

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - CCB
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Karoline Almeida Lima

**ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO PD-L1 EM PACIENTES COM CÂNCER DE
PULMÃO DE NÃO PEQUENAS CÉLULAS NA REGIÃO SUL DO BRASIL**

Florianópolis

2019

Karoline Almeida Lima

**ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO PD-L1 EM PACIENTES COM CÂNCER DE
PULMÃO DE NÃO PEQUENAS CÉLULAS NA REGIÃO SUL DO BRASIL**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.
Orientador: Dr. Daniel Cury Ogata

Florianópolis
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Lima, Karoline Almeida

Análise da expressão do PD-L1 em pacientes com câncer de pulmão de não pequenas células na região sul do Brasil / Karoline Almeida Lima ; orientador, Daniel Cury Ogata, 2019.

35 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Biomarcador. 3. PD-L1. 4. Imunoterapia. 5. Câncer de Pulmão. I. Ogata, Daniel Cury. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

Karoline Almeida Lima

**ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO PD-L1 EM PACIENTES COM CÂNCER DE
PULMÃO DE NÃO PEQUENAS CÉLULAS NA REGIÃO SUL DO BRASIL**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de
“Bacharel” e aprovado em sua forma final pelo Curso Ciências Biológicas

Florianópolis, 27 de Novembro de 2019.

Prof. Dr. Carlos Roberto Zanetti
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Dr. Daniel Cury Ogata
Orientador
Universidade do Vale do Itajaí - UNIVALI

Dra. Ana Angélica Steil
Avaliadora
Universidade do Vale do Itajaí - UNIVALI

Lic. Janaine de Oliveira Paiva
Avaliadora
Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e da Missões - URI

Este trabalho é dedicado a Deus, aos meus amados pais e a todos os pacientes oncológicos que lutam diariamente contra essa terrível malignidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sua Graça que me permitiu chegar até aqui, e em seguida aos meus pais, Rosa Serpa Almeida e Aguinaldo Almeida, que se esforçaram desde o início da minha graduação para que eu pudesse cursar uma faculdade e realizar meu grande sonho de me tornar Bacharel em Ciências Biológicas, mesmo em meio a diversas dificuldades acreditaram em mim e hoje posso dar-lhes esse orgulho.

Quero agradecer também ao meu esposo Morisson Adriano Almeida Lima, que me auxiliou em toda a jornada de escrita e execução do Trabalho de Conclusão de Curso, que diversas vezes assumiu as minhas responsabilidades para que eu pudesse focar na escrita deste trabalho, me apoiou emocionalmente e sempre acreditou no meu potencial, e também por toda a paciência que teve comigo enquanto eu passava noites escrevendo o mesmo.

Gostaria de agradecer também ao meu orientador Dr. Daniel Cury Ogata que aceitou de prontidão me orientar na execução desse projeto, e que disponibilizou juntamente com o Dr. Clóvis Klock os dados para que o mesmo pudesse ser realizado. E meu muito obrigada ao Dr. Rafael Simas que me auxiliou durante toda a elaboração desse projeto, que me aconselhou, corrigiu e direcionou diversas vezes para os melhores caminhos a serem seguidos, sem o senhor talvez eu não estaria defendendo esse trabalho hoje. Gratidão!

Também, meus agradecimentos a Dr. Ana Angélica Steil, minha ex-coordenadora de curso e atual banca avaliadora que me apoiou e esteve comigo do início do projeto até a conclusão do trabalho, dando todo o suporte necessário, e a bióloga Janaine Paiva que aceitou o convite para ser minha banca avaliadora, após ter sido minha mentora durante meu período de estágio na Anatomia Patológica.

Um agradecimento especial a minha colega e amiga de curso, Collini Cristina Pinheiro, que dividiu comigo grande parte da graduação e a fez ser mais suportável, que me ajudou a sorrir quando as coisas com o TCC não iam bem, e foi um porto seguro dentro da universidade.

Por fim, gostaria de agradecer as minhas irmãs Alessandra Almeida Penha e Silvana Almeida Araújo, e meus cunhados George de Souza Penha e Lucas Araújo, por todo apoio durante a minha trajetória, por todos os conselhos e por terem sido uma base para que eu pudesse chegar até aqui.

Ao meu pastor Bruno Colonetti a minha gratidão por todo o suporte emocional e os conselhos, e aos meus líderes e toda a família das igrejas Onda Dura Itajaí e Onda Dura Florianópolis que foram fundamentais para que eu concluísse esse trabalho.

Obrigada, de coração, a todos que foram essenciais na execução do presente trabalho.

RESUMO

O câncer de pulmão de não pequenas células (CPNPC) geralmente é diagnosticado em estadios avançados. Este, é a principal causa de morte por câncer no mundo. Uma tática utilizada pela malignidade para passar despercebida pelo sistema imunológico do paciente é a expressão da proteína PD-L1 na superfície do tumor, essa proteína se liga ao receptor PD-1 que se encontra na célula T citotóxica, inibindo a proliferação dessas células, sendo assim um mecanismo de evasão imune. Um tratamento promissor, nesses casos, é a imunoterapia, que possui toxicidade relativamente mais baixa em comparação com outras terapias. A imunoterapia é geralmente utilizada em segunda linha associada a outras terapias, mas a partir do estudo *Keynote-024*, tem sido considerada também a monoterapia em primeira linha, ou associada à quimioterapia, empregando um anticorpo monoclonal, dependendo do subtipo de câncer pulmonar do paciente. O presente projeto buscou avaliar a expressão do biomarcador PD-L1 em pacientes com CPNPC na região Sul do Brasil, e traçar assim um perfil para a expressão do biomarcador a partir das variáveis de expressão. Os dados utilizados na pesquisa foram obtidos a partir de um banco de dados pertencente a um laboratório de Anatomia Patológica privado, sendo 281 laudos diagnósticos dos anos de 2017 e início de 2018, os dados coletados foram submetidos a análises estatísticas utilizando o teste qui-quadrado. Os dados demonstraram uma maior prevalência de homens expressando a proteína, além da dominância de expressão na faixa etária entre 51 e 70 anos, e o subtipo que acusou em maior número a presença de PD-L1 foi o Adenocarcinoma. Entre a população de estudo foi possível observar a predominância da positividade para expressão de PD-L1, representando 49,47% da amostra.

Palavras-chave: Imunoterapia. Biomarcador. Carcinoma.

