



Elucidando a imunovigilância e imunoeedição tumoral: uma revisão abrangente

Elucidating tumor immunosurveillance and immunoediting: a comprehensive review

Estela Vieira de Souza Silva¹ , Eduardo de Paula Nascente¹ , Marina Pacheco Miguel¹ , Carlos Eduardo Fonseca Alves² , Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura^{1*}

¹Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brasil

²Universidade Estadual Paulista (Unesp), Bauru, São Paulo, Brasil

*Correspondente - vdmoura@ufg.br

Resumo

A ação do sistema imunológico contra as enfermidades neoplásicas tem se tornado uma das principais fontes de pesquisa na atualidade. As vias biológicas desse sistema são conhecidas por contribuir na limitação da progressão e na eliminação do tumor, e são delineadas por conceitos e mecanismos de imunovigilância e imunoeedição. A imunovigilância é considerada o processo pelo qual o sistema imunológico reconhece e inibe o processo neoplásico. O conceito de imunoeedição tem origem no sentido de que o sistema imune é capaz de moldar o perfil antigênico do tumor devido à pressão seletiva, baseada nas etapas de eliminação, equilíbrio e evasão tumoral. A resposta imunológica ocorre contra antígenos tumorais e modificações do microambiente tumoral, envolvendo diferentes componentes do sistema imune inato, como células T, células natural Killer, linfócitos B e macrófagos. Nesse sentido, conhecer esses conceitos e compreender seus respectivos mecanismos torna-se essencial na investigação de novas estratégias de prevenção e combate ao câncer. Dessa forma, esta revisão apresenta aspectos históricos e definições de imunovigilância e imunoeedição tumoral, com ênfase em sua importância e aplicabilidade, assim como aos diferentes métodos utilizados em imunoterapia.

Palavras-chave: imunocompetência; imunologia tumoral; imunoterapia; progressão tumoral; sistema imune

Abstract

The action of the immune system against neoplastic diseases has become one of the main sources of research. The biological pathways of this system are known to contribute in limiting the progression and elimination of the tumor, and are delineated by concepts and mechanisms of immunosurveillance and immunoediting. Immunosurveillance is considered the process by which the immune system recognizes and inhibits the neoplastic process. The concept of immunoediting arises in the sense that immune system is able to shape the antigenic profile of the tumor due to selective pressure, based on the stages of

Recebido em
06 de abril de 2021
Aceito em
22 de junho de 2021
Publicado
23 de julho de 2021.

www.revistas.ufg.br/vet

Como citar - disponível no site, na página do artigo.

tumor elimination, balance and evasion. The immune response occurs against tumor antigens and changes in the tumor microenvironment, involving different components of the innate immune system, such as T cells, natural Killer cells, B lymphocytes and macrophages. In this sense, knowing these concepts and understanding their respective mechanisms becomes essential in the investigation of new strategies for cancer prevention and cure. Thus, this review presents historical aspects and definitions of immunosurveillance and tumor immunoeediting, with emphasis on its importance and applicability, such as on the different methods used in immunotherapy.

Keywords: immunocompetence; tumor immunology; immunotherapy; tumor progression; immune system

Introdução

O termo imunidade, do latim *immunitas*, foi utilizado, ao longo da História, para explicar a proteção de um organismo contra enfermidades, especialmente aquelas de origem infecciosa. Células e moléculas que compunham a imunidade passaram a ser referidas como sistema imune, e o conjunto de suas ações frente a ameaças como resposta imune, sendo a imunologia o ramo da ciência desenvolvido para o estudo desses constituintes. Com o decorrer do tempo, tornou-se claro que o sistema imune não respondia apenas a agentes infecciosos, mas a qualquer agente e/ou substância considerados estranhos ao organismo, incluindo aqueles de origem neoplásica⁽¹⁻⁴⁾.

Em meados do século XX, a descoberta de novos componentes celulares do sistema imune, como as células linfoides natural killer (NK), assim como o aprofundamento dos estudos envolvendo a origem e o desenvolvimento neoplásico, conduziram à formulação de teorias que correlacionam a atuação do sistema imune à presença de células tumorais. A possibilidade de que respostas imunes seriam capazes de erradicar tumores por completo, em seus estágios iniciais de desenvolvimento, levou ao conceito da imunovigilância tumoral⁽⁵⁻⁸⁾.

Diante novas descobertas, no entanto, observou-se que os processos imunológicos desencadeados na tentativa de eliminação das células tumorais, ao contrário do desejado, poderiam exercer forte influência na progressão da doença por meio de pressões seletivas indiretas. Portanto, o conceito de imunovigilância envolve a imunoeedição tumoral, a qual é caracterizada por três etapas: eliminação das células tumorais pela ação imune; equilíbrio entre o sistema imune e os componentes neoplásicos remanescentes; e evasão da neoplasia aos componentes imunes^(5,6,9).

Diante das inter-relações do sistema imune e as neoplasias, linhas de pesquisa visando reestabelecer a efetividade imunológica antitumoral são desenvolvidas, a exemplo dos protocolos de imunoterapia, que têm apresentado resultados promissores e possuem como princípio a inativação dos mecanismos de evasão das células tumorais pelas células imunes^(7,10,11). Assim, este estudo teve como objetivo apresentar aspectos

históricos e definições da imunovigilância e imunoeedição tumoral, destacando sua importância e implicações.

Imunovigilância tumoral – Percalços ao longo da História

Em 1909, o cientista Paul Ehrlich propôs que mecanismos de defesa naturais de um indivíduo seriam capazes de combater células tumorais e impedir o desenvolvimento neoplásico. Ehrlich acreditava que com o envelhecimento e a renovação celular, seria normal o desenvolvimento de células atípicas, as quais, em sua maioria, permaneceriam latentes graças à capacidade do organismo de bloquear sua evolução. Contudo, o conhecimento restrito acerca do tema nesse período e a limitação de provar experimentalmente tal hipótese, a conduziram ao esquecimento por anos^(6,12).

No início da década de 50, os pesquisadores Lewis Thomas e Frank MacFarlane Burnet sugeriram que antígenos específicos de células tumorais, referidos como neoantígenos, eram capazes de induzir reação imunológica contra o câncer, dando início à teoria da imunovigilância tumoral^(1,12). Segundo Dunn *et al.*⁽⁵⁾, Burnet assim definiu a imunovigilância tumoral: *Em grandes animais de vida longa, como na maioria dos vertebrados de sangue quente, modificações genéticas hereditárias devem ser comuns em células somáticas e uma parte dessas modificações irá representar um passo mais próximo a malignidades. Há uma necessidade evolutiva de que deveria haver algum mecanismo para a eliminação e inativação de células mutantes tão potencialmente perigosas e é postulado que esse mecanismo é de caráter imunológico.*

Diante do potencial científico e médico permeando a imunovigilância, nas décadas seguintes foram realizados inúmeros experimentos visando confirmar ou refutar suas suposições. Fundamentada em uma possível ação do sistema imune sobre células tumorais com origem no próprio organismo, a maioria dos experimentos realizados entre as décadas de 60-80 visava avaliar se indivíduos imunocomprometidos apresentavam maior incidência neoplásica do que aqueles imunocompetentes^(5,6). Para isso, em diversos estudos a imunossupressão foi induzida em camundongos através de timectomia, uso de fármacos ou agentes anti-linfocitários, esperando maior desenvolvimento de tumores espontâneos ou quimicamente induzidos, comparado a camundongos controle com sistema imune eficiente. Contudo, os resultados foram contraditórios, pois animais imunossuprimidos e imunocompetentes apresentaram índices similares de desenvolvimento tumoral^(5,13).

Na década de 1960 foram descobertas linhagens de ratos com mutações gênicas que resultam na deterioração ou ausência do timo (athymic nude mouse)^(5,6), sendo esses animais naturalmente imunossuprimidos por sua incapacidade de gerar linfócitos T maduros. Essa descoberta contribuiu para o estudo de enfermidades que cursam com imunossupressão, inclusive na tentativa de comprovar a teoria da imunovigilância. No entanto, os resultados permaneceram semelhantes àqueles de experimentos anteriores, sem diferenças significativas na manifestação neoplásica entre indivíduos imunocomprometidos e imunocompetentes. O fato desses resultados não terem

contribuído para a confirmação da imunovigilância, levaram ao seu abandono pelos estudiosos, os quais partiram para outras vertentes do estudo da imunologia tumoral^(5,13,14).

