

## **Comparativo entre tratamentos antineoplásicos com inibidores seletivos (BRAF/MEK) e as novas potenciais terapias combinatórias para melanoma metastático**

**Comparison between antineoplastic treatments with selective inhibitors (BRAF/MEK) and the new potentials combinatorial therapies for metastatic melanoma**

**Comparación entre los tratamientos antineoplásicos con inhibidores selectivos (BRAF/MEK) y las nuevas potenciales terapias combinatorias para el melanoma metastático**

Recebido: 08/10/2022 | Revisado: 22/10/2022 | Aceitado: 24/10/2022 | Publicado: 28/10/2022

**Beatriz Toledo Dal'Ava**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6797-0915>  
Universidade Anhembi Morumbi, Brasil  
E-mail: [beatriztoledo@outlook.com](mailto:beatriztoledo@outlook.com)

**Natali Figueiredo de Souza**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8956-3656>  
Universidade Anhembi Morumbi, Brasil  
E-mail: [natalifs@outlook.com](mailto:natalifs@outlook.com)

**Thays dos Santos Chagas**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9533-174X>  
Universidade Anhembi Morumbi, Brasil  
E-mail: [thaysddn@yahoo.com.br](mailto:thaysddn@yahoo.com.br)

**Gustavo José Vasco Pereira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-3811-7220>  
Universidade Anhembi Morumbi, Brasil  
E-mail: [gustavo.pereira@anhembi.br](mailto:gustavo.pereira@anhembi.br)

### **Resumo**

O melanoma é responsável pela maioria das mortalidades relacionadas ao câncer de pele, e, seu melhor prognóstico se relaciona ao diagnóstico e tratamento precoce. Nesse sentido muito se tem estudado sobre o tratamento da doença, relacionando principalmente os inibidores seletivos de vias de sinalização celular. Assim, a presente revisão objetiva discutir sobre o uso das monoterapias de inibidores de BRAF (vemurafenibe e dabrafenibe) e MEK (trametinibe), as possíveis combinações entre eles e outras opções terapêuticas que podem promissora e entrar no tratamento neoadjuvante e adjuvante em conjunto a estes inibidores seletivos, visto que as principais limitações no tratamento com estes é o desenvolvimento frequente de resistências ao mecanismo dos fármacos. A fim de obter o conteúdo necessário, foi realizada revisão bibliográfica nas bases da Biblioteca Virtual de Saúde, PubMed, Scielo e Google Acadêmico, utilizando as seguintes palavras chaves: melanoma, inibidores de BRAF e MEK, monoterapia do dabrafenibe e vemurafenibe, combinações de dabrafenibe e trametinibe, ação da proteína dissulfeto isomerase, imunoterapia no tratamento do melanoma metastático. Após o levantamento das informações foi possível concluir que a terapia combinada de dabrafenibe + trametinibe se mostra mais vantajosa frente aos efeitos adversos, qualidade de vida e sobrevida livre de progressão do paciente, quando comparado diretamente com as monoterapias quimioterápicas seletivas, podendo esta ser considerada para futuros estudos que englobam, por exemplo, a associação com imunoterapia ou a quercetina, um potencial inibidor natural para PDI.

**Palavras-chave:** Melanoma; Imunoterapia; Farmacoterapia; Farmacoeconomia; Qualidade de vida; BRAF Quinase; MEK.

### **Abstract**

Melanoma is responsible for most skin cancer related mortalities, and its best prognosis is related to early diagnosis and treatment. In this sense much has been studied about the treatment of the disease, relating mainly to selective inhibitors of signaling pathways. Therefore, the present review addresses the use of monotherapies of BRAF (vemurafenib and dabrafenib) and MEK (trametinib) inhibitors, the possible combinations between them and other therapeutic options that may be promising to participate on the neoadjuvant and adjuvant treatment with the selective inhibitors, since the main limitations in treatment with these inhibitors is the frequent development of drug resistance mechanisms. In order to obtain the necessary content, a bibliographic review was carried out in the following databases of the Virtual Health Library, PubMed, Scielo and Google Academic, using the following keywords: melanoma, BRAF and MEK inhibitors, dabrafenib monotherapy and vemurafenib, dabrafenib and trametinib combinations, protein disulfide isomerase action, immunotherapy in the treatment of metastatic melanoma. After the information survey it was possible to conclude that dabrafenib + trametinib combination therapy is more

advantageous in view of the adverse effects, quality of life and progression free survival of the patient when compared directly to selective chemotherapy monotherapies, and this may be considered for future studies that include, for example, combination with immunotherapy or quercetin, a potential natural inhibitor for PDI.

**Keywords:** Melanoma; Immunotherapy; Drug therapy; Quality of life; BRAF Kinase; MEK.

### Resumen

El melanoma es responsable de la mayoría de las muertes relacionadas con el cáncer de piel, y su mejor pronóstico está relacionado con el diagnóstico y tratamiento temprano. En este sentido, el tratamiento para esta enfermedad ha sido muy estudiado, principalmente relacionado con inhibidores selectivos de las vías de señalización celular. Así, la presente revisión aborda el uso de monoterapias de inhibidores BRAF (vemurafenib y dabrafenib) y MEK (trametinib), las posibles combinaciones entre ellos, así como otras opciones terapéuticas que pueden ser prometedoras para entrar en tratamiento adyuvante y coadyuvante de estos inhibidores selectivos, ya que las principales limitaciones en el tratamiento con estos inhibidores es el desarrollo frecuente de mecanismos de resistencia a fármacos. Con el fin de reunir el contenido necesario, fue realizada una revisión bibliográfica en las siguientes bases de datos de la Biblioteca Virtual en Salud, PubMed, Scielo y Google Academic, utilizando las siguientes palabras clave: melanoma, inhibidores BRAF y MEK, combinaciones dabrafenib en monoterapia y vemurafenib, dabrafenib y trametinib, acción disulfuro isomerasa, inmunoterapia en el tratamiento de melanoma metastásico. Después de análisis de la información fue posible concluir que la terapia combinada de dabrafenib + trametinib es más ventajosa en vista de los efectos adversos, la calidad de vida y la supervivencia libre de progresión del paciente cuando se compara directamente con las monoterapias de quimioterapia selectiva, con lo cual esta puede ser considerada en estudios futuros que incluyan, por ejemplo, la combinación con inmunoterapia o quercetina, un inhibidor natural potencial de la PDI.

**Palabras clave:** Melanoma; Inmunoterapia; Farmacoterapia; Calidad de vida; BRAF Quinasa; MEK.

## 1. Introdução

As neoplasias malignas, dentre suas múltiplas variações, estão entre as principais causas de morte, e, de acordo com dados do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva [INCA] (2019), a estimativa para o Brasil, triênio 2020-2022, é que surjam cerca de 600 mil novos casos, para cada ano. Embora, no geral, o câncer de pele seja o mais incidente no país, o melanoma, representando a forma mais agressiva da doença, com altos índices de letalidade e grande potencial de metástase, apresenta-se com aproximadamente 4% das estimativas de neoplasias malignas do órgão (INCA, 2019), sendo esse percentual suficiente para indicar a doença como alvo em diversas linhas de pesquisas, principalmente pela heterogeneidade biológica das células cancerosas ser a principal barreira para o tratamento de metástases (Fidler, 2003).

Felizmente, quando descoberto precocemente, o tratamento para os melanomas primários por excisão cirúrgica apresenta resultados satisfatórios, com alta taxa de sobrevivência. No entanto, após metástase, a excisão cirúrgica do tumor não se mostra eficiente, com taxa de sobrevida de 10% em cinco anos (Liu & Sheikh, 2015).

### Gênese do melanoma

Os melanócitos, células acometidas pelo agressivo melanoma, são também responsáveis pela produção da melanina e localizam-se entre a junção da derme e epiderme, sobrepostas a membrana basal, que em condições ordinárias, mantêm-se como células individuais, formando interações celulares heterotípicas com queratinócitos, produzindo e subsequentemente transferindo melanossomas produtores de pigmento aos queratinócitos a fim de protegê-los (Damsky et al., 2010). A melanina, portanto, é acumulada próximo ao núcleo celular para evitar que luz UV promova danos ao DNA (Meyle & Guldberg, 2009).

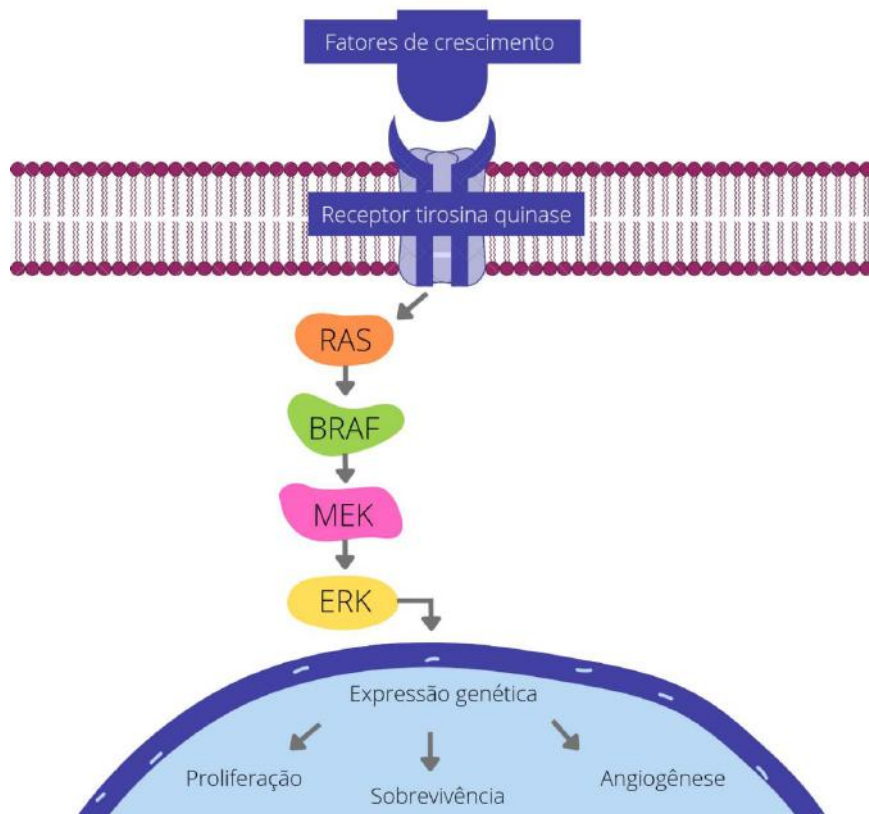
Existem vários fatores de risco intrínsecos e ambientais que favorecem o “*start*” para o desenvolvimento do melanoma, como histórico familiar, múltiplos e atípicos nevos benignos (“pintas”) e melanomas anteriores. Existem ainda os fatores de risco adicionais, como a imunossupressão e a sensibilidade ao sol, todos relacionados a uma predisposição genética ou a um estressor ambiental que contribui para a gênese do melanoma (Miller & Mihm, 2006).

A princípio, a neoplasia pode se apresentar de duas formas ao paciente: com lesão precursora visível (proliferação melanocítica benigna - nevo) ou sem lesão precursora visível, no entanto, para ambos casos a primeira hipótese é usada como modelo para compreensão da progressão da doença (Damsky et al., 2010).

Molecularmente, o melanoma conta com diversos mecanismos para garantir sua subsistência. A via de sinalização MAPK, demonstrada na Figura 1, conhecida por regularmente promover às células crescimento, proliferação, sobrevivência e diferenciação, passa por ativação anômala, resultante de mutações em BRAF (Miller & Mihm, 2006). A variação BRAF<sup>V600E</sup>, mais frequente dentre os casos (Hauschild et al., 2012; Wan et al., 2004), ativa constitutivamente MEK e ERK sem que haja a ativação de RAS. Somaticamente à mutação supracitada, podem surgir outras, que potencializam o desenvolvimento do melanoma, como por exemplo, a inativação do gene homólogo de fosfatase e tensina (PTEN) que leva à displasia celular atípica aleatória, presente em 25-50% dos casos, ou, ainda a inativação do gene CDKN2A, responsável pela codificação das proteínas de reparação tumoral p16INK4A e p19ARF29, mutação presente em 25-40% dos casos (Miller & Mihm, 2006).

Considerando que a mutação da quinase BRAF<sup>V600E</sup> ocorre em aproximadamente 7% das malignidades humanas gerais (Davies et al., 2002) e está presente em aproximadamente 70% dos melanomas (Davies et al., 2002; Menzies et al., 2012), esta revisão propõe sugerir dentre as principais terapias atualmente utilizadas para o tratamento de melanoma metastático, que inclui a inibição em BRAF, qual a opção terapêutica mais adequada tendo como base a qualidade de vida e o tempo de sobrevivência do paciente, apontando possíveis tratamentos promissores relacionados à resistência antineoplásica adquirida.

**Figura 1** - Via MAPK (RAS, BRAF, MEK e ERK).



*Nota.* Esquema da via de sinalização celular MAPK. **Fonte:** Adaptado de Menzies et al. (2012).

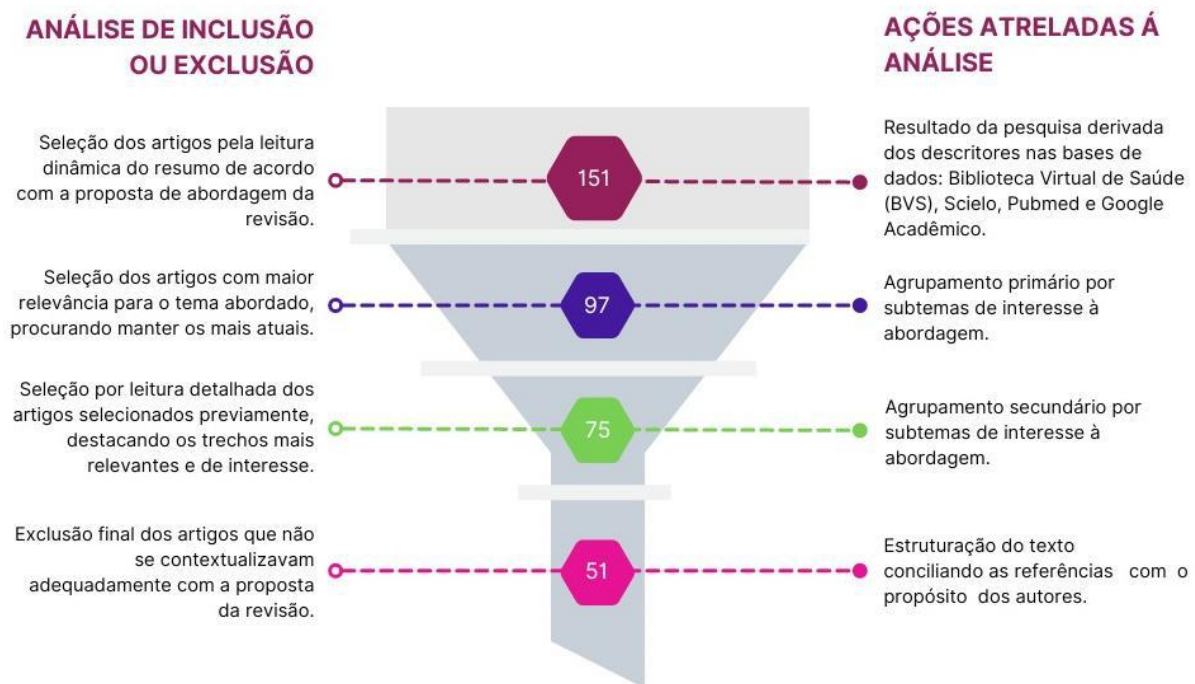
## 2. Metodologia

Foi realizada revisão bibliográfica sistemática de literatura segundo Galvão e Ricarte (2019), observando as publicações disponíveis nas seguintes bases de dados: Biblioteca Virtual de Saúde, PubMed, Scielo e Google Acadêmico. O estudo foi realizado considerando publicações do período compreendido entre os anos de 2012 a 2021, os artigos referenciados anteriormente a essas datas são considerados muito relevantes para o assunto, uma vez que são muito bem citados. Para realizar a busca, utilizamos os seguintes descritores: melanoma, inibidores de BRAF e MEK, monoterapia do dabrafenibe e vemurafenibe, combinações de dabrafenibe e trametinibe, proteína dissulfeto isomerase, PDI, imunoterapia no melanoma metastático, em português e seus congêneres em inglês.