ABSTRACT

Usually Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) is diagnosed at an advanced stage. This is the leading cause of cancer death in the world. One tactic for malignant cells not be recognized by the patient's immune system is the PD-L1 protein expression on the tumor surface. This protein binds to the PD-1 receptor which is found on cytotoxic T cells and this causes an inhibition of proliferation of these cells, therefore an immune evasion mechanism. In this case a promising treatment is immunotherapy which has a relatively lower toxicity compared to other therapies. Generally, immunotherapy is used in second line, but from Keynote-024 study it is also have been considered in the first line associated with chemotherapy or used individually for the treatment, employing a monoclonal antibody depending on the patient's lung cancer subtype. This Project aimed to evaluate the expression of the PD-L1 biomarker in patients with NSCLC in southern Brazil in order to profile biomarker expression from expression variables. The data used in the research were obtained from a database belonging to a private Pathological Anatomy laboratory with 281 diagnostic reports from 2017 and early 2018. The collected data were submitted to statistical analysis using the chi-square test. Data showed a higher prevalence of protein expression in men besides the dominance of expression in the age group between 51 and 70 years and the subtype that most reported PD-L1 was Adenocarcinoma. Among the study population it was possible to observe the predominance of positivity PD-L1 expression, representing 49.47% of the sample.

Keywords: Immunotherapy. Biomarker. Carcinoma.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados da expressão de PD-L1 na população Sul brasileira.....	24
Tabela 2 - Epidemiologia do câncer de pulmão de não pequenas células na região Sul do Brasil, conforme subtipo histológico	26
Tabela 3 – Dados da expressão de PD-L1 na população do Sul do Brasil conforme subtipo histológico.....	27

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Porcentagem da expressão de PD-L1 na população do Sul do Brasil.....	22
Gráfico 2 - Porcentagem da distribuição de sexo da amostra coletada.	23
Gráfico 3 - Porcentagem da distribuição de idade da amostra total.....	23
Gráfico 4 – Porcentagem da distribuição de subtipo histológico da amostra total. ...	25
Gráfico 5 – Porcentagem da expressão de PD-L1 em cada subtipo histológico.	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CAAE Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CEC Carcinoma de Células Escamosas/Carcinoma Espinocelular

CEP Comitê de Ética e Pesquisa

CPNPC Câncer de Pulmão de Não Pequenas Células

FDA *Food and Drug Administration*

INCA Instituto Nacional do Câncer

PD-1 *Programmed Cell Death 1*

PD-L1 *Programmed Cell Death-Ligand 1*

TCLE Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFSC Universidade Federal de Santa Catarina

UNIVALI Universidade do Vale do Itajaí

WCLC *World Conference on Lung Cancer*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	CÂNCER DE PULMÃO	13
1.2	CÂNCER DE PULMÃO DE NÃO PEQUENAS CÉLULAS.....	14
1.3	PD-L1.....	15
1.4	IMUNOTERAPIA.....	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL.....	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3	METODOLOGIA	19
3.1	COLETA DE DADOS ANATOMOPATOLÓGICOS	19
3.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	20
3.3	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	20
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
4	RESULTADOS	22
5	DISCUSSÃO	29
6	CONCLUSÃO.....	31
	REFERÊNCIAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

1.1 CÂNCER DE PULMÃO

Segundo o Instituto Nacional do Câncer – INCA (2018), o câncer de pulmão é o tipo de câncer mais incidente no mundo. Este tipo de câncer possui um alto índice de mortalidade, o que se deve, principalmente, à dificuldade de diagnosticar o câncer em fases iniciais, sendo descoberto quando em um estadiamento avançado e comprometendo outros órgãos, geralmente com metástases. Esta dificuldade surge devido a uma variedade histológica bastante complexa, e aos mecanismos de carcinogênese serem heterogêneos e prejudiciais mesmo no estágio inicial, conforme a *American Cancer Society* (2018).

O câncer de pulmão tem uma maior incidência em fumantes, pois o tabagismo é o maior fator de risco para o mesmo, aumentando em 40 vezes as chances de desenvolver câncer de pulmão. Outros fatores etiológicos são a predisposição genética e a exposição ambiental (MCKAY; HUNG; BRENNAN, 2008). Em sua maioria, os pacientes diagnosticados com câncer de pulmão possuem entre 65 e 74 anos. Contudo, os mais jovens não estão ilesos à doença, e estudos anteriores revelam uma maior incidência de câncer pulmonar em homens do que em mulheres (SEER, 2016). Na região Sul do Brasil o câncer de pulmão é o segundo mais frequente em homens, e o terceiro mais frequente em mulheres (INCA, 2016).

Segundo o *National Cancer Institute* dos EUA as estimativas para 2017 eram de 222.500 novos casos de câncer pulmonar, com 155.870 mortes estimadas para aquele país. A última estimativa mundial demonstrou 1,8 milhões de novos casos de câncer de pulmão, com 1,6 milhões de óbitos (INCA, 2018). Entre os anos de 2007 e 2013 a porcentagem de sobrevivência a este câncer foi de 18,1% nos EUA (SEER, 2016). O câncer pulmonar é considerado tão agressivo devido a sua alta razão mortalidade/incidência (M/I) de 90%.

Com base nos dados de 2012 a 2014 do SEER, 6,4% da população será diagnosticada com câncer de pulmão em algum momento de sua vida. No entanto, o estadiamento do câncer no momento do diagnóstico é de suma importância nas taxas de sobrevivência, apresentando 55,6% de chances de sobreviver de cinco anos quando o câncer é encontrado no sítio primário. Segundo levantamento de dados do SEER infelizmente apenas 16% dos casos de câncer

pulmonar são diagnosticados no sítio primário, seguido por 22% com linfonodos regionais, já a maior parte é diagnosticada em graus de metástase com 57% dos casos.

1.2 CÂNCER DE PULMÃO DE NÃO PEQUENAS CÉLULAS

O câncer de pulmão pode ser subdividido em duas classes, o de pequenas células que representa de 10 a 15% dos casos registrados, e o de não pequenas células que representa de 80 a 85% dos casos. O câncer de pulmão de não pequenas células (CPNPC), se refere a um crescimento e mutação desordenada das células epiteliais, sendo um tumor maligno que pode crescer em diferentes áreas entre a traqueia à periferia do pulmão (KUMAR *et al.*, 2013).

