
		Inibidores do VEGFR2 + ICIs	Efetividade superior do que a terapia dupla, Melhoria significativa da sobrevida global

Entrega específica de citocinas imunestimuladoras			
Fusão com VTPs	NGR-TNF	-	Normalização vascular, Expressão aumentada de ICAM1 e de VCAM1, Aumento da infiltração de células T
		ACT	Aumento do efeito da imunoterapia
	RGR-TNF	Vacinação antitumoral	Aumento do efeito da imunoterapia
		-	Resultados similares ao NGR-TNF
	TCPI-TNF	ICIs anti-CTLA4 ou anti-PD-I	Aumento da infiltração de células T CD8 ⁺ comparativamente à monoterapia, Diminuição das células Treg
		-	Normalização vascular, Aumento da infiltração de células T CD4 ⁺ e CD8 ⁺
TCPI-IFNG	-	Normalização vascular, Aumento da infiltração de células T CD4 ⁺ e CD8 ⁺	
	-	Normalização vascular, Aumento da infiltração de células T CD4 ⁺ e CD8 ⁺	
Imunocitocinas (fusão com anticorpos)	L19-IL2	-	Infiltração de células T CD4 ⁺ , CD8 ⁺ e células NK, Resultados similares ao L19-IL2
	L19-TNF	-	Infiltração de células T CD4 ⁺ , CD8 ⁺ e células NK, Resultados similares ao L19-IL2
Vénulas Endoteliais Altas			
Ativação do recetor da linfotóxina beta	DC-101 (anti-VEGFR2)	ICI anti-PD-L1	Indução da formação de HEVs e de TLSs, Aumento da infiltração de células T
Peptídeo LIGHT		-	Normalização vascular, Indução da formação de HEVs e de TLSs, Aumento da infiltração de células T
Fusão do LIGHT com VTPs	LIGHT-CGKRK	-	Aumento da expressão de EAMs, Indução aprimorada da formação de HEVs e de TLSs, Aumento significativo da infiltração de células T
	LIGHT-VTPs	ICIs ou Vacinação antitumoral	Indução aprimorada da formação de HEVs e de TLSs, Aumento significativo da infiltração de células T
	LIGHT-CGKRK	anti-VEGF + anti-PD-L1	Indução aprimorada da formação de HEVs e de TLSs, Aumento significativo da infiltração de células T CD4 ⁺ e CD8 ⁺ , Redução de células Treg
Superação da anergia endotelial tumoral			
Inibidores angiogénicos	PF4	-	Aumento da infiltração de células T
Agentes angiostáticos	Anginex, SU6668, endostatina, angiostatina	-	Aumento da infiltração de células T
	I6K PRL	-	Aumento da expressão de EAMs, Aumento da infiltração das células T
Regulação epigenética	Inibidores de DNA metiltransferase e de histona desacetilase	-	Aumento da expressão de EAMs, Aumento da infiltração de células T
Hipertermia sistémica	-	-	Aumento da expressão de EAMs, Aumento da eficácia da ACT
Nano-sapper	Nanopartícula (α -mangostina + LIGHT)	-	Redução de obstáculos físicos, Normalização vascular, Aumento da expressão de EAMs e de quimiocinas, Indução da formação de HEVs e de TLSs, Aumento da infiltração de CTLs
		ICI anti-PD-I	Aumento da eficácia da imunoterapia