Outro recurso utilizado para identificar possíveis estudos de interesse, foi estender a busca às citações dos artigos selecionados, sendo assim, após a busca na base de dados supracitadas, foi realizada a seleção dos artigos que mais se relacionavam com a abordagem descrita, a fim de facilitar a leitura e a identificação dos objetivos.

Os detalhes das seleções de artigos estão descritos na Figura 2.

Figura 2 - Diagrama de seleção bibliográfica.



Fonte: Autores (2022).

## 3. Resultados e Discussão

### Resistência aos inibidores de BRAF

Sabe-se que o tratamento para o melanoma é um desafio, visto que a terapia quimioterápica convencional não surte efeitos sobre a neoplasia devido as inúmeras associações mutagênicas possíveis e o próprio mecanismo de escape oncológico, portanto, o desenvolvimento de inibidores seletivos a BRAF<sup>V600E</sup>, como o vemurafenibe e dabrafenibe, significou grandes avanços científicos sobre o tratamento do melanoma, demonstrado clinicamente, com altas taxas de resposta antitumoral, entre pacientes com melanomas positivos para BRAF<sup>V600E</sup>. E embora haja a resistência frequentemente adquirida, logo após as respostas iniciais, em aproximadamente 6 meses (Cesi et al., 2017; Hauschild et al., 2012; Menzies et al., 2012; Nazarian et al., 2010; Sun et al., 2014) é possível utilizar tais inibidores como adjuvante ou neoadjuvante na terapêutica direcionada ao

melanoma derivado da específica mutação de BRAF e o metabolismo celular envolvido em estágios III e IV da doença, inclusive para possibilitar intervenção cirúrgica à casos anteriormente irrissecáveis e localmente avançados (Czarnecka et al., 2021).

Hipóteses para os mecanismos de resistência adquirida à inibição de BRAF, incluem mutações secundárias em BRAF<sup>V600E</sup>, mutações em NRAS (Nazarian et al., 2010) e PDGFR $\beta$  (Shi et al., 2011), reativação de MAPK e ativação de vias de sobrevivência alternativas (Luebker & Koepsell, 2019). De acordo com Sale e Cook (2013) a resistência neoplásica se relaciona com a parada no ciclo celular em G1, ou seja, ao invés da célula responder ao bloqueio de BRAF pelo fármaco de forma a ser conduzida a apoptose, ela sofre um fenômeno citostático.

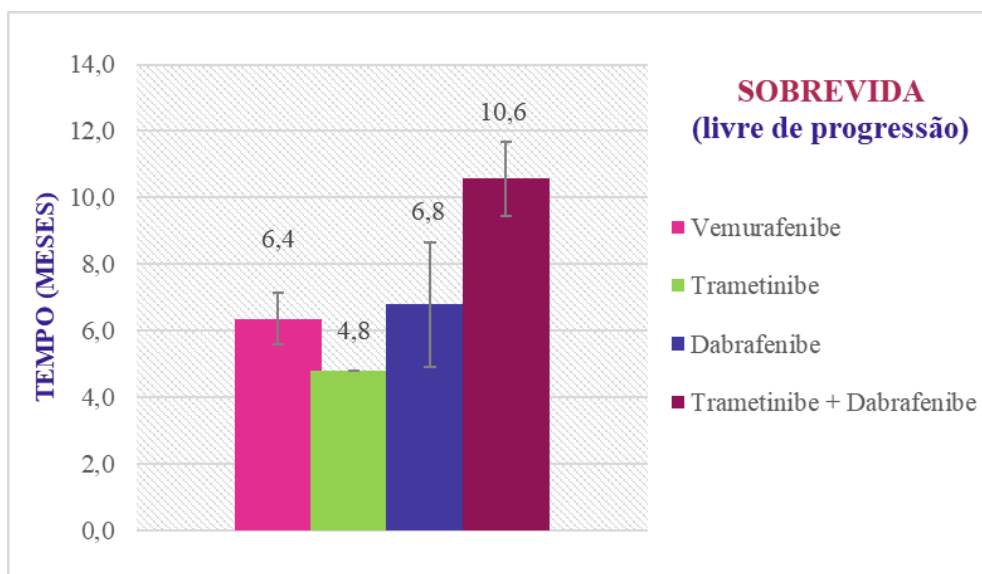
A inibição da via MAPK em células de melanoma BRAF<sup>V600E</sup> provocada por vemurafenibe, por exemplo, que pode desencadear a produção aumentada de espécies reativas de oxigênio (EROs) também é um possível responsável pela resistência ao fármaco (Cesi et al, 2017), pois, em estado fisiológico, a produção circunjacente de EROs é direcionada a receptores proteicos redox sensíveis que são encarregados por traduzir a interação a uma função específica, agindo, deste modo, como sinalizadores secundários de proteínas redox moduladas, tornando-se fisiopatologicamente benéficas em algumas circunstâncias (Cellone Trevelin & Rossetti Lopes, 2015).

### **Inibidores de MEK**

Diferentemente das mutações em BRAF, as mutações em MEK são consideradas raras, no entanto, as mutações oriundas de BRAF e a terapia inibitória desta via, costumam culminar na ativação de MEK, que independente de suas isoformas, se apresenta como substrato para ERK (Lugowska et al., 2015). Por isso, o desenvolvimento de medicamentos inibidores seletivos de MEK, como o trametinibe, tem se mostrado importante para o tratamento de melanomas mutantes em BRAF<sup>V600</sup> (Thota et al., 2015) e mesmo que isoladamente não represente grande significância no tratamento desses pacientes, exceto em casos dos quais haja intolerância a outros medicamentos (Thota et al., 2015).

Um aspecto relevante a ser considerado quanto a escolha da terapia é o tempo de sobrevida, conforme representado no Gráfico 1.

**Gráfico 1** - Comparativo de sobrevida livre de progressão entre os quimioterápicos seletivos em monoterapia e terapia combinada.



*Nota.* Informações se referem a média compilada da sobrevida livre de progressão em meses. Fonte: Davies et al., (2002); Duggan et al., (2017); Kramkimel et al., (2016); Lidsky et al., (2014); Liu & Sheikh, (2015); Long et al., (2015); Lugowska et al., (2015); Menzies et al., (2012); Thota et al., (2015).

Conforme exibido no Gráfico 1, quando o trametinibe é administrado em conjunto com o inibidor específico de BRAF<sup>V600E</sup> dabrafenibe, há significativa melhora na sobrevida livre de progressão, até mesmo quando comparado com a monoterapia com os inibidores de BRAF (Long et al., 2015; Thota et al., 2015). Além disso, Lugowska et al. (2015) cita que a qualidade de vida do paciente é melhorada e isso está relacionado com as incidências mais leves de efeitos adversos adjunto ao tratamento combinado.

### Proteína Dissulfeto Isomerase (PDI) e regulação redox

A proteína dissulfeto isomerase (PDI) pertence a superfamília tiorredoxina que também inclui TRXs, peroxiredoxinas e glutaredoxinas (Lee & Lee, 2017). A PDI está presente em todas as células de eucariotos, abundante especialmente no retículo endoplasmático de células secretoras de órgãos como o fígado e o pâncreas. A principal função da PDI (PDIA1) intracelular é formação e rearranjo das pontes de dissulfetos através de repetidos ciclos de redução e oxidação que ocorre em dois resíduos de cisteína na mesma cadeia polipeptídica ou em cadeias diferentes para estabilizar a estrutura terciária e quaternária de várias proteínas (Araujo et al., 2017; Lodish et al., 2014; Pescatore-Alves, 2012). A PDI é uma importante chaperona, que dobra e redobra proteínas, inibindo o dobramento não-produtivo e a agregação de intermediários parcialmente dobrados ou polipeptídios danificados (Lee & Lee, 2017).

Embora para grande parte das variações celulares a PDI se mantenha em meio intracelular, algumas células em específico podem externalizá-la (peCPDI) como as células pancreáticas, hepatócitos, células T, células do músculo liso vascular, células endoteliais e células tumorais. Na superfície celular ela funciona principalmente como redutase (quebra) e isomerase (rearranjo). (Araujo et al., 2017)

A PDI está associada a regulação redox de proteínas de matriz celular e extracelular. As proteínas assim reguladas revelam-se envolvidas em quase todos os processos fisiológicos, incluindo metabolismo, sinalização, crescimento celular, expressão gênica, ativação do fator de transcrição, diferenciação, senescência e apoptose. Suas cisteínas podem sofrer modificações de tiol reversíveis em resposta a espécies reativas de oxigênio ou espécies reativas de nitrogênio levando a

modulação da sua função, atividade ou localização. A reatividade das cisteínas de proteínas redox sensíveis depende de seu microambiente e de seu valor de pKa, que quanto mais baixo, entre 3,5 e 5,1, em condições de pH fisiológico leva a desprotonação dos tióis, formando ânions tiolatos altamente reativos, que por sua vez, são suscetíveis à oxidação por ROS e RNS. As modificações oxidativas produzidas pela reação redox na maioria das vezes são totalmente reversíveis in vivo e utilizam oxidoredutases, como o sistema de tioredoxina ou glutaredoxina, para restaurar rapidamente o estado redox original. Entretanto, a exposição prolongada e extensa das proteínas aos oxidantes pode levar à superoxidação dos resíduos de cisteína, levando a formação dos ácidos sulfinicos e sulfônicos, que são consideradas modificações oxidativas irreversíveis in vivo. Outro problema, é que o forte estresse oxidativo muitas vezes resulta em excessiva ligação dissulfeto, falta de dobramento das proteínas, agregação e desagregação, e, eventualmente, pode acarretar morte celular (Brandes et al., 2009).

Ainda relacionada a via de sinalização redox, a PDI também está envolvida com a organização, montagem e ativação, do complexo NADPH oxidase (Soares Moretti & Martins Laurindo, 2017). As NADPH oxidases (NOXs) são uma família de proteínas transmembranares que transferem elétrons do NADPH através das membranas biológicas. O acceptor final destes elétrons são em geral oxigênios e o produto desta reação de transferência são superóxidos. Existem sete membros da família de enzimas Nox/Duox em humanos: Nox1, Nox2, Nox3, Nox4, Nox5, Duox1 e Duox2. A função biológica da família Nox/Duox é a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) como O<sub>2</sub><sup>-</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que estão amplamente envolvidos na sinalização e regulação celular. Diversos estudos demonstraram que o peróxido de hidrogênio ativa várias vias de sinalização e foi proposto atuar como um segundo mensageiro (Aydin et al., 2017; Winterbourn, 2008). Produção deficiente de EROS pode ter efeitos deletérios, como por exemplo no hipotireoidismo congênito causado pela deficiência de Duox2, assim como o aumento da sua atividade também pode ser prejudicial, como vêm apresentando estudos com células de melanoma, onde Nox4 tem demonstrado importante papel no mecanismo de invasão (Liu-Smith et al., 2014; Sirokmány et al., 2016).

A homeostase na expressão da enzima se mostra importante, pois o silenciamento da PDI em células do músculo liso vascular, levou a uma interrupção substancial da organização do citoesqueleto e da ativação da RhoGTPase; a superexpressão, por outro lado, resultou inicialmente na melhora da expressão e na atividade de Nox1, com um fenótipo pró-migratório, enquanto a manutenção da alta expressão de PDI leva a um aumento concomitante na expressão de Nox4. Indicando a PDI como um regulador *upstream* dos processos Nox/redox envolvidos na plasticidade de células do músculo liso vascular (Soares Moretti & Martins Laurindo, 2017).

### **Interação da PDI em neoplasias**

A PDI é uma proteína que desempenha um papel fundamental na manutenção e regulação da proteostase, dobramento, modificações pós-traducionais e controle de qualidade das proteínas, processo que ocorre principalmente no retículo endoplasmático. A desregulação da proteostase pode levar a ativação da resposta ao estresse do retículo endoplasmático conhecida como “resposta de proteína desdobrada (UPR)” que promove o alívio do estresse do retículo endoplasmático através da *up-regulation* das chaperonas, para dobramento das proteínas, indução de degradação associada ao retículo endoplasmático (ERAD) e autofagia, para eliminar as proteínas mal dobradas. A UPR e o estresse do retículo endoplasmático estão cada vez mais implicados ao desenvolvimento de doenças, e, a PDI, como um componente importante da UPR, pode desempenhar um papel relevante na fisiopatologia de muitas doenças (Lee & Lee, 2017).

A totalidade das funções da PDI na progressão tumoral estão sendo investigadas, entende-se que as células cancerígenas requerem níveis mais elevados de PDI, para lidar com estresse do retículo endoplasmático e o aumento global na síntese proteica para sustentar a rápida proliferação. Foi observado que a expressão de PDI está *upregulated* em neoplasias do SNC, linfoma, rim, ovário, próstata, pulmão e tumores de células germinativas masculinas. A *upregulation* de PDI também foi correlacionada com invasão e metástase, como, por exemplo, no câncer de mama metastático, que mostrou níveis de PDI

maiores em relação ao tumor primário (Xu et al., 2014). *In vitro*, se pode observar no ensaio de migração conduzido por Goplen et al. (2006) com células U373 de glioma, que a inibição de PDI com uso de anticorpo específico, bloqueou a adesão e migração das células (Goplen et al., 2006). Além disso, estudos clínicos demonstraram que a menor expressão de PDI em pacientes com glioblastoma e câncer de mama levou a uma maior taxa de sobrevida global (Xu et al., 2014). No melanoma, estudos indicam aumento notável na expressão de PDI (Lovat et al., 2008).

Sobre células tumorais malignas, a PDI, desempenha papel oncogênico, protegendo-as de apoptose, por conseguinte, sua inibição causa aumento da morte celular por estresse do retículo endoplasmático (Lovat et al., 2008). O aumento da mesma, pode ainda propiciar invasão e metástase através da formação de ligação de dissulfeto que podem ativar importantes proteínas como metaloprotease (MMP-9 - enzimas digestivas da matriz extracelular), selectinas e integrinas (proteínas de membrana que medeiam a adesão / migração celular) (Lee & Lee, 2017; Xu et al., 2014). A PDI também contribui para reorganização do citoesqueleto, importante no processo de adesão celular, através da formação de ligações dissulfeto entre monômeros de  $\beta$ -actina que geram dímeros de  $\beta$ -actina que podem ser incorporados a F-actina durante a polimerização (Sobierajska et al., 2014).

### **Quercetina 3-O-rutinoside como inibidor de PDI**

A quercetina é um flavonoide amplamente encontrado em alimentos de origem vegetal, como folhas, grãos, frutas e legumes, podendo apresentar-se como aglicona livre ou conjugada, principalmente a carboidratos (glicosídeos de quercetina), que se ligam geralmente a sua posição C-3, como é o caso da Quercetina 3-O-rutinoside (rutina). Os numerosos benefícios atribuídos ao flavonoide, como antioxidante, anti-radical, anti-inflamatório, antibacteriano, antiviral, gastroprotetor e imunomodulador, estão cada vez mais associados às pesquisas de prevenção e tratamento de diversas doenças humanas como obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas e oncologias (Massi et al., 2017).