O CPNPC é subdividido de acordo com a origem das células tumorais em três classes, sendo elas o Adenocarcinoma, o Carcinoma de Células Escamosas (CEC) e o Carcinoma de Grandes Células. O primeiro se dá quando o câncer inicia nas células que revestem os alvéolos e locais com produção de muco, normalmente em áreas externas. O Adenocarcinoma cresce mais lentamente do que os outros subtipos de CPNPC e é o mais comum em não fumantes, responsável por 40% de incidência na população. O Carcinoma de Células Escamosas, é um segundo subtipo de CPNPC, conhecido também como Epidermóide, que corresponde de 25 a 30% da incidência de CPNPC, tendo sua origem nas células escamosas que revestem o interior das vias aéreas, na região central dos pulmões e perto de um dos brônquios. E por fim o Carcinoma de Grandes Células, um subtipo mais raro, responsável por apenas 10 a 15% dos casos de carcinoma pulmonar, no entanto é um dos mais agressivos, pode surgir em qualquer área do pulmão e se dissemina rapidamente (CHABNER; LONGO, 2015).

O tratamento depende do estadiamento e das características do câncer, existindo diversas formas de tratamento para o CPNPC como a cirurgia, quimioterapia e radioterapia. Porém, tem sido cada vez mais relevante o uso da imunoterapia no tratamento dos carcinomas pulmonares, esta tem se tornado padrão ouro no tratamento de CPNPC após diversos estudos comparando a sobrevida global pós imunoterapia em comparação à quimioterapia, onde a primeira tem resultado no aumento da taxa de sobrevida global em relação a segunda (HELLMANN *et al.*, 2019).

1.3 PD-L1

O corpo humano se autodefende das células cancerígenas através do sistema imune, com o sistema de vigilância imunológica (MELLMAN; CHEN, 2013). Em condições normais as células tumorais são reconhecidas pelo sistema imunológico levando a uma resposta imune anticancerígena, o que causa a morte celular do câncer. Entretanto, as células tumorais exploram o sistema regulatório do sistema imune para não serem detectadas, este mecanismo é conhecido como evasão da resposta imune, dentre os mecanismos de evasão do sistema imunológico utilizados pelo tumor, destacasse a expressão da molécula PD-L1.

O PD-1 (Sigla em inglês para *Programmed Cell Death 1*) é um receptor expresso nas células T ativadas (ISHIDA *et al.*, 1992), e um dos seus ligantes PD-L1 (Sigla em inglês para *Programmed death-ligand 1*) é expresso na superfície de macrófagos e células dendríticas. Estes têm um papel importante na manutenção da homeostase imune (TOPALIAN; DRAKE; PARDOLL, 2012), ambos são da família das proteínas que atuam como fatores co-inibitórios na regulação do sistema imunológico, diminuindo a proliferação de células T, ou interrompendo-a para proteger as células normais de danos colaterais e minimizar inflamações crônicas auto-ímmunes (MACKENSEN; BLANK; GAJEWSKI, 2005). As células tumorais utilizam essa via de controle, para evadir a detecção e inibir a resposta imune. O PD-L1 é expresso seletivamente em alguns tumores (PARDOLL, 2012), sendo um deles o CPNPC, fazendo com que ele resista ao ataque imunológico ao induzir a tolerância de células T específicas. Este tumor liga-se ao receptor inibitório PD-1 que regula negativamente as atividades citolíticas das células CD4 e CD8 infiltrantes de tumores no próprio microambiente do tumor, e inibindo assim a produção de citocinas (KEIR *et al.*, 2008).

Estas propriedades tornaram o PD-L1 um alvo promissor para imunoterapia contra a doença (CHEN; KIM, 2016). Pesquisas anteriores sobre a via PD-L1 propuseram a estratégia de reativação de respostas imunes antitumorais através da inibição do PD-L1, pois estudos comprovaram que a inibição da interação entre PD-L1 e PD-1 potencializou as respostas imunes *in vitro* (HERBST; BASS; KIM, 2016).

1.4 IMUNOTERAPIA

Geralmente a imunoterapia passa a ser uma opção de tratamento a partir do estadió IV do CPNPC, pois nesse estágio o câncer já está disseminado. Após alguns anos de testes e pesquisas, se confirmou a regressão tumoral com o bloqueio de PD-L1, utilizando alguns anticorpos específicos, como o anticorpo monoclonal IgG4 (S228P), de alta afinidade e totalmente humano BMS-936559 (BRAHMER *et al.*, 2012), específico para PD-L1 que inibe a sua ligação a PD-1, também com Atezolizumabe que tem como alvo a proteína PD-L1, bloqueando-a para o aumento da resposta imunológica. O estudo *Keynote-024* possibilitou o uso de imunoterapia também em primeira linha, sendo monoterapia ou associada à quimioterapia, empregando o anticorpo monoclonal Pembrolizumabe, levando em consideração o subtipo de câncer pulmonar do paciente (RECK, *et al.* 2016). Após monitoramento de 3 anos, a atualização do *Keynote-024*, estudo de fase III com Pembrolizumabe, apresentou benefícios de sobrevida global a longo prazo e sobrevida livre de progressão em comparação com quimioterapia à base de platina. Apresentando taxa de sobrevida global de 43,7% em 36 meses, em relação aos 24,9% no braço da quimioterapia (RECK *et al.*, 2019).

Em 2015 foi liberado pela FDA (*Food and Drug Administration*), o uso de Nivolumabe (BMS-936558, Opdivo®), um anticorpo monoclonal IgG4 totalmente humano que liga-se ao PD-1 bloqueando-o, em carcinoma escamoso de pulmão avançado, e logo após a liberação foi estendida para carcinoma não escamoso de pulmão, com o resultado de atividade antitumoral (CORTINOVIS *et al.*, 2016), tendo uma melhora na sobrevida global de 9,4 meses para 12,2 meses, ou seja 19%, segundo dados apresentados no I Simpósio de Câncer de Pulmão, realizado em 2017, no estado de São Paulo.

Outras drogas foram liberadas após apresentarem resultados positivos de sobrevida global, como o Pembrolizumabe (MK-3475, Keytruda®), anticorpo monoclonal de IgG4 que se liga ao PD-1, e o Atezolizumabe (MPDL3280A), anticorpo monoclonal IgG1 que se liga ao PD-L1, que apresentou 31% de resultado em 2 anos, conforme dados apresentados no Congresso Mundial de Pulmão (WCLC), em 2017. Foram registrados em estudos anteriores randomizados, uma melhora de sobrevida global de 19% a 31% de pacientes submetidos ao tratamento com imunoterapia utilizando os anticorpos Nivolumabe, Pembrolizumabe e

Atezolizumabe, segundo dados compartilhados no Simpósio de Câncer de Pulmão e Atualização Pós-Congresso Mundial de Pulmão (2017).