Reprogramação endotelial				
Inibição da PAK4			-	Normalização vascular, Aumento da expressão de EAMs, Aumento da infiltração de células T
			CAR T Cell	Aumento do tempo de permanência intratumoral das Células CAR T
Direcionamento a alvos alternativos				
Quimioquinas	Inibidores da CXCR4	AMD3100	-	Aumento da infiltração de células T
		BL8040	Pembrolizumab (anti-PD-1)	Aumento da infiltração de células T CD8 ⁺ , Redução de MDSCs e células Treg
	siCX3CL1		-	Redução da infiltração de monócitos Ly6C ^{lo}
			Terapia antiangiogênica	Melhoria dos resultados comparativamente à monoterapia
CLEVER-1	Anticorpo anti-CLEVER-1 (FP-1305)		-	Expansão das células T periféricas, Redução da expressão de moléculas <i>immune checkpoint</i> , Aumento da infiltração de células T CD8 ⁺
ETBR	Neutralização do ETBR (BQ-788)		-	Aumento da expressão de ICAM1, Aumento da infiltração de células T
			ACT ou Vacinação antitumoral	Aumento do efeito da imunoterapia
CD137	Anticorpo agonista da CD137 (4-1BB)		-	Estimulação da expressão de EAMs, Aumento da infiltração de células T CD8 ⁺
	Anticorpo biespecífico 4-1BB×PD-L1 (ABL503)		-	Aumento da eficácia da resposta antitumoral comparativamente à monoterapia
	Células CAR T expressoras de CD137		-	Aumento da expansão, sobrevivência e persistência citotóxica das Células CAR T
TGFB	Anticorpo biespecífico 4T-Trap		-	Normalização vascular
	Anticorpo anti-TGFB		ICI anti-PD-L1	Aumento da infiltração de células T
TAM	Inibidor do CSF1R		-	Aumento da infiltração de células T CD8 ⁺
			ICI anti-PD-1	Aumento significativo da infiltração de células T CD8 ⁺
IDO1	Inibidor da IDO1 (epacadostat)		Anticorpo agonista CD40	Indução da ativação de células T CD8 ⁺
Recrutamento de células dendríticas				
Deleção das enzimas COX			-	Aumento da infiltração de DCs, Estimulação da viabilidade de células NK
			ICI anti-PD-1	Aumento da resposta antitumoral
Tratamento das DCs com sarcosina			-	Aumento da infiltração de DCs
			Vacina de DCs	Aumento do efeito da imunoterapia
Entrega da CCL4	Proteína de fusão CBD-CCL4		-	Aumento da infiltração de CD103 ⁺ DCs, Aumento da infiltração de células T CD8 ⁺
			ICIs	Melhoria do efeito da imunoterapia
MTORCI	Inibição do MTORCI (RAD001/everolimus)		-	Indução da normalização vascular, Aumento da infiltração de CD103 ⁺ DCs, Aumento da infiltração de células T
			ACT	Melhoria do efeito da imunoterapia

Imunoterapia Celular Adotiva			
Combinação com agentes antiangiogénicos		anti-VEGF	Aumento da infiltração de células T
		DC-101 (anti-VEGFR2)	
Terapia CAR T Cell			
Combinação com agentes antiangiogénicos		Bevacizumab	Aumento da eficácia e infiltração das Células CAR T
		Sunitinib	
Direcionamento para agentes antiangiogénicos	Combinação de Células CAR T anti-TAA com Células CAR T anti-VEGFR2	-	Aumento da infiltração, da expansão e da persistência das Células CAR T anti-TAA
Endoglina (CD105)	Células CAR T anti-CD105	-	Inibição da anergia endotelial, Aumento da infiltração de células T, Aumento da apoptose de células tumorais
Células CAR T expressoras de IL7 e CCL19		-	Aumento significativo da infiltração de células T, Aumento da infiltração de DCs
Viroterapia oncolítica			
<i>Talimogene laherparepvec</i>		Pembrolizumab (anti-PD-1)	Aumento da expressão de EAMs, Estimulação da infiltração de células T CD8 ⁺

Anexo II: Ensaios clínicos terminados ou a decorrer assentes em estratégias relacionadas com a vasculatura tumoral