No início de 1970, com a confirmação da existência das células linfoides NK e a possibilidade da atuação destas como ferramentas efetoras da imunovigilância, reascendeu a curiosidade no meio científico acerca a teoria. No entanto, o pouco conhecimento e a dificuldade de compreensão quanto a ação das células NK, logo levaram a teoria da imunovigilância a ser novamente ignorada^(10,15,16).

Em meados da década de 1990, duas novas descobertas foram responsáveis por reaver o interesse nessa teoria. A primeira foi a produção endógena de interferon gama (IFN- γ), uma proteína capaz de proteger o hospedeiro contra o crescimento de células tumorais transplantadas, impedindo o desenvolvimento de tumores quimicamente induzidos e aqueles espontâneos⁽¹⁷⁾. A segunda descoberta evidenciou que certas linhagens de camundongos que não produziam perforinas eram mais susceptíveis ao desenvolvimento de tumores quimicamente induzidos quando comparadas às linhagens que a produziam. As perforinas são proteínas componentes dos grânulos citotóxicos de linfócitos T (LT) e células NK, e exercem importante função na mediação da morte de diferentes tipos celulares, dentre os quais as células tumorais, ao facilitar a entrada de granzimas, proteases citolíticas, ao seu interior⁽¹⁸⁻²⁰⁾.

Diante disso, ficou claro à época que componentes do sistema imune estavam diretamente relacionados ao controle primário do desenvolvimento neoplásico^(2,5). A confirmação da imunovigilância tumoral, contudo, ocorreu no final da década de 1990, em pesquisas com camundongos portadores de mutações gênicas que culminavam na ausência de genes de ativação de recombinação 1 e 2 (RAG-1 e RAG-2). Os RAG são fundamentais ao processo de desenvolvimento e maturação de linfócitos B (LB), LT e NK, resultando sua ausência em grave imunodeficiência^(21,22). Assim, experimentos com linhagens de camundongos imunodeficientes comprovaram, sem margens à dúvida, que os linfócitos eram responsáveis pelo combate e prevenção de neoplasias, tanto induzidas quanto espontâneas^(6,23).

A partir de então foram criadas, através da manipulação genética, outras linhagens de cobaias com alterações gênicas específicas que resultam na deficiência de importantes componentes do sistema imune. Estudos com esses animais comprovaram a teoria da imunovigilância tumoral e a importância de seus constituintes aos níveis genético, químico e molecular⁽²³⁾. Atualmente, a imunovigilância tumoral é definida como os processos de monitoramento, detecção e eliminação de células tumorais no organismo antes que essas originem massas neoplásicas^(1,13).

Imunoeedição tumoral – uma necessidade evolutiva

Após a comprovação da imunovigilância, outras linhas de pesquisa buscaram responder o porquê do desenvolvimento de neoplasias em indivíduos imunocompetentes, já que, em teoria, seus mecanismos de imunovigilância seriam íntegros e funcionais. Diante

disso, foram postuladas teorias envolvendo a seleção de fenótipos celulares neoplásicos pouco imunogênicos, ou seja, capazes de estimular menor resposta imune, sendo, dessa maneira, aptos a sobreviver e proliferar⁽¹²⁾ (Figura 1).

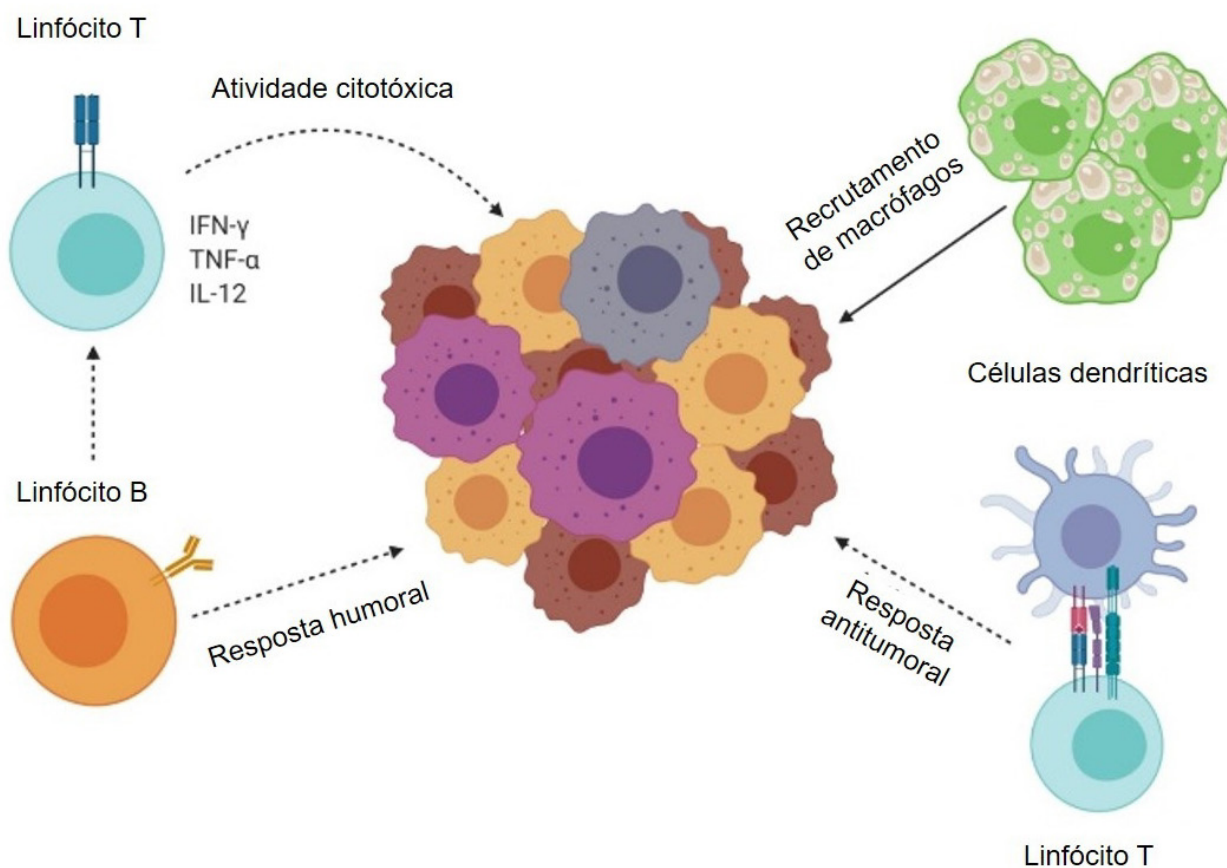


Figura 1 -Interação entre as células tumorais e diferentes células do sistema imunológico. Normalmente, as células tumorais são heterogênicas, o que permite escapar da imunovigilância. Os linfócitos T são responsáveis pela imunidade antitumoral citotóxica e os linfócitos B pela resposta humoral. Esta resposta humoral também está associada à apresentação de antígenos antitumorais por células dendríticas e macrófagos são recrutados para células tumorais fagocitárias.

Experimentos mostraram que indivíduos imunodeficientes apresentam variantes de células tumorais com maior potencial imunogênico do que indivíduos imunocompetentes, demonstrando que o sistema imune do hospedeiro, de fato, exerce influência na seleção de células tumorais com maior aptidão à sobrevivência. Células estas, capazes de resistir à ação imunológica de supressão tumoral do organismo por meios diversos, comumente referidos como mecanismos de evasão tumoral^(5,13).

Diante da descoberta de que o sistema imunológico pode tanto prevenir quanto contribuir para o desenvolvimento neoplásico, a hipótese inicial da imunovigilância, que incluía a detecção e o combate de células tumorais pelo sistema imune,

precisou ser complementada. Nesse contexto, em 2002, Gavin Dunn e Robert Schreiber propuseram o conceito de imunoeedição tumoral, que abrange aspectos da imunovigilância e do processo de progressão tumoral^(13,24). A imunoeedição tumoral, portanto, representa o aspecto ambíguo do sistema imune frente às neoplasias, sendo a definição baseada em três etapas referenciadas como “os três Es da imunoeedição do câncer”: eliminação, equilíbrio e evasão^(6,23,25).