Em estudos de agentes antitrombóticos conduzidos por (Lin et al., 2015), a quercetina 3-O-rutinoside mostrou-se um inibidor reversível da PDI extracelular, ligando-se seletivamente ao domínio b' da enzima, com IC<sub>50</sub> de aproximadamente 10 $\mu$ M, além disso, o flavonoide confere à PDI uma conformação mais compacta, induzindo pensar que a rutina pode diminuir a flexibilidade interdomínios de b' e a' (Lin et al., 2015); indicando o possível mecanismo de interação entre a PDI e a rutina nas células oncológicas.

### **Imunoterapia**

Os tratamentos mais utilizados até 2011 para o melanoma metastático eram principalmente relacionados a quimioterapia, que tinha um tempo médio de sobrevida de aproximadamente seis meses, a única terapia imunológica disponível era a interleucina-2, induzindo respostas duradouras, mas em alguns pacientes se percebeu que a administração das altas doses apresentou uma alta taxa de toxicidades graves, após 2011 foram desenvolvidos outros tratamentos com agentes imunomoduladores (Queirolo et al., 2019).

A imunoterapia tem o potencial de sobrevida de longo prazo em pacientes com melanoma avançado, entretanto, este tratamento é inadequado para pacientes que tiveram doença rapidamente progressiva, esses pacientes podem não tolerar bem o tratamento ou podem ter uma sobrevida prevista insuficiente para obter uma resposta. Outros perfis de pacientes que não são adequados para a imunoterapia é o de portadores de doenças autoimunes subjacentes e pacientes com metástases cerebrais não controladas (Hughes et al., 2021).

Atualmente alguns dos tratamentos com imunoterapia disponíveis são com inibidores do checkpoint imunológico (Anti PD-1 e anti-CTLA-4), normalmente as células tumorais são reconhecidas pelas células T, mas essas células, de alguma maneira, encontraram mecanismos para escapar do sistema imunológico do hospedeiro, aproveitando a tolerância periférica.



Por conta dessas estratégias adquiridas pelas células tumorais, foram desenvolvidos medicamentos a fim de inibir essas vias de checkpoint como o pembrolizumabe que é um anti PD-1 e o ipilimumabe que é anti – CLTA-4 (Antígeno 4 de linfócitos T citotóxicos), este último, quando utilizado isoladamente, não tem uma redução esperada dos tumores como acontece com os inibidores de PD-1, muitas das vezes para se ter um melhor resultado no tratamento é indicada a combinação do ipilimumabe com um inibidor de PD-1 (Halmos et al., 2022).

### **Estudos com pembrolizumabe**

Em estudo, a combinação de pembrolizumabe em dose padrão, com ipilimumabe em dose reduzida demonstra-se altamente ativa, com um perfil de toxicidade tolerável (Long et al., 2017). Entretanto, no Brasil, o pembrolizumabe foi aprovado pela Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) apenas para uso em monoterapia (Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS [CONITEC], 2020).

Como se sabe, a combinação dos inibidores BRAF e MEK apresenta uma boa vantagem por demonstrar altas taxas de respostas e conseguir um controle tumoral mais rápido, porém a durabilidade da resposta é limitada, por outro lado, embora a imunoterapia possua um início de ação mais lento, quando a comparamos com a terapia dirigida, ela apresenta respostas duráveis a longo prazo, pois consegue manter uma memória imunológica contra o tumor, este fato é sustentado pela manutenção da resposta após a suspensão da imunoterapia (Queirolo et al., 2019).

Segundo Ribas et al. (2019) muito se tem especulado recentemente sobre a possível combinação da imunoterapia e da terapêutica dirigida, que tem potencial para aumentar as taxas de resposta e contribuir para sua durabilidade, por isso, alguns estudos clínicos de fase I, II e III focados na terapia tripla que combinam os inibidores seletivos trametinibe, dabrafenibe e um anticorpo anti-PD-1 (pembrolizumabe) foram iniciados. É possível considerar tal abordagem viável, pois o estudo permitiu acompanhar uma parcela dos pacientes por mais de dois anos com resposta positiva, sem que houvesse a resistência neoplásica. Atualmente o maior desafio da combinação terapêutica é o aumento da toxicidade proveniente dos fármacos que muito embora se entenda como algo gerenciável, no momento demonstra limitação quanto a extensão do tratamento a grande número de pacientes (Ribas et al., 2019).

### **Aspectos gerais dos fármacos**

A comparação entre as possíveis terapias alvo contra o melanoma metastático está demonstrado na Tabela 1. A metabolização desses fármacos ocorre por vias diferentes, o que denota atenção, pois pode influenciar na combinação das drogas. O vemurafenibe, por exemplo, é metabolizado pela enzima CYP3A4 (National Center for Biotechnology Information [NCBI], 2022b), já o trametinibe é metabolizado por outras vias como a desacetilação, além disso, funciona como um indutor enzimático do CYP3A4, que interage com o metabolismo do dabrafenibe que é metabolizado pelas enzimas CYP2C8 e CYP3A4. O que para a terapia combinada, tendo a dose diária de dabrafenibe ajustada para a máxima, não ocasiona prejuízos na concentração sanguínea x tempo de ambos medicamentos (Lugowska et al., 2015; Thota et al., 2015).

Quando se fala em farmacoeconomia, o tratamento combinado possui o custo monetário mais elevado. Por outro lado, as respostas da terapia combinada, seja ela de dabrafenibe + trametinibe ou vemurafenibe + cobimetinibe (outro inibidor de MEK) são mais eficientes em comparação às monoterapias (Liu & Sheikh, 2015; Menzies et al., 2012; Thota et al., 2015), isso ocorre pois há inativação em dois ciclos da via MAPK, diminuindo a resistência tumoral (Long et al., 2015).

**Tabela 1** - Comparativo de Informações *Vemurafenibe vs Dabrafenibe/Trametinibe*.

Informações gerais	Vemurafenibe	Dabrafenibe + Trametinibe	Fontes
<b>Apresentação farmacêutica</b>	Comprimidos revestidos de 240 mg - caixa com 56 cp	Trametinibe – Comprimidos revestidos de 0,5 ou 2 mg - caixa com 30 cp Dabrafenibe – Cápsula dura de 50 ou 75 mg - caixa com 28 ou 120 cp	CMED, 2022; CONITEC, 2020
<b>Posologia</b>	960 mg 2x ao dia	Trametinibe – 2mg 1 vez dia Dabrafenibe – 150 mg 2x ao dia	CONITEC, 2020; Long et al., 2015; Lugowska et al., 2015; Thota et al., 2015
<b>Indicação</b>	Melanoma irressecável ou metastático com mutação em BRAF <sup>V600E</sup> (comprovado)	Melanoma irressecável ou metastático com mutação em BRAF <sup>V600E</sup> e V600K (comprovado)	CONITEC, 2020; Lugowska et al., 2015; Menzies et al., 2012; NCBI, 2022a, 2022c, 2022b; Thota et al., 2015
<b>Atuação</b>	Inibição da quinase serina-treonina BRAF mutada	Trametinibe – Inibidor seletivo de MEK 1 e 2 Dabrafenibe – Inibição da quinase serina-treonina BRAF mutada	CONITEC, 2020; Lugowska et al., 2015; Thota et al., 2015
<b>Efeitos adversos (principais)</b>	Erupção da pele, fadiga, CEC, anormalidades hepáticas e renais, reações dermatológicas e oftalmológicas graves, fotossensibilidade, alopecia, prurido, artralgia, prolongamento de QT.	Incidência elevada de pirexia, calafrios, fadiga, hipertensão, náusea, edema periférico, incidência muito reduzida de CEC e de toxicidade cutânea	CONITEC, 2020; Hauschild et al., 2012; Kramkimel et al., 2016; Long et al., 2015; Lugowska et al., 2015; Menzies et al., 2012; NCBI, 2022a, 2022c; Thota et al., 2015
<b>Meia Vida</b>	50 horas - 57 horas	Trametinibe – 91 - 115 horas / 93 h - 115 h / 127 horas Dabrafenibe – 8 horas	Kramkimel et al., 2016; Lugowska et al., 2015; NCBI, 2022a, 2022c, 2022b; Thota et al., 2015
<b>Absorção</b>	3 horas	Trametinibe – 1,5 h em jejum Dabrafenibe – 2,0 h	Lugowska et al., 2015; NCBI, 2022a, 2022b, 2022c; Thota et al., 2015
<b>Volume de Distribuição</b>	106 L	Trametinibe – 214 L Dabrafenibe – 70,3 L	NCBI, 2022a, 2022c, 2022b; Thota et al., 2015
<b>Metabolização</b>	Enzima CYP3A4	Trametinibe - desacetilação por meio de enzimas hidrolíticas e glucuronidação, inibição do CYP2C8 e indução do CYP3A4 Dabrafenibe - CYP2C8 e CYP3A4	Lugowska et al., 2015; NCBI, 2022c, 2022b, 2022a; Thota et al., 2015
<b>Excreção</b>	94% pelas fezes e 1% pela urina	Trametinibe - 80% pelas fezes e < 20% pela urina Dabrafenibe - 71% fezes e 23% urina	NCBI, 2022a, 2022c, 2022b; Thota et al., 2015

*Nota.* Tabela com informações comparativas da fase farmacocinética dos tratamentos conforme autores citados, trazendo os principais efeitos adversos em estudos de fase III. NA – não aplicável. Fonte: Autores (2022).

A Tabela 1 sugere uma gama de efeitos adversos com maior incidência para o tratamento com vemurafenibe, do qual o efeito adverso mais grave para essa monoterapia é o aparecimento de carcinoma espinocelular cutâneo e não cutâneo (CEC). Em contrapartida, para a terapia combinada, o efeito adverso mais grave é a pirexia (Hauschild et al., 2012; Liu & Sheikh, 2015), sendo incomum o surgimento de câncer secundário. Neste modo terapêutico a toxicidade cutânea também é diminuída, devido a inativação de BRAF e MEK da via de sinalização MAPK (Long et al., 2015; Menzies et al., 2012; Thota et al., 2015).

De acordo com Kramkimel et al. (2016), a concentração plasmática de vemurafenibe está relacionada com a toxicidade apresentada, sendo assim, a terapia deve ser acompanhada de forma mais efetiva considerando a individualidade metabólica do paciente.

Para cálculo de “minimização de custos” foi utilizado a tabela de preços da Câmara de Regulação do Mercado de medicamentos (CMED), de acordo com a Resolução CM-CMED nº 7, de 01/06/2022, sendo esta última vigente até 31 de dezembro de 2022. Foi considerado somente o custo do medicamento em si, para utilização mensal, não sendo considerado o custo total do tratamento, por se tratar de tempo variável entre os indivíduos. Os custos estão de acordo com a tabela ICMS, que varia de 12% a 20% entre os estados brasileiros, foi desconsiderado a isenção de ICMS, que pode ocorrer para casos especiais definidos pelo Conselho Nacional de política Fazendária (CONFAZ).

#### **Consideração farmacoeconômica mensal sobre o vemurafenibe**

Um paciente precisa de 4 comprimidos de 240 mg (960 mg) por dose a cada 12 horas, o que dá o total de 8 comprimidos/dia, para tratamento de um mês (30 dias), somando o total de 240 comprimidos/mês. Neste cálculo o paciente precisará ter a sua disposição mais de 4 caixas do Zelboraf®, 4 caixas e 16 comprimidos exatamente. O valor da caixa pode variar entre R\$ 12.567,34 a 13.972,60 sendo o valor por comprimido R\$ 224,42 a 249,51. De forma a simplificar o cálculo utilizaremos o valor por comprimido, que para o tratamento de 30 dias varia entre R\$ 53.860,8 e 59.882,40 (Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos [CMED], 2022).

#### **Consideração farmacoeconômica mensal sobre o trametinibe**

Um paciente precisa de 1 comprimido de 2 mg por dia, o que dá o total 30 comprimidos para o tratamento de um mês (30 dias). Neste cálculo o paciente precisará ter a sua disposição 1 caixa do Mekinist® na apresentação de 2 mg do princípio ativo, neste caso há opção de caixa com concentração de 0,5 mg, porém não foi considerado neste cálculo. O valor da caixa de 2 mg pode variar entre R\$ 28.657,82 a 31.862,32, sendo o valor por comprimido R\$ 955,26 a R\$1.062,08. De forma que para o tratamento de 30 dias, considerando que a caixa contém 30 comprimidos ficaria o valor total já descrito (CMED, 2022).

#### **Consideração farmacoeconômica mensal sobre o dabrafenibe**

Um paciente precisa de 2 comprimidos de 75 mg (150 mg) por dose a cada 12 horas, o que dá o total de 4 comprimidos/dia, para tratamento de um mês (30 dias), somando o total de 120 comprimidos/mês. Neste cálculo o paciente precisará ter a sua disposição 1 caixa de Tanfinlar® na apresentação de 75 mg do princípio ativo, neste caso há opção de caixa com a concentração de 50 mg, porém não foi considerado neste cálculo. O valor da caixa de 75 mg pode variar entre R\$ 48.854,40 a 55.429,09 sendo o valor por comprimido R\$ 407,12 a 461,91. De forma que para o tratamento de 30 dias, considerando que a caixa contém 120 comprimidos ficaria o valor total já descrito (CMED, 2022).

#### **Consideração farmacoeconômica mensal sobre a terapia combinada (trametinibe + dabrafenibe)**

Um paciente utilizará 1 caixa de cada medicamento nas condições citadas acima, somando o total de 77.512,22 a 87.291,41 (CMED, 2022).

## **4. Considerações Finais**

Como discutido anteriormente, a inibição da ativação constitutiva de RAF e MEK por quimioterápicos seletivos como o vemurafenibe, dabrafenibe e trametinibe, em numerosa parte dos melanomas humanos com mutação situada a via MAPK (RAF / MEK / ERK regulada por RAS), conhecida por ser de vital importância para o crescimento e manutenção de tumores

de melanoma, tem se mostrado temporariamente eficientes, pois, desencadeiam resistência, que possivelmente está relacionada com a superexpressão de PDI ou outros diversos fatores.

Frente aos efeitos adversos dos medicamentos, qualidade de vida e sobrevida do paciente, o tratamento combinado de dabrafenibe com o trametinibe se mostra mais vantajoso, quando comparado diretamente com as monoterapias quimioterápicas.

Os estudos mostram claramente que a imunoterapia, já em teste com a terapia combinada, é uma aposta promissora para os pacientes com melanoma metastático. Além disso, existem estudos que apontam a quercetina, um antioxidante natural, como um outro caminho promissor, e, embora atualmente em estudo com o vemurafenibe, usando como base as comparações levantadas nesta revisão entre os mecanismos de ação do vemurafenibe vs dabrafenibe.

Sendo assim, ousamos intuir que possa haver sucesso em estudos posteriores que abordem a junção entre a terapia combinada de dabrafenibe com trametinibe e este antioxidante, possivelmente capaz de regular a superexpressão de PDI.

## Referências

- Araujo, T. L. S., Zeidler, J. D., Oliveira, P. V. S., Dias, M. H., Armelin, H. A., & Laurindo, F. R. M. (2017). Protein disulfide isomerase externalization in endothelial cells follows classical and unconventional routes. *Free Radical Biology and Medicine*, 103, 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.021>
- Aydin, E., Johansson, J., Nazir, F. H., Hellstrand, K., & Martner, A. (2017). Role of NOX2-Derived Reactive Oxygen Species in NK Cell-Mediated Control of Murine Melanoma Metastasis. *Cancer Immunology Research*, 5(9), 804–811. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-16-0382>
- Brandes, N., Schmitt, S., & Jakob, U. (2009). Thiol-Based Redox Switches in Eukaryotic Proteins. *Antioxidants & Redox Signaling*, 11(5), 997–1014. <https://doi.org/10.1089/ars.2008.2285>
- Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos. (2022). *Preços Máximos de Medicamentos por Princípio ativo*. Retrieved August 01, 2022 from <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/cmmed/precos>
- Cellone Trevelin, S., & Rossetti Lopes, L. (2015). Protein disulfide isomerase and Nox: new partners in redox signaling. *Current Pharmaceutical Design*, 21(41), 5951–5963.
- Cesì, G., Walbrecq, G., Zimmer, A., Kreis, S., & Haan, C. (2017). ROS production induced by BRAF inhibitor treatment rewires metabolic processes affecting cell growth of melanoma cells. *Molecular Cancer*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0667-y>
- Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS. (2020). *Terapia-alvo (Vemurafenibe, Dabrafenibe, Cobimetinibe, Trametinibe) e Imunoterapia (Ipilimumabe, Nivolumabe, Pembrolizumabe) para o Tratamento de Primeira Linha do Melanoma Avançado não-cirúrgico e Metastático*. [https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/relatorios/2020/relatorio\\_541\\_terapiaalvo\\_melanoma\\_final\\_2020.pdf](https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/relatorios/2020/relatorio_541_terapiaalvo_melanoma_final_2020.pdf)
- Czarnecka, A. M., Ostaszewski, K., Borkowska, A., Szumera-Ciećkiewicz, A., Kozak, K., Świtaj, T., Rogala, P., Kalinowska, I., Kosela-Paterczyk, H., Zaborowski, K., Teterycz, P., Tysarowski, A., Makuła, D., & Rutkowski, P. (2021). Efficacy of Neoadjuvant Targeted Therapy for Borderline Resectable III B-D or IV Stage BRAF V600 Mutation-Positive Melanoma. *Cancers*, 14(1), 110. <https://doi.org/10.3390/cancers14010110>
- Damsky, W. E., Rosenbaum, L. E., & Bosenberg, M. (2010). Decoding Melanoma Metastasis. *Cancers*, 3(1), 126–163. <https://doi.org/10.3390/cancers3010126>
- Davies, H., Bignell, G. R., Cox, C., Stephens, P., Edkins, S., Clegg, S., Teague, J., Woffendin, H., Garnett, M. J., Bottomley, W., Davis, N., Dicks, E., Ewing, R., Floyd, Y., Gray, K., Hall, S., Hawes, R., Hughes, J., Kosmidou, V., ... Futreal, P. A. (2002). Mutations of the BRAF gene in human cancer. In *Nature* (Vol. 417, Issue 6892, pp. 949–954). <https://doi.org/10.1111/ced.12015>
- Duggan, M. C., Stiff, A. R., Bainazar, M., Regan, K., Olaverria Salavaggione, G. N., Maharry, S., Blachly, J. S., Krischak, M., Walker, C. J., Latchana, N., Tridandapani, S., de La Chapelle, A., Eisfeld, A. K., & Carson, W. E. (2017). Identification of NRAS isoform 2 overexpression as a mechanism facilitating BRAF inhibitor resistance in malignant melanoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(36), 9629–9634. <https://doi.org/10.1073/pnas.1704371114>
- Fidler, I. J. (2003). The pathogenesis of cancer metastasis: the “seed and soil” hypothesis revisited. *Nature Reviews Cancer*, 3(6), 453–458. <https://doi.org/10.1038/nrc1098>
- Galvão, M. C. B., & Ricarte, I. L. M. (2019). Revisão sistemática da literatura: conceituação, produção e publicação. *Logeion: Filosofia Da Informação*, 6(1), 57–73. <https://doi.org/10.21728/logeion.2019v6n1.p57-73>
- Goplen, D., Wang, J., Enger, P. Ø., Tysnes, B. B., Terzis, A. J. A., Laerum, O. D., & Bjerkvig, R. (2006). Protein Disulfide Isomerase Expression Is Related to the Invasive Properties of Malignant Glioma. *Cancer Research*, 66(20), 9895–9902. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-4589>
- Halmos, B., Burke, T., Kalyvas, C., Insinga, R., Vandormael, K., Frederickson, A., & Piperdi, B. (2022). Indirect comparison of pembrolizumab monotherapy versus nivolumab + ipilimumab in first-line metastatic lung cancer. *Immunotherapy*, 14(5), 295–307. <https://doi.org/10.2217/imt-2021-0273>

Hauschild, A., Grob, J. J., Demidov, L. v., Jouary, T., Gutzmer, R., Millward, M., Rutkowski, P., Blank, C. U., Miller, W. H., Kaempgen, E., Martín-Algarra, S., Karaszewska, B., Mauch, C., Chiarion-Sileni, V., Martin, A. M., Swann, S., Haney, P., Mirakhur, B., Guckert, M. E., ... Chapman, P. B. (2012). Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: A multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *The Lancet*, 380(9839), 358–365. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60868-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60868-X)

Hughes, T., Klairmont, M., Sharfman, W. H., & Kaufman, H. L. (2021). Interleukin-2, Ipilimumab, and Anti-PD-1: clinical management and the evolving role of immunotherapy for the treatment of patients with metastatic melanoma. *Cancer Biology & Therapy*, 22(10–12), 513–526. <https://doi.org/10.1080/15384047.2015.1095401>

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. (2019). *Estimativa 2020 - Incidência de Câncer no Brasil*. <http://www.inca.gov.br>

Kramkimel, N., Thomas-Schoemann, A., Sakji, L., Golmard, J. L., Noe, G., Regnier-Rosencher, E., Chapuis, N., Maubec, E., Vidal, M., Avril, M. F., Goldwasser, F., Mortier, L., Dupin, N., & Blanchet, B. (2016). Vemurafenib pharmacokinetics and its correlation with efficacy and safety in outpatients with advanced BRAF-mutated melanoma. *Targeted Oncology*, 11(1), 59–69. <https://doi.org/10.1007/s11523-015-0375-8>

Lee, E., & Lee, D. H. (2017). Emerging roles of protein disulfide isomerase in cancer. In *BMB Reports* (Vol. 50, Issue 8, pp. 401–410). The Biochemical Society of the Republic of Korea. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2017.50.8.107>

Lidsky, M., Antoun, G., Speicher, P., Adams, B., Turley, R., Augustine, C., Tyler, D., & Ali-Osman, F. (2014). Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) hyperactivation and enhanced NRAS expression drive acquired vemurafenib resistance in V600E BRAF melanoma cells. *Journal of Biological Chemistry*, 289(40), 27714–27726. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.532432>

Lin, L., Gopal, S., Sharda, A., Passam, F., Bowley, S. R., Stopa, J., Xue, G., Yuan, C., Furie, B. C., Flaumenhaft, R., Huang, M., & Furie, B. (2015). Quercetin-3-rutinoside Inhibits Protein Disulfide Isomerase by Binding to Its b'x Domain. *Journal of Biological Chemistry*, 290(39), 23543–23552. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.666180>

Liu, Y., & Sheikh, M. S. (2015). Melanoma: Molecular Pathogenesis and Therapeutic Management. *Molecular and Cellular Pharmacology*, 6(3), 228. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25745537>

Liu-Smith, F., Dellinger, R., & Meyskens, F. L. (2014). Updates of reactive oxygen species in melanoma etiology and progression. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 563, 51–55. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.04.007>

Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H., Amon, A., & Scott, M. P. (2014). *Biologia Celular e molecular* (S. de Fraga, Ed.; 7th ed.). Artmed.

Long, G. v., Atkinson, V., Cebon, J. S., Jameson, M. B., Fitzharris, B. M., McNeil, C. M., Hill, A. G., Ribas, A., Atkins, M. B., Thompson, J. A., Hwu, W.-J., Hodi, F. S., Menzies, A. M., Guminski, A. D., Kefford, R., Kong, B. Y., Tamjid, B., Srivastava, A., Lomax, A. J., ... Carlino, M. S. (2017). Standard-dose pembrolizumab in combination with reduced-dose ipilimumab for patients with advanced melanoma (KEYNOTE-029): an open-label, phase 1b trial. *The Lancet Oncology*, 18(9), 1202–1210. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30428-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30428-X)

Long, G. v., Stroyakovskiy, D., Gogas, H., Levchenko, E., de Braud, F., Larkin, J., Garbe, C., Jouary, T., Hauschild, A., Grob, J. J., Chiarion-Sileni, V., Lebbe, C., Mandalà, M., Millward, M., Arance, A., Bondarenko, I., Haanen, J. B. A. G., Hansson, J., Utikal, J., ... Flaherty, K. (2015). Dabrafenib and trametinib versus dabrafenib and placebo for Val600 BRAF-mutant melanoma: A multicentre, double-blind, phase 3 randomised controlled trial. *The Lancet*, 386(9992), 444–451. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60898-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60898-4)

Lovat, P. E., Corazzari, M., Armstrong, J. L., Martin, S., Pagliarini, V., Hill, D., Brown, A. M., Piacentini, M., Birch-Machin, M. A., & Redfern, C. P. F. (2008). Increasing Melanoma Cell Death Using Inhibitors of Protein Disulfide Isomerases to Abrogate Survival Responses to Endoplasmic Reticulum Stress. *Cancer Research*, 68(13), 5363–5369. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-0035>

Luebker, S. A., & Koepsell, S. A. (2019). Diverse Mechanisms of BRAF Inhibitor Resistance in Melanoma Identified in Clinical and Preclinical Studies. *Frontiers in Oncology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00268>

Lugowska, I., Kosela-Paterczyk, H., Kozak, K., & Rutkowski, P. (2015). Trametinib: A MEK inhibitor for management of metastatic melanoma. In *OncoTargets and Therapy* (Vol. 8, pp. 2251–2259). Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/OTT.S72951>

Massi, A., Bortolini, O., Ragno, D., Bernardi, T., Sacchetti, G., Tacchini, M., & de Risi, C. (2017). Research Progress in the Modification of Quercetin Leading to Anticancer Agents. *Molecules*, 22(8), 1270. <https://doi.org/10.3390/molecules22081270>

Menzies, A. M., Long, G. v., & Murali, R. (2012). Dabrafenib and its potential for the treatment of metastatic melanoma. In *Drug Design, Development and Therapy* (Vol. 6, pp. 391–405). <https://doi.org/10.2147/DDDT.S38998>

Meyle, K. D., & Guldberg, P. (2009). Genetic risk factors for melanoma. In *Human Genetics* (Vol. 126, Issue 4, pp. 499–510). <https://doi.org/10.1007/s00439-009-0715-9>

Miller, A. J., & Mihm, M. C. (2006). Melanoma. *New England Journal of Medicine*, 355(1), 51–65. <https://doi.org/10.1056/NEJMra052166>

National Center for Biotechnology Information. (2022a). *PubChem Compound Summary for CID 11707110, Trametinib*. National Center for Biotechnology Information. Retrieved August 20, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/trametinib>

National Center for Biotechnology Information. (2022b). *PubChem Compound Summary for CID 42611257, Vemurafenib*. National Center for Biotechnology Information. Retrieved July 25, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vemurafenib>

National Center for Biotechnology Information. (2022c). *PubChem Compound Summary for CID 44462760, Dabrafenib*. National Center for Biotechnology Information. Retrieved August 20, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/dabrafenib>

Nazarian, R., Shi, H., Wang, Q., Kong, X., Koya, R. C., Lee, H., Chen, Z., Lee, M. K., Attar, N., Sazegar, H., Chodon, T., Nelson, S. F., McArthur, G., Sosman, J. A., Ribas, A., & Lo, R. S. (2010). Melanomas acquire resistance to B-RAF(V600E) inhibition by RTK or N-RAS upregulation. *Nature*, *468*(7326), 973–977. <https://doi.org/10.1038/nature09626>

Pescatore-Alves, L. (2012). *Papel da dissulfeto isomerase proteica (PDI) na migração de células musculares lisas vasculares: possível envolvimento de Nox1 NADPH oxidase e RhoGTPases* [Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo]. <https://doi.org/10.11606/T.5.2012.tde-25042012-165242>

Queirolo, P., Boutros, A., Tanda, E., Spagnolo, F., & Quaglino, P. (2019). Immune-checkpoint inhibitors for the treatment of metastatic melanoma: a model of cancer immunotherapy. *Seminars in Cancer Biology*, *59*, 290–297. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.08.001>

Ribas, A., Lawrence, D., Atkinson, V., Agarwal, S., Miller, W. H., Carlino, M. S., Fisher, R., Long, G. v., Hodi, F. S., Tsoi, J., Grasso, C. S., Mookerjee, B., Zhao, Q., Ghorri, R., Moreno, B. H., Ibrahim, N., & Hamid, O. (2019). Combined BRAF and MEK inhibition with PD-1 blockade immunotherapy in BRAF-mutant melanoma. *Nature Medicine*, *25*(6), 936–940. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0476-5>

Sale, M. J., & Cook, S. J. (2013). That which does not kill me makes me stronger; Combining ERK1/2 pathway inhibitors and BH3 mimetics to kill tumour cells and prevent acquired resistance. In *British Journal of Pharmacology* (Vol. 169, Issue 8, pp. 1708–1722). <https://doi.org/10.1111/bph.12220>

Shi, H., Kong, X., Ribas, A., & Lo, R. S. (2011). Combinatorial Treatments That Overcome PDGFR $\beta$ -Driven Resistance of Melanoma Cells to V600EB-RAF Inhibition. *Cancer Research*, *71*(15), 5067–5074. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-0140>

Sirokmány, G., Donkó, Á., & Geiszt, M. (2016). Nox/Duox Family of NADPH Oxidases: Lessons from Knockout Mouse Models. *Trends in Pharmacological Sciences*, *37*(4), 318–327. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.01.006>

Soares Moretti, A. I., & Martins Laurindo, F. R. (2017). Protein disulfide isomerases: Redox connections in and out of the endoplasmic reticulum. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *617*, 106–119. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.11.007>

Sobierajska, K., Skurzynski, S., Stasiak, M., Kryczka, J., Cierniewski, C. S., & Swiatkowska, M. (2014). Protein Disulfide Isomerase Directly Interacts with  $\beta$ -Actin Cys374 and Regulates Cytoskeleton Reorganization. *Journal of Biological Chemistry*, *289*(9), 5758–5773. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.479477>

Sun, C., Wang, L., Huang, S., Heynen, G. J. J. E., Prahallad, A., Robert, C., Haanen, J., Blank, C., Wesseling, J., Willems, S. M., Zecchin, D., Hobor, S., Bajpe, P. K., Liefink, C., Mateus, C., Vagner, S., Grenrum, W., Hofland, I., Schlicker, A., ... Bernards, R. (2014). Reversible and adaptive resistance to BRAF(V600E) inhibition in melanoma. *Nature*, *508*(1), 118–122. <https://doi.org/10.1038/nature13121>

Thota, R., Johnson, D. B., & Sosman, J. A. (2015). Trametinib in the treatment of melanoma. *Expert Opinion on Biological Therapy*, *15*(5), 735–747. <https://doi.org/10.1517/14712598.2015.1026323>

Wan, P. T. C., Garnett, M. J., Roe, S. M., Lee, S., Niculescu-Duvaz, D., Good, V. M., Project, C. G., Jones, C. M., Marshall, C. J., Springer, C. J., Barford, D., & Marais, R. (2004). Mechanism of Activation of the RAF-ERK Signaling Pathway by Oncogenic Mutations of B-RAF. *Cell*, *116*(6), 855–867. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00215-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00215-6)

Winterbourn, C. C. (2008). Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nature Chemical Biology*, *4*(5), 278–286. <https://doi.org/10.1038/nchembio.85>

Xu, S., Sankar, S., & Neamati, N. (2014). Protein disulfide isomerase: A promising target for cancer therapy. In *Drug Discovery Today* (Vol. 19, Issue 3, pp. 222–240). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.10.017>