Mais recentemente foi aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA o uso de Durvalumabe (MEDI-4736), uma imunoglobulina anti PD-L1, que não afeta a ligação PD-1 com PD-L2 evitando a imuno-toxicidade que está atrelada a essa ligação. O seu nome comercial é IMFINZI®, produzido pela AstraZeneca e indicado para o tratamento de pacientes com CPNPC estágio III irressecável (HUI *et al.*, 2019). A liberação foi baseada no estudo PACIFIC III que demonstrou aumento da sobrevida livre de progressão significativamente mais longa em pacientes tratados com Durvalumabe, em comparação a pacientes tratados com placebo (ANTONIA *et al.*, 2017).

Sendo o PD-L1 um potencial biomarcador (QUEZADA; PEGGS, 2013), através dos exames para descobrir o estadió do tumor, são decididas as opções de tratamento para determinado tipo de câncer. Se tratando do CPNPC, utilizando a imuno-histoquímica é possível analisar a expressão do biomarcador PD-L1 na superfície tumoral. Após o diagnóstico, é discutido então o possível início do tratamento com imunoterapia, visando a regressão ou estacionamento do tumor (RECK, *et al.* 2016), sendo que a expressão do PD-L1 é um fator essencial, em muitos casos, para a submissão do paciente ao tratamento, o que impulsionou a realização deste trabalho.

Tendo em vista que a produção de conteúdo no Brasil é relativamente escassa em relação ao assunto, este é um trabalho pioneiro na região Sul, para agregar conhecimento a patologistas acerca do assunto, e facilitar o início do tratamento com anticorpos em pacientes com câncer de pulmão de não pequenas células na região, sendo que poucos laboratórios brasileiros fazem os testes para PD-L1, pois é uma técnica relativamente nova no país. Além de contribuir para eventuais futuras pesquisas na área, em busca de traçar um mapa epidemiológico da expressão do PD-L1 em portadores da malignidade brasileiros, o presente estudo buscou aumentar a compreensão sobre os microambientes tumorais em pacientes diagnosticados com câncer de pulmão de não pequenas células, e fazer correlações segundo os perfis encontrados no Sul do país, para o tratamento através de imunoterapia.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a expressão imuno-histoquímica do biomarcador PD-L1 em pacientes com câncer de pulmão de não pequenas células na região Sul do Brasil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a expressão do PD-L1 nas células tumorais de Adenocarcinoma e Carcinoma de Células Escamosas (Epidermóide), de pacientes da região Sul brasileira;
- Obter um perfil de pacientes com câncer de pulmão de não pequenas células no Sul do Brasil que expressam PD-L1;

3 METODOLOGIA

3.1 COLETA DE DADOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Os laudos de biópsias brônquicas e pleurais (pulmonares) de pacientes portadores de carcinoma pulmonar de não pequenas células (CPNPC), foram obtidos a partir do banco de dados do laboratório de anatomia patológica privado Medicina Diagnóstica®, com o objetivo de obter o subtipo histológico de carcinoma do paciente. Foram utilizados também, laudos imuno-histoquímicos da expressão de PD-L1 dos mesmos pacientes, para obter os dados da expressão do biomarcador nas células tumorais. Tais laudos foram provenientes de exames realizados pelo laboratório, em casos referentes aos anos de 2017 e início de 2018, oriundos de diversas clínicas pertencentes ao Sul do país.

A identidade dos pacientes, cujos laudos foram utilizados no presente estudo, foi mantida em anonimato no banco de dados, sendo os pacientes discriminados por códigos alfanuméricos, tal alteração foi realizada pelo fiel guardião dos dados.

Os materiais para análise dos casos foram previamente recebidos na recepção do laboratório, acondicionados em formalina tamponada 10%, seguindo todos trâmites técnicos padrões para emblocamento em parafina. Em alguns casos os mesmos foram recebidos já emblocados em parafina, provenientes de clínicas da região Sul do país. A partir dos blocos foram confeccionadas lâminas histológicas, submetidas a coloração pelo método Hematoxilina de Harris – Eosina (DAKO, 2017).

Quando coradas, cada lâmina foi analisada por dois médicos patologistas, e se necessária era solicitada uma revisão por um terceiro patologista. Então, foram solicitados os anticorpos específicos para a análise da expressão do PD-L1, através do processo de imuno-histoquímica. Foi utilizado o anticorpo 22C3 PharmDx, pelo uso da plataforma automatizada Autostainer Link 48 - Dako.

Foram empregados em cada teste, células ou tecidos com expressão conhecida de PD-L1, que servem para assegurar o controle interno, tanto positivo quanto negativo.

Foram utilizados para a presente pesquisa 281 laudos diagnósticos. A amostra foi estratificada, tendo como variáveis o gênero, o subtipo histológico, a expressão de PD-L1 e a faixa etária dos pacientes. A classificação da proporção tumoral (% de pelo menos 100 células tumorais viáveis que demonstram coloração de membrana parcial ou completa), foi interpretada considerando os seguintes valores:

- <1% = sem expressão de PD-L1 (negativo)
- 1-49% = baixa expressão de PD-L1 (positivo)
- $\geq 50\%$ = alta expressão de PD-L1 (positivo)

3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Crítérios de inclusão: (1) Laudos anatomopatológicos referentes a 2017 e início de 2018 de biópsias pulmonares provenientes de clínicas do Sul do Brasil, pertencentes ao banco de dados do laboratório de anatomia patológica Medicina Diagnóstica®. (2) Laudos imuno-histoquímicos referentes a pacientes com carcinoma pulmonar de não pequenas células, com expressão de PD-L1, pertencentes ao laboratório de anatomia patológica Medicina Diagnóstica®.

Crítérios de exclusão: (1) Dados clínicos incompletos (idade, gênero, subtipo histológico e expressão de PD-L1); (2) Laudos clínicos nos quais conste resultado classificado como "indefinido".

3.3 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O presente estudo fez uso de análise de banco de dados, portanto solicitou-se a dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), comprometendo-se a acessar estes dados somente após a aprovação deste projeto pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP). O mesmo foi concedido mediante a justificativa de se tratar de pacientes com doença avançada (CPNPC metastático/irressecabilidade tumoral), muitos destes indivíduos provavelmente já foram a óbito, inviabilizando a assinatura do TCLE, ou estavam em intenso tratamento e fase terminal podendo ser gerada uma situação de desconforto aos familiares.