Estratégia	Combinação com outras estratégias	Tipo de tumor	Fase	Identificação do ensaio clínico	Ref.
mAb anti-CD137					
ADG106	Nivolumab	NSCLC metastático	Ib/II	NCT05236608	22
Inibição das enzimas COX					
Aspirina	Atezolizumab	Cancro do ovário	II	NCT02659384	22
	Avelumab	Cancro da mama triplo negativo	I	NCT04188119	22
	Bevacizumab	Cancro do ovário	II	NCT02659384	22
	Ipilimumab	Tumores sólidos TIL-negativos avançados	I	NCT03728179	22
	Nivolumab	Tumores sólidos TIL-negativos avançados	I	NCT03728179	22
	Pembrolizumab	Cancro da cabeça e do pescoço	I	NCT03245489	22
Inibição da DNA metiltransferase					
Azacitidina	Pembrolizumab + Epcadostat	Tumores sólidos avançados	I/II	NCT02959437	96
Vírus oncolíticos					
HF10	Ipilimumab	Melanoma	II	NCT02272855	22
				NCT03153085	22
	Nivolumab			NCT03259425	22
NG - 64I	Nivolumab	Cancro metastático, Tumor epitelial	I	NCT05043714	22
<i>Talimogene laherparepvec</i>	Ipilimumab	Melanoma	I/II	NCT01740297	22
	Pembrolizumab	Melanoma	III	NCT02263508	22
	Pembrolizumab	HNSCC	I	NCT02626000	22
Proteína de fusão bifuncional TGFB/anti-PD-L1					
M7824 (Bintrafusp Alfa)	N/A	Tumor sólido	I	NCT02517398	22
		Cancros associados ao vírus do papiloma humano	II	NCT03427411	78
		Tumores sólidos avançados, CRC	I/II	NCT03436563	78
		NSCLC (PD-L1 positivo)	III	NCT03631706	78
		Carcinoma urotelial com doentes <i>naïves</i> ou refratários aos ICIs	II	NCT04501094	78
		Carcinoma tímico, Timoma	II	NCT04417660	78
		HNSCC intratável e operável	II	NCT04428047	22
	Entinostat + M9241*	Tumores sólidos avançados	II	NCT04708470	22
Inibidor da CXCR4					
AMD3100	Pembrolizumab	HNSCC	II	NCT04058145	22
BL-8040	Pembrolizumab	Adenocarcinoma pancreático metastático	II	NCT02826486	22
		Adenocarcinoma ductal de estadio IV ou recorrente metastático, Adenocarcinoma pancreático metastático	I	NCT02907099	22
Agonista do CD40					
APX005M	Nivolumab	Melanoma metastático, NSCLC	I/II	NCT03123783	22
		Cancro pancreático metastático, Melanoma avançado	I/II	NCT03214250	22
		NSCLC, RCC	I	NCT03502330	22
	Nivolumab, Ipilimumab	Melanoma avançado, RCC	I	NCT04495257	22
		Melanoma avançado	I	NCT03597282	22