A fase de eliminação abrange o conceito e os mecanismos da imunovigilância, ou seja, o sistema imune se mobiliza à detecção e eliminação de células tumorais antes da proliferação. Essas ações envolvem componentes do sistema imune inato, como células NK, linfócitos gama delta ($T\gamma\delta$) e macrófagos, e aqueles do sistema imune adquirido, como linfócitos T citotóxicos (LTC) $CD8^+$, linfócitos T auxiliares ou helper (TH) $CD4^+$, linfócitos T reguladores (Treg) e $LB^{(1,26,27)}$.

A resposta imune pode ser iniciada frente a antígenos tumorais e/ou alterações estromais que ocorrem no microambiente neoplásico. O remodelamento estromal induzido pelas células tumorais induz a liberação de mediadores pró-inflamatórios que, associados à liberação de citocinas pelas células tumorais, promove a migração de componentes celulares inflamatórios ao local da neoplasia. Uma vez recrutadas, células NK, $T\gamma\delta$ e macrófagos reconhecem moléculas ligadas às células tumorais através de ligantes, como proteínas transmembrana NKG2D e complexos glicolipídeos CD1, por exemplo^(6,28,29).

Após o reconhecimento das células tumorais, há liberação de $IFN-\gamma$ pelos linfócitos, induzindo a produção local de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, que promovem o recrutamento de mais células imunes do sistema imune inato. Dentre estas, os macrófagos que, por sua vez, liberam interleucina 12 (IL-12), que induz o recrutamento de células NK, promovendo um sistema de feedback positivo. A crescente produção de $IFN-\gamma$ ativa cascatas de eventos associados, como a liberação de mediadores que impedem ou reduzem a proliferação celular, e de substâncias pró-apoptóticas e angiostáticas, processos que resultam na eliminação de maior número de células tumorais. Em adição, macrófagos ativados por $IFN-\gamma$ liberam ainda espécies reativas de oxigênio (ROS), enzimas lisossomais, óxido nítrico (ON) e fator de necrose tumoral alfa ($TNF-\alpha$), todos com ação tumoricida⁽⁴⁾. Com a morte de células tumorais, ocorre aumento na liberação de antígenos tumorais no meio e subsequente ativação do sistema imune adquirido⁽⁶⁾.

Nesse sentido, células dendríticas (CD) são ativadas pela exposição a citocinas ou interação com células NK e aquisição de antígenos do meio. As CD ativadas migram aos linfonodos regionais, onde induzem a proliferação de LT $CD4^+$ que, por sua vez, estimulam a multiplicação de LT $CD8^+$ através da apresentação antigênica realizada pelo complexo maior de histocompatibilidade I (MHC-I), processo mediado pelas CD^(27,30,31).

O desenvolvimento de uma resposta imune específica à neoplasia possibilita ao organismo hospedeiro a eliminação do tumor em desenvolvimento. Células $CD4^+$ e $CD8^+$ identificam antígenos tumorais expressos pelas células tumorais e promovem sua eliminação por meio de uma série de mecanismos^(1,6). LT $CD4^+$ produzem interleucina dois (IL-2) que, em associação à interleucina 15 (IL-15), produzida pelas

células do organismo, estimulam a produção e manutenção de LT CD8+. Estes, por sua vez, podem induzir a morte de células tumorais de forma direta, através da secreção de perforinas, e indireta, pela produção de altas taxas de IFN- γ , processos que frequentemente ocorrem de forma concomitante^(19,32).

Segundo Dunn *et al*⁽⁶⁾, a etapa de eliminação da imunoeedição do câncer é um processo contínuo, que precisa ser repetido cada vez que células tumorais apresentem novos antígenos. Assim, é compreensível que com o envelhecimento, e consequente declínio das funções do sistema imunológico, as neoplasias prevaleçam em indivíduos idosos.

Na etapa de equilíbrio, as variantes das células tumorais que foram capazes de sobreviver à fase de eliminação e o sistema imunológico do hospedeiro entram em uma espécie de equilíbrio dinâmico. As células imunes e seus mediadores, na tentativa de eliminar a ameaça, exercem constante e poderosa pressão seletiva sobre o tumor, de modo a contê-lo, sendo, contudo, incapaz de extingui-lo. Isso se deve à heterogeneidade neoplásica decorrente da instabilidade genética e alterações epigenéticas, fatores inerentes a qualquer neoplasia. Assim, ao longo do tempo, são selecionados subclones neoplásicos cada vez menos imunogênicos, os quais eventualmente promovem a progressão da doença. Estima-se, contudo, que a fase de equilíbrio seja a mais longa das três da imunoeedição, podendo persistir por anos ou até mesmo pela vida inteira de um indivíduo^(33,34).

Durante a etapa de evasão, as variantes neoplásicas com menor potencial imunogênico adquirem capacidade proliferativa e dão continuidade à enfermidade. Para que células tumorais alcancem esse estágio, é necessário que sejam capazes de superar as potentes barreiras imunológicas dos sistemas imune inato e adquirido. Isso é possível pela aquisição de estratégias imunoevasivas por subclones neoplásicos com maior potencial maligno e, consequentemente, de sobrevivência e evolução^(33,35).

Nas duas últimas décadas, grande parte das pesquisas relacionadas à oncologia busca determinar as bases moleculares dos mecanismos de evasão tumoral desenvolvidos pelas células tumorais. Atualmente, é determinado que mecanismos diretos e indiretos ligados a essas células possam ser responsáveis por inibir respostas imunes antitumorais, muitos dos quais relacionados ao microambiente neoplásico, às células tumorais, inflamatórias, mesenquimais estromais e vasculares, bem como à matriz extracelular, fatores solúveis e moléculas sinalizadoras^(36,37).

Os constituintes celulares do microambiente tumoral incluem LB, LT, Treg, células NK, macrófagos, granulócitos, mastócitos, CD, eosinófilos e até células mieloides imaturas, conhecidas como células supressoras mieloides (MDSC). Ao contrário do que ocorre frente a respostas imunes originadas por patógenos, as células imunes em um ambiente neoplásico apresentam funções alteradas. Em conjunto aos componentes estromais, essas células formam uma complexa rede de interações metabólicas que favorece a proliferação e progressão neoplásica, sendo capaz, inclusive de modular os mecanismos de evasão^(21,36,38). Segundo Kerkar and Restifo⁽³⁶⁾, as MDSC, por exemplo, em resposta a poderosos estímulos proliferativos induzidos pelas células tumorais, são capazes de se diferenciar em macrófagos, CD e células endoteliais. Assim como outras células imunológicas ativadas por mecanismos não convencionais, adquirem alterações fenotípicas e perfis funcionais diferenciados, de

modo a conduzir a supressão de LT.

De acordo com Zitvogel *et al.*⁽³⁹⁾, a compreensão do microambiente neoplásico e suas funções possui direto impacto na imunovigilância e imunoeedição tumoral, assim como nas respostas imunes induzidas pelos diferentes tratamentos em pacientes portadores de doença neoplásica, o que contribui para a prevenção e o tratamento do câncer.

A cada dia ocorrem novas descobertas acerca da interação entre o sistema imunológico e as células tumorais. O crescente potencial de tratamento das neoplasias por meio de abordagens imunológicas originou uma das áreas mais estudadas atualmente por pesquisadores ligados à oncologia, a imunoterapia. Considerando que pacientes com doença neoplásica possuem, de uma forma ou de outra, comprometimento das funções do seu sistema imunológico, a imunoterapia visa a modulação e o aumento do desempenho antitumoral do sistema imune, de forma a renovar sua capacidade de combate e eliminação das células tumorais^(17,40-42).

Aplicações e perspectivas da imunoterapia em oncologia

A imunoterapia tem se tornado uma das estratégias mais promissoras no manejo de pacientes humanos e animais com câncer, pois resulta em respostas antitumorais duradouras, além de reduzir as taxas de metástases e recorrências⁽⁴³⁾. Estudos têm validado o potencial da imunoterapia contra diversas entidades neoplásicas utilizando cães e outras espécies animais como modelos experimentais, como no câncer de bexiga⁽⁴⁴⁾, hemangiossarcoma⁽⁴⁵⁾, tumor venéreo transmissível⁽⁴⁶⁾, melanoma oral⁽⁴⁷⁾, linfoma⁽⁴⁸⁾, e tumores da glândula mamária⁽⁴⁹⁾.

Diversas técnicas e abordagens terapêuticas no âmbito da imunoterapia têm sido investigadas e aplicadas à oncologia, como modulação imunológica com o uso de citocinas⁽⁵⁰⁾, inibidores de *checkpoint*, terapia celular adotiva com células T⁽⁵¹⁾, aplicação de virus oncolíticos, vacinas⁽⁵²⁾ e anticorpos monoclonais⁽⁵³⁾ (Figura 2). Destes, os inibidores de *checkpoint* e as citocinas são classes de imunoterápicos que possuem a maior gama de investigação científica e aplicação.

No que concerne aos inibidores de checkpoint, as estratégias comumente adotadas envolvem o bloqueio de moléculas como PD-1/PD-L1 e CTLA4, as quais interagem em associação às células T e resultam no reconhecimento, inativação e regressão tumoral^(54,55). Em humanos, houve um crescimento significativo do impacto clínico dessas estratégias, principalmente em termos de terapia combinada com radioterapia⁽⁵⁶⁾ e quimioterapia⁽⁵⁷⁾. Em contrapartida, na medicina veterinária, são escassos os estudos clínicos em animais devido à restrição de anticorpos terapêuticos, porém, testes pilotos realizados por Maekawa *et al.*⁽⁵³⁾, evidenciaram que o uso dos inibidores de *checkpoint* pode ser eficaz no tratamento do melanoma oral e de sarcomas indiferenciados em cães.

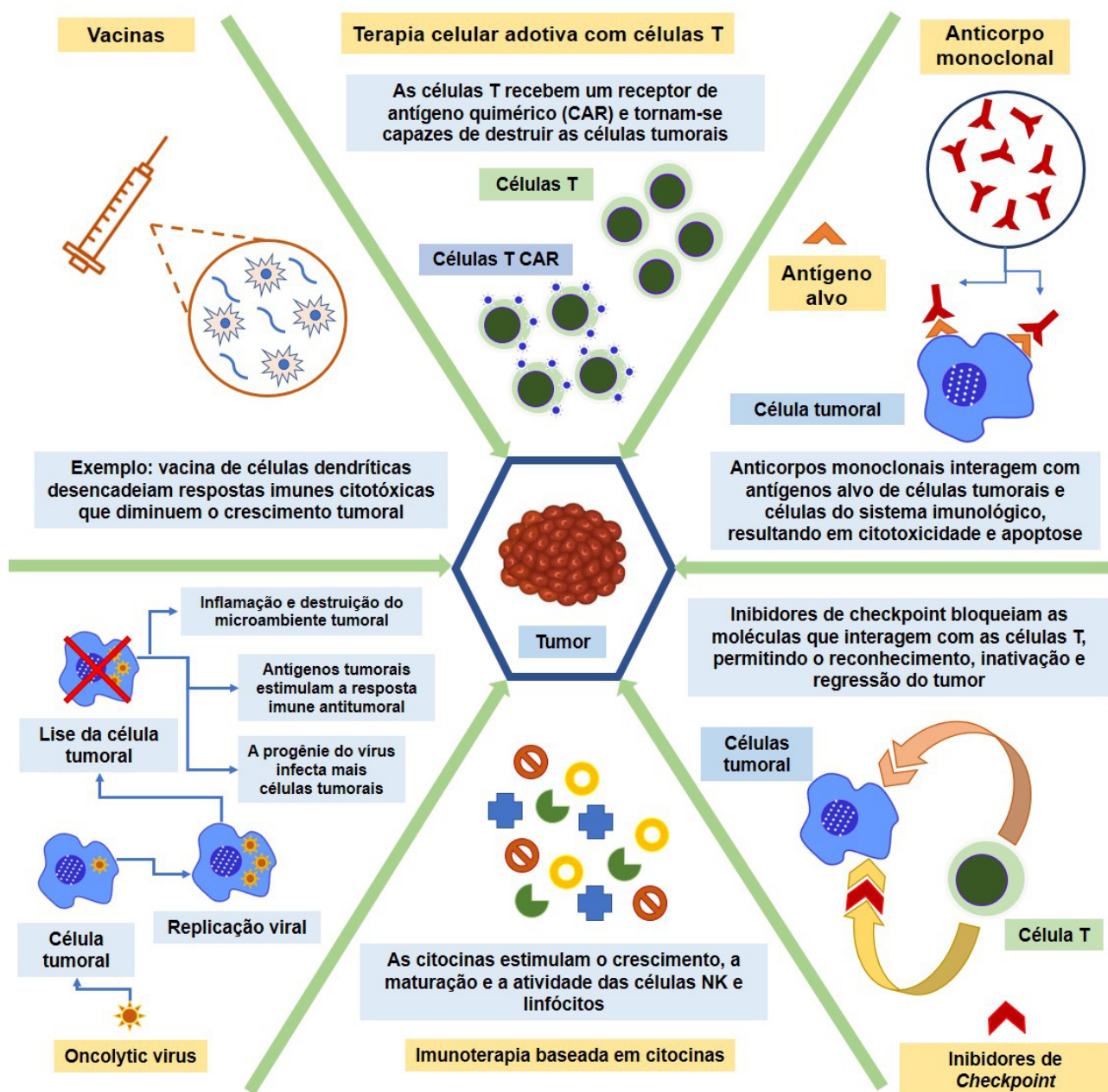


Figura 2. Exemplos de técnicas e abordagens utilizadas em imunoterapia aplicada à oncologia. Vacinas; terapia celular adotiva com células T; anticorpos monoclonais capazes de interagir com antígenos tumorais; inibidores de checkpoint que interagem com as células T para promover a regressão do tumor; citocinas para modular o crescimento e a maturação de diferentes células de defesa; e vírus oncolíticos.

O uso de citocinas, representadas principalmente por interferons e interleucinas, possui abordagem diferente dos inibidores de *checkpoint*, uma vez que estimulam diretamente o crescimento, a maturação e a atividade de células do sistema imune, como as células NK e linfócitos. Estudos demonstram que o uso de interleucinas

humanas, como IL-12 e IL-15, gera resposta antitumoral satisfatória em pacientes caninos^(58,59). Esses resultados corroboram as observações de Frampton et al.⁽⁶⁰⁾ que, ao investigar assinaturas moleculares de regressão do tumor venéreo transmissível canino, constataram que as quimiocinas desencadeiam a invasão de células NK, CD8, CD4, auxiliando no processo de regressão e eliminação tumoral.

A terapia celular adotiva de células T (TAC) tem se mostrado eficiente frente a neoplasias malignas do sistema hematopoiético e, até mesmo, em melanomas em humanos⁽⁶¹⁾. Essa técnica envolve a implantação de linfócitos T específicos no organismo do oncopata, de forma que podem ser utilizados linfócitos provenientes do tumor autólogo (TIL) ou oriundos do sangue periférico, os quais são geneticamente modificados e expressam receptores específicos de células T antitumorais (TCR) ou receptores de antígenos quiméricos (CAR)^(62,63).

O uso de células T modificadas para expressar CAR é o foco recente de alguns pesquisadores, por ser considerada a forma clinicamente mais avançada de terapia adotiva até o momento para tratamento de linfomas e leucemias em humanos⁽⁶⁴⁾. Da mesma forma, Mata *et al.*⁽⁶⁵⁾ evidenciaram, pela primeira vez, a eficácia da terapia celular adotiva ao desenvolver uma estratégia eficiente na geração de células T caninas que expressam CAR. Somado a isso, Panjwani *et al.*⁽⁶⁶⁾ estabeleceram, também pela primeira vez, um modelo para avaliar a terapia com células T CAR, utilizando cães com linfoma difuso espontâneo de células B, com resultados que permitem melhor delineamento de estudos clínicos em seres humanos.

Em um outro cenário, mesmo ainda com questões a serem esclarecidas, como dose e intervalos de aplicações, a administração de vírus oncolíticos é vista como uma terapia biológica interessante e plausível na oncologia. O vírus pode agir de forma direta, uma vez que é capaz de infectar células tumorais e causar lise celular, ou, indireta, estimulando e modulando o sistema imune do paciente⁽⁶⁷⁾. Diversas espécies virais foram avaliadas no tratamento de neoplasias caninas, como em terapias voltadas a carcinoma de células transicionais da bexiga⁽⁶⁸⁾, melanoma⁽⁶⁹⁾, linfoma de células T⁽⁷⁰⁾ e mastocitoma⁽⁷¹⁾.

Ainda, uma das técnicas mais antigas envolve as vacinas, tornando-se método atraente pela praticidade e facilidade no preparo, utilizando várias fontes primárias, o que resultou na oferta de diversas vacinas tumorais para cães, contudo, ainda sem estudos clínicos abrangentes⁽⁷²⁾. O uso de vacinas autólogas tem apresentado respostas similares e satisfatórias quando comparado aos tratamentos convencionais, conforme evidenciado por estudos preliminares em pacientes caninos com carcinoma hepatocelular, mastocitoma, sarcoma de tecidos moles⁽⁷³⁾, hemangiossarcoma metastático⁽⁷⁴⁾ e osteossarcoma⁽⁷⁵⁾.

Entretanto, resultados experimentais com vacinas tumorais evidenciaram benefícios limitados, principalmente relacionados à ativação inespecífica do sistema imune e, em casos de tumores sólidos, há relatos de exacerbada reação inflamatória no local da aplicação⁽⁷²⁾. Por esse motivo, novas metodologias têm sido avaliadas, como a investigação de vacina de inibidores de *checkpoint* para o tratamento do melanoma canino⁽⁷⁶⁾, e o desenvolvimento de uma vacina de DNA telomerase canina^(77,78). Esses

produtos foram capazes de gerar resposta imune específica, principalmente com aumento significativo de células T.

Ainda que em fase inicial, estudos avaliaram o desenvolvimento de novos anticorpos monoclonais como potenciais imunoterápicos ao tratamento do câncer em cães. Diferentemente da medicina, na oncologia veterinária o desenvolvimento desses anticorpos ainda é incipiente, pois, segundo Klingemann⁽⁷²⁾, há escassez de antígenos direcionáveis detectados em espécies animais. Esses imunoterápicos atuam como terapia direcionada ao interagir com antígenos-alvos das células tumorais e de receptores de células do sistema imune, como macrófagos e células NK, resultando em efeitos citotóxicos e apoptose^(79,80).

A busca por anticorpos “caninizados” tem sido alvo de investigações, como relatado por Singer *et al.*⁽⁸¹⁾, que evidenciaram alta especificidade do anticorpo anti-EGFR, o qual foi eficaz no reconhecimento de células tumorais caninas que superexpressam EGFR. Lisowska *et al.*⁽⁸²⁾ and Mizuno *et al.*⁽⁸³⁾, também contribuíram significativamente quando desenvolveram diferentes anticorpos monoclonais capazes de agir contra o linfoma canino, com resultados satisfatórios *in vivo*. Além disso, ensaios clínicos terapêuticos com o anticorpo anti-podoplamina em cães com melanoma, sugerem potencial efeito antitumoral sem efeitos adversos graves⁽⁸⁴⁾.

Infelizmente, os resultados da imunoterapia ainda são limitados a uma minoria de pacientes com determinados tipos de neoplasias, tanto na medicina quanto na medicina veterinária, havendo desafios complexos a esclarecer, visando melhor manejo da imunoterapia em pacientes com câncer⁽⁵²⁾. Por exemplo, a terapia com citocinas pode desencadear condições tóxicas que resultam em síndrome semelhante à sepse e, em casos graves, falência múltipla de órgãos⁽³⁴⁾. Além disso, há fatores intrínsecos e extrínsecos da célula tumoral que resultam em resistência primária, adaptativa e adquirida à imunoterapia⁽⁸⁵⁾.

Devido a algumas dessas limitações, técnicas adicionais com o uso de nanotecnologia também são investigadas, principalmente associadas às vacinas antitumorais e ao processo de modulação do microambiente tumoral⁽⁴³⁾. Assim, as nanopartículas (lipossomas, dendrímeros, micelas, nanopartículas de polímero, nanotubos e nanopartículas inorgânicas), constituem ferramenta valiosa para a imunoterapia, pois são capazes de direcionar o agente terapêutico ao sítio tumoral⁽⁸⁶⁻⁸⁸⁾ (Figure 3).

Apesar dos estudos recentes e estritos, a utilização de nanopartículas em associação à imunoterapia foi relatado por Chariou *et al.*⁽⁸⁹⁾, os quais apresentaram, em modelo de melanoma em camundongos, nanopartículas com potencial oncolítico baseadas em vírus. Ainda, em modelo de carcinoma retal em camundongos⁽⁹⁰⁾ e em glioma espontâneo canino⁽⁹¹⁾, a combinação de nanopartículas com imunoterápicos evidencia que a nanomedicina direcionada ao microambiente tumoral inibe células imunossupressoras e potencializa significativamente os imunoterápicos.

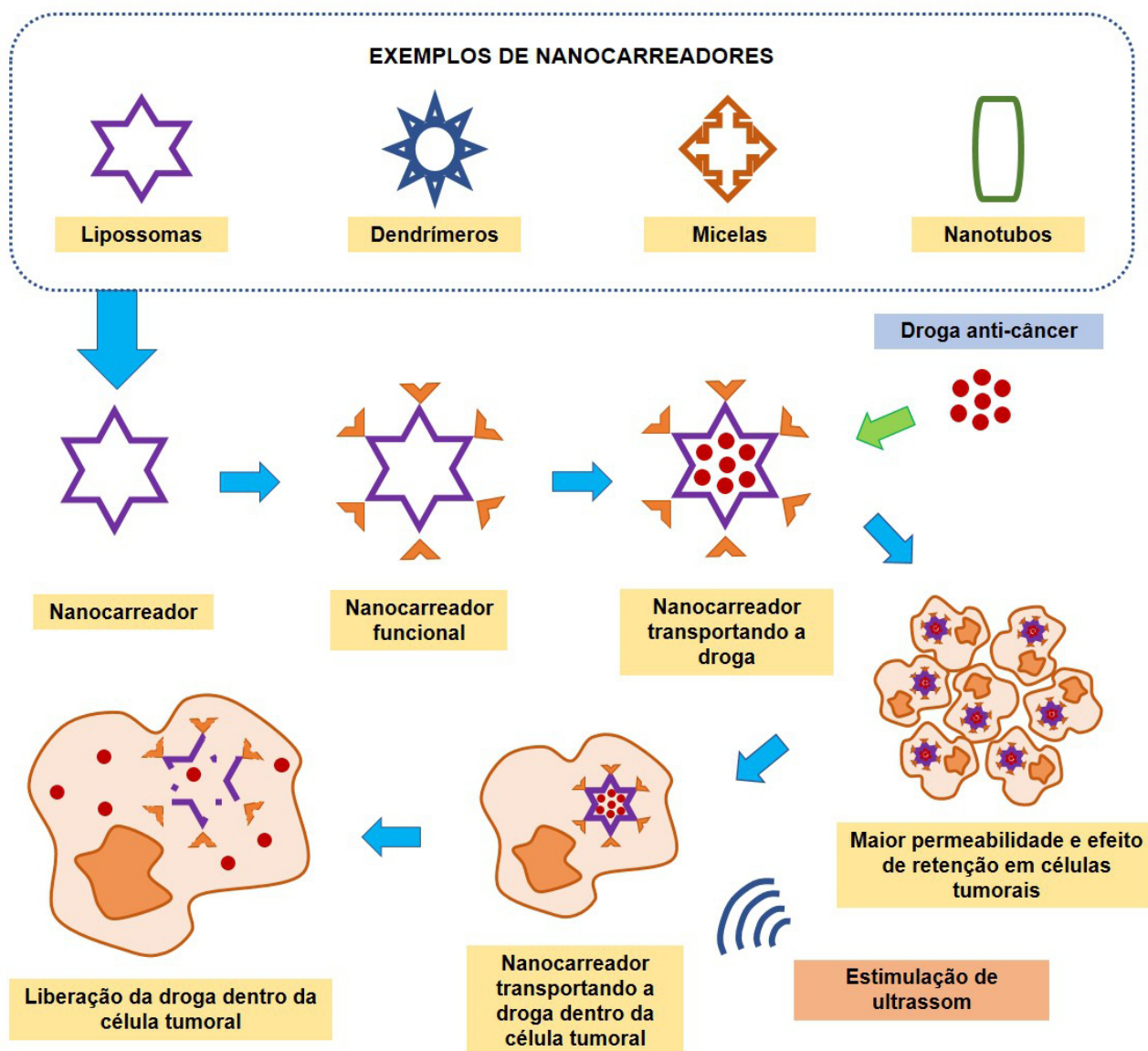


Figura 3. Nanotecnologia associada à imunoterapia para uso em oncologia. Diferentes nanopartículas, como lipossomas, dendrímeros, micelas e nanotubos, são utilizadas como carreadores de diferentes drogas antitumorais de forma direcionada. Essas moléculas permitem maior permeabilidade e efeito de retenção nas células tumorais, e, após estimulação, liberação do fármaco antitumoral e lise das células tumorais.

Dessa forma, compreender que os eventos que integram a imunologia tumoral não é uma tarefa simples, e requer conhecimento das bases imunológicas, seus constituintes, funções e interações moleculares, bem como da fisiopatologia neoplásica geral e das variantes tumorais. Neoplasias são organismos únicos e instáveis, constituídos por células com diferentes graus de heterogeneidade, formando microambientes distintos, com os quais interagem e desencadeiam reações específicas. A compreensão da imunovigilância e da imunoeedição tumoral é, portanto, um dos principais pontos de

partida para a compreensão de conceitos complexos e não totalmente esclarecidos, mas essenciais na busca de ferramentas preventivas e terapêuticas voltadas às enfermidades neoplásicas.

Considerações finais

A evolução da imunologia tumoral, levando ao aprofundamento dos eventos que fazem parte dos processos de imunovigilância e imunoeedição, contribui significativamente para o melhor entendimento dos mecanismos associados ao desenvolvimento e a progressão neoplásica. Assim, o detalhamento das interações entre componentes do sistema imunológico e células tumorais tem importante impacto na prevenção e no tratamento do câncer, pois permite o desenvolvimento de estratégias de contra-ataque mais eficazes.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

1. Abbas AK, Lichtman A, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2017. 608 p.
2. Galon J, Angell HK, Bedognetti D, Marincola FM. The Continuum of Cancer Immunosurveillance: Prognostic, Predictive, and Mechanistic Signatures. *Immunity*. 2013;39(1):11–26.
3. Mackay IR. Travels and travails of autoimmunity: A historical journey from discovery to rediscovery. *Autoimmun Rev*. 2010;9(5):251–258.
4. Male DK, Peebles RS., Male V. Immunology. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2020. 432 p.
5. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: From immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol*. 2002;3(11):991–998.
6. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:329–60.
7. Garg AD, Agostinis P. Cell death and immunity in cancer: From danger signals to mimicry of pathogen defense responses. *Immunol Rev*. 2017;280(1):126–148.
8. Kim R, Emi M, Tanabe K. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology*. 2007;121(1):1–14.
9. Bhatia A, Kumar Y. Cellular and molecular mechanisms in cancer immune escape: A comprehensive review. *Expert Rev Clin Immunol*. 2014;10(1):41–62.
10. Fehniger TA, Cooper MA. Harnessing NK Cell Memory for Cancer Immunotherapy. *Trends Immunol*. 2016;37(12):877–888.
11. Spitzer MH, Carmi Y, Reticker-Flynn NE, Kwek SS, Madhireddy D, Martins MM, et al. Systemic Immunity Is Required for Effective Cancer Immunotherapy. *Cell*. 2017;168(3):487–502.

12. Ribatti D. The concept of immune surveillance against tumors: The first theories. *Oncotarget*. 2015;8(5):7175–7180.
13. Mahmoud F, Shields B, Makhoul I, Avaritt N, Wong HK, Hutchins LF, et al. Immune surveillance in melanoma: From immune attack to melanoma escape and even counterattack. *Cancer Biol Ther*. 2017;18(7):451–469.
14. Jinushi M, Komohara Y. Tumor-associated macrophages as an emerging target against tumors: Creating a new path from bench to bedside. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer*. 2015;1855(2):123–130.
15. Böttcher JP, Bonavita E, Chakravarty P, Blees H, Cabeza-Cabrero M, Sammicheli S, et al. NK Cells Stimulate Recruitment of cDC1 into the Tumor Microenvironment Promoting Cancer Immune Control. *Cell*. 2018;172(5):1022–1037.
16. Dyck L, Lynch L. New Job for NK Cells: Architects of the Tumor Microenvironment. *Immunity*. 2018;48(1):9–11.
17. Hunter KW, Amin R, Deasy S, Ha NH, Wakefield L. Genetic insights into the morass of metastatic heterogeneity. *Nat Rev Cancer*. 2018;18(4):211–223.
18. Cullen SP, Brunet M, Martin SJ. Granzymes in cancer and immunity. *Cell Death Differ*. 2010;17(4):616–623.
19. Law RHP, Lukoyanova N, Voskoboinik I, Caradoc-Davies T, Baran K, Dunstone MA, et al. The structural basis for membrane binding and pore formation by lymphocyte perforin. *Nature*. 2010;468(7322):447–451.
20. Takeda K, Nakayama M, Hayakawa Y, Kojima Y, Ikeda H, Imai N, et al. IFN- γ is required for cytotoxic T cell-dependent cancer genome immunoeediting. *Nat Commun [Online]*. 2017 [Cited 2021 Feb 15];8:14607. Available from: <https://doi.org/10.1038/ncomms14607>. English.
21. Notarangelo LD, Kim MS, Walter JE, Lee YN. Human RAG mutations: Biochemistry and clinical implications. *Nat Rev Immunology*. 2016;16(4):234–246.
22. Ru H, Mi W, Zhang P, Alt FW, Schatz DG, Liao M, et al. DNA melting initiates the RAG catalytic pathway. *Nat Struct Mol Biol*. 2018;25(8):732–742.
23. Efremova M, Rieder D, Klepsch V, Charoentong P, Finotello F, Hackl H, et al. Targeting immune checkpoints potentiates immunoeediting and changes the dynamics of tumor evolution. *Nat Commun [Online]*. 2018 [Cited 2021 Feb 20];9(1):32. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02424-0>. English.
24. Zitvogel L, Pietrocola F, Croemer G. Nutrition, inflammation and cancer. *Nat Immunology*. 2017;18(8):843–850.
25. Mohammad RM, Muqbil I, Lowe L, Yedjou C, Hsu HY, Al. E. Broad targeting of resistance to apoptosis in cancer. *Semin Cancer Biol*. 2015;35:78–103.
26. Morrow ES, Roseweir A, Edwards J. The role of gamma delta T lymphocytes in breast cancer: a review. *Transl Cancer Res*. 2019;203:88–96.
27. Palucka AK, Coussens LM. The Basis of Oncoimmunology. *Cell*. 2016;164(6):1233–1247.
28. Lanier LL. NKG2D receptor and its ligands in host defense. *Cancer Immunol Res*. 2015;3(6):575–582.
29. Nagarsheth N, Wisha MS, Zou W. Chemokines in the cancer microenvironment and their relevance in cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunology*. 2017;17(9):559–572.
30. Ayroldi E, Cannarile L, Delfino DV, Riccardi C. A dual role for glucocorticoid-induced leucine zipper in glucocorticoid function: Tumor growth promotion or suppression? review-article. *Cell Death Dis. [Online]*. 2018 [Cited 2021 Mar 12];9(5):463. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0558-1>. English.
31. Strioga M, Schijns V, Powell Jr DJ, Pasukoniene, V. Dobrovolskiene N, Michalek K. Dendritic cells and

their role in tumor immunosurveillance. *Innate Immun.* 2017;19(1):98–111.

32. Yao Y, Chen S, Cao M, Fan X, Yang T, Huang Y, et al. Antigen-specific CD8+ T cell feedback activates NLRP3 inflammasome in antigen-presenting cells through perforin. *Nat Commun [Online]*. 2017 [Cited 2021 Feb 22];8:e15402. Available from: <https://doi.org/10.1038/ncomms15402>. English.
33. Caswell DR, Swanton C. The role of tumour heterogeneity and clonal cooperativity in metastasis, immune evasion and clinical outcome. *BMC Med [Online]*. 2017 [Cited 2021 Jan 30];15(1):1–9. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0900-y>. English.
34. Valent P, Bonnet D, Wöhrer S, Andreeff M, Copland M, Chomienne C, et al. Heterogeneity of neoplastic stem cells: Theoretical, functional, and clinical implications. *Cancer Res.* 2013;73:1037–1045.
35. Mohme M. Circulating and disseminated tumour cells-mechanisms of immune surveillance and escape. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017;14(3):155–167.
36. Kerkar SP, Restifo NP. Cellular constituents of immune escape within the tumor microenvironment. *Cancer Res.* 2012;72(13):3125–3130.
37. Casey SC, Amedei A, Aquilano K, Azmi AS, Benencia F, Bhakta D, et al. Cancer prevention and therapy through the modulation of the tumor microenvironment. *Semin Cancer Biol.* 2015;35(Suppl):S199–223.
38. Chiarugi P, Cirri P. Metabolic exchanges within tumor microenvironment. *Cancer Lett.* 2016;380(1):272–280.
39. Zitvogel L, Ayyoub M, Routy B, Kroemer G. Microbiome and Anticancer Immunosurveillance. *Cell.* 2016;165(2):276–287.
40. Finn OJ. Immuno-oncology: Understanding the function and dysfunction of the immune system in cancer. *Ann Oncology [Online]*. 2012 [Cited 2021 Mar 21];23(suppl8):viii6-9. Available from: <https://doi.org/10.1093/annonc/mds256>. English
41. Pancione M, Giordano G, Remo A, Febbraro A, Sabatino L, Manfrin E, et al. Immune escape mechanisms in colorectal cancer pathogenesis and liver metastasis. *J Immunol Res.[Online]*. 2014 [Cited 2021 Feb 24];2014:e686879. Available from: <https://doi.org/10.1155/2014/686879>. English.
42. Park YJ, Kuen DS, Chung Y. Future prospects of immune checkpoint blockade in cancer: from response prediction to overcoming resistance. *Exp Mol Med.[Online]*. 2018 [Cited 2020 Dec 22];50(8):109. Available from: <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0130-1>. English.
43. Song W, Musetti SN, Huang L. Nanomaterials for cancer immunotherapy. *Biomaterials.* 2017;148:16–30.
44. Maeda S, Murakami K, Inoue A, Yonezawa T, Matsuki N. CCR4 blockade depletes regulatory T cells and prolongs survival in a canine model of bladder cancer. *Cancer Immunol Res.* 2019;7(7):1175–1187.
45. Konduri V, Halpert MM, Baig YC, Coronado R, Rodgers JR, Levitt JM, et al. Dendritic cell vaccination plus low-dose doxorubicin for the treatment of spontaneous canine hemangiosarcoma. *Cancer Gene Ther.* 2019;26(9–10):282–291.
46. Ramos-Zayas Y, Franco-Molina MA, Hernández-Granados AJ, Zárate-Triviño DG, Coronado-Cerda EE, Mendoza-Gamboa E, et al. Immunotherapy for the treatment of canine transmissible venereal tumor based in dendritic cells pulsed with tumoral exosomes. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2019;41(1):48–54.
47. Hoopes PJ, Wagner RJ, Duval K, Kang K, Gladstone DJ, Moodie KL, et al. Treatment of Canine Oral Melanoma with Nanotechnology-Based Immunotherapy and Radiation. *Mol Pharm.* 2018;15(9):3717–3722.
48. O'Connor CM, Sheppard S, Hartline CA, Huls H, Johnson M, Palla SL, et al. Adoptive T-cell therapy improves treatment of canine non-Hodgkin lymphoma post chemotherapy. *Scientific Reports [Online]*. 2012 [Cited 2021 Jan 10];2(1):249. Available from: <https://doi.org/10.1038/srep00249>. English.

49. Li Y, Sun Y, Kulke M, Hechler T, Van der Jeught K, Dong T, et al. Targeted immunotherapy for HER2-low breast cancer with 17p loss. *Sci Transl Med.* [Online] 2021[Cited 2021 Mar 18];13(580):eabc6894. Available from: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abc6894>. English.
50. Krieg C, Létourneau S, Pantaleo G, Boyman O. Improved IL-2 immunotherapy by selective stimulation of IL-2 receptors on lymphocytes and endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(26):11906–11911.
51. Borst J, Ahrends T, Bąbała N, Melief CJM, Kastenmüller W. CD4+ T cell help in cancer immunology and immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2018;18(10):635–647.
52. Kennedy LB, Salama AKS. A review of cancer immunotherapy toxicity. *CA Cancer J Clin.* 2020;70(2):86–104.
53. Maekawa N, Konnai S, Takagi S, Kagawa Y, Okagawa T, Nishimori A, et al. A canine chimeric monoclonal antibody targeting PD-L1 and its clinical efficacy in canine oral malignant melanoma or undifferentiated sarcoma. *Scientific Reports* [Online]. 2017 [Cited 2021 Mar 18];7(1):1–12. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09444-2>. English.
54. Alsaab HO, Sau S, Alzhrani RT, Bhise K, Kashaw SK, Iyer AK. PD-1 and PD-L1 checkpoint signaling inhibition for cancer immunotherapy: mechanism, combinations, and clinical outcome. *Frontiers in Pharmacology* [Online]. 2017 [Cited 2021 Feb 19]; 8:561. Available from: <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00561>. English.
55. Vargas F, Furness AJS, Litchfield K, Joshi K, Rosenthal R, Ghorani E, et al. Fc Effector Function Contributes to the Activity of Human Anti-CTLA-4 Antibodies. *Cancer Cell* [Online]. 2018 [Cited 2021 Mar 02];33(4):649–663.e4. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.02.010>. English.
56. Park SS, Dong H, Liu X, Harrington SM, Krco CJ, Grams MP, et al. PD-1 restrains radiotherapy-induced abscopal effect. *Cancer Immunol Res.* 2015;3(6):610–619.
57. Tang J, Shalabi A, Hubbard-Lucey VM. Comprehensive analysis of the clinical immuno-oncology landscape. *Ann Oncol.* 2018;29(1):84–91.
58. Pavlin D, Cemazar M, Sersa G, Tozon N. IL-12 based gene therapy in veterinary medicine. *J Transl Med.* [Online]. 2012 [Cited 2021 Mar 21];10(1):234. Available from: <https://doi.org/10.1186/1479-5876-10-234>. English.
59. Judge SJ, Darrow MA, Thorpe SW, Gingrich AA, O'Donnell EF, Bellini AR, et al. Analysis of tumor-infiltrating NK and T cells highlights IL-15 stimulation and TIGIT blockade as a combination immunotherapy strategy for soft tissue sarcomas. *J Immunother Cancer* [Online]. 2020 [Cited 2021 Feb 17];8:e001355. Available from: <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-001355>. English.
60. Frampton D, Schwenzer H, Marino G, Butcher LM, Pollara G, Kriston-Vizi J, et al. Molecular Signatures of Regression of the Canine Transmissible Venereal Tumor. *Cancer Cell.* 2018;33(4):620–633.
61. Bujak JK, Pingwara R, Nelson MH, Majchrzak K. Adoptive cell transfer: New perspective treatment in veterinary oncology. *Acta Vet Scand.* [Online]. 2018 [Cited 2021 Feb 17];60(1):60. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13028-018-0414-4>. English.
62. Rosenberg SA, Restifo NP, Yang JC, Morgan RA, Dudley ME. Adoptive cell transfer: A clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2008;8(4):299–308.
63. Raval RR, Sharabi AB, Walker AJ, Drake CG, Sharma P. Tumor immunology and cancer immunotherapy: Summary of the 2013 SITC primer. *J Immunother Cancer.* 2014;2(1):2–14.
64. Tokarew N, Ogonek J, Endres S, von Bergwelt-Baildon M, Kobold S. Teaching an old dog new tricks: next-generation CAR T cells. *Br J Cancer.* 2019;120(1):26–37.
65. Mata M, Vera JF, Gerken C, Rooney CM, Miller T, Pfent C, et al. Toward immunotherapy with redirected T cells in a large animal model: Ex vivo activation, expansion, and genetic modification of canine T cells. *J Immunother.* 2014;37(8):407–415.