Para manter a integridade dos pacientes e o seu anonimato foram criados códigos alfanuméricos para sua identificação. O projeto passou pela aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade do Vale do Itajaí – UNIVALI, com Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) de número 85375918.5.0000.0120, sendo aprovado pelo mesmo, com parecer de número 2.778.796.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

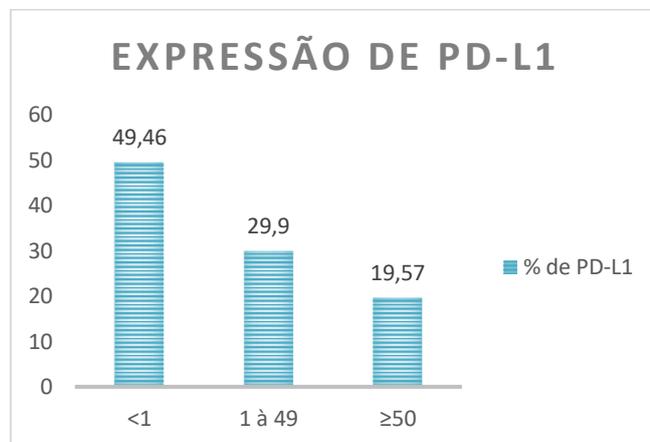
A análise de dados se deu a partir do teste estatístico qui-quadrado (χ^2), considerando as variáveis presentes na pesquisa, sexo, expressão de PD-L1, subtipo histológico e faixa etária. Foi empregado o teste estatístico para realizar uma comparação de gêneros em relação a expressão de PD-L1. A comparação das faixas etárias em relação a expressão do biomarcador ocorreu a partir de uma padronização das faixas etárias em 30 a 50 anos, 51 a 70 anos e 71 a 90 anos, e o mesmo teste foi utilizado para analisar se havia diferença de expressão da proteína nos dois diferentes subtipos histológicos analisados. Ambos os testes utilizaram um nível de significância de 0,05.

4 RESULTADOS

Durante o presente estudo, foram analisadas 281 amostras tumorais de câncer de pulmão de não pequenas células da região Sul do Brasil. Destas, uma amostra foi considerada sem células tumorais, uma com ausência de neoplasia e outra possuía resultado inconclusivo, estas foram excluídas do N final para análise estatística por não se adequarem aos critérios de inclusão. Ainda, através dos resultados obtidos, observou-se que 139 casos (49,46%) foram negativos para expressão de PD-L1 (expressão <1%), enquanto a positividade de expressão do biomarcador predominou em 49,47% dos casos, equivalente a 139 amostras tumorais positivas. Estes dados podem ser observados de forma gráfica a seguir.

Dentre os resultados da região Sul do Brasil considerados positivos, 84 amostras (29,9%) possuíam baixa expressão de PD-L1 (expressão entre 1% a 49%). E, observou-se que 55 casos (19,57%) apresentaram alta expressão de PD-L1 (amostras com expressão igual ou superior a 50%). Estes dados estão exemplificados no gráfico 1.

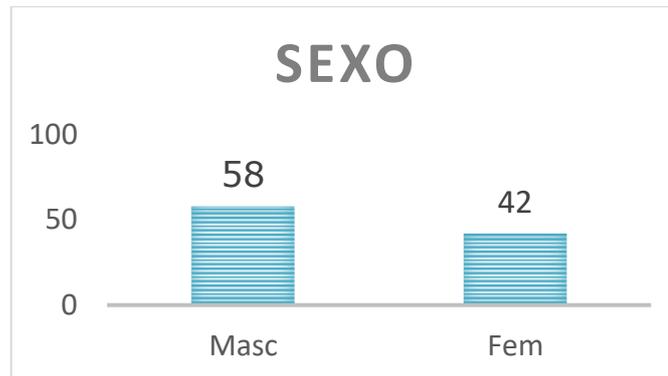
Gráfico 1 - Porcentagem da expressão de PD-L1 na população do Sul do Brasil.



Fonte: Elaborada pela autora. (2019)

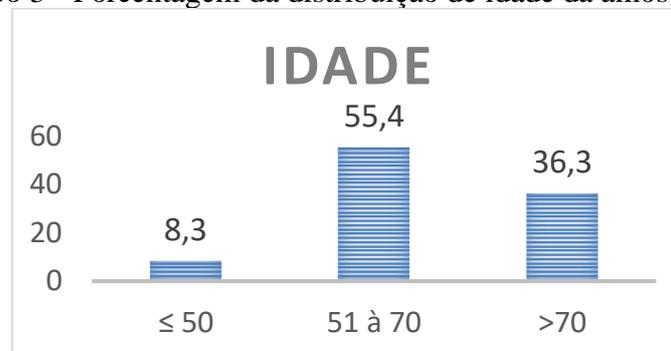
Ao considerar a variável dos sexos das amostras analisadas, dos 281 casos, 163 são do sexo masculino (58%) e 118 do sexo feminino (42%). Além do mais, ao avaliar o sexo no grupo sem expressão de PD-L1 no presente estudo, 67 casos (48,20%) são do sexo feminino e 72 casos (51,80%) do sexo masculino. Os gráficos 2 e 3 apresentam o número de indivíduos total de cada sexo, e o número de indivíduos de cada idade, respectivamente.

Gráfico 2 - Porcentagem da distribuição de sexo da amostra coletada.



Fonte: Elaborada pela autora. (2019)

Gráfico 3 - Porcentagem da distribuição de idade da amostra total.



Fonte: Elaborada pela autora. (2019)

Ao analisar a variável do grupo considerado sem expressão de biomarcador, observou-se que 74 casos, que correspondem a 53,24% do número amostral, possuem faixa etária entre 51 a 70 anos, destaca-se que 40 casos (54,05%) são mulheres e 34 (45,95%) são homens. Foi possível observar, que 50 casos (35,97%) possuem faixa etária entre 71 a 90 anos. Destes, 17 (34%) mulheres e 33 (66%) homens. Ainda, dentro desse grupo amostral, constatou-se que 15 casos (10,79%) possuem entre 30 a 50 anos, sendo 10 (66,66%) do sexo feminino e 5 (33,34%) do sexo masculino.

Já os casos com baixa expressão, apresentaram 32 casos (38,10%) do sexo feminino e 52 (61,90%) do sexo masculino. Analisando as variáveis de idade e sexo deste grupo, observou-se que 53 indivíduos possuem faixa etária entre 51 a 70 anos, o que corresponde a 63,09% deste número amostral e, destaca-se que 23 são mulheres e 30 homens. Dos 25 casos acima dos 71 anos, 7 (28%) são do sexo feminino e 18 (72%) do masculino. Dentre os 6 casos com faixa etária entre 33 a 48 anos, observou-se que 2 (33,33%) são do sexo feminino e 4 (66,67%) do sexo masculino.