CP-870,893	Tremelimumab	Melanoma de estadio IV ou recorrente	I	NCT01103635	22
		Melanoma, Tumores sólidos avançados	I	NCT02225002	22
RO7009789 (Selicrelumab)	Atezolizumab	Tumores sólidos metastáticos e/ou avançados	I	NCT02304393	22
	Atezolizumab, Bevacizumab		I	NCT02665416	97
mAb anti-CSFIR					
AMG820	Pembrolizumab	Tumores sólidos avançados	I/II	NCT02713529	22
	N/A		I	NCT01444404	22
Cabiralizumab	Nivolumab	HCC avançado	II	NCT04050462	22
		Carcinoma do trato biliar biopsiável ressecável	II	NCT03768531	22
		Tumores sólidos	I	NCT02526017	22
		Cancro pancreático	II	NCT03599362	22
		Cancro pancreático	II	NCT03697564	22
		Cancro da mama triplo negativo	I/II	NCT04331067	22
	Nivolumab, Urelumab	Cancro	I	NCT03431948	22
Emactuzumab	RO7009789	Tumores sólidos avançados	I	NCT02760797	22
	Atezolizumab	Tumores sólidos	I	NCT02323191	22
IMC-CS4 (LY3022855)	Ciclofosfamida, GVAX, Pembrolizumab,	Cancro pancreático	I	NCT03153410	22
mAb anti-CSF I					
MCSI 10	PDR001	Tumores sólidos	I/II	NCT02807844	22
Selicrelumab	Atezolizumab	Tumores sólidos	I	NCT02304393	22
Inibidor do CSFIR					
ARRY-382	Pembrolizumab	Melanoma, NSCLC, Tumores sólidos	I/II	NCT02880371	22
BLZ945	PDR001	Tumores sólidos	I/II	NCT02829723	22
DCC-3014	N/A	Tumores sólidos metastáticos	I/II	NCT03069469	22
Imunoterapia Celular Adotiva					
Células Car T anti-VEGFR2	N/A	Cancro metastático, Melanoma metastático, Cancro renal	I/II	NCT01218867	98
CAR T-meso cells**	N/A	Cancro pancreático	N/A	NCT03638193	99
TIL	Nivolumab + CDI37	Melanoma metastático	I	NCT02652455	100
Entrega do TNF através do NGR					
NGR-TNF	N/A	CRC	II	NCT00483080	101
		Mesotelioma pleural metastático ou avançado	II	NCT00484276	102
		Carcinoma hepatocelular	II	NCT00484211	103
		Tumores sólidos avançados	I	NCT00419328	104
		Tumor sólido metastático ou avançado	I	NCT00878111	105
		Tumores sólidos malignos	I	NCT02902237	106
NGR-TNF	N/A	Melanoma metastático	I	N/A	59
Imunocitocinas					
LI9-IL2	N/A	Tumores sólidos avançados	I/II	NCT01058538	107
	Radioterapia estereotáxica corporal	Tumor sólido oligometastático	I	NCT02086721	108
LI9-TNF	N/A	Glioma cerebral	I/II	NCT03779230	109
		Sarcoma dos tecidos moles	II	NCT04733183	110

L19-IL2 + L19-TNF	N/A	Cancro cutâneo não melanoma	II	NCT04362722	111
		Cancro cutâneo	II	NCT05329792	112
		Melanoma maligno	III	NCT02938299	113
Agonistas do STING					
E7766	N/A	Tumores sólidos avançados	I	NCT04144140	114
SNX281	Pembrolizumab	Tumores sólidos avançados	I	NCT04609579	115
TAK-676	Pembrolizumab	Neoplasmas sólidos	I	NCT04420884	116
YH004	N/A	Cancro	I	NCT05040932	117
Entrega da CDI37					
Agonistas da 4-1BB					
ADG106	N/A	NSCLC	I/II	NCT05236608	118
PF-05082566	MK-3475 (Pembrolizumab)	Tumores sólidos avançados	I	NCT02179918	119
Anticorpo biespecífico 4-1BBxPD-L1					
ABL503	N/A	Tumor sólido avançado	I	NCT04762641	120
ES101			I	NCT04009460	121
INBRX-105			I	NCT03809624	122
Anticorpo triespecífico 4-1BB/PD-L1/Albumina sérica humana					
NM21-1480	N/A	Tumor sólido avançado, NSCLC	I/II	NCT04442126	123
Inibidor da IDO1					
Epacadostat	Pembrolizumab	Cancro do ovário de células claras maligno ou recorrente	II	NCT03602586	124
		Cancro urotelial	III	NCT03361865	125
			III	NCT03374488	126
	Durvalumab	HNSCC metastático ou recorrente	III	NCT03358472	127
		Tumores sólidos avançados	I/II	NCT02318277	128
		Tumores sólidos	I/II	NCT03347123	129
Pembrolizumab + Quimioterapia	Tumores sólidos metastáticos ou avançados	I/II	NCT03085914	130	
Inibição do CLEVER-1					
Bexmarilimab (FP-1305)	N/A	Cancro	I/II	NCT03733990	131
	Pembrolizumab	NSCLC	I	NCT05171062	132

Abreviaturas: CRC: cancro colorretal. HCC: carcinoma hepatocelular. HNSCC: carcinoma de células escamosas cabeça e pescoço. IL: Interleucina. mAb: anticorpo monoclonal. N/A: não aplicável. NSCLC: cancro pulmonar de células não pequenas. RCC: carcinoma das células renais. TIL: *tumor-infiltrating lymphocytes*. TNF: Fator de necrose tumoral.