66. Panjwani MK, Atherton MJ, MaloneyHuss MA, Haran KP, Xiong A, Gupta M, et al. Establishing a model system for evaluating CAR T cell therapy using dogs with spontaneous diffuse large B cell lymphoma. *Oncoimmunology* [Online]. 2020 [Cited 2021 Feb 17];9(1):1676615. Available from: <https://doi.org/10.1080/2162402X.2019.1676615>. English.
67. Sánchez D, Cesarman-Maus G, Amador-Molina A, Lizano M. Oncolytic viruses for canine cancer treatment. *Cancers* [Online]. 2018 [Cited 2021 Feb 25]; 10(11):404. Available from: <https://doi.org/10.3390/cancers10110404>. English.
68. Iizuka K, Shoji K, Fujiyuki T, Moritoh K, Tamura K, Yoshida A, et al. Antitumor activity of an oncolytic measles virus against canine urinary bladder transitional cell carcinoma cells. *Res Vet Sci*. 2020;133:313–317.
69. Igase M, Shibutani S, Kurogouchi Y, Fujiki N, Hwang CC, Coffey M, et al. Combination Therapy with Reovirus and ATM Inhibitor Enhances Cell Death and Virus Replication in Canine Melanoma. *Mol Ther - Oncolytics*. 2019;15:49–59.
70. Naik S, Galyon GD, Jenks NJ, Steele MB, Miller AC, Allstadt SD, et al. Comparative oncology evaluation of intravenous recombinant oncolytic vesicular stomatitis virus therapy in spontaneous canine cancer. *Mol Cancer Ther*. 2018;17(1):316-326.
71. Ilyinskaya GV, Mukhina EV, Soboleva AV, Matveeva OV, Chumakov PM. Oncolytic sendai virus therapy of canine mast cell tumors (A pilot study). *Front Vet Sci*. [Online]. 2018 [Cited 2021 Feb 16];5:116. Available from: <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00116>. English.
72. Klingemann H. Immunotherapy for Dogs: Running Behind Humans. *Front Immunol*. [Online]. 2018 [Cited 2021 Feb 19];9:133. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00133>. English.
73. Goodrich RP, Weston J, Hartson L, Griffin L, Guth A. Pilot Acute Safety Evaluation of Innocell™ Cancer Immunotherapy in Canine Subjects. *J Immunol Research* [Online]. 2020 [Cited 2021 Mar 01];2020:7142375. Available from: <https://doi.org/10.1155/2020/7142375>. English.
74. Lucroy MD, Clauson RM, Suckow MA, El-Tayyeb F, Kalinauskas A. Evaluation of an autologous cancer vaccine for the treatment of metastatic canine hemangiosarcoma: a preliminary study. *BMC Vet Research* [Online]. 2020 [Cited 2021 Mar 12];16(1):447. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02675-y>. English.
75. Musser ML, Berger EP, Tripp CD, Clifford CA, Bergman PJ, Johannes CM. Safety evaluation of the canine osteosarcoma vaccine, live *Listeria* vector. *Vet Comp Oncol*. 2021;19(1):92–98.
76. Kurupati RK, Zhou X, Xiang Z, Keller LH, Ertl HCJ. Safety and immunogenicity of a potential checkpoint blockade vaccine for canine melanoma. *Cancer Immunol Immunother*. 2018;67(10):1533–1544.
77. Impellizeri JA, Gavazza A, Greissworth E, Crispo A, Montella M, Ciliberto G, et al. Tel-eVax: A genetic vaccine targeting telomerase for treatment of canine lymphoma. *J Transl Med*. [Online] 2018 [Cited 2021 Feb 19];16(1):349. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12967-018-1738-6>. English.
78. Thalmensi J, Pliquet E, Liard C, Chamel G, Kreuz C, Bestetti T, et al. A DNA telomerase vaccine for canine cancer immunotherapy. *Oncotarget*. 2019;10(36):3361–3372.
79. Chung S, Lin YL, Reed C, Ng C, Cheng ZJ, Malavasi F, et al. Characterization of in vitro antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity activity of therapeutic antibodies - Impact of effector cells. *J Immunol Methods*. 2014;407:63–75.
80. Kimiz-Gebologlu I, Gulce-Iz S, Biray-Avci C. Monoclonal antibodies in cancer immunotherapy. *Molecular Biology Reports*. 2018; 45:2935–2940.
81. Singer J, Jensen-Jarolim E. IgE-based immunotherapy of cancer: Challenges and chances. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2014;69(2):137–149.
82. Lisowska M, Pawlak A, Kutkowska J, Hildebrand W, Ugorski M, Rapak A, et al. Development of novel monoclonal antibodies to dog leukocyte antigen DR displaying direct and immune-mediated cytotoxicity

toward canine lymphoma cell lines. *Hematol Oncol.* 2018;36(3):554–560.

83. Mizuno T, Kato Y, Kaneko MK, Sakai Y, Shiga T, Kato M, et al. Generation of a canine anti-canine CD20 antibody for canine lymphoma treatment. *Scientific Reports* [Online]. 2020 [Cited 2021 Mar 11];10(1):11476. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68470-9>. English.

84. Kamoto S, Shinada M, Kato D, Yoshimoto SI, Tsuboi M, Yoshitake R, et al. Phase I/II Clinical Trial of the Anti-Podoplanin Monoclonal Antibody Therapy in Dogs with Malignant Melanoma. *Cells* [Online]. 2020 [Cited 2021 Mar 12];9(11):2529. Available from: <https://doi.org/10.3390/cells9112529>. English.

85. Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, Ribas A. Primary, Adaptive, and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy. *Cell.* 2017;168(4):707–723.

86. Parhi P, Mohanty C, Sahoo SK. Nanotechnology-based combinational drug delivery: An emerging approach for cancer therapy. *Drug Discovery Today.* 2012; 17 (17-18):1044–1052.

87. Kumari P, Ghosh B, Biswas S. Nanocarriers for cancer-targeted drug delivery. *Journal of Drug Targeting.* 2016; 24(3):179–191.

88. Fontana F, Liu D, Hirvonen J, Santos HA. Delivery of therapeutics with nanoparticles: what's new in cancer immunotherapy. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology* [Online]. 2017 [Cited 2021 Feb 16]; 9(1):e1421. Available from: <https://doi.org/10.1002/wnan.1421>. English.

89. Chariou PL, Beiss V, Ma Y, Steinmetz NF. In situ vaccine application of inactivated CPMV nanoparticles for cancer immunotherapy . *Mater Adv.* 2021;2(5):1644–1656.

90. Chiang CS, Lin YJ, Lee R, Lai Y., Cheng HW, Hsieh CH, et al. Combination of fucoidan-based magnetic nanoparticles and immunomodulators enhances tumour-localized immunotherapy. *Nat Nanotechnol.* 2018;13(8):746–754.

91. Sayour EJ, Grippin A, De Leon G, Stover B, Rahman M, Karachi A, et al. Personalized Tumor RNA Loaded Lipid-Nanoparticles Prime the Systemic and Intratumoral Milieu for Response to Cancer Immunotherapy. *Nano Lett.* 2018;18(10):6195–6206.