Ao explorar os casos com expressão acima de 50% de PD-L1, 17 (30,91%) deles são mulheres e 38 (69,09%) são homens. Verificou-se que o grupo com maior número amostral possuía faixa etária de 51 a 70 anos, apresentando 32 casos (58,18%). Destes, 11 (20%) indivíduos do sexo feminino e 21 (38,18%) do sexo masculino. Além disso, ao explorar o grupo com faixa etária superior a 71 anos, onde foram analisadas 18 (32,72%) amostras, sendo 3 (16,67%) correspondentes a indivíduos do sexo feminino e 15 (83,33%) do sexo masculino. No grupo amostral com idades entre 46 a 50 anos, obteve-se a análise de 5 casos (9,09%) com elevada expressão de PD-L1, sendo 3 casos (60%) mulheres e 2 (40%) homens.

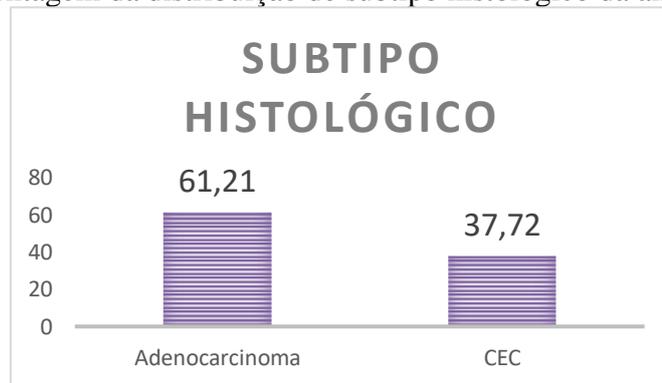
Tabela 1 - Dados da expressão de PD-L1 na população Sul brasileira

Expressão PD-L1	Nº Casos	%	Idade	Nº de Casos Por Idade	% por Idade	Sexo	Nº de Casos por Sexo	% por Sexo
< 1%	139	49,46	30 -50	15	5,33	Feminino	10	3,55
						Masculino	5	1,78
			51 -70	74	26,34	Feminino	40	14,24
						Masculino	34	12,1
			71 -90	50	17,79	Feminino	17	6,05
						Masculino	33	11,74
1% a 49%	84	29,9	30 -50	6	2,14	Feminino	2	0,71
						Masculino	4	1,43
			51 -70	53	18,86	Feminino	23	8,19
						Masculino	30	10,67
			71 -90	25	8,9	Feminino	7	2,49
						Masculino	18	6,41
50% a 100%	55	19,57	30 -50	5	1,78	Feminino	3	1,07
						Masculino	2	0,71
			51 -70	32	11,39	Feminino	11	3,92
						Masculino	21	7,47
			71 -90	18	6,4	Feminino	3	1,07
						Masculino	15	5,33
Ausência de Células Tumorais	1		71 -90	1		Masculino	1	
Ausência de Neoplasia Inconclusivo	1	1,07	30 -50	1	1,07	Feminino	1	1,07
Total	281	100	-	281	100	-	281	100

Fonte: Elaborada pela autora. (2018)

Quando se tratando dos subtipos histológicos analisados, Adenocarcinoma e Carcinoma Escamoso (CEC), 172 casos foram positivos para Adenocarcinoma, equivalente a 61,21% da amostra, sendo 89 homens (31,67%) e 83 mulheres (29,54%). Outros 106 casos foram positivos para CEC, equivalendo a 37,72% da amostragem, sendo 73 casos do sexo masculino (25,93%) e 33 casos do sexo feminino (11,74%), tais dados podem ser observados no gráfico 4.

Gráfico 4 – Porcentagem da distribuição de subtipo histológico da amostra total.



Fonte: Elaborada pela autora. (2019)

Os três casos classificados como inconclusivo, ausência de neoplasia ou ausência de células tumorais, representam 1,07% da amostra total, sendo 2 do sexo feminino e 1 do sexo masculino. Estes dados estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Epidemiologia do câncer de pulmão de não pequenas células na região Sul do Brasil, conforme subtipo histológico

Histologia	Nº Casos	%	Sexo	Nº Casos	%
Adenocarcinoma	172	61,21	Masculino	89	31,67
			Feminino	83	29,54
Carcinoma Escamoso	106	37,72	Masculino	73	25,98
			Feminino	33	11,74
Ausência de células tumorais	1	1,07	Masculino	1	1,07
Ausência de neoplasia	1		Feminino	1	
Inconclusivo	1		Feminino	1	
Total	281	100	-	281	100

Fonte: Elaborada pela autora. (2018)

Considerando a correlação dos subtipos histológicos com a expressão de PD-L1 na região Sul do Brasil, o maior número de casos, 95, correspondeu a Adenocarcinoma sem expressão de PD-L1, contudo nesse mesmo subtipo houveram 77 casos positivos para a expressão do biomarcador, sendo 31 deles de alta expressão, correspondendo a 11,03% da amostragem total, onde 20 casos eram do sexo masculino (7,12%) e 11 casos de sexo feminino (3,91%). Dentro do grupo que expressava entre 1% a 49% de PD-L1 houve 26 casos masculinos (9,25%) e 20 casos femininos (7,12%).

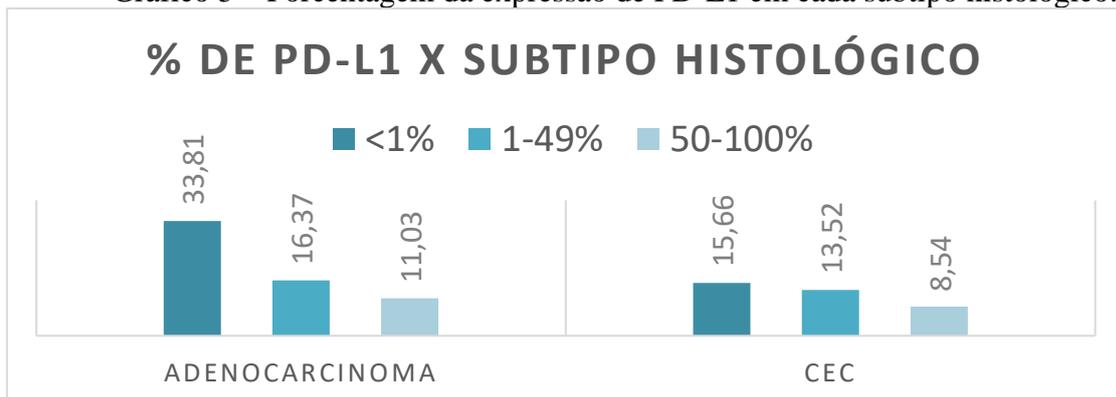
Ao explorar o subtipo histológico Carcinoma Escamoso, observou-se 44 casos com expressão negativa (15,66%), 38 casos com expressão entre 1% e 49%, equivalente a 13,52% da amostra, em que 26 eram homens (9,25%) e 12 eram mulheres (4,27%). E, 24 casos possuíram alta expressão de PD-L1 (acima de 50%), o que equivale a 8,54% da amostra total, sendo 18 homens (6,41%) e 6 mulheres (2,13%). É possível analisar esses dados com maior clareza através da Tabela 3 e do gráfico 5.

Tabela 3 – Dados da expressão de PD-L1 na população do Sul do Brasil conforme subtipo histológico.

Histologia	Expressão de PD-L1	Nº Casos	%	Sexo	Nº de Casos por Sexo	% por Sexo
Adenocarcinoma	< 1%	95	33,81	Masculino	43	15,3
				Feminino	52	18,51
	1% a 49%	46	16,37	Masculino	26	9,25
				Feminino	20	7,12
	50% a 100%	31	11,03	Masculino	20	7,12
				Feminino	11	3,91
Carcinoma Escamoso	< 1%	44	15,66	Masculino	29	10,32
				Feminino	15	5,34
	1% a 49%	38	13,52	Masculino	26	9,25
				Feminino	12	4,27
	50% a 100%	24	8,54	Masculino	18	6,41
				Feminino	6	2,13
Ausência de células tumorais	-	1		Masculino	1	
Ausência de neoplasia	-	1	1,07	Feminino	1	1,07
Inconclusivo	-	1		Feminino	1	
Total	-	281	100	-	281	100

Fonte: Elaborada pela autora. (2018)

Gráfico 5 – Porcentagem da expressão de PD-L1 em cada subtipo histológico.



Fonte: Elaborada pela autora. (2019)

A análise de dados se deu a partir do teste estatístico qui-quadrado (χ^2), considerando as variáveis presentes na pesquisa, sexo, expressão de PD-L1, subtipo histológico e faixa etária. O teste foi empregado para realizar uma comparação de gêneros em relação a expressão de PD-L1. A comparação das faixas etárias em relação a expressão do biomarcador,

levando em consideração a padronização das faixas etárias (30 a 50 anos, 51 a 70 anos e 71 a 90 anos), e a análise das frequências dos subtipos histológicos correlacionadas com a expressão da proteína. Ambos os testes utilizaram um nível de significância de $p < 0,05$.

Ao realizar a análise, a expressão de PD-L1 foi proporcional entre as faixas etárias, apresentando $p=0,638$. Em ambos os sexos a porcentagem de expressão de PD-L1 mostrou se comportar de forma semelhante, sem discrepâncias significativas entre os gêneros, com $p=0,186$. Nos dois subtipos histológicos, Adenocarcinoma e CEC, houve a mesma tendência de comportamento, obtendo-se $p=0,554$.

5 DISCUSSÃO

Através dos resultados obtidos no presente trabalho, observou-se que 139 pacientes foram negativos para a expressão de PD-L1 (expressão <1%), e outros 139 pacientes foram positivos para a expressão da molécula. Estes dados apontam que a expressão de PD-L1 na região Sul do Brasil encontra-se um pouco inferior aos achados publicados anteriormente na Itália em estudo semelhante acerca da expressão do biomarcador em pacientes com câncer de pulmão de não pequenas células (D'INCECCO *et al.*, 2015).

Contudo, se tratando da variável sexo, os dados obtidos neste estudo possuem similaridade aos resultados das análises realizadas por D'Incecco e colaboradores, uma vez que durante a análise desse grupo de pesquisadores observou-se a prevalência de 53,60% dos indivíduos do sexo masculino e 46,40% sendo do sexo feminino, e no presente trabalho obteve-se a prevalência de 58% de indivíduos do sexo masculino e 42% indivíduos do sexo feminino. Outro estudo realizado em Barretos – São Paulo, evidenciou que 63,85% das amostras pertenciam ao sexo masculino e 36,14% pertenciam ao sexo feminino (PINTO, 2016).

Além do mais, ao avaliar o sexo no grupo que não expressa a proteína, foram levantados 67 casos do sexo feminino e 72 casos do sexo masculino, demonstrando pouca relação com a análise realizada pelos pesquisadores da Universidade de Pisa (D'INCECCO *et al.*, 2015), por outro lado, os dados analisados em São Paulo, corroboram com os resultados obtidos através deste trabalho. Durante a revisão da literatura, foi verificada uma variação dos resultados da expressão de PD-L1 em diferentes cenários epidemiológicos

Correlacionando os dados obtidos na região Sul do Brasil, pelo presente trabalho, e pelos pesquisadores de Barretos (PINTO, 2016), observa-se semelhança entre os dados colhidos. Estes dados indicam que apesar da miscigenação da população brasileira, os achados patológicos dos pacientes portadores de câncer de pulmão entre as regiões Sul e Sudeste do Brasil possuem similitude epidemiológica.

Todas as análises obtiveram $p > 0,05$, pois as frequências ocorreram de maneira proporcional, no entanto, os dados locais obtidos neste trabalho são de grande relevância, uma vez que a expressão de PD-L1 irá direcionar o tratamento imunoterápico e a resposta do tratamento.

Acredita-se que a análise estatística não significativa tem correlação com o tamanho da amostra, sendo necessário expandir o N amostral e realizar novas análises para obter-se resultados mais contundentes e estatisticamente significantes. Além disso, recomenda-se

realizar a amostragem e coleta de dados para as demais regiões do país, para que se obtenha informações da realidade da população brasileira em sua totalidade.

6 CONCLUSÃO

Ao realizar o presente estudo foi possível observar que os dados coletados corroboram com dados outrora coletados e analisados em outras regiões do Brasil, e com dados expostos em estudos realizados em outros países para se obter um perfil de pacientes que expressam PD-L1 na superfície tumoral. Também, os dados são semelhantes ao perfil já conhecido de pacientes com Câncer de Pulmão, tendo a prevalência do sexo masculino, e indivíduos acima de 51 anos.

Tornou-se possível a partir dos resultados do presente trabalho traçar um perfil de predominância da expressão de PD-L1 positiva em 49,47% da amostra, sendo que o subtipo histológico que mais expressou a proteína foi o Adenocarcinoma, e observou-se que o sexo masculino apontou maior expressão do biomarcador. A faixa etária de predominância da expressão positiva foi entre 51 e 70 anos. Contudo os valores foram próximos, sem grandes discrepâncias, tendendo ao mesmo comportamento em todas as variáveis analisadas.

REFERÊNCIAS

- American Cancer Society. **Non-Small Cell Lung Cancer**. Disponível em: <
<https://www.cancer.org/cancer/non-small-cell-lung-cancer.html>>. Acesso em: 02 Mai 2018.
- ANTONIA, S. J.; VILLEGAS, A.; DANIEL, D. *et al.* Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. **The New England Journal of Medicine**. 377, p 1919-1929, Nov 2017. DOI: 10.1056/NEJMoa1709937
- BRAHMER, J.R. *et al.* Safety and Activity of Anti-PD-L1 Antibody in Patients with Advanced Cancer. **The New England Journal of Medicine**. 366, p 2455-2465, Jun 2012. DOI: 10.1056/NEJMoa1200694
- CHABNER, B. A.; LONGO D. L. **Manual de Oncologia de Harrison**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Artmed, 2015.
- CHEN, D.S.; KIM, J.M. Immune escape to PD-L1/PD-1 blockad: seven steps to success (or failure). **Annals of Oncology**. v. 27, ed.8, p 1492-1504, Mai 2016. DOI:10.1096/annonc/mdw217.
- CORTINOVIS, D.L.; CANOVA S.; ABBATE, M; COLONESE, F., BIDOLO, P. Focus on Nivolumab in NSCLC. **Frontiers in Medicine**. 3, p 67, Dez 2016. DOI: 10.3389/fmed.2016.00067.
- DAKO. **Dako Harris Hematoxylin**, 2017. Disponível em: <
https://www.agilent.com/cs/library/packageinsert/public/D38534PT_02.pdf>. Acesso em: 12 de Dezembro de 2019.
- D'INCECCO, A.; ANDREOZZI, M.; LUDOVINI, V. *et al.* PD-1 and PD-L1 expression in molecularly selected non-small-cell lung cancer patients. **British Journal of Cancer**, v.112, p 95-102. Jan 2015. DOI: 10.1038/bjc.2014.555

HELLMANN, M.M.; ARES, L.P.; CARO, R.B. *et al.* Nivolumab plus Ipilimumab in advanced non-small-cell lung cancer. **The New England Journal of Medicine**. Set 2019. DOI: 10.1056/nejmoa1910231.

HERBST, R.S.; BASS, P.; KIM, D.W. *et al.* Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1 positive, advanced non small cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomized controlled trial. **The Lancet** v. 387, ed.10027, p 1540-1550, Abril 2016.

HUI, R.; OZGUROGLU, M.; VILLEGAS, A. *et al.* Patient-reported outcomes with Durvalumab after chemoradiotherapy in stage III, unresectable non-small-cell lung cancer (PACIFIC): a randomised, controlled, phase 3 study. **The Lancet Oncology**. Out, 2019. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30519-4.

INFOLAUDO. **Notícias: Infolaudo é um dos únicos laboratórios no país a oferecer exame inovador gratuito para diagnóstico de câncer pulmonar**, 2017. Disponível em: < <http://infolaudo.com.br/#noticias> > Acesso em: 25 de Julho, 2017.

Instituto Nacional do Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA). **Estimativa 2018/2019 – Incidência de Câncer no Brasil**. Disponível em: < <http://www1.inca.gov.br/estimativa/2018/introducao.asp> >. Acesso em: 12 Dez 2019.

ISHIDA Y.; AGATA Y.; SHIBAHARA K.; HONJO T. Induced expression. of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. **The EMBO journal**. Nov 1992.

KEIR, M.E.; BUTTE, M.J.; FREEMAN, G.J.; SHARPE A.H. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. **Annual Review of Immunology**. v. 26, p 677-704, Abril 2008. DOI:10.1146/annurev.immunol.26.021607.090331.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. **Robbins – Patologia Básica**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda., 2013.

MACKENSEN, A. BLANK, C.; GAJEWSKI, T.F. Interaction of PD-L1 on tumor cells with PD-1 on tumor-specific T cells as a mechanism of immune evasion: implications for tumor immunotherapy. **Cancer immunology, Immunotherapy**. v.54, ed.4, p 307-314, Abril 2005.

MCKAY D. J.; HUNG R. J.; BRENNAN P. *et al.* A Susceptibility Locus for Lung Cancer Maps to Nicotinic Acetylcholine Receptor Subunit Genes on 15Q25. **Nature, International Journal of Science**. v. 452, p. 633-637, Abril 2008. DOI: 10.1038/nature06885

MELLMAN I.; CHEN D. S. Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle. **Immunity**. V.39, ed. 1, p 1-10, Jul 2013. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.012.

National Cancer Institute (SEER). **Cancer Stat Facts: Lung and Bronchus Cancer**. Disponível em: <<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/lungb.html>> . Acesso em: 18 Set 2017.

PARDOLL, D.M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. **Nature Reviews Cancer**. 12, p 252-264, Mar 2012. DOI: 10.1038/nrc3239.

PINTO, G. D. J. Avaliação da expressão do biomarcador PD-L1 em tecido tumoral de pacientes portadores de carcinoma de pulmão e correlação com dados clínicos e demográficos. Barretos, SP 2016. Disponível em: <<http://www.hcancerbarretos.com.br/upload/doc/89f05cb670539c0a67c3487ec4825abf.pdf>>. Acesso em: 02 Set 2018.

QUEZADA, S.A.; PEGGS, K.S.; Exploiting CTLA-4, PD-1 and PD-L1 to reactivate the host immune response against cancer. **British Journal of Cancer**. v.108, p 1560-1565, Abril 2013. DOI: 10.1038/bjc.2013.117

RECK, M.; RODRIGUEZ, A. D., ROBINSON, A. G. *et al.* Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1 positive non small cell lung cancer. **The New England Journal of Medicine**. p 1823-1833, 2016.

RECK, M.; RODRIGUEZ, A. D., ROBINSON, A. G. *et al.* Updated analysis of KEYNOTE-024: Pembrolizumab versus chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer with PD-L1 tumor proportion score of 50% or greater. **Journal of Clinical Oncology**. p 537-546, Mar 2019. DOI: 10.1200/jco.18.00149

SIMPÓSIO DE CÂNCER DE PULMÃO E ATUALIZAÇÃO PÓS-CONGRESSO MUNDIAL DE PULMÃO (WCLC 2017), 1, 2017, São Paulo. **Anais eletrônicos**. São Paulo: Simpósio Câncer de Pulmão, 2017. Disponível em: <
<http://www.simposiocancerdepulmao.com.br/site/simposiocapulmao/palestras>> Acesso em: 21 Nov 2017.

TOPALIAN, S.L.; DRAKE, C.G.; PARDOLL D.M. Targeting the PD-1/B7-H1 (PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. **Current opinion in Immunology**. v.24, ed. 2, p 207-212, Jan 2012. DOI: 10.1016/j.coi.2011.12.009.