Vanessa da Costa Miranda

**Estudo prospectivo da adição de metformina a 5-fluorouracil em
pacientes com adenocarcinoma colorretal metastático refratário**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Oncologia

Orientadora: Dra. Rachel Riechelmann

Versão corrigida, Resolução CoPGr 6018, de 13 de outubro de 2011. A
versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP.

**São Paulo
2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Miranda, Vanessa da Costa

Estudo prospectivo da adição de metformina a 5-fluorouracil em pacientes com adenocarcinoma metastático refratário / Vanessa da Costa Miranda. -- São Paulo, 2016.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Oncologia.

Orientadora: Rachel Riechelmann.

Descritores: 1.Metformina 2.Fluoruracila 3.Leucovorina 4.Quimioterapia
5.Neoplasias colorretais 6.Obesidade

USP/FM/DBD-352/16

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais e ao meu marido, que me apoiaram e me ajudaram a concretizar este sonho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo simples dom da vida.

Aos meus pais, que me deram a vida e se doaram por inteiro para que eu pudesse vive-la com dignidade. Obrigada pelo esforço em cuidar da minha educação e formação do meu caráter.

Ao meu marido, Eduardo Pantaleão Sarraff, pela demonstração de amor infinito e incentivo para realização deste trabalho.

À Dra. Rachel P. Riechelmann, minha orientadora e um exemplo de médica. Agradeço pela amizade, confiança, orientação e apoio fundamentais para o desenvolvimento e conclusão desta tese.

Ao Prof. Dr. Paulo Hoff, um extraordinário médico e ser humano. Agradeço pelo prazer do convívio e aprendizado diário que me ajudam a ser uma oncologista melhor.

Aos meus amigos e coautores: Dra. Maria Ignez Braghiroli, Dra. Luiza Dib Faria, Dra. Juliana Ferreira Lobo dos Santos, Dr. Giovanni Bariani e Dr. Jorge Sabagga. Agradeço pela ajuda e amizade, que foram fundamentais para conclusão deste trabalho.

A Michele Artioli, pelas valiosas sugestões para finalização desta tese.

A Dra. Mariana Scaranti, pela ajuda imprescindível no dia da qualificação.

A todos os colegas do grupo de tumores gastrointestinais do ICESP, pela confiança que permitiu o rápido recrutamento dos pacientes deste estudo.

A todos os mestres e colegas do ICESP, Hospital Sírio-Libanês e da Faculdade de Medicina do ABC. Agradeço pela amizade, paciência e ensinamentos. Vocês foram fundamentais para minha formação como médica e oncologista.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado do *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

1	INTRODUÇÃO	2
1.1	Abordagem do câncer colorretal metastático irressecável	2
1.2	Papel da metformina no câncer colorretal metastático	7
1.3	Justificativa do estudo	11
2	HIPÓTESES	14
3	OBJETIVOS	16
4	DESFECHOS	18
5	MÉTODOS	20
5.1	Desenho e seleção dos pacientes	20
5.2	Tratamento	22
5.3	Aderência ao tratamento	23
5.4	Redução de dose	23
5.5	Avaliação de resposta à quimioterapia	25
5.5.1	Avaliação na linha de base (início do tratamento):	25
5.5.2	Avaliação de eficácia	25
5.5.3	Crêterios suspensão do tratamento	27
5.6	Avaliação de seguranaça	27
5.7	Seguimento	29
6	CONSIDERAÇÕES ESTATÍSTICAS	31
6.1	Desenho estatístico	31
6.2	Tamanho da amostra	32
7	RESULTADOS	34
8	DISCUSSÃO	43
9	CONCLUSÃO	50
10	ANEXOS	52
10.1	Anexo A: Escala de capacidade funcional ⁷⁵	52
10.2	Anexo B: Taxa de resposta conforme RECIST 1.1 ⁵⁸	53
10.3	Anexo C: Publicaçãõ em revista indexada	56
11	REFERÊNCIAS	58
	APÊNDICE	

LISTA DE SÍMBOLOS

=	igual
p	probabilidade de significância estatística
,	linha
+	mais
>	maior
<	menor
-	negativo
%	porcento
+/-	mais ou menos

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

5FU	5- fluorouracil
AMP	Adenosina Monofosfato
AMPK	Proteína Kinase Ativadora da Adenosina Monofosfato
ATP	Adenosina Trifosfato
bid	<i>bis in die</i> , duas vezes por dia
BRAF	<i>v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1</i>
CCR	Câncer colorretal
CEA	Antígeno carcinoembrionário
CTCAE	Critérios de Toxicidade Comuns para Eventos Adversos
EC	Estadio clínico
ECOG	<i>Eastern Cooperative Oncology Group</i>
EGFR	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i> (receptor do fator de crescimento epidermal)
FLOX	5-fluorouracil em bolus e oxaliplatina
FOLFIRI	5-fluorouracil infusional, leucovorin e irinotecano
FOLFOX	5-fluorouracil infusional, leucovorin e oxaliplatina
FOLFOXIRI	5-fluorouracil infusional, leucovorin, irinotecano e oxaliplatina.
GTG	Grupo Brasileiro de Tumores Gastrointestinais
HCC	Carcinoma hepatocelular
Hent1	<i>Human equilibrative nucleoside transporter 1</i>
HIF α	Fator 1 alfa hipoxia-induzido
HR	<i>Hazard ratio</i>
IC	Intervalo de confiança
ICESP	Instituto do Câncer do Estado de São Paulo
IFL	5-fluorouracil em bolus e irinotecano
IMC	Índice de massa corpórea
KRAS	<i>v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog</i>
LKB1	<i>Liver kinase B1</i>
LV	Leucovorin/ folinato de cálcio

NASBP	<i>National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project</i>
MD	Maiores diâmetros
Metfu	Associação de metformina e 5 - fluorouracil
mFLOX	FLOX modificado
MRP1	Proteína-1 associada à resistência a múltiplas drogas
mTOR	<i>Mammalian target of rapamycin</i>
NRAS	<i>Neuroblastoma Ras Viral oncogene homologproject</i>
OR	<i>Odds Ratio</i>
P-gp	Transportadores de glicoproteínas
QT	Quimioterapia
RDT	Radioterapia
RECIST	<i>International Response Evaluation Criteria In Solid Tumors</i>
SG	Sobrevida global mediana
SLD	Sobrevida livre de doença mediana
SLP	Sobrevida livre de progressão mediana
SUS	Sistema Único de Saúde
TPP	Tempo para progressão
TR	Taxa de resposta
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (fator de crescimento do endotélio vascular)
VEGF-A	<i>Vascular Endothelial Growth Factor A</i>
VO	Via oral
vs	<i>Versus</i>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mecanismos de ação anti-tumoral da Metformina.....	10
Figura 2	Plasticidade metabólica celular responsável pela quimioresistencia e ação antitumoral (mitocondrial) da metformina	11
Figura 3	Seleção de pacientes	34
Figura 4	Sobrevida global e sobrevida livre de progressão dos pacientes do estudo	38
Figura 5	Sobrevida global dos pacientes do estudo conforme IMC < 30 ou ≥ 30	40
Figura 6	Sobrevida global e sobrevida livre de progressão conforme características clínicas.	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características clínicas e dados demográficos dos pacientes do estudo	35
Tabela 2	Tratamentos oncológicos realizados pelos pacientes antes da inclusão no estudo Metfu.	36
Tabela 3	Principais toxicidades observadas com uso do Metfu.	37
Tabela 4	Comparação entre as características dos pacientes que alcançaram ou não benefício clínico após 8 semanas de tratamento com Metfu.	38
Tabela 5	Classificação de resposta	55

Miranda VC. *Estudo prospectivo da adição de metformina a 5-fluorouracil em pacientes com adenocarcinoma colorretal metastático refratário* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

RESUMO

INTRODUÇÃO: Estudos observacionais e pré-clínicos sugerem o efeito antitumoral da metformina em tumores sólidos, incluindo o câncer colorretal. Entretanto, os efeitos da metformina no câncer colorretal ainda não foram testados em estudos prospectivos.

PACIENTES E MÉTODOS: Este foi um estudo de fase II, unicêntrico, braço único de pacientes com câncer colorretal metastático em progressão e previamente tratados com 5-FU, irinotecano, oxaliplatina e anti-EGFR, se RAS selvagem. Os pacientes receberam metformina 850 mg VO duas vezes por dia e 5-FU 425 mg/m² e leucovorin 50 mg IV semanal até progressão de doença, toxicidade inaceitável ou retirada de consentimento. O desfecho primário foi controle de doença em 8 semanas.

RESULTADOS: Dos 50 pacientes incluídos, 11 (22%) alcançaram o desfecho primário. Para toda coorte, a SLP foi de 1,8 meses e a SG mediana de 7,9 meses. Quando avaliamos somente os 11 pacientes que alcançaram controle de doença na semana 8, a SLP foi de 5,6 meses e a SG foi de 16,2 meses. Houve tendência a maior sobrevida entre os obesos (12,4 vs 5,8 meses de acordo com IMC maior ou menor que 30) e aqueles que tiveram maior intervalo livre de 5FU antes de entrar no estudo. O tratamento foi bem tolerado e os principais efeitos colaterais de qualquer grau foram diarreia, náusea, vômito e mielotoxicidade.

CONCLUSÃO: Neste estudo de fase II, a metformina combinada ao 5FU apresentou atividade modesta na população geral de pacientes com câncer colorretal metastático refratário. Em análise de subgrupo, obesos e maior intervalo livre de 5FU foram associados a controle de doença prolongado. Estudos prospectivos randomizados com metformina em câncer colorretal devem ser realizados.

Descritores: metformina; fluoruracila; leucovorina; quimioterapia; neoplasias colorretais; obesidade.

Miranda VC. *Phase II Trial of Metformin Combined With 5-Fluorouracil in Patients With Refractory Metastatic Colorectal Cancer* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2016.

ABSTRACT

BACKGROUND: Observational and pre-clinical studies have suggested that metformin has antitumor effects in solid tumors, including colorectal cancer. However the effects of metformin in colorectal cancer have not been tested in clinical trials.

PATIENTS AND METHODS: This was a single center, single-arm phase II clinical trial where histologically confirmed colorectal cancer patients with measurable and progressing metastatic disease previously treated with 5-FU, irinotecan, oxaliplatin and an anti-EGFR, if the tumor was RAS wild type, were enrolled to receive metformin 850 mg orally bid continuously plus 5-FU 425 mg/m² and leucovorin 50 mg IV weekly until disease progression, unacceptable toxicity or consent withdrawn. The primary endpoint was disease control rate at 8 weeks.

RESULTS: Among 50 patients included, 11 (22%) met the primary endpoint. The median progression free survival was 1.8 months and the median overall survival was 7.9 months. Analyzing only those 11 patients who achieved disease control rate at 8 weeks, their median progression-free survival was 5.6 months and their median overall survival was 16.2 months. There was a trend for prolonged median survival for obese patients (12.4 vs 5.8 months) and those longer off 5FU. The treatment was well tolerated and the main side effects were diarrhea, nausea, vomiting and myelotoxicity.

CONCLUSION: Metformin and 5FU showed an overall modest but intriguing activity in refractory colorectal cancer patients in this phase II study. Some patients presented long-term disease control. Further trials are needed to confirm these results, particularly in obese patients with colorectal cancer.

Keywords: metformin, fluorouracil, leucovorin, chemotherapy, colorectal neoplasias, obesity.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Abordagem do câncer colorretal metastático irresssecável

O câncer colorretal (CCR) é a terceira causa de morte por câncer entre homens e mulheres nos Estados Unidos¹. Nos Estados Unidos, tem-se observado uma queda progressiva na taxa de mortalidade relacionada a esta neoplasia, enquanto que, em áreas menos desenvolvidas, como Leste Europeu, Américas do Sul e Central, esta taxa de mortalidade tem apresentado aumento progressivo. No Brasil, estimou-se para 2014, 15.070 casos novos de CCR em homens e 17.530 em mulheres. Esses valores correspondem a um risco estimado de 15,44 casos novos a cada 100 mil homens e 17,24 a cada 100 mil mulheres².

Apesar dos avanços em diagnóstico e tratamento, pacientes com diagnóstico de CCR têm sobrevida global mediana em cinco anos em torno de 55% nos países desenvolvidos e 40% nos países em desenvolvimento². Aproximadamente 25% dos indivíduos com CCR já apresentam metástases ao diagnóstico e 40 a 50% irão desenvolvê-las ao longo do tempo³. Os sítios mais comuns de metástase são linfonodos, pulmão, fígado e peritônio. Exceto em casos em que a metastasectomia é factível, a maioria dos pacientes com CCR metastático não é curável e sua sobrevida mediana é de, aproximadamente, 6 meses sem nenhum tratamento⁴.

Entretanto, é possível aumento de sobrevida, controle da doença e de sintomas por meio de medidas paliativas principalmente com o uso de quimioterapia. Estudos randomizados que compararam quimioterapia baseada em 5- fluorouracil (5FU) e cuidados clínicos exclusivos mostraram que o uso da quimioterapia aumenta a sobrevida global mediana (SG) e a sobrevida livre de progressão (SLP)⁴⁻⁶.

Por décadas, o 5FU era a única droga eficaz para CCR com taxas de resposta (TR) de, aproximadamente, 14 a 22%, SLP entre 6 e 7 meses e SG de 12 meses⁷. A associação de leucovorin potencializa o efeito citotóxico do 5FU, sendo que esta combinação dobrou a taxa de resposta (de 11% para 21%)

com discreto aumento em sobrevida (10,5 vs 11 meses) na metanálise de Thirion et al.⁸. Entretanto, a partir do ano 2000, novas drogas foram aprovadas: oxaliplatina, irinotecano, anticorpos monoclonais anti-VEGF e anti-EGFR, regorafenibe e TAS 102. Estas drogas aumentaram de forma significativa a sobrevida global dos pacientes com CCR metastático.

O uso da oxaliplatina em pacientes com CCR metastático foi descrito em estudo de fase III por De Gramont et al., no qual 420 pacientes foram randomizados para 5FU infusional e folinato de cálcio (LV), em esquema quinzenal, ou o mesmo regime com oxaliplatina (FOLFOX4) no outro braço. Houve aumento da SLP (6,2 vs 9 meses, $p = 0,0001$) e melhores TR (22,3% vs 50,7%, $p = 0,0001$) a favor da oxaliplatina; no entanto, não houve aumento de SG (14,7 vs 16,2 meses, $p = 0,12$)⁹. No Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP) utiliza-se um esquema similar ao FOLFOX que não utiliza 5FU infusional, o esquema mFLOX. Um estudo retrospectivo desenvolvido no ICESP mostrou que o esquema mFLOX apresentou SG semelhante a dados históricos de FOLFOX (19 vs 20,2 meses, respectivamente), além de apresentar maior custo efetividade¹⁰. Frente a isto, favorecemos seu uso no Sistema Único de Saúde (SUS) na primeira linha de tratamento dos pacientes com CCR metastático¹⁰.

O estudo de Douillard et al. foi um dos principais estudos a demonstrar a superioridade do esquema com 5FU, LV e irinotecano sob o esquema que continha apenas 5FU e LV em pacientes virgens de tratamento. O esquema com 3 drogas resultou em aumento significativo da TR (49% vs 31%, $p < 0,001$), além de aumento em TPP (6,7 vs 4,4 meses, $p < 0,001$) e SG (17,4 vs 14,1 meses, $p = 0,031$)¹¹. Um estudo americano tentou utilizar o mesmo esquema de drogas, porém com 5FU em bolus, o IFL. Apesar deste esquema também aumentar a SLP (7,0 vs 4,3 meses, $p = 0,004$), a taxa de resposta (39% vs 21%, $p < 0,001$) e a sobrevida global (14,8 vs 12,6 meses; $p = 0,04$)¹², o estudo BICC mostrou que FOLFIRI (que utiliza 5FU infusional) apresenta menor toxicidade do que IFL (5FU em bolus), com aumento de SLP (7,6 vs 5,9 meses, $p = 0,004$) e uma tendência a maior sobrevida global (SG)¹³. Por esta

razão, utilizamos, principalmente, FOLFIRI em detrimento ao esquema americano IFL.

Iniciar o tratamento de pacientes com CCR metastático inoperável tanto com FOLFIRI seguido de FOLFOX quanto com FOLFOX seguido de FOLFIRI na progressão não mostrou diferença em TR (56% vs 54%; $p = 0,26$), SLP (14,2 vs 10,9 meses; $p = 0,64$) ou SG (21,5 vs 20,6 meses; $p = 0,99$). Quando comparadas, a principal diferença entre as sequências reside na toxicidade acumulada de cada esquema¹⁴. Desta forma, a melhor sequência de drogas para pacientes com CCR metastático ainda não está bem definida, mas grandes estudos de fase III têm mostrado que expor os pacientes a todas drogas ativas ao longo da vida está relacionado à maior sobrevida¹⁵⁻¹⁶.

No ICESP utilizamos irinotecano monodroga como terapia de segunda linha, com base em estudos de fase III¹⁷⁻¹⁸. Conforme protocolo utilizado neste serviço, os pacientes recebem a segunda linha de quimioterapia após certeza de resistência/refratariedade ao tratamento com 5FU e oxaliplatina. O uso de irinotecano monodroga é baseado em 2 estudos que demonstraram atividade deste esquema após exposição a terapias baseadas em 5FU. O primeiro comparou irinotecano monodroga a tratamento clínico exclusivo. Neste estudo, o uso de irinotecano mostrou aumento da taxa de sobrevida global em 1 ano (36% vs 14%, $p = 0,0001$) e melhor qualidade de vida¹⁷. O segundo estudo comparou irinotecano a 5FU infusional, demonstrando maior taxa de sobrevida em 1 ano (32% vs 45%, $p = 0,035$), maior SG (10,8 vs 8,5 meses), maior SLP (4,2 vs 2,9 meses, $p = 0,030$) e tempo livre de dor (10,3 vs 8,5 meses, $p = 0,06$) a favor do irinotecano¹⁸. Frente a estas evidências, o uso do irinotecano isoladamente em segunda linha após progressão de doença a esquema baseado em 5FU e oxaliplatina é aceito por diretrizes nacionais como a diretriz do Grupo Brasileiro de Tumores Gastrointestinais (GTG)¹⁹.

A fim de aumentar a taxa de resposta e a sobrevida de pacientes com CCR metastáticos, um estudo italiano comparou o esquema FOLFIRI com o esquema contendo 5FU, irinotecano e oxaliplatina (FOLFOXIRI); este último foi capaz de aumentar a taxa de resposta (possibilitando metastasectomia em maior número de pacientes), a SG e a SLP na primeira linha²⁰. Outro estudo

que corrobora estes achados é o The TRIBE Trial. Nesta publicação, foi comparado o esquema FOLFOXIRI vs FOLFIRI, ambos os braços com bevacizumabe. Neste estudo, os autores concluíram que pacientes tratados com 4 drogas alcançavam melhores TR, SG e SLP²¹. Baseados nestes achados, podemos concluir que alguns pacientes (principalmente aqueles com grande volume de doença metastática) podem se beneficiar da combinação de irinotecano, oxaliplatina e 5FU (associado ou não a bevacizumabe) por seis meses, seguido de tratamento de manutenção na primeira linha.

A introdução de terapias anti-EGFR ao arsenal terapêutico do CCR metastático trouxe significativo aumento de sobrevida em subpopulações específicas. Em 2007, foi publicado o primeiro estudo que comparou cetuximabe e cuidados clínicos exclusivos, mostrando aumento de SG (6,1 meses no grupo cetuximabe vs 4,6 meses no grupo de cuidados clínicos exclusivos, $p = 0,005$) e SLP ($p < 0,001$) em pacientes previamente expostos ao 5FU, à oxaliplatina e ao irinotecano²². Em análise de subgrupo deste estudo, foi observado que a presença de mutações no gene KRAS conferia resistência ao cetuximabe. Em pacientes KRAS selvagem, o cetuximabe aumentou a SG (9,5 vs 4,8 meses, HR 0,55, IC95% de 0,41 a 0,74, $p < 0,001$) e a SLP (3,7 vs 1,9 meses; HR 0,40; IC95% de 0,30 a 0,54; $p < 0,001$) comparado a cuidados clínicos exclusivos, enquanto que, em pacientes com a mutação de KRAS, não houve diferença na SG (HR 0,98; $p = 0,89$) e SLP (HR 0,99; $p = 0,96$)²³.

O panitumumabe é outra droga anti-EGFR utilizada no CCR metastático, porém sua molécula é totalmente humanizada e se liga ao domínio extracelular do EGFR. Um estudo comparando panitumumabe e cuidados clínicos exclusivos em pacientes previamente expostos ao 5FU, à oxaliplatina e ao irinotecano mostrou aumento de TR (10% vs 0%, $p < 0,0001$) e SLP (13,8 meses vs 8,5 meses) a favor do panitumumabe²⁴. Em reanálise deste estudo, esta droga também se mostrou eficaz exclusivamente em pacientes KRAS selvagem com aumento de sobrevida neste grupo, concluindo, novamente, que o KRAS deve ser investigado antes de se utilizar este tratamento²⁵. É importante ressaltar que a avaliação do *status* RAS não deve se restringir à mutação do KRAS.

Em análise da eficácia do panitumumabe + FOLFOX conforme o *status* KRAS, NRAS e BRAF, foi observado que o benefício da adição de panitumumabe está presente, principalmente, nos subgrupos KRAS e NRAS selvagem; aqueles pacientes com KRAS exon 2 selvagem que possuíam outras mutações no gene RAS apresentavam piores desfechos com a associação de panitumumabe²⁶. O panitumumabe já mostrou ser uma droga versátil com eficácia comprovada em primeira, segunda e terceira linha, além de poder ser utilizado em associação a FOLFOX e FOLFIRI²⁷⁻²⁹.

Já o cetuximabe parece apresentar melhores resultados quando associado ao irinotecano conforme a reanálise do estudo CRYSTAL com pacientes KRAS selvagem, que mostrou aumento de SG (23,5 vs 20,0 meses, HR 0,796; $p = 0,0093$), SLP (9,9 vs 8,4 meses; HR, 0,696; $p = 0,0012$) e TR (57,3% vs 39,7%; OR 2,069; $p < 0,001$) para os pacientes que receberam FOLFIRI + cetuximabe. Os resultados obtidos com associação de cetuximabe e oxaliplatina (FLOX ou FOLFOX) ainda são controversos e sugerem que existe menor ganho na combinação destas duas drogas³⁰⁻³¹.

Em pacientes com KRAS e NRAS selvagem (este último começou a ser testado a partir de 2014 no ICESP) é preconizado o uso de terapias anti-EGFR em terceira linha (após progressão, a FLOX e irinotecano monodroga na primeira e segunda linha, respectivamente). Como terapia de terceira linha utiliza-se cetuximabe associado à irinotecano monodroga, conforme descrito no BONDTRIAL. Neste estudo, 329 pacientes não selecionados por status de mutação RAS foram randomizados para irinotecano + cetuximabe ou cetuximabe monodroga; os pacientes que receberam a combinação tiveram maiores TR (22,9% vs 10,8%, $p = 0,007$) e TPP (4,1 vs 1,5 meses, $p < 0,001$). A SG foi de 8,6 vs 6,9 meses, respectivamente ($p = 0,48$)³². Outra opção também usada no ICESP é o regime de panitumumabe e irinotecano quinzenal, que demonstrou TR objetiva de 29,2%, SGM de 5,5 meses e SLP de 9,7 meses em um estudo de fase II com 65 pacientes³³.

O uso de bevacizumabe, anticorpo monoclonal humanizado que atua como agente antiangiogênico por meio da inibição do VEGF-A, no tratamento do CCR metastático tem apresentado resultados modestos conforme mostra a análise combinada de 7 estudos realizada por Hurwitz et al.. Este estudo

demonstrou SG de 18,7 meses em pacientes que receberam tratamento com QT associada a bevacizumabe vs 16,1 meses em pacientes que receberam somente QT (HR, 0,80; 95% CI, 0,71–0,90; $p = 0,0003$). Este estudo também mostrou aumento de SLP (8,8 meses vs 6,4 meses, $p < 0,0001$) e taxa de resposta (39% [IC95 de 37% a 42%] vs 33% [IC95% de 31% a 36%]) nos pacientes que receberam bevacizumabe³⁴. Frente a estes resultados positivos, entretanto modestos, o uso do bevacizumabe em pacientes com CCR metastático não é terapia aprovada pelo SUS.

Para pacientes com doença refratária, em 2013, foi publicado o primeiro estudo fase III com regorafenibe, um inibidor de tirosina quinase oral com atividade antiangiogênica (incluindo receptor de VEGF 1 a 3). Neste estudo, os pacientes previamente refratários a terapias padrão foram randomizados para receber regorafenibe ou placebo. A SG dos pacientes que receberam regorafenibe foi de 6,4 meses vs 5,0 meses para o grupo que recebeu placebo (HR 0,77; IC95% de 0,64 a 0,94; unicaudal $p = 0,0052$)³⁵. Este tratamento, atualmente, não é aprovado no Brasil para CCR.

Outra terapia recém-aprovada nos Estados Unidos para CCR metastático é o TAS 102 (um agente oral que combina trifluridina e cloridrato de tipiracil). Esta aprovação se deu após a publicação do RECURSE TRIAL em que 800 pacientes previamente expostos a 5FU, irinotecano, oxaliplatina, bevacizumabe e agentes anti-EGFR foram randomizados para TAS 102 ou placebo. O grupo TAS 102 apresentou aumento significativo na SG (7,1 vs 5,3 meses, HR 0,68, IC95% de 0,58 a 0,81) e TR (44% vs 16%)³⁶. TAS102 também não está disponível no Brasil.

1.2 Papel da metformina no câncer colorretal metastático

Muitos estudos clínicos e pré-clínicos sugerem que a metformina, um antidiabético oral que não necessita de metabolização para sua forma ativa, que é absorvida pelo intestino e eliminada pelos glomérulos renais, possa ter efeito antitumoral em diversos tipos de tumores³⁷. Estudos com células *in vitro* sugerem que o efeito sinérgico entre a metformina e o 5FU possa ser capaz de reverter a resistência à quimioterapia de células tumorais de HCC³⁸. Em células

de câncer colorretal resistentes a QT também foi observado sinergismo entre metformina e quimioterapia (5FU e oxaliplatina), sugerindo novamente a capacidade desta combinação de reverter resistência à QT³⁹.

Uma revisão sistemática conduzida pelo nosso grupo descreve o papel antitumoral da metformina em vários tumores sólidos, como adenocarcinoma de pâncreas, câncer de mama, câncer de próstata e câncer colorretal³⁷. Entretanto, a maioria destes estudos é não-controlada e é de natureza retrospectiva, além de avaliar exclusivamente a população diabética³⁷.

Considerando exclusivamente a população com câncer colorretal, publicações têm demonstrado que pacientes usuários de metformina têm melhores desfechos clínicos. Um estudo coreano com 595 pacientes diabéticos com CCR com estádios clínicos (EC) I a IV demonstrou que os pacientes que usavam metformina tiveram maior SG e maior sobrevida câncer específica quando comparado a pacientes que não a usavam⁴⁰. Outro estudo retrospectivo, que avaliou o efeito da metformina em pacientes diabéticos com CCR (pacientes possuíam diferentes EC), mostrou SG de 76,9 meses vs 56,9 meses a favor dos pacientes que usavam metformina ($p = 0,048$). Após ajustes para possíveis fatores de confusão, o estudo demonstrou que pacientes com diabetes tipo II e tratados metformina tinham aumento em 30% na SG quando comparados a pacientes diabéticos tratados com outros antidiabéticos⁴¹.

O uso da metformina também está associado à prevenção do câncer. Uma metanálise e um estudo populacional demonstraram que o uso da metformina estava associado à redução no risco de desenvolver CCR⁴²⁻⁴³. A metanálise de estudos retrospectivos e de casos-controle, incluindo 108.161 pacientes com diabetes tipo II, mostrou que a metformina reduz de maneira significativa o risco de CCR (RR 0,63 [IC95% de 0,50a 0,79]; $p = 0,001$)⁴³. Um estudo populacional tailandês acompanhou 493.704 homens e 502.139 mulheres que não possuíam diagnóstico de CCR e mostrou que usuários de metformina apresentavam redução em 27% no risco de desenvolver CCR⁴². Tendo em vista o papel da metformina como profilaxia para CCR, um interessante estudo prospectivo de fase III japonês, demonstrou que o uso da metformina em doses baixas por 1 ano é capaz de reduzir a formação de

pólipos e adenomas colorretais em pacientes não diabéticos com alto risco para surgimento de novos pólipos. Neste estudo, o uso de metformina em pacientes não diabéticos foi seguro⁴⁴.

Os mecanismos que resultam no efeito antitumoral da metformina ainda não são plenamente compreendidos. Acredita-se que a metformina atue por meio de 3 vias intracelulares: a primeira (insulino-dependente) tem como premissa o fato da insulina atuar como um possível fator de crescimento tumoral. Neste primeiro mecanismo, acredita-se que a metformina, ativa a AMPK, prevenindo a transcrição de genes responsáveis pela gliconeogênese hepática e estimulando a captação muscular de glicose (aumentando a translocação do transportador de glicose GLUT4 e aumentando a sensibilidade à insulina), além de regular a síntese e secreção de insulina pelas células betas das ilhotas pancreáticas. A interação de todos estes mecanismos resulta em redução dos níveis de glicose e insulina séricos⁴⁵⁻⁴⁸. (Figura 1)

A segunda via de ação da metformina (insulino-independente) diz respeito ao seu papel na ativação da AMPK e LKB1. Através da desregulação do complexo 1 da cadeia mitocondrial respiratória, a metformina aumentaria a relação AMP: ATP e isto seria responsável pela ativação da AMPK⁴⁹. Esta ativação resulta na inibição direta e indireta (pela fosforilação da *tuberous sclerosis complex-2* -TSC-2) da via do mTOR. A via do mTOR é responsável pela regulação e fosforilação de proteínas-chave envolvidas na transcrição do mRNA, tais como: proteínas do fator de iniciação eucariótico de proteínas 4E de ligação (4E-bPS), proteína ribossomal S6 quinase (S6Ks) e o fator de iniciação eIF4G. A inibição destas proteínas resulta em redução global da síntese proteica e replicação celular (Figura 1)⁵⁰⁻⁵¹. Além de inibir a via do mTOR, a AMPK também possui efeito pró-apoptótico pela inibição da UPR (*unfolded protein response*)⁵².

Figura 1 – Mecanismos de ação antitumoral da metformina⁴⁹

A terceira via de ação intracelular da metformina está relacionada ao efeito Warburg e a capacidade das células tumorais quimio-resistentes mudarem seu metabolismo a depender da acidez ambiental, anóxia celular e de privação de nutrientes. Esta teoria afirma que a célula tumoral de crescimento intenso obtém energia de forma rápida para se multiplicar e crescer através da glicólise aeróbia (Efeito Warburg). Entretanto, quando a célula está sob estresse (tratamento oncológico), com baixa oferta nutricional e de oxigênio, esta estratégia metabólica não é eficaz⁵³. Neste momento, a célula começa a depender de outro mecanismo energético chamado oxidação mitocondrial, se tornando quiescente, quimio-resistente e de baixa proliferação celular (Figura 2). Frente a isto, acredita-se que a quimioterapia é capaz de eliminar principalmente as células dependentes do metabolismo de glicólise

aeróbia (crescimento rápido), restando as células de metabolismo dependente da oxidação mitocondrial⁵³. Esta plasticidade metabólica e o efeito Warburg são os possíveis responsáveis pela população celular quimio-resistente e pela recorrência tumoral. Alguns estudos sugerem que a metformina é responsável pela inibição do complexo 1 da cadeia mitocondrial e, por este motivo, poderia ser responsável por inibir o metabolismo destas células resistentes à quimioterapia⁵⁴. (Figura 2)

Figura 2 – Plasticidade metabólica celular responsável pela quimioresistência e ação antitumoral (mitocondrial) da metformina (Figura adaptada)⁵³

Apesar de estas evidências sugerirem que a metformina possa apresentar efeito antitumoral, seu efeito em pacientes oncológicos ainda permanece desconhecido, principalmente em pacientes não diabéticos. Atualmente, na literatura, ainda não existem estudos prospectivos que avaliem o efeito da metformina em pacientes com CCR.

1.3 Justificativa do estudo

Apesar de as evidências pré-clínicas sugerirem que a metformina tem atividade anticâncer, seus efeitos antiproliferativos em pacientes oncológicos permanecem desconhecidos, especialmente entre os pacientes não diabéticos. Além disso, estudos prospectivos com metformina ainda não foram concluídos em pacientes com câncer colorretal metastático.

Por este motivo, foi desenhado este ensaio clínico de fase II para avaliar a eficácia e a segurança da metformina combinada com 5FU em pacientes com câncer colorretal metastático progressivo e refratário.

Decidimos combinar metformina a 5FU baseados em estudos pré-clínicos que sugeriram sinergismo citotóxico entre estas duas substâncias no cenário de CCR e hepatocarcinoma^{38,55}. Acredita-se que a inibição da via do mTOR feita pela metformina possa reduzir a concentração do fator 1 alfa hipóxia-induzido (HIF α), resultando na diminuição da resistência tumoral à quimioterapia⁵⁶. A metformina também inibe outros mecanismos de resistência à quimioterapia, como os transportadores de glicoproteínas (P-gp) e a proteína-1 associada à resistência a múltiplas drogas (MRP1), cuja hiperexpressão também é considerada um mecanismo responsável por resistência à quimioterapia de células tumorais³⁸.

Outro artigo, recentemente publicado, também sugere que a associação de metformina ao 5FU possui efeito sinérgico. Neste estudo, a combinação foi capaz de reduzir o crescimento tumoral de células de carcinoma epidermoide de cavidade oral através da sua ação sobre o metabolismo celular tumoral⁵⁷.

Diante dos motivos previamente citados, acreditamos que a metformina deva ser combinada à quimioterapia baseada em 5FU e LV, a fim de tentar potencializar seu efeito antineoplásico e reverter a resistência tumoral destes pacientes refratários ao 5FU.

2 HIPÓTESES

2 HIPÓTESES

O uso de metformina associado ao 5-fluorouracil e leucovorin oferece ação antitumoral em pacientes que progrediram após segunda ou terceira linha de quimioterapia para CCR metastático.

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

- A. O objetivo principal deste estudo foi avaliar se a quimioterapia paliativa, com 5-FU, leucovorin e metformina (Metfu), oferece benefício clínico (em 8 semanas) aos pacientes que progrediram após o uso de 2 ou 3 linhas de quimioterapia paliativas.
- B. Os objetivos secundários incluem avaliação de sobrevida livre de progressão, sobrevida global e toxicidade.

4 DESFECHOS

4 DESFECHOS

O desfecho primário do estudo é:

- Benefício clínico, definido por taxa de controle de doença (resposta completa, resposta parcial ou doença estável pelos critérios de RECIST 1.1)⁵⁸ na semana 8 pós-início do tratamento.

Os desfechos secundários são:

- Sobrevida livre de progressão, definida pelo tempo desde a randomização até o óbito por qualquer causa ou até detecção radiológica (ou clínica) de progressão de doença. O aumento de CEA isolado não foi considerado progressão de doença.
- Sobrevida global, definida pelo tempo da primeira dose de tratamento até o óbito, com data da última consulta sendo considerada censura.
- Toxicidade: os eventos adversos foram avaliados de acordo com os Critérios de Toxicidade Comuns para Eventos Adversos (CTCAE) versão 4.0. Caso não existisse classificação do CTCAE para um evento adverso, usamos o grau de gravidade: leve, moderada, grave ou ameaça à vida.

5 MÉTODOS

5 MÉTODOS

5.1 Desenho e seleção dos pacientes

Para avaliar o benefício da adição de metformina à quimioterapia com 5-FU e leucovorin em pacientes com CCR metastático que progrediram após regimes com 5-FU, oxaliplatina, irinotecano e cetuximabe/panitumumabe (estes últimos somente nos pacientes com *status* RAS selvagem), realizamos este estudo prospectivo, com único braço e unicêntrico. Os pacientes que consentiram em participar e se enquadraram nos critérios de inclusão receberam o tratamento até progressão clínica (determinada pelo médico) e/ou radiológica (preferencialmente), toxicidade inaceitável ou retirada do consentimento.

Foram elegíveis pacientes com todos os critérios abaixo:

- Diagnóstico histológico prévio de adenocarcinoma colorretal metastático tratado por, pelo menos, 2 linhas de quimioterapia (com regimes de oxaliplatina e irinotecano), se KRAS mutado ou tratados com, pelo menos, 3 linhas (oxaliplatina, irinotecano e cetuximabe/panitumumabe), se KRAS selvagem. Os pacientes não possuíam análise do *status* NRAS por não existir dados sobre seu poder preditivo de resposta à terapia anti-EGFR no início deste estudo;
- Era permitido uso prévio de terapias anti-VEGF
- Tumor com progressão de doença radiológica de acordo com avaliação do seu oncologista;
- Doença mensurável;
- Escala de *performance* ECOG 0 a 1;
- Idade acima de 16 anos;
- Termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelo paciente ou representante legal;
- Função orgânica adequada conforme definido pelos seguintes critérios:

- Aspartato aminotransferase sérica (AST), alanina aminotransferase sérica (ALT) $\leq 2,5$ vezes o limite superior da normalidade (LSN);
- Bilirrubina sérica total $\leq 2,0 \times \text{LSN}$;
- Contagem absoluta de neutrófilos $\geq 1.500/\text{mm}^3$;
- Contagem de plaquetas $\geq 100.000/\text{mm}^3$;
- Hemoglobina $\geq 8,0 \text{ g/dl}$;
- Creatinina sérica $\leq 1,5 \times \text{LSN}$.

Foram excluídos os pacientes que, apesar de apresentarem os critérios de inclusão, apresentaram, pelo menos, um dos itens de exclusão abaixo:

- Pacientes diabéticos em uso de metformina;
- Pacientes já tratados com drogas inibidoras de mTOR (incluindo metformina) com intuito antitumoral;
- Pacientes com hipersensibilidade a biguaninas, insuficiência renal, insuficiência hepática ou outras condições que predispõem a acidose láctica;
- Antecedente de infarto agudo do miocárdio nos últimos 6 meses;
- História de doença grave clínica ou psiquiátrica, conforme julgamento clínico;
- Pacientes que participam de outros protocolos com drogas experimentais;
- Pacientes com suspeita de deficiência da enzima dihidropirimida desidrogenase (DPD);
- Pacientes em vigência de infecção ativa;
- Pacientes que não têm capacidade de ingerir alimentos por via oral;
- Pacientes com metástase em SNC;
- Pacientes que realizaram cirurgia de grande porte recente há menos de 4 semanas;
- Pacientes que receberam quimioterapia há menos de 3 semanas;
- Pacientes que realizaram radioterapia nas últimas 2 semanas ou que realizaram radioterapia na lesão-alvo, se esta for a única lesão;
- Pacientes que fazem uso de anticoagulação oral (warfarina);

- Pacientes gestantes ou lactantes.

Os pacientes elegíveis tiveram seus prontuários revisados a fim de levantar dados como: características do tumor, antecedentes pessoais, comorbidades (especial atenção a diagnóstico de diabetes), peso inicial, *status* KRAS e tratamentos previamente realizados.

5.2 Tratamento

O tratamento utilizado foi 5FU 425 mg/m² e LV 50 mg/m² em bolus endovenoso semanal ininterruptamente (D1, D8, D15 e D21 a cada 28 dias), associado à metformina 850 mg 2 vezes por dia (durante as refeições), via oral, diariamente.

O 5FU é uma droga que necessita da conversão para sua forma ativa, o 5-fluoro-2 deoxi-5 monofosfatase, antes de se ligar à timidilato sintase e inibir a síntese do DNA. Utilizamos a dose de 425 mg/m² em bolus de 5FU associada a 50 mg/m² de LV, porque diversos estudos sugerem que esta combinação permite a união mais estável do 5FU à timidilato sintase, permitindo inibição mais prolongada desta enzima⁵⁹. Como não existem dados clínicos sobre a dose ideal de 5FU a ser combinada com metformina, optamos por utilizar 5FU 425 mg/m² em bolus pela sua praticidade, baixo custo e eficácia comprovada em doença metastática⁶⁰.

Para definição da dose de metformina a ser utilizada neste estudo, extrapolamos o conhecimento da dose usada há décadas em pacientes diabéticos tipo 2 e associamos os dados de segurança do estudo de fase II previamente conduzido por nosso grupo em pacientes com câncer de pâncreas tratados com combinação de paclitaxel e metformina⁶¹. Por este motivo, optamos por utilizar a dose de 850 mg duas vezes por dia, continuamente.

Em casos de vômitos ocorridos após 1 hora da ingestão do medicamento ou quando uma dose fosse esquecida por mais de 6 horas, o paciente era orientado a pular esta dose e não compensar na próxima tomada. Foi definido que cada ciclo teria 28 dias.

5.3 Aderência ao tratamento

A dispensação da metformina foi feita pelo ICESP e coordenada pela enfermagem responsável pelo protocolo de pesquisa. Foram entregues a cada paciente comprimidos de 850 mg de metformina em número suficiente até o próximo retorno com o oncologista, o que ocorria a cada 28 dias.

Para avaliar a aderência ao tratamento, solicitamos que os pacientes levassem os *blisters* a cada consulta e no momento da descontinuação do tratamento. Os *blisters* trazidos na consulta foram usados para contagem das cápsulas ingeridas e controle da aderência ao tratamento. Os pacientes poderiam descontinuar voluntariamente o estudo ou serem descontinuados do estudo a critério do investigador, a qualquer momento por toxicidade, má aderência ou óbito.

5.4 Redução de dose

Interrupção ou redução de dose foi permitida em até 15% do 5FU (não foi realizada redução do leucovorin) e redução de 1 nível de dose da metformina (redução máxima de 1 comprimido) caso o paciente apresentasse qualquer toxicidade com grau igual ou maior que 3 ou toxicidade grau 2 intolerável, conforme tabela a seguir:

Medicamento em estudo e dose	Metformina 850 mg via oral 2 vezes por dia
Toxicidade hematológica ou não hematológica grau ≥ 3 ou grau 2 intolerável.	<p>Suspender a terapia até recuperação do quadro (com avaliação semanal pelo médico responsável até o término da recuperação).</p> <ul style="list-style-type: none"> – Quando houver melhora do quadro (toxicidade grau 1), reiniciar com 1 comprimido de 850 mg ao dia na semana seguinte (redução de uma dose). – Caso não haja melhora do quadro clínico em até 3 semanas (persistir com toxicidade grau 3 ou grau 2 intolerável) ou o paciente não tolere a dose de 1 comprimido/dia. Neste caso, o paciente era excluído do estudo por toxicidade inaceitável.
Toxicidade hematológica ou não hematológica < grau 2	Nenhuma redução de dose foi realizada para toxicidades de grau 1 ou 2 toleráveis.
Realização de exames de imagem que necessitem de contraste iodado.	Suspender a terapia 48 horas antes do exame de imagem. Retornar o uso da metformina 24 horas após a realização do exame.
Medicamento em estudo e dose	5-FU 425 mg/m² + leucovorin 50 mg/m² endovenoso
Toxicidade hematológica ou não hematológica grau ≥ 3 ou grau 2 intolerável.	<p>Suspender a terapia até recuperação (com avaliação semanal pelo médico responsável até o término da recuperação).</p> <ul style="list-style-type: none"> – Quando houver melhora do quadro (toxicidade grau 1), reiniciar com redução de dose de 15%. – Caso não haja melhora do quadro clínico em até 3 semanas (persistir com toxicidade grau 3 ou grau 2 intolerável) ou o paciente não tolere o tratamento mesmo após redução de dose de 15%. Neste caso, o paciente era excluído do estudo por toxicidade inaceitável.
Toxicidade hematológica ou não hematológica < grau 2	Nenhuma redução de dose foi realizada para toxicidades de grau 1/2.

A depender da toxicidade apresentada, o médico investigador poderia reduzir somente o 5FU, a metformina ou ambas as medicações.

5.5 Avaliação de resposta à quimioterapia

5.5.1 Avaliação na linha de base (início do tratamento):

Após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, os pacientes foram submetidos à avaliação basal, a fim de confirmar sua elegibilidade:

- Dentro de 7 dias antes da primeira dose do tratamento eram pesquisados: histórico médico (incluindo diagnóstico e tratamentos para o CCR, histórico de outras doenças - ativas e resolvidas), medicamentos em uso e dados gerais. Também eram realizados: exame físico completo, índice de desempenho (ECOG), peso, altura e sinais vitais.
- Dentro de 4 semanas antes da primeira dose de tratamento eram realizadas: tomografias computadorizadas (ou ressonância nuclear magnética, se aplicável) de abdômen, pelve e tórax na *baseline*.
- Teste de gravidez era realizado para mulheres em idade fértil e com suspeita de gravidez. As pacientes eram orientadas a usar métodos contraceptivos durante o estudo.
- Dentro de 7 dias da primeira dose de tratamento foram realizados exames laboratoriais como: hemograma, ureia, creatinina, ALT, AST, bilirrubina total, sódio, potássio, gasometria venosa, CEA e glicemia. Estes exames fazem parte da rotina de tratamento de CCR no ICESP.

5.5.2 Avaliação de eficácia

Os pacientes retornavam para avaliação clínica com oncologista em 15 dias no primeiro ciclo e a cada quatro semanas (janela $\pm$ 3 dias) nos ciclos subsequentes. Na consulta de 15 dias do início do tratamento, o paciente era avaliado clinicamente, sem realização de exames laboratoriais. Nesta consulta, a aderência também era avaliada, conforme descrito anteriormente. Nas outras consultas, o paciente era submetido a:

- Exame físico completo, medição de sinais vitais, medição do peso e altura, ECOG (conforme definida pela escala de Capacidade Funcional da OMS – ver abaixo) e questionário sobre medicações em uso concomitante ao tratamento experimental;

Escala de Performance Status - ECOG

Grau	Definição
0	Realiza atividades normais sem restrições
1	Restrição em atividades fisicamente extenuantes, mas consegue andar e realizar trabalhos.
2	Consegue andar e cuidar de si mesmo, mas não consegue realizar nenhum trabalho. Fica em pé e acordado por mais de 50% do tempo.
3	Capaz de cuidar de si mesmo apenas limitadamente; confinado à cama ou cadeira por mais de 50% do tempo enquanto acordado.
4	Completamente incapacitado. Não consegue realizar qualquer cuidado pessoal. Totalmente confinado à cama e cadeira.
5	Óbito

- Avaliação de sintomas que poderiam estar relacionados à progressão de doença, além de avaliação da aderência e toxicidade ao tratamento;
- Avaliação laboratorial: hemograma, ureia, creatinina, ALT, AST, bilirrubina total, sódio, potássio, gasometria venosa, CEA e glicemia.

Avaliações com exames de imagem eram repetidas a cada dois ciclos de quimioterapia, até progressão de doença ou óbito. Para a avaliação de resposta tumoral, foram utilizados os critérios de RECIST 1.1. Era admitido um intervalo de +/- 5 dias para os exames de imagem. Vale ressaltar que 48 horas antes de cada tomografia o paciente deveria suspender o uso da metformina, a qual deveria ser reiniciada 24 horas após a realização do exame de imagem.

- Pacientes com evidência de progressão de doença clínica ou elevação de CEA poderiam realizar tomografias em intervalo menor que 2 ciclos para avaliar a progressão de doença, a critério do oncologista.

5.5.3 Critérios suspensão do tratamento

Os pacientes poderiam interromper o tratamento caso apresentassem um dos motivos abaixo:

- Progressão de doença (documentada por TC, baseado pelos critérios de RECIST 1.1, com base na avaliação do investigador e do subinvestigador);
- Óbito;
- Evento(s) adverso(s) grave(s);
- Retirada de consentimento pelo paciente;
- Necessidade de nova terapia oncológica: sistêmica, radioterapia ou cirurgia.

5.6 Avaliação de segurança

Para graduar a toxicidade utilizamos os critérios do NCI CTCAE edição 4.0. Pacientes que apresentaram toxicidade grau 2 intolerável ou grau 3 tiveram a dose do tratamento com 5FU e/ou metformina reduzida e foram conduzidos conforme previamente exposto. Todos os efeitos adversos foram graduados e avaliados quanto a sua relação com o tratamento. Pacientes que necessitaram de internação foram imediatamente identificados pelos investigadores do estudo que monitoraram todos os pacientes.

A cada consulta com o oncologista, eram avaliados efeitos adversos e toxicidades por meio de anamnese, exame físico e avaliação laboratorial: função renal, ALT, AST, bilirrubina, eletrólitos, hemograma, glicemia, gasometria venosa e CEA.

O monitoramento de eventos adversos foi realizado após 15 dias do início do tratamento (janela de $\pm$ 3 dias) e a cada retorno com o oncologista (janela -

/+ 3 dias). Continuamos o monitoramento dos efeitos adversos por, pelo menos, 4 semanas após a última dose do tratamento experimental.

Foi considerado evento adverso para os fins deste protocolo: aparecimento de (ou piora dos pré-existentes) sinal(is), sintoma(s) ou condição(ões) médica(s) indesejável(is) após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, mesmo se o mesmo não tenha sido considerado como relacionado ao(s) medicamento(s) em estudo. A ocorrência de eventos adversos foi verificada por meio de perguntas indiretas feitas ao paciente em cada visita durante todo o estudo. Os eventos adversos também poderiam ser detectados quando relatados voluntariamente pelo paciente durante ou entre as visitas ou por meio de exame físico, exames laboratoriais ou outras avaliações.

Cada evento adverso foi avaliado para determinar:

1. A gravidade (leve, moderado, grave e ameaça à vida) ou grau CTCAE 4.0;
2. Sua relação com cada medicamento em estudo (suspeita/não suspeita);
3. Sua duração (datas inicial e final ou se continuavam no exame final);
4. Conduta adotada (nenhuma conduta adotada; medicamento em estudo com dosagem ajustada/temporariamente interrompida; medicamento em estudo descontinuado permanentemente em decorrência do referido evento adverso; hospitalização/ hospitalização prolongada).

Perda de seguimento foi considerada censura na análise dos eventos. Os pacientes que receberam, pelo menos, um dia de tratamento foram avaliados quanto à eficácia e toxicidade.

5.7 Seguimento

Pacientes que progrediram ou apresentaram toxicidade inaceitável, necessitando de suspensão do tratamento, ainda foram seguidos mensalmente pelo investigador até o óbito, para que fosse computada a sobrevida global.

6 CONSIDERAÇÕES ESTATÍSTICAS

6 CONSIDERAÇÕES ESTATÍSTICAS

6.1 Desenho estatístico

Estatísticas descritivas foram utilizadas para reportar todos os resultados das variáveis categóricas e contínuas.

Para pacientes que alcançaram controle de doença em 8 semanas com Metfu, foi realizado teste de Qui-Quadrado para identificação de variáveis categóricas que pudessem estar relacionadas a este desfecho, tais como: presença de diabetes, *status* KRAS, IMC maior ou menor que 30 e sexo. Com o mesmo objetivo de tentar identificar fatores associados ao controle de doença nas primeiras 8 semanas, testamos as variáveis contínuas: idade, tempo livre de 5FU até o início deste estudo e IMC, utilizando o teste *T-student* ou Teste de Mann Whitney U, a depender da necessidade.

As variáveis de tempo para o evento foram relatadas em medianas e curvas de Kaplan Meyer e as comparações entre as curvas (valores de IMC acima ou abaixo de 30, *status* KRAS e diagnóstico prévio de diabetes) foram feitas com o teste de Log-rank. Regressão univariada de Cox foi realizada para avaliar a relação de sobrevida global com as variáveis de interesse, tais como, índice de massa corporal (IMC). Estas análises foram consideradas positivas quando $p < 0,05$ (bicaudal).

O grau de cada toxicidade e o número de pacientes que descontinuaram o tratamento devido à toxicidade foram tabulados. Análises de eficácia e toxicidade foram realizadas por meio de intenção de tratamento. Foram avaliados para toxicidade e eficácia os pacientes que receberam, pelo menos, uma dose de cada droga, 5FU e metformina.

A análise estatística foi realizada usando o *Statistical Package for the Social Science (SPSS)* para *Windows*, versão 17.0.

6.2 Tamanho da amostra

Para cálculo do tamanho da amostra, utilizamos o modelo ótimo de Simon (*optimal design*). Estimamos que o tratamento seria ineficaz ao final do estudo, caso 5% ou menos dos pacientes apresentassem benefício clínico (considerado como resposta radiológica ou doença estável pelos critérios de RECIST 1.1 - vide Desfechos). Consideramos o estudo positivo se, ao final do estudo alcançássemos, pelo menos, 20% de benefício clínico.

Considerando um erro α de 5% e β de 10%, incluímos 21 pacientes na primeira fase. Se, pelo menos, 1 paciente apresentasse benefício clínico na primeira fase, expandiríamos o estudo para um N total de 41 pacientes. Considerando *drop out* de 10%, nosso N final planejado seria de 45 pacientes.

7 RESULTADOS

7 RESULTADOS

De outubro de 2012 a janeiro de 2014, foi oferecida a participação do estudo a sessenta e seis pacientes potencialmente elegíveis. Dentre estes pacientes, dezesseis foram excluídos devido a falhas na triagem (principalmente devido a resultados laboratoriais anormais). Desta forma, 50 pacientes foram incluídos. Dois pacientes abandonaram o tratamento após o início do Metfu (conforme Figura 3): o primeiro paciente perdeu o seguimento após a segunda semana de tratamento e o segundo paciente perdeu o seguimento após a quarta semana.

Figura 3 - Seleção de pacientes

A idade mediana dos pacientes deste estudo foi de 57 anos, a maioria era do sexo masculino, 16% possuíam IMC maior ou igual a 30 e 24% dos pacientes eram diabéticos e não faziam uso de metformina. A maioria possuía tumor localizado em reto-sigmoide e metade dos pacientes era KRAS selvagem. Todas as características demográficas e clínicas dos pacientes estão resumidas na Tabela 1.

Tabela 1 - Características clínicas e dados demográficos dos pacientes do estudo

Características	Número (%)
Idade mediana e variação	57 (32-78)
Sexo	
Masculino	32 (64)
Feminino	18 (36)
Diagnóstico prévio de Diabetes	
Sim	12 (24)
Não	38 (76)
Localização do tumor primário	
Cólon Ascendente e Transverso	8 (16)
Cólon Descendente	7 (14)
Reto-sigmoide	29 (58)
Não especificado	6 (12)
KRAS selvagem	
Sim	25 (50)
Não	25 (50)
Obesidade (IMC $\geq$ 30)	
Sim	8 (16)
Não	42 (84)
Comorbidades (incluindo diabetes)	
Não	29 (58)
Sim	21 (42)
ECOG	
0	15 (30)
1	33 (66)
2	2 (4)
CEA inicial mediano e range	164 (1,2 – 7.054)

CEA = antígeno carcinoembrionário. ECOG = Eastern Cooperative Oncology Group. KRAS = v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog. IMC = Índice de massa corpórea.

Conforme resumido na Tabela 2, todos os pacientes foram previamente expostos e apresentaram progressão radiológica à fluroropirimidina, à oxaliplatina e ao irinotecano. Os pacientes RAS selvagem receberam previamente cetuximabe ou panitumumabe. A maioria dos pacientes não

recebeu bevacizumabe. Os pacientes tinham recebido, pelo menos, duas linhas de quimioterapia paliativa antes da entrada neste estudo.

Tabela 2 - Tratamentos oncológicos realizados pelos pacientes antes da inclusão no estudo Metfu

Características	Número (%)
QT de primeira linha N = 50	
mFLOX	42 (84)
Fluoropirimidina monodroga	1 (2)
Fluoropirimidina + Irinotecano	4 (8)
FOLFOXIRI	1 (2)
FOLFOX + bevacizumabe	2 (4)
QT de segunda linha N = 50	
mFLOX	3 (6)
Fluoropirimidina monodroga	2 (4)
Fluoropirimidina + Irinotecano	6 (12)
Irinotecano monodroga	32 (64)
Irinotecano + cetuximabe	4 (8)
FOLFIRI + anti VEGF	3 (6)
QT de terceira linha N = 34	
Fluoropirimidina + oxaliplatina	10 (20)
Capecitabina	1 (2)
Irinotecano	4 (8)
Irinotecano + cetuximabe	18 (36)
Mitomicina	1 (2)
QT de quarta linha N = 8	
mFLOX	1 (2)
Irinotecano + cetuximabe	4 (8)
Mitomicina	1 (2)
Gencitabina + 5 fluorouracil	1 (2)
IFL	1 (2)
RDT no tumor primário	
Sim	15 (30)
Não	35 (70)

QT = quimioterapia. IFL = irinotecano + 5 fluorouracil em bolus. RDT = radioterapia. mFLOX = oxaliplatina + 5-fluorouracil em bolus. FOLFOX = 5-fluorouracil em bolus e infusional + oxaliplatina. FOLFIRI = 5-fluorouracil em bolus e infusional + irinotecano. FOLFOXIRI = 5-fluorouracil em bolus e infusional + irinotecano + oxaliplatina.

O tratamento foi bem tolerado e os principais efeitos colaterais observados foram diarreia, náuseas, vômitos e mielotoxicidade. Nove pacientes necessitaram de hospitalização durante o estudo, sendo os principais motivos: progressão da doença (sete pacientes), infecção (um paciente) e sangramento retal (um paciente). Tanto a infecção como o sangramento retal foram considerados efeitos colaterais relacionados ao tratamento, principalmente secundário à mielotoxicidade do 5-FU em pacientes previamente expostos a várias linhas de tratamento. A Tabela 3 descreve as toxicidades observadas no estudo.

Tabela 3 - Principais toxicidades observadas com uso do Metfu.

Toxicidades	G 1-2	G ≥ 3
Emese	15 (30%)	0 (0%)
Diarreia	32 (64%)	0 (0%)
Náusea	25 (50%)	0 (0%)
Astenia	17 (34%)	3 (6%)
Mielotoxicidade*	16 (32%)	2 (4%)
Alteração de paladar	11 (22%)	0 (0%)

*Nenhum paciente apresentou neutropenia durante o estudo.

Nenhum paciente apresentou resposta objetiva (resposta completa ou resposta parcial) ao tratamento. Benefício clínico (doença estável) após 8 semanas foi a melhor resposta observada em 11 (22%) pacientes. Para toda a coorte, a sobrevida livre de progressão mediana foi de 1,8 meses e a sobrevida global mediana foi de 7,9 meses, conforme a Figura 4.

Figura 4 – Sobrevida global e sobrevida livre de progressão dos pacientes do estudo (N = 50)

SLP = Sobrevida livre de progressão (SLP). SG = Sobrevida global. N = número de pacientes.

Para os pacientes que alcançaram benefício clínico em 8 semanas (n = 11), a sobrevida livre de progressão mediana foi de 5,6 meses e a sobrevida global mediana foi de 16,2 meses. Para os pacientes que apresentaram progressão do tumor em oito semanas de avaliação, a sobrevida livre de progressão mediana foi de 1,8 meses e a sobrevida global mediana foi de 5,6 meses. A Tabela 4 ilustra as diferenças clínicas entre pacientes que atingiram ou não benefício clínico em 8 semanas.

Tabela 4 - Comparação entre as características dos pacientes que alcançaram ou não benefício clínico após 8 semanas de tratamento com Metfu.

	Com benefício clínico em 8 semanas (n = 11)	Sem benefício clínico em 8 semanas (n = 39)	p*
Sexo (feminino/masculino)	4 (36%)/7 (64%)	14 (36%)/25 (64%)	0,621
Idade (mediana)	55	58	0,902
Diabetes	3 (27,3%)	9 (23,1%)	0,528
KRAS selvagem	8 (72,7 %)	17 (43,6%)	0,085
CEA inicial (mediana)	66,7	176,8	0,204
IMC (mediana)	24,2	25,6	0,903

continua

	Com benefício clínico em 8 semanas (n = 11)	Sem benefício clínico em 8 semanas (n = 39)	p*
IMC (≥ 30)	3 (27,3%)	5 (12,8 %)	0,236
Tratamento pós progressão a Metfu	4 (36,3%)	13 (33,3 %)	0,560
Tempo mediano livre de 5FU até início de Metfu (meses)	15,5	9,2	0,062
Tempo desde o diagnóstico de CCR metastático até início de Metfu (meses)	31,2	28	0,314
Tumor em cólon esquerdo	8 (72,7%)	28 (71,7%)	1,0
SLP mediana (meses)	5,6	1,8	
SG mediana (meses)	16,2	5,6	

* Foram realizados testes *T- student*, Mann Whitney U ou teste qui-quadrado.

IMC = índice de massa corpórea. CEA = antígeno carcinoembrionário. Metfu = metformina + 5 fluorouracil. KRAS = *v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*. SLP = Sobrevida livre de progressão. SG = sobrevida global. CCR = Câncer colorretal.

Doze pacientes (24%) tinham diabetes ou intolerância à glicose. A sobrevida livre de progressão mediana (2,0 meses para ambos os grupos) e sobrevida global (7,9 em pacientes com glicemia de jejum normal no início do estudo vs 5,4 meses para pacientes diabéticos/intolerantes à glicose; $p = 0,83$) não diferiram significativamente conforme o *status* de glicose.

A mediana do IMC foi de 24,4, variando de 16,6 a 37,7. Observamos que o IMC, analisado como variável contínua, não foi associado à sobrevida global, quando calculado pelo modelo univariado de regressão de Cox (HR: 0,944, IC95% de 0,879 a 1,014, $p = 0,117$). No entanto, quando olhamos especificamente para pacientes obesos com $\text{IMC} \geq 30$ ($N = 8$), o benefício clínico foi documentado em 3 pacientes (37,5%) e a sobrevida mediana dos 8 pacientes com $\text{IMC} \geq 30$ foi de 12,4 meses. Em comparação aos 42 pacientes com $\text{IMC} < 30$, em que 8 pacientes (19%) alcançaram benefício clínico, a sobrevida mediana dos pacientes com $\text{IMC} < 30$ foi de 5,8 meses (Figura 5; $p =$

0,086), sugerindo que pacientes com $\text{IMC} \geq 30$ apresentam uma tendência a maior tempo de sobrevida global com Metfu.

Figura 5 – Sobrevida global dos pacientes do estudo conforme $\text{IMC} < 30$ ou ≥ 30

IMC – índice de massa corpórea

O intervalo mediano livre de 5-FU até o início do estudo foi de 10,5 meses (0,7 - 38,4 meses). Analisando apenas os pacientes que conseguiram benefício clínico em 8 semanas, o intervalo mediano sem 5-FU foi de 15,5 meses, enquanto que o grupo de pacientes que progrediram em 8 semanas tiveram uma mediana de 9,2 meses de intervalo livre de 5-FU antes de participar do estudo ($p = 0,062$). Este resultado sugere que pacientes que possuem maior intervalo livre de 5-FU apresentam tendência a maior benefício clínico com Metfu.

Não houve diferença estatística no benefício clínico de acordo com o *status* KRAS (Teste Qui-quadrado, $p = 0,085$), ECOG (Teste Qui-quadrado, $p = 0,065$) e valor de CEA inicial (Teste *T-student*, $p = 0,204$).

Na Figura 6 podemos observar a sobrevida global e sobrevida livre de progressão dos pacientes conforme o status KRAS, presença ou não de intolerância a glicose/diabetes e IMC.

Figura 6 – Sobrevida global e sobrevida livre de progressão conforme características clínicas.

KRAS= *v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*. DM = diabetes mellitus. IMC = índice de massa corpórea.

Dezessete pacientes receberam algum tratamento após a progressão com Metfu; os tratamentos realizados foram: reexposição a mFLOX (7 pacientes), capecitabina (1 paciente), radioterapia pélvica ou em sistema nervoso central (4 pacientes), regorafenibe (1 paciente), ciclofosfamida (1 paciente), mitomicina (2 pacientes) e cirurgia para ressecção de metástase em SNC (1 paciente). Não foi encontrada associação estatística entre o benefício clínico e o uso de terapias após a progressão ($p = 0,56$) e houve tendência a aumento de sobrevida mediana nos pacientes que receberam terapia após Metfu, a sobrevida dos que receberam alguma terapia após Metfu foi de 10,7 meses vs 7,3 meses naqueles que não receberam nenhuma terapia subsequente ($p = 0,054$).

8 DISCUSSÃO

8 DISCUSSÃO

Neste estudo de fase II o tratamento com metformina e 5FU alcançou o desfecho primário proposto em pacientes com câncer colorretal metastático refratário. Vinte e dois por cento dos pacientes deste estudo alcançaram controle da doença por 8 semanas com o tratamento e a melhor resposta radiológica alcançada por estes pacientes foi doença estável. A combinação mostrou resultado global modesto, proporcionando sobrevida livre de progressão mediana de apenas 2 meses, sobrevida global de 7,9 meses e não houve respostas objetivas tumorais. No entanto, entre os doentes que atingiram o objetivo primário, a estabilização da doença durou por uma mediana de 5,6 meses e eles viveram por uma mediana de 16 meses. Curiosamente, obesos apresentaram maior benefício clínico do que os não obesos. Maior intervalo livre de 5FU antes da entrada no estudo também foi associado com maior SLP e SG. Estes resultados sugerem que a metformina, quer combinada ou não com 5-FU, pode ter algum efeito antitumoral em um subgrupo de pacientes com câncer colorretal metastático refratário.

Reconhecendo as limitações de um estudo de fase II não randomizado e comparando nossos resultados a dados históricos, observamos que os nossos dados globais de eficácia se assemelham a resultados já relatados por estudos recentes de fase III em câncer colorretal refratário. No estudo controlado por placebo, CORRECT TRIAL, os pacientes tratados com regorafenibe, um agente multiquinase alvo, tiveram sobrevida livre de progressão mediana de 1,9 meses e sobrevida global mediana de 6,4 meses³⁵. No RECOURSE TRIAL, o TAS102, um análogo nucleosídeo combinado com um inibidor timidina fosforilase, mostrou SLP mediana similar de 2 meses e SG mediana de 7,1 meses³⁶. Em ambos os estudos, a SG do grupo placebo estava na ordem de 5 meses. No entanto, em nosso estudo, observamos resultados encorajadores no subgrupo de pacientes cujo tumor não progrediu em 8 semanas: SLP de 5 meses e SG de 16,2 meses. Isto provavelmente reflete particularidades deste subgrupo, que podem ou não estar relacionadas ao tratamento experimental com 5FU e metformina. Com base nisso, tentamos explorar se houve

associação entre SG e potenciais fatores preditivos, como: IMC, glicemia e tempo livre de tratamento com 5-FU.

Uma meta-análise de vinte e seis estudos (sete estudos prospectivos de coorte e dezenove estudos retrospectivos de coorte) mostrou que pacientes diabéticos com câncer colorretal apresentavam pior sobrevida livre de doença e maior mortalidade específica por câncer (risco relativo de 1,12) em comparação àqueles não diabéticos⁶². A insulina é um fator de crescimento conhecido e estudos têm mostrado que ela pode promover a proliferação do câncer colorretal⁶³. A metformina poderia reduzir a gliconeogênese, aumentar a sensibilidade à insulina em tecidos normais e tumorais, e, consequentemente, diminuir os efeitos proliferativos da insulina⁴⁵⁻⁴⁸. Diante do previamente exposto, esperávamos que o grupo de pacientes com glicemia alterada apresentasse piores desfechos sem metformina. No entanto, embora os pacientes com glicemia de jejum normal no início do estudo terem apresentado SG numericamente maior, esta diferença não alcançou significância estatística. Isto sugere que os pacientes diabéticos não apresentaram resultados significativamente piores conforme previamente proposto. Acreditamos que isto possa estar relacionado ao efeito da metformina, porém, não podemos descartar que nossos resultados são consequência de N amostral pequeno.

A obesidade é um fator de risco conhecido para o desenvolvimento de câncer colorretal. Uma meta-análise de estudos publicados mostrou que o risco relativo estimado de desenvolver câncer colorretal foi de 1,19 quando se comparam obesos ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) com indivíduos de peso normal ($\text{IMC} < 25 \text{ kg/m}^2$)⁶⁴. O aumento da gordura central e inatividade física antes do diagnóstico de câncer colorretal também têm sido associados à redução da sobrevida global e câncer específica⁶⁵. Em uma meta-análise de 29 estudos com pacientes portadores de CCR, a obesidade, mas não o sobrepeso, foi associada a pior sobrevida global em comparação com pacientes de peso normal⁶⁶. Com base nestes dados, é lógico pensar que os pacientes com maior IMC, apesar de historicamente apresentarem pior prognóstico, poderiam apresentar resultados mais promissores com metformina porque possuem maior resistência à insulina. Enquanto o aumento do IMC (como variável

contínua), não foi associado a maior sobrevida em nosso estudo, nossos resultados sugerem que o subgrupo de pacientes com IMC ≥ 30 apresenta maior benefício com Metfu em sobrevida global quando comparado a pacientes não obesos, apesar desta diferença não alcançar significância estatística.

Nossos resultados mostraram que aqueles pacientes que apresentaram benefício clínico em 8 semanas tiveram um intervalo livre de 5FU mediano mais longo. Os ensaios clínicos de fluoropirimidinas em pacientes com câncer colorretal refratário a 5FU têm demonstrado a futilidade desta abordagem em pacientes que acabaram de receber 5FU⁶⁷⁻⁶⁸. No entanto, nossos resultados sugerem que, quanto mais tempo um paciente estiver livre de tratamento com fluoropirimidina, maior é sua chance de alcançar o benefício com uma estratégia de *rechallenge*. Este efeito tem sido bem descrito com oxaliplatina⁶⁹. É possível que 5-FU sozinho seja responsável pelos melhores resultados encontrados no subgrupo de pacientes que estavam sem 5FU por mais tempo, embora não possamos descartar que a adição de metformina possa ter um efeito sinérgico, como visto em modelos pré-clínicos⁵⁵⁻³⁸. Estudos pré-clínicos demonstraram que, enquanto a metformina por si só não pode inibir a proliferação de células tumorais, a combinação com 5FU leva a um efeito antineoplásico por meio da ativação da AMPK⁵⁵. Outro ensaio pré-clínico também sugeriu que a metformina associada com fluorouracil aumenta os efeitos antiproliferativos no carcinoma hepatocelular através das vias AMPK/mTOR/HIF-1a/P-gp e MRP1, revertendo a resistência a quimioterápicos nestas células tumorais³⁸. Outro estudo recentemente publicado também demonstra que o sinergismo da metformina e do 5FU é capaz de reduzir o crescimento tumoral de células de carcinoma epidermoide de cavidade oral através da sua ação sobre o metabolismo celular tumoral⁵⁷.

Ensaios clínicos randomizados são necessários para confirmar ou refutar hipóteses pré-clínicas. No caso da metformina, vários estudos pré-clínicos demonstraram efeitos antiproliferativos em diversos tumores sólidos, e isto inspirou a realização de ensaios clínicos com este fármaco. No entanto, esses ensaios até agora não conseguiram demonstrar o papel da metformina na oncologia, principalmente no câncer colorretal metastático. Por exemplo,

apesar de evidências pré-clínicas encorajadoras sobre a atividade antitumoral da metformina no câncer de pâncreas, um ensaio de fase II conduzido por nosso grupo com paclitaxel e metformina não apresentou atividade antitumoral significativa⁶¹. Com base na evidência pré-clínica que metformina aumenta a sensibilidade de células pancreáticas à gencitabina por meio de *up-regulation* do hENT1⁷⁰, um estudo de fase II randomizado testou a adição de metformina à gencitabina e erlotinibe em pacientes com adenocarcinoma do pâncreas⁷¹, este estudo também apresentou resultados negativos. As razões que explicam os resultados negativos nos ensaios clínicos da metformina no câncer de pâncreas são desconhecidas, mas podem ser justificadas pelas características dos pacientes do estudo (doença refratária e tumores avançados), pela dosagem da metformina (dose de metformina insuficiente) e pela heterogeneidade molecular dos tumores. Atualmente, dois estudos de braço único de fase II estão em andamento utilizando metformina em pacientes com câncer colorretal: o primeiro estudo combinando metformina e irinotecano (NCT01930864) e o segundo testando FOLFIRI ou FOLFOX6 (NCT01926769) em combinação com metformina.

Recentemente, muitos autores têm sugerido a existência de diferentes subtipos moleculares no câncer colorretal. O *Colorectal Cancer Consortium* classifica o câncer colorretal em 4 subtipos distintos. O CMS3, também conhecido como subtipo metabólico, é responsável por, aproximadamente, 13% dos casos e é caracterizado por instabilidade cromossômica mista/baixa, hiperexpressão de mutações KRAS, hiperativação da via MAPK e enriquecimento de assinaturas metabólicas⁷². Nós acreditamos que o subtipo CMS3 poderia ser sensível à metformina e que poderia explicar os resultados do subgrupo de pacientes que alcançou benefício clínico em 8 semanas. Entretanto, por questões de financiamento, não conseguimos testar o material tumoral dos pacientes recrutados a fim de identificar a qual subtipo molecular o paciente pertencia. Estudos prospectivos que estratificam os pacientes de acordo com seu subtipo molecular são essenciais para o desenvolvimento futuro de drogas no CCR metastático.

Com relação ao *status* KRAS, estudos pré-clínicos sugerem que a metformina inibe proliferação celular e induz apoptose de modelos celulares de câncer de endométrio, principalmente naqueles com mutação de KRAS⁷³. Entretanto, no estudo de fase II apresentado na ASCO de 2016 o uso de metformina associada a everolimus e letrozol não apresentou resultados mais exuberantes em pacientes com tumores de endométrio KRAS mutado⁷⁴. Da mesma maneira, não observamos em nosso estudo um maior benefício entre os pacientes KRAS mutado. Pelo contrário, o grupo que apresentou benefício clínico em 8 semanas possuía maior porcentagem de pacientes KRAS selvagem. Este resultado pode ter ocorrido porque estes pacientes foram submetidos a, pelo menos, 3 linhas de quimioterapia e consequentemente apresentaram maior tempo livre de 5FU. Porém, não podemos descartar que estes resultados tenham ocorrido pelo acaso.

O regime MetFu não mostrou toxicidades inesperadas e aquelas que ocorreram foram controladas com redução da dose ou interrupção temporária. As toxicidades grau 3 encontradas foram astenia e mielotoxicidade, que são esperadas em pacientes previamente politratados. As toxicidades G1 e G2 mais encontradas foram: vômitos, diarreia, náuseas e alteração do paladar.

Nosso estudo tem algumas limitações: é um estudo unicêntrico e a maioria dos pacientes não foi previamente exposta a agentes antiangiogênicos (o que faz deles uma população menos refratária). Também não podemos descartar que o resultado encorajador do subgrupo que atingiu benefício clínico em 8 semanas era secundário: a biologia do tumor, a reexposição ao 5FU, o uso da metformina sozinha, o sinergismo de ambas as drogas, ou mesmo por acaso. Outra limitação deste estudo é a ausência de dados sobre o *status* NRAS dos pacientes; esta recomendação teve início em setembro de 2013 após publicação da análise do PRIME TRIAL²⁶. Como este estudo iniciou o recrutamento em 2012, os pacientes já tinham sido tratados com terapia anti-EGFR quando iniciaram Metfu baseado exclusivamente no *status* KRAS. Entretanto, não acreditamos que esta limitação apresente impacto sob os resultados de eficácia do Metfu.

A conclusão deste estudo de fase II é que metformina e 5-FU em pacientes com câncer colorretal metastático refratário têm atividade modesta. Entretanto, existe um subgrupo de doentes que atingiu estabilidade da doença e sobrevida global longa. Mais estudos são necessários neste cenário, preferencialmente randomizados, particularmente em pacientes CCR do subtipo metabólico e em pacientes obesos.

9 CONCLUSÃO

9 CONCLUSÃO

- A. Concluímos que a combinação de 5-FU, leucovorin e metformina (Metfu) alcançou seu objetivo primário, ofereceu benefício clínico em 8 semanas a 22% dos pacientes que progrediram após uso de 2 ou 3 linhas de quimioterapia paliativa.
- B. A combinação mostrou resultado global modesto, proporcionando sobrevida livre de progressão mediana de 2 meses, sobrevida global mediana de 7,9 meses e não houve respostas objetivas tumorais.
- C. O regime Metfu não mostrou toxicidades inesperadas e aquelas que ocorreram foram controladas com redução da dose ou interrupção temporária do tratamento.
- D. Em análise de subgrupo, os pacientes que alcançaram benefício clínico em 8 semanas apresentavam, numericamente, maior IMC e maior intervalo mediano sem 5FU.

10 ANEXOS

10.1 Anexo A: Escala de capacidade funcional ⁷⁵

Escala de Zubrod (ECOG):

- PS 0 – totalmente ativo, sem restrições de desempenho;
- PS 1 – atividade física extenuante restrita, totalmente ambulatorial e capaz de realizar trabalhos leves;
- PS 2 – capaz de cuidar de si mesmo, mas sem condições de trabalhar, permanece fora do leito mais de 50% do tempo;
- PS 3 – capacidade limitada de cuidar de si mesmo, confinado ao leito ou cadeira mais de 50% do tempo;
- PS 4 – completamente inativo, sem condições de autocuidado, totalmente confinado ao leito ou cadeira.

10.2 Anexo B: Taxa de resposta conforme RECIST 1.1 ⁵⁸

Taxa de Resposta Radiológica

A resposta e a progressão foram avaliadas neste estudo utilizando os critérios internacionais propostos pelo comitê RECIST, versão 1.1, de 2009, que considera:

Doença Mensurável: lesões que podem ser precisamente medidas em ao menos uma dimensão (diâmetro mais longo a ser registrado), como ≥ 10 mm por meio de técnicas convencionais (exames físicos, TC, RNM) ou como ≥ 20 mm com raio-X de tórax. Linfonodos com menor eixo ≥ 15 mm também são mensuráveis.

Lesões clínicas: consideradas mensuráveis, quando apenas superficiais (por exemplo, nódulos cutâneos, linfonodos palpáveis).

Doença não mensurável: todas as outras lesões (ou locais de doença), incluindo lesões pequenas com diâmetro < 10 mm por meio de técnicas convencionais ou linfonodos com menor eixo entre 10 e 15 mm. Lesões ósseas, doença leptomeníngea, ascite, derrames pleural/pericárdico, linfangite e lesões císticas são não mensuráveis.

Lesões Alvo: Todas as lesões mensuráveis – até 2 lesões por órgão e 5 lesões na representação total de todos os órgãos envolvidos – medidas nos exames basais. As lesões alvo foram selecionadas com base em seu tamanho (lesões com os diâmetros mais longos e, se linfonodo, considerado menor eixo) e sua adequação para medições repetidas precisas (por técnicas de imagem ou clinicamente). A soma dos maiores diâmetros (MD) de todas as lesões alvo foi calculada e utilizada como referência para caracterização da resposta tumoral objetiva. Se mais do que 5 lesões mensuráveis estivessem presentes, aquelas não selecionadas como lesões alvo foram consideradas, juntamente com a doença não mensurável – lesões não alvo.

Lesões não alvo: Todas as lesões não mensuráveis (ou locais da doença) além de quaisquer lesões mensuráveis e acima das 5 listadas como lesões alvo, as quais foram especificadas no exame basal e acompanhadas como “presentes” ou “ausentes”/“aumentaram” ou “diminuíram”.

Todos os pacientes tiveram sua MELHOR RESPOSTA no estudo, conforme resumido abaixo:

Resposta Completa (RC): desaparecimento de todas as evidências clínicas e radiológicas de tumor (alvo ou não alvo);

Resposta Parcial (RP): uma redução de, ao menos, 30% na soma dos MD de lesões alvo, tendo como referência o exame basal;

Doença Estável (DE): estado de equilíbrio da doença. Nem redução suficiente para qualificar como RP nem aumento suficiente para qualificar como PD, documentado, pelo menos, uma vez mais de 4 semanas após o exame basal;

Progressão de Doença (PD): um aumento de, ao menos, 20% na soma dos MD das lesões medidas, tendo como referência a menor soma dos MD registrada desde o início do tratamento. O aparecimento de novas lesões também constitui doença progressiva, assim como progressão inequívoca de lesões não alvo (mesmo que as lesões alvo tenham reduzido ou permanecido estáveis, há crescimento importante das não alvo, motivando a troca de terapia).

Tabela 5 - Classificação de resposta

LESÕES ALVO	NÃO ALVO	NOVAS LESÕES	RESPOSTA GERAL
RC	RC	Não	RC
RC	Não RC/Não PD	Não	RP
RC	Não PD	Não	RP
DE	Não PD	Não	DE
PD	Qualquer	Sim ou Não	PD
Qualquer	PD*	Sim ou Não	PD
Qualquer	Qualquer	Sim	PD

*progressão de doença inequívoca; DE: doença estável; PD: progressão de doença; RC: resposta completa; RP: resposta parcial.

10.3 Anexo C: Publicação em revista indexada

Clin Colorectal Cancer. 2016 May 7; pii: S1533-0028(16)30059-7. doi: 10.1016/j.clcc.2016.04.011. [Epub ahead of print]

Phase 2 Trial of Metformin Combined With 5-Fluorouracil in Patients With Refractory Metastatic Colorectal Cancer.

Miranda VC¹, Braghiroli MI², Faria LD², Bariani G², Alex A², Bezerra Neto JE², Capareli FC², Sabbaga J², Lobo Dos Santos JF², Hoff PM², Riechelmann RP².

Author information

Abstract

BACKGROUND: Observational and preclinical studies have suggested that metformin has antitumor effects in solid tumors, including colorectal cancer (CRC). However, the effects of metformin in CRC have not been tested in clinical trials.

PATIENTS AND METHODS: This was a single-center, single-arm phase 2 clinical trial where histologically confirmed CRC patients with measurable and progressing metastatic disease previously treated with 5-fluorouracil (5-FU), irinotecan, oxaliplatin, and an anti-epidermal growth factor receptor (if the tumor was RAS wild type) were enrolled to receive metformin 850 mg orally continuously 2 times a day plus 5-FU 425 mg/m² and leucovorin 50 mg intravenously weekly until disease progression, unacceptable toxicity, or withdrawal of consent. The primary end point was disease control rate at 8 weeks.

RESULTS: Among 50 patients included, 11 (22%) met the primary end point. The median progression-free survival was 1.8 months and the median overall survival 7.9 months. Analyzing only the 11 patients who experienced disease control at 8 weeks, their median progression-free survival was 5.6 months and their median overall survival was 16.2 months. There was a trend for prolonged median survival for obese patients (12.4 vs. 5.8 months) and those longer off 5-FU. The treatment was well tolerated; the main adverse effects were diarrhea, nausea, vomiting, and myelotoxicity.

CONCLUSION: Metformin and 5-FU showed an overall modest but intriguing activity in patients with refractory CRC in this phase 2 study. Some patients experienced long-term disease control. Further trials are needed to confirm these results, particularly in obese patients with CRC.

Copyright © 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

KEYWORDS: Biguanide; Chemotherapy; Colon cancer; Obese; Treatment

PMID: [27262895](#) DOI: [10.1016/j.clcc.2016.04.011](#)

11 REFERÊNCIAS

11 REFERÊNCIAS

1. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin*. 2014;64(1):9-29.
2. ESTIMATIVA 2014. Incidência de Câncer no Brasil., In Ministério da Saúde Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. 2014. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/estimativa-24042014.pdf>.
3. Van Cutsem E, Kohne CH, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2009;360(14):1408-17.
4. Scheithauer W, Rosen H, Kornek GV, Sebesta C, Depisch D. Randomised comparison of combination chemotherapy plus supportive care with supportive care alone in patients with metastatic colorectal cancer. *BMJ*. 1993;306(6880):752-5.
5. Nordic Gastrointestinal Tumor Adjuvant Therapy Group. Expectancy or primary chemotherapy in patients with advanced asymptomatic colorectal cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol*. 1992;10(6):904-11.
6. Simmonds PC. Palliative chemotherapy for advanced colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. Colorectal Cancer Collaborative Group. *BMJ*. 2000;321(7260):531-5.
7. Piedbois P, Rougier P, Buyse M, Pignon J, Ryan L, Hansen R, et al. Efficacy of intravenous continuous infusion of fluorouracil compared with bolus administration in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 1998;16(1):301-8.
8. Thirion P, Michiels S, Pignon JP, Buyse M, Braud AC, Carlson RW, et al. Modulation of fluorouracil by leucovorin in patients with advanced colorectal cancer: an updated meta-analysis. *J Clin Oncol*. 2004;22(18):3766-75.
9. de Gramont A, Figer A, Seymour M, Homerin M, Hmissi A, Cassidy J, et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line

- treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2000;18(16):2938-47.
10. Nebuloni DR, Mak MP, Souza FH, Saragiotