



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE D
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

ALICE JOSEFA FONSECA MARQUES

***Avaliação do efeito do consumo de cafeína em doentes sob
imunoterapia para cancro do pulmão***

ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINAL

ÁREA CIENTÍFICA DE PNEUMOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSOR DOUTOR TIAGO MANUEL POMBO ALFARO

PROFESSOR DOUTOR RODRIGO PINTO DOS SANTOS ANTUNES DA CUNHA

MAIO/2020

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO CONSUMO DE CAFEÍNA EM DOENTES SOB IMUNOTERAPIA PARA CANCRO DO PULMÃO

Alice J.F. Marques¹, Daniela Madama², Pêgo A. ², Rodrigo A. Cunha^{3,4}, Tiago M. Alfaro^{5,6},
Carlos Robalo Cordeiro^{1,5,6}

¹Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

²Hospital de Dia de Pneumologia Oncológica, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

³Instituto de Bioquímica, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

⁴Centro de Neurociências e Biologia Celular

⁵Centro de Pneumologia, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

⁶Serviço de Pneumologia, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Contactos:

Aluna: Alice Josefa Fonseca Marques

Telefone: 911528447

Endereço de correio eletrónico: uc2010134275@student.uc.pt

Investigador Principal / Orientador: Tiago Alfaro

Morada Institucional: Serviço de Pneumologia, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Endereço de correio eletrónico: talfaro@uc.pt

Resumo

Introdução: O cancro do pulmão é o tumor com maior taxa de mortalidade a nível mundial, permanecendo o seu tratamento um desafio. A imunoterapia recentemente emergiu como uma terapia eficaz e vários estudos têm vindo a demonstrar que os A_{2A}R (recetores de adenosina 2A) têm um efeito protetor sobre o tumor, suprimindo e redirecionando a resposta anti-tumoral, salientando a importância em bloquear este mecanismo, por forma a melhorar a eficácia da imunoterapia. A cafeína é um antagonista natural e amplamente consumido destes recetores. Como tal, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do consumo de cafeína na resposta à imunoterapia para o CPNPC (carcinoma do pulmão de não pequenas células).

Métodos: Num estudo transversal observacional, realizaram-se inquéritos a 37 doentes com diagnóstico de CPNPC sob imunoterapia, seguidos no Hospital de Dia de Pneumologia Oncológica no Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC). Foram registados dados sobre o consumo médio diário de cafeína em vários intervalos de tempo, sexo e idade. Por consulta do processo clínico, obtiveram-se os restantes dados (data de diagnóstico, estadiamento, data de início da imunoterapia, regime de imunoterapia, expressão de PDL1, exposição prévia a quimioterapia e efeitos adversos). A avaliação da resposta à imunoterapia foi realizada considerando os resultados das TC torácicas aos 3, 6 e 12 meses, após o início da imunoterapia. **Resultados:** Observámos uma correlação positiva significativa entre o regime de imunoterapia e a resposta ao tratamento aos 3 e 12 meses. O consumo de cafeína não interferiu com a resposta à imunoterapia no nosso estudo. No entanto, os doentes com resposta ao tratamento têm um valor numérico mais elevado de consumo de cafeína. Em particular, verificamos uma maior proporção de resposta ao tratamento aos 12 meses com consumos médios diários de cafeína mais elevados durante a imunoterapia e durante o último ano. **Conclusões:** Apesar dos doentes com resposta ao tratamento terem um maior consumo numérico de cafeína, durante a imunoterapia e durante o último ano, no nosso estudo, o consumo de cafeína não interferiu com a resposta à imunoterapia.

Abstract

Background: Lung cancer is the tumor causing the highest mortality rate worldwide, and its treatment remains challenging. Immunotherapy has recently emerged as an effective therapy and several studies have shown that A_{2A}R (A_{2A} adenosine receptors) have a protective effect on the tumor, suppressing and redirecting the anti-tumor response, enhancing the importance of blocking this mechanism in order to improve the effectiveness of immunotherapy. Caffeine is a natural and widely consumed antagonist of these receptors. As such, the aim of this study was to assess the effect of caffeine consumption on the response to immunotherapy for non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods:** In an observational cross-sectional study, questionnaires were conducted with 37 patients diagnosed with NSCLC under immunotherapy, followed at the Pulmonary Oncologic Day Clinic at Coimbra Hospital and University Centre (CHUC). Data on average daily caffeine consumption for several timespans, sex and age were recorded. By consulting the clinical process, the remaining data were obtained (date of diagnosis, staging, date of start of immunotherapy, immunotherapy regimen, expression of PDL1, previous exposure to chemotherapy and adverse events). The evaluation of the response to immunotherapy was performed considering the results of chest CT scans at 3, 6 and 12 months after the start of immunotherapy. **Results:** We observed a significant positive correlation between the immunotherapy regimen and the response to treatment at 3 and 12 months. Caffeine consumption showed no interference with the response to immunotherapy in our study. However, patients who respond to treatment have a higher numerical value of caffeine consumption. Particularly, we found a greater proportion of response at 12 months with higher average daily caffeine consumption during immunotherapy and during the last year. **Conclusions:** Although patients who responded to treatment had a higher numerical consumption of caffeine, during immunotherapy and last year, in our study, caffeine consumption showed no interference with the response to immunotherapy.

INTRODUÇÃO

O cancro do pulmão é, mundialmente, o tumor que se associa a maior mortalidade [1], permanecendo o seu tratamento um desafio. Apesar dos avanços nas opções de tratamento - cirurgia, radioterapia, quimioterapia e outros tratamentos dirigidos - o prognóstico permanece sombrio na maioria dos doentes, provavelmente porque à data de diagnóstico a doença já se apresenta localmente avançada ou metastizada. [2]

O sistema imunitário é capaz de inibir ou promover o crescimento tumoral, selecionando as células tumorais que são capazes de sobreviver num hospedeiro imunocompetente ou criando condições dentro do microambiente tumoral que facilitem o crescimento tumoral. [3,4] A imunoterapia é uma das opções terapêuticas mais promissoras no cancro do pulmão e tem por objetivo melhorar a função das células imunitárias ou inibir a atividade imunossupressora associada à neoplasia. [5] A resposta imunitária ao cancro envolve uma complexa rede de interações celulares. Uma das vias descobertas recentemente foi a sobreexpressão de PDL1 (programmed cell death ligand 1). O PDL1 liga-se ao PD-1 na superfície das células T e suprime a atividade destas. [6,7] Em 2015, o nivolumab, anticorpo contra o eixo PD1-PDL1, foi o primeiro imunoterápico a ser aprovado para o tratamento do carcinoma do pulmão de não pequenas células (CPNPC). Desde então, inúmeros outros têm vindo a ser aprovados, quer em monoterapia quer em combinação com outros agentes [8] – nomeadamente, o pembrolizumab (anti-PD1) e o atezolizumab (anti-PDL1). O pembrolizumab foi aprovado como primeira linha de tratamento no doente com CPNPC metastizado. [9]

A demonstração que o recetor A_{2A} da adenosina ($A_{2A}R$) é um inibidor fisiológico das células imunitárias, incluindo células T, sugere que a inibição destas células T anti-tumorais no microambiente neoplásico possa ser mediada pela produção extracelular de adenosina pelo tumor. [10] Dos 4 tipos de recetores da adenosina, o $A_{2A}R$ é o subtipo predominantemente expresso nas células imunes. [11]

Em 2006, um estudo demonstrou que a deleção genética do $A_{2A}R$ resultou na rejeição de tumores imunogénicos estabelecidos nos ratinhos deficientes em $A_{2A}R$ e não nos controlos *wild type* [10]. Outros estudos demonstraram que microambientes tumorais ricos em adenosina inibem as células T anti-tumorais, sugerindo a combinação de imunoterapia com antagonistas do $A_{2A}R$ sintéticos ou naturais para uma maior eficácia do tratamento. [10,12] Sitkosky et al. demonstrou a manutenção de imunidade anti-tumoral combinando imunoterapia com KW6002 (um antagonista específico dos $A_{2A}R$), sugerindo que este antagonismo deve ser considerado nos protocolos de imunoterapia pelo perfil de segurança destes antagonistas e pela melhoria da eficácia terapêutica. [13]

A cafeína, uma xantina, e a teofilina, um análogo estrutural, demonstraram antagonismo dos $A_{2A}R$ em concentrações micromolares. [14] Pelas observações do envolvimento dos $A_{2A}R$ na neurobiologia e patogénese da doença de Parkinson, existem cada vez mais antagonistas sintéticos $A_{2A}R$ disponíveis para eventual imunoterapia para cancro. [15] Enquanto o bloqueio da produção de adenosina e o antagonismo $A_{2A}R$ se encontram a ser testados como monoterapia, tem também aumentado o número de ensaios clínicos que combinam o bloqueio adenosinérgico com imunoterapia, tendo-se este eixo da adenosina revelado promissor no tratamento de doentes com cancro. [16]

Uma forma não interventiva de aferir o potencial impacto do sistema adenosinérgico em doentes a realizar imunoterapia para cancro do pulmão é investigar o efeito resultante do consumo de cafeína, a substância psicoativa mais consumida em todo o mundo e cujo principal alvo molecular em doses não tóxicas é o antagonismo dos $A_{2A}R$ [17,18].

Embora estudos anteriores tenham demonstrado uma possível associação positiva entre o antagonismo dos $A_{2A}R$ e uma maior eficácia da imunoterapia [10], nenhum estudo avaliou o efeito do consumo regular de cafeína nos doentes a realizar imunoterapia para tratamento do cancro do pulmão. Como tal, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do consumo de cafeína na resposta à imunoterapia para o CPNPC.

MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal observacional em doentes com CPNPC, seguidos em Hospital de Dia de Pneumologia Oncológica no Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC).

Os critérios de inclusão compreendiam doentes com diagnóstico de CPNPC, devidamente estadiados, a realizar imunoterapia, seguidos em Hospital de Dia de Pneumologia Oncológica, de ambos os sexos, com idade superior a 18 anos, independentemente de terem realizado outros tratamentos para esta neoplasia.

Os critérios de exclusão incluíam doentes com idade inferior a 18 anos, grávidas e a ausência de consentimento informado.

Colheita de dados

Após a assinatura do consentimento informado, foram realizados inquéritos presencialmente em Hospital de Dia de Pneumologia Oncológica a todos os doentes por forma a estimar o consumo médio diário de bebidas que contêm cafeína (café expresso, café instantâneo, café descafeinado, infusão de chá, chá instantâneo e bebidas tipo coca-cola), em copos ou chávenas por dia, nos últimos 20 anos (1999-2019). Simultaneamente, registaram-se as características sociodemográficas como sexo e idade. O consumo médio diário de cafeína (em mg/dia) foi estimado através da soma aritmética do conteúdo de cafeína ingerida pelos doentes nas diversas bebidas consideradas. Os valores de cafeína considerados para cada bebida foram os utilizados por Barone e Roberts [19]: café expresso – 100 mg; café instantâneo – 60 mg; café descafeinado – 3 mg; infusão de chá – 30 mg; chá instantâneo – 20 mg; bebidas tipo coca-cola – 18 mg. O questionário utilizado neste estudo foi previamente validado para a estimativa de cafeína numa população portuguesa [20].

Os restantes dados foram obtidos por consulta do processo clínico, incluindo data de diagnóstico, estadiamento, data de início da imunoterapia, regime de imunoterapia (nivolumab, atezolizumab ou pembrolizumab), expressão de PDL1, exposição prévia a quimioterapia e efeitos adversos.

A avaliação da resposta à imunoterapia foi realizada considerando os resultados das TC torácicas realizadas aos 3, 6 e 12 meses após o início da imunoterapia, e classificadas com base no irRC (immune-related response criteria): resposta completa, resposta parcial, doença estável ou progressão de doença. [21] Os doentes com resposta completa ou resposta parcial foram considerados como tendo resposta para os efeitos deste estudo.

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada recorrendo ao software STATA (StataCorp, Texas, USA) versão 16. As variáveis categóricas foram caracterizadas através do cálculo de números absolutos e proporções. As variáveis contínuas foram caracterizadas através do cálculo da média \pm desvio padrão ou mediana \pm intervalo interquartil de acordo com a normalidade testada por método de Shapiro Wilk. A análise do consumo médio diário de cafeína foi realizada tendo em conta diversos intervalos de tempo, incluindo o período de imunoterapia, no último ano e nos últimos cinco, dez e vinte anos. As diferenças entre dois grupos foram testadas pelo t de student ou Mann-Whitney de acordo com a normalidade. As diferenças de proporções foram testadas através do qui-quadrado. A análise unifatorial dos preditores de resposta aos 3, 6 e 12 meses foi realizada para cada preditor dicotomizado através do qui-quadrado. No caso do consumo de cafeína, foi ainda comparada a média diária entre os respondedores e os não respondedores. A análise multifatorial foi realizada através de um modelo de regressão logística contruído pelo método *step down* após inclusão de todos os preditores com um $p > 0.25$ na análise unifatorial. A comparação da toma média diária de cafeína antes e após o diagnóstico foi testada através do t de Student para amostras emparelhadas. Em todas as análises apresentadas foi considerado significativo um valor de $p < 0,05$ a duas caudas. O cálculo do poder do estudo foi realizado através do STATA, utilizando o comando “powerlog” (autor: Philip B. Ender - UCLA Academic Technology Services). Para um aumento da taxa de resposta à imunoterapia de 20 para 40% com um aumento de um desvio padrão no consumo médio de cafeína, calculou-se um poder de 0,6 para uma amostra alvo de 47 doentes. Tratando-se este de um estudo preliminar, foi assumido que poderia não ser possível atingir esse número de doentes na nossa amostra e o poder do estudo seria inferior.

RESULTADOS

Foram realizados inquéritos a 40 doentes, no entanto 3 foram excluídos do restante estudo por não terem disponível TC Torácica para avaliação da resposta à imunoterapia. Foram então incluídos 37 doentes na análise final, 23 (62,2%) do sexo masculino e 14 (37,8%) do sexo feminino. As características da população estão resumidas na tabela 1.

A idade média era de $63,7 \pm 11,2$ anos, sem diferença entre sexos ($61,4 \pm 2,7$ anos nas mulheres e $65,1 \pm 2,5$ anos nos homens). No início da imunoterapia, 36 doentes (97,3%) encontravam-se no estadio IV e 1 doente (2,7%) no estadio IIIB. A expressão de PDL1 era positiva em 21 doentes (56,8%) e negativa em 16 (43,2%), sem diferenças entre sexos ($p=0,517$) ou idade ($p=0,236$).

Relativamente ao regime de imunoterapia, 9 doentes (24,3%) estavam sob atezolizumab, 9 (24,3%) nivolumab e 19 (51,4%) pembrolizumab, sem diferenças entre sexos ($p=0,343$), classe etária ($p=0,459$) ou estadio ($p=0,202$).

A proporção de doentes com expressão de PDL1 variou de acordo com a imunoterapia, sendo de 33% nos doentes sob atezolizumab, 0% nos doentes sob nivolumab e 95% nos doentes sob pembrolizumab ($p=0,000$).

Previamente ao início da imunoterapia, 22 doentes (59,5%) tinham sido submetidos a quimioterapia, não se observando diferenças nesta proporção entre sexos ($p=0,641$), classe etária ($p=0,385$) ou imunoterápico ($p=0,202$).

Durante o período de estudo observado, registaram-se efeitos adversos em 2 doentes (5,4%), ambos com história de quimioterapia prévia ($p=0,078$), sem diferença entre sexos ($p=0,715$), classe etária ($p=0,969$), estadio ($p=0,809$), expressão de PDL1 ($p=0,204$) ou regime de imunoterapia ($p=0,367$).

O consumo médio diário de cafeína durante a imunoterapia foi de $186,9 \pm 139,7$ mg/dia. Este valor não variou com o sexo ($p=0,118$), idade ($p=0,418$) ou estadio ($p=0,487$). Os dados relativos ao consumo de cafeína podem ser consultados na tabela 1. Observou-se uma tendência para maior consumo nos doentes mais jovens nos intervalos de 10 anos ($317,4 \pm 208,2$ abaixo dos 65 anos vs. $204,2 \pm 158,6$ acima dos 65 anos) e 20 anos ($337,2 \pm 229,6$ abaixo dos 65 anos vs. $211,9 \pm 177,8$ acima dos 65 anos), sem relação com outras variáveis.

Tabela 1 - Caracterização da amostra

Característica		Valor
Total de doentes – n		37
Sexo feminino – n (%)		14 (37,8)
Idade média – anos		63,7 ± 11,2
Estadio ao início da imunoterapia – n (%)	IIIB	1 (2,7)
	IV	36 (97,3)
Expressão de PDL – n (%)		21 (56,8)
Regime de imunoterapia – n (%)	Atezolizumab	9 (24,3)
	Nivolumab	9 (24,3)
	Pembrolizumab	19 (51,4)
QT prévia – n (%)		22 (59,5)
Eventos adversos durante a Imunoterapia – n (%)	Imunoterapia	2 (5,4)
	1 ano	186,9 ± 139,7
	5 anos	185,1 ± 138,9
	10 anos	234,3 ± 162,3
	20 anos	262,3 ± 191,9
Consumo médio diário de cafeína – mg/dia	5 anos	276,3 ± 212,9
	10 anos	
	15 anos	
	20 anos	

PDL1: programmed cell death ligand 1 | QT: Quimioterapia

Resposta à imunoterapia

Aos 3 meses de tratamento, 30 doentes (81,1%) encontravam-se estáveis e 7 doentes (18,9%) tinham progressão de doença, sem diferença entre sexos ($p=0,761$), idade ($p=0,238$), estadio ($p=0,624$) ou quimioterapia prévia ($p=0,320$). Observou-se uma tendência a maior proporção de resposta nos doentes com expressão de PDL1 ($p=0,095$) e uma associação significativa ao regime de imunoterapia ($p=0,045$), com maior resposta nos doentes sob pembrolizumab ($p=0,029$).

Aos 6 meses, 21 doentes (67,7%) encontravam-se estáveis e 10 doentes (32,3%) tinham progressão de doença, também sem diferença entre sexos ($p=0,244$), estadio ($p=0,483$), quimioterapia prévia ($p=0,530$) ou expressão de PDL1 ($p=0,252$). Observou-se uma tendência a maior proporção de resposta nos doentes com menos de 65 anos ($p=0,097$).

Aos 12 meses, 11 doentes (61,1%) encontravam-se estáveis e 7 doentes (38,9%) tinham progressão de doença, sem diferenças entre sexos ($p=0,494$), idade ($p=0,280$), quimioterapia prévia ($p=0,629$) ou expressão de PDL1 ($p=0,280$). Observou-se uma associação significativa

entre a resposta ao tratamento e o regime de imunoterapia ($p=0,015$). A proporção de doentes com resposta a cada imunoterápico aos 3, 6 e 12 meses está descrita na tabela 2.

Tabela 2 – Proporção de doentes com a resposta ao tratamento sob cada imunoterápico

IMUNOTERÁPICO	RESPOSTA AO TRATAMENTO					
	3 meses		6 meses		12 meses	
	Com resposta	Sem resposta	Com resposta	Sem resposta	Com resposta	Sem resposta
Atezolizumab	5 (56%)	4 (44%)	2 (33%)	4 (67%)	0 (0%)	4 (100%)
Nivolumab	7 (78%)	2 (22%)	6 (75%)	2 (25%)	5 (71%)	2 (29%)
Pembrolicumab	18 (95%)	1 (5%)	13 (76%)	4 (24%)	6 (86%)	1 (14%)
Total	30 (81%)	7 (19%)	21 (68%)	10 (32%)	11 (61%)	7(39%)

Na análise multifatorial o único preditor de resposta aos 3 meses ($p=0,024$) e aos 12 meses ($p=0,032$) foi a imunoterapia, apenas com uma tendência aos 6 meses ($p=0,094$). Os preditores significativos da resposta ao tratamento aos 3, 6 e 12 meses estão resumidos na tabela 3.

Tabela 3 – Preditores de resposta ao tratamento

	RESPOSTA AO TRATAMENTO		
	3 MESES	6 MESES	12 MESES
ANÁLISE UNIFATORIAL			
Sexo	$p=0,761$	$p=0,244$	$p=0,494$
Idade	$p=0,238$	$p=0,097$	$p=0,280$
Estadio	$p=0,624$	$p=0,483$	-
Expressão PDL1	$p=0,095$	$p=0,252$	$p=0,280$
Imunoterapia	$p=0,045$	$p=0,133$	$p=0,015$
Exposição a QT	$p=0,320$	$p=0,530$	$p=0,629$
ANÁLISE MULTIFATORIAL			
Imunoterápico	$p=0,024$	$p=0,094$	$p=0,032$

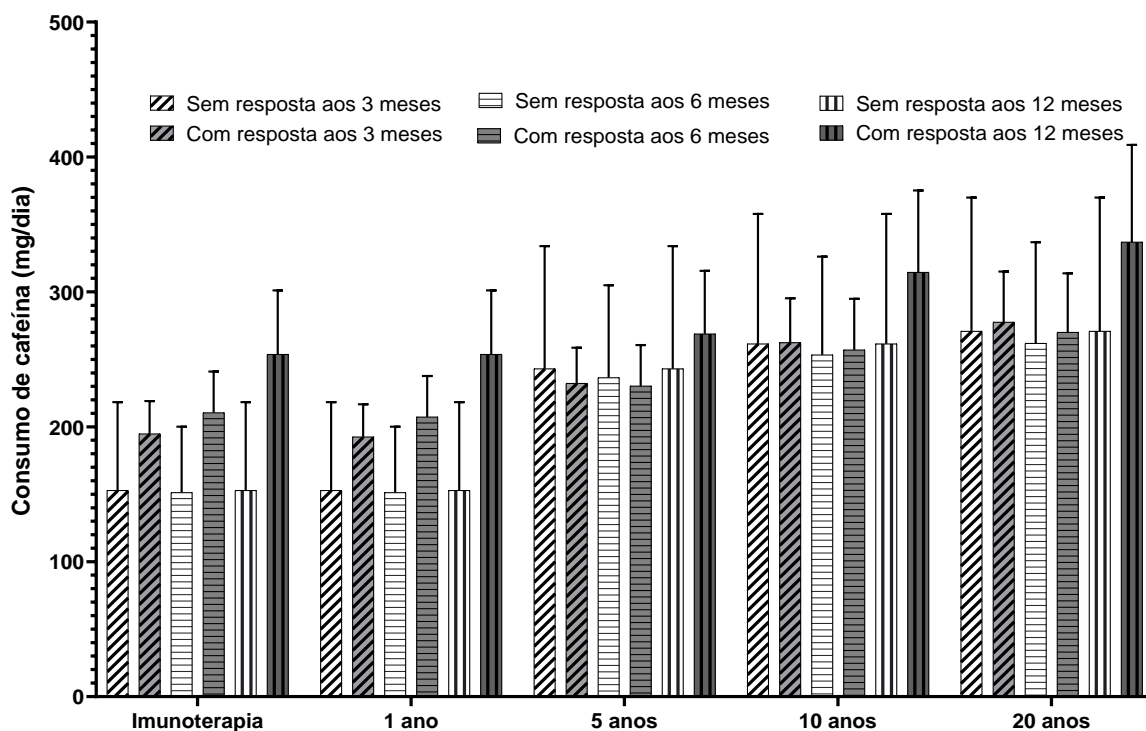
PDL1: programmed cell death ligand 1 | QT: Quimioterapia

Consumo de cafeína e resposta ao tratamento

Não se observou associação entre o consumo médio diário de cafeína durante a imunoterapia e a resposta ao tratamento aos 3 meses ($p=0,206$) e 6 meses ($p=0,103$). Observou-se uma tendência a maior consumo de cafeína nos doentes com resposta aos 12 meses ($p=0,098$). Considerando o consumo num período mais longo, incluindo o último ano e os últimos 5, 10 e 20 anos, observou-se uma tendência consistente para maior consumo de cafeína nos respondedores, sem outras associações.

Analisando apenas os valores numéricos, observa-se que no geral os doentes com resposta ao tratamento têm um maior consumo de cafeína, quer considerando apenas o consumo durante a imunoterapia quer considerando períodos mais longos. Os valores de consumo de cafeína podem ser consultados no Gráfico 1.

Gráfico 1 – Consumo médio de cafeína de acordo com a resposta à imunoterapia



Na Tabela 4 encontra-se a relação entre os consumos médios de cafeína em cada período avaliado e a resposta ao tratamento aos 3, 6 e 12 meses.

Tabela 4 – Consumo médio diário de cafeína em mg/dia de acordo com a resposta ao tratamento

PERÍODO DE ANÁLISE DO CONSUMO	RESPOSTA AO TRATAMENTO					
	3 meses		6 meses		12 meses	
	Com resposta	Sem resposta	Com resposta	Sem resposta	Com resposta	Sem resposta
Imunoterapia	194,8 ± 133,1	152,9 ± 172,9	210,5 ± 139,5	151,3 ± 154,4	253,7 ± 156,9	152,9 ± 172,9
Último ano	192,6 ± 132,1	152,9 ± 172,9	207,4 ± 138,5	151,3 ± 154,4	253,7 ± 156,9	152,9 ± 172,9
5 anos	232,3 ± 144,1	243,1 ± 240,2	230,3 ± 138,8	236,5 ± 216,2	268,9 ± 154,8	243,1 ± 240,2
10 anos	262,5 ± 179,8	261,6 ± 254,4	256,9 ± 173,7	253,4 ± 229,9	314,4 ± 201,5	261,6 ± 254,4
20 anos	277,5 ± 205,0	270,8 ± 262,0	270,1 ± 199,9	261,9 ± 237,0	336,9 ± 238,9	270,8 ± 262,0

Finalmente comparou-se o consumo médio de cafeína antes e após o início de imunoterapia. Observaram-se diferenças significativas nos últimos 5 anos ($p=0,0005$), 10 anos ($p=0,0002$) e 20 anos ($p=0,0004$).

DISCUSSÃO

De acordo com os nossos melhores conhecimentos, este é o primeiro estudo que avalia os efeitos do consumo de cafeína na resposta à imunoterapia em doentes com cancro do pulmão. Não encontramos uma correlação significativa entre estes dois parâmetros na nossa população, mesmo após análise multivariada. Observámos, no entanto, uma correlação positiva significativa entre o regime de imunoterapia e a resposta ao tratamento aos 3 e 12 meses. Esta associação foi mais marcada com o pembrolizumab e aos 3 meses. Manteve-se no estudo multifatorial, com ajuste aos restantes parâmetros.

O facto de o pembrolizumab não demonstrar os mesmos resultados aos 6 e aos 12 meses, poderá dever-se ao facto da amostra ter diminuído ao longo do estudo. Alguns doentes não foram incluídos na avaliação aos 6 e aos 12 meses por ter havido progressão da doença ou por não cumprirem ainda o critério temporal.

O consumo de cafeína não interferiu com a resposta à imunoterapia no nosso estudo. No entanto, os doentes com resposta ao tratamento têm um valor numérico mais elevado de consumo de cafeína. Em particular, verificamos uma maior proporção de resposta ao tratamento aos 12 meses com consumos médios diários de cafeína mais elevados durante a imunoterapia e durante o último ano.