Atezolizumab: mAb anti-PD-L1. Avelumab: mAb anti-PD-L1. Bevacizumab: mAb anti-VEGFA. Ciclofosfamida: agente quimioterapêutico. Durvalumab: anti-PD-L1. Entinostat: Inibidor da histona desacetilase 1 e histona desacetilase 3. Epacadostat: inibidor da IDO1. GVAX: vacina contra o cancro pancreático. Ipilimumab: mAb anti-CTLA4. Nivolumab: mAb anti-PD-1. PDR001: anti-PD-1. Pembrolizumab: mAb anti-PD-1. RO7009789: Agonista do CD40. Tremelimumab: anti-CTLA4. Urelumab: Agonista do CDI37.

* M9241 é o nome dado à combinação NHS-IL12, uma imunocitocina dirigida ao tumor, consistindo na fusão entre duas moléculas IL12 e o anticorpo NHS76 reconhecedor de complexos DNA/histona do tumor. De realçar que o M9241, em monoterapia, conseguiu aumentar a proliferação e ativação de células do SI e APCs, além de reduzir a densidade e a função de células imunossupressoras. A propósito, aumentou a infiltração de células T CD8⁺, efeito que se verificou superior ao combinar o M9241 com o avelumab.¹³³

** CAR *T-meso cells*: células autólogas transduzidas lentiviralmente para expressarem o fragmento variável da cadeia curta (scFv) anti-mesotelina fundido aos domínios coestimulatórios TCRζ e 4-1BB.⁹⁹

Anexo III: Terapias antiangiogénicas aprovadas pela FDA para o tratamento de tumores sólidos

Fármaco	Molécula(s) alvo	Tipos de tumor	Ref.
Anticorpos monoclonais			
Bevacizumab	VEGFA	Cancro cervical; CRC; Glioblastoma, HCC; Carcinoma hepatocelular; NSCLC não escamoso; Cancro epitelial do ovário, das trompas de Falópio, ou peritoneal primário; RCC	17, 134
Ramucirumab	VEGFR2	CRC; HCC; NSCLC; Adenocarcinoma do estômago; Adenocarcinoma da junção gastroesofágica	17, 134
Inibidores da Tirosina Cinase			
Axitinib	VEGFR1, 2, 3; PDGFRs; KIT	RCC avançado	17, 134, 135
Cabozantinib	VEGF; MET; AXL	Cancro da tiroide diferenciado; HCC; RCC	17, 134, 135
Levatinib	VEGFR1, 2, 3; FGFRs; PDGFRA; KIT; RET	Carcinoma do endométrio; HCC; RCC; Cancro da tiroide	17, 134
Pazopanib	VEGFR1, 2, 3; PDGFRA, B; c-KIT; FGFR1, 3	RCC; Sarcoma dos tecidos moles	134, 135
Regorafenib	VEGFR1, 2, 3; TIE2; PDGFR; FGFR; KIT; RET; RAF1; BRAF	CRC; HCC; Tumor stromal gastrointestinal	17, 134, 135
Sorafenib	VEGFR1, 2, 3; PDGFRs; RAF; KIT	HCC; RCC; Cancro da tiroide	134, 135
Sunitinib	VEGFR1, 2, 3; PDGFs; KIT; FLT3; CSF1R; RET	Tumor do estroma gastrointestinal; Cancro pancreático; RCC	134, 17
Levatinib	VEGFR1, 2, 3; FGFRs, PDGFRA; KIT; RET	Carcinoma do endométrio; HCC; RCC; Cancro da tiroide	134, 17
Proteínas de fusão recombinantes			
Ziv-aflibercept (VEGF-trap)	VEGFA, B; PIGF	CRC	134, 17
Inibidores do MTOR com efeitos antiangiogénicos			
Everolimus	MTOR	Cancro da mama; Cancro pancreático; Cancro gastrointestinal; Cancro pulmonar; RCC; Astrocitoma subependimário de células gigantes	134, 17

Abreviaturas: AXL: *AXL receptor tyrosine kinase*. BRAF: *B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase*. CRC: cancro colorretal. CSF1R: *colony stimulating factor 1 receptor*. FGFR: recetor do fator de crescimento fibroblástico. FLT3: *fms related receptor tyrosine kinase 3*. HCC: carcinoma hepatocelular. KIT: *KIT proto-oncogene, receptor tyrosine kinase*. MET: *MET proto-oncogene, receptor tyrosine kinase*. MTOR: *mechanistic target of rapamycin kinase*. NSCLC: cancro pulmonar de células não pequenas. PDGFRA: *platelet derived growth factor receptor alpha*. PIGF: *placental growth factor*. RAF1: *Raf-1 proto-oncogene, serine/threonine kinase*. RCC: carcinoma das células renais. RET: *ret proto-oncogene*. VEGF: fator de crescimento endotelial vascular. VEGFR: recetor do fator de crescimento endotelial vascular.

Anexo IV: Ensaios clínicos principais a decorrer que combinam agentes antiangiogénicos e inibidores de *immune checkpoint*

Agente antiangiogénico	Inibidores de <i>Immune Checkpoint</i>	Tipo de tumor	Identificação do ensaio clínico	Fase	Estado	Ref.
Bevacizumab	Atezolizumab	HCC	NCT02715531	I	Concluído	136
			NCT02715531	I	Concluído	136
		RCC	NCT01984242	II	Concluído	136
			NCT04017455	II	Recrutando	22
		CRC	NCT02873195	II	Ativo, não recrutando	22
	NCT02982694		II	Terminado	136 137	
	HCC, Cancro hepatocelular	NCT05185505	IV	Ainda não recrutando	22	
Ipilimumab	Melanoma	NCT00790010	I	Ativo, não recrutando	136	
Nivolumab	NSCLC	NCT01454102	I	Concluído	136	
	CRC	NCT04072198	II	Recrutando	136	
Axitinib	Avelumab	RCC	NCT02493751	I	Concluído	136
	Toripalimab	Melanoma	NCT03086174	I	Ativo, não recrutando	136
	Nivolumab	Melanoma avançado	NCT04493203	II	Recrutando	22
Cabozantinib	Ipilimumab/ Nivolumab	Melanoma cutâneo refratário	NCT05200143	II	Recrutando	22
	Nivolumab	Tumor carcinoide	NCT04197310	II	Recrutando	22
		Cancro da mama	NCT03316586	II	Concluído	22
Ramucirumab	Pembrolizumab	NSCLC	NCT02443324	I	Concluído	136
	Durvalumab		NCT02572687	I	Concluído	138
	Nivolumab	Mesotelioma	NCT03502746	II	Ainda não recrutando	22
Apatinib	Nivolumab	Cancro	NCT03396211	I	Ativo, não recrutando	22
	SHR-1210 (Camrelizumab)	HCC	NCT02942329	I	Desconhecido	136
AL3818 (Anlotinib)	Nivolumab	NSCLC, Sarcoma dos tecidos moles, Tumor sólido	NCT04165330	I/II	Recrutando	22
Tivozanib	Nivolumab	RCC	NCT04987203	III	Recrutando	22
			NCT03136627	I/II	Concluído	136
Regorafenib	Nivolumab	Carcinoma hepatocelular	NCT04170556	I/II	Recrutando	22
Lenvatinib	Pembrolizumab	HCC	NCT03006926	I	Ativo, não recrutando	136
Vanucizumab	Atezolizumab	Tumor sólido	NCT02715531	I	Concluído	139
		Tumor sólido metastático ou avançado	NCT01688206	I	Concluído	140

Abreviaturas: CRC: cancro colorretal. HCC: carcinoma hepatocelular. NSCLC: cancro pulmonar de células não pequenas. RCC: carcinoma das células renais.

Anlotinib TKI antiangiogénico. Apatinib: TKI anti-VEGFR2. Atezolizumab: mAb anti-PD-L1. Avelumab: mAb anti-PD-L1. Axitinib: TKI antiangiogénico. Bevacizumab: mAb anti-VEGFA. Cabozantinib: TKI antiangiogénico. Camrelizumab: mAb anti-PD-1. Durvalumab: mAb anti-PD-L1. Ipilimumab: mAb anti-CTLA4. Lenvatinib: TKI antiangiogénico. Nivolumab: mAb anti-PD-1. Pembrolizumab: mAb anti-PD-1. Ramucirumab. mAb anti-VEGFR2. Regorafenib: TKI antiangiogénico. Tivozanib: TKI anti-VEGFR. Toripalimab: mAb anti-PD-1.

Anexo V: Combinações entre agentes anti-VEGF e inibidores de *immune checkpoint* dirigidos ao eixo PD-I/PD-LI que foram aprovadas pela FDA ou concluíram os ensaios clínicos de fase III

Combinação de fármacos	Tipo de tumor	Identificação do ensaio clínico	Fase	Estado
Bevacizumab + Atezolizumab	HCC avançado ou metastático intratável	NCT03434379	Aprovado pela FDA	Concluído
Bevacizumab + Atezolizumab + Carboplatin + Paclitaxel	NSCLC não escamoso metastático intratável	NCT02366143	Aprovado pela FDA	Concluído
Bevacizumab + Pembrolizumab + Quimioterapia baseada em platina	Cancro cervical metastático ou irresssecável recorrente	NCT03635567	Aprovado pela FDA	Concluído
Lenvatinib + Pembrolizumab	Carcinoma do endométrio avançado refratário	NCT03517449, NCT04865289, NCT03884101	Aprovado pela FDA	Ativo
Lenvatinib + Pembrolizumab	RCC metastático/avançado intratável	NCT02811861	Aprovado pela FDA	Ativo, não recrutando
Cabozantinib + Nivolumab	RCC metastático/avançado intratável	NCT03141177	Aprovado pela FDA	Ativo, não recrutando
Axitinib + Pembrolizumab	RCC metastático/avançado intratável	NCT02853331	Aprovado pela FDA	Ativo, não recrutando
Axitinib + Avelumab	RCC metastático/avançado intratável	NCT02684006	Aprovado pela FDA	Ativo, não recrutando
Bevacizumab + Atezolizumab	RCC intratável	NCT02420821	III	Concluído
Bevacizumab + Nivolumab + Carboplatin + Paclitaxel	NSCLC não escamoso metastático intratável	NCT03117049	III	Ativo, não recrutando
Bevacizumab + Nivolumab + Quimioterapia	CRC metastático	NCT03414983	II/III	Falhou ao atingir o <i>endpoint</i> de sobrevivência livre de progressão

Abreviaturas: CRC: cancro colorretal HCC: carcinoma hepatocelular. NSCLC: cancro pulmonar de células não pequenas. RCC: carcinoma das células renais.

Atezolizumab: mAb PD-L1. Avelumab: mAb anti-PD-L1. Axitinib: TKI antiangiogénico. Bevacizumab: mAb VEGFA. Cabozantinib: TKI agente antiangiogénico. Carboplatin: fármaco quimioterapêutico. Lenvatinib: TKI agente antiangiogénico. Nivolumab: mAb PD-I. Paclitaxel: fármaco quimioterapêutico. Pembrolizumab: mAb PD-I. Adaptado de ⁷⁸