Uma possível explicação para este achado é que a resposta ao tratamento condicione ela própria um maior consumo de cafeína, uma vez que doentes estáveis ou a melhorar mantêm uma rotina de vida mais próxima à que tinham anteriormente, incluindo os hábitos cafeínicos. Outra possibilidade é que a cafeína tenha uma interferência positiva na resposta à imunoterapia. Esta explicação é ainda sustentada pelo racional biológico em que o antagonismo A_{2A} pode aumentar a resposta imune ao tumor. [10,12]

No geral, verificou-se uma diferença significativa entre os níveis de consumo médio de cafeína após o início da imunoterapia e os níveis de consumo médio de cafeína nos últimos 5, 10 e 20 anos. Isto poderá dever-se ao facto de muitos doentes perante o diagnóstico de um cancro fazerem um maior esforço por ter um regime de vida saudável, muitas vezes diminuindo ou cessando o consumo de álcool, tabaco e café. No caso do café esta modificação dos hábitos não é necessariamente adequada, uma vez que o consumo de cafeína é compatível com hábitos de vida saudáveis. [20,22]

A diferença na proporção de doentes com expressão de PDL1 face ao regime de imunoterapia deve-se provavelmente ao facto dos 3 imunoterápicos não partilharem exatamente as mesmas indicações. Até à data, o pembrolizumab é o único imunoterápico participado em Portugal como primeira linha para o tratamento de CPNPC em estadio avançado com uma expressão de $PDL1 \geq 50\%$ ou como segunda linha após a falência de tratamento com

quimioterapia e com expressão de PDL1 \geq 1%. O nivolumab e o atezolizumab apenas têm indicação para tratamento de CPNPC em estadio avançado após falha com o tratamento com quimioterapia, independentemente da expressão de PDL1. (informação disponível em www.infarmed.pt, consultado a 18/05/2020)

Relativamente aos efeitos adversos verificou-se que só surgiram em doentes que não tinham realizado quimioterapia previamente. Este efeito pode relacionar-se com a pequena dimensão da amostra, mas será também provável que a exposição a quimioterapia prévia se associe a pior status, o que pode aumentar a sensibilidade a eventos adversos.

As limitações deste estudo incluem o tamanho da amostra inicial o que se agravou nos intervalos de 6 e 12 meses, uma vez que alguns doentes não cumpriram ainda este intervalo de tratamento à data do estudo, enquanto outros suspenderam o tratamento por progressão ou toxicidade. De facto, encontrámos poucos doentes com duração de tratamento superior a 12 meses, o que se pode dever à imunoterapia ainda ser uma opção terapêutica recente. O seu início é um processo algo moroso, incluindo aprovação pela Comissão de Farmácia e Terapêutica do CHUC. No nosso centro, alguns doentes optam por iniciar tratamento com quimioterapia clássica atendendo à maior celeridade do início desta opção.

Apesar destas limitações, este estudo tentou avaliar os efeitos do bloqueio dos recetores de adenosina de uma forma não interventiva, permitindo a criação de dados preliminares que suportem o desenvolvimento de ensaios clínicos com fármacos que atuem nesta via. Foi realizada uma análise da toma de cafeína de múltiplas fontes e realizado um estudo estatístico multifatorial incluindo outros fatores preditores da resposta. Foi ainda analisada a resposta em múltiplos intervalos de tempo sob terapêutica com imunoterapia.

CONCLUSÃO

A principal conclusão deste estudo é que o consumo de cafeína não parece interferir com a resposta à imunoterapia. Apesar da ausência de efeito positivo, sugere-se que o consumo de cafeína é pelo menos seguro nesta população. Os doentes com resposta ao tratamento têm um maior consumo numérico de cafeína, tendo sido observado uma maior proporção de resposta ao tratamento aos 12 meses com consumos médios diários de cafeína mais elevados durante a imunoterapia e no último ano, o que é favorável ao desenvolvimento de estudos de maior dimensão sobre este tema.

Estudos realizados demonstraram antagonismo dos $A_{2A}R$ em concentrações micromolares pela cafeína [14] e manutenção de imunidade anti-tumoral combinando imunoterapia com KW6002 (um antagonista específico dos $A_{2A}R$), sugerindo que este antagonismo deve ser considerado nos protocolos de imunoterapia pelo perfil de segurança destes antagonistas e pela melhoria da eficácia terapêutica [13].

Como tal, esta é uma área promissora e com falta de estudos, particularmente, estudos mais abrangentes e com uma amostra de maior dimensão que permitam esclarecer se a cafeína poderá funcionar como tratamento adjuvante à imunoterapia em doentes com cancro do pulmão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Hospital de Dia de Pneumologia Oncológica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra por me ter disponibilizado a consulta dos dados necessários a este artigo.

Um especial agradecimento à Dra. Alice Pêgo por todo o apoio e aprendizagem sobre abordagem empática e humana do tratamento dos doentes com Cancro do Pulmão, particularmente, sob imunoterapia.

Um enorme agradecimento ao Professor Doutor Tiago Alfaro pela orientação prestada, em particular, pelo apoio, disponibilidade, paciência e dedicação demonstrada ao longo da elaboração deste trabalho final.

Agradeço à minha família por todo o apoio incondicional.

A todos os doentes que colaboraram para que este estudo pudesse ser realizado, muito obrigada!

REFERÊNCIAS

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J. Clin.* 2018; 68: 7–30.
2. Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature.* 2018; 553: 446–454.
3. Ostrand-Rosenberg S. Immune surveillance: a balance between pro- and anti-tumor immunity. *Curr Opin Genet Dev.* 2008; 18:11–18.
4. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science.* 2011; 331:1565–1570.
5. Zavala VA, Kalergis AM. New clinical advances in immunotherapy for the treatment of solid tumours. *Immunology.* 2015; 145:182–201.
6. Ribas A. Tumor immunotherapy directed at PD-1. *N Engl J Med.* 2012; 366: 2517–2519.
7. Ribas A. Adaptive Immune Resistance: How Cancer Protects from Immune Attack. *Cancer Discov.* 2015; 5:915–919.
8. Altorki NK, Markowitz GJ, Gao D, Port JL, Saxena A, Stiles B, et al. The lung microenvironment: as important regulator of tumour growth and metastasis. *Nat Rev Cancer.* 2019; 19(1):9-31
9. Ju Hwan Cho, Filiz Oezkan, Michael Koenig, Gregory Otterson, Jamess Gordon Herman, Kai He. Epigenetic Therapeutics and their impact in immunotherapy of lung cancer. *Curr Pharmacol Rep.* 2017; 3(6):360-373.
10. Ohta A, Gorelik E, Prasad SJ, Ronchese F, Lukashev D, Wong MK et al. A2A adenosine receptor protects tumors from antitumor T cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103:13132–13137.
11. Fredholm BB, AP IJ, Jacobson KA, Klotz KN, Linden J. International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. *Pharmacol Ver.* 2001; 53:527–52.
12. Hatfield SM, Sitkovsky M. A2A adenosine receptor antagonists to weaken the hypoxia-HIF-1 α driven immunosuppression and improve immunotherapies of cancer. *Current Opinion in Pharmacology.* 2016; 29:90–96.
13. Kjaergaard J, Hatfield S, Jones G, Ohta A, Sitkovsky M. A2A Adenosine Receptor Gene Deletion or Synthetic A2A Antagonist Liberate Tumor-Reactive CD8+ T Cells from Tumor-Induced Immunosuppression. *The Journal of Immunology.* 2018; 201(2):782–791.

14. Gessi S, Merighi S, Varani K, Borea PA. Adenosine Receptors in Health and Disease. *Adv. Pharmacol.* 2011; 61:41-75.
15. Fredholm BB, APIJ, Jacobson KA, Linden J, Muller CE. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXI. Nomenclature and classification of adenosine receptors-an update. *Pharmacol Rev.* 2011; 63:1–34.
16. Vigano S, Alatzoglou D, Irving M, Ménétrier-Caux C, Caux C, Romero P, et al. Targeting adenosine in cancer immunotherapy to enhance T-Cell function. *Frontiers in Immunology.* 2019; 10:925.
17. Burnstock G, Brouns I, Adriaensen D, Timmermans JP. Purinergic Signaling in the Airways. *Pharmacol Rev.* 2012; 64:834-68.
18. Fredholm BB, Battig K, Holmén J, Nehlig A, Zvartau EE. Actions of Caffeine in the Brain with Special Reference to Factors That Contribute to Its Widespread Use. *Pharmacol Ver.* 1999; 51:83-133.
19. Barone JJ, Roberts HR. Caffeine consumption. *Food Chem. Toxicol.* 1996; 34:119-29.
20. Inês C. Costa, Tiago M. Alfaro, Rodrigo A. Cunha, Carlos Robalo-Cordeiro. A Preliminary Study on the Effect of Caffeine Consumption on the Evolution of Sarcoidosis. *Journal of Caffeine Research.* 2011; 1:206-12.
21. Wolchok JD, Hoos A, Bohnsack O, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria. *Clin Cancer Res.* 2009; 15:7412-7420.
22. Alfaro TM, Monteiro RA, Cunha RA, Cordeiro CR. Chronic coffee consumption and respiratory disease: A systematic review. *Clin Respir J.* 2018; 12: 1283-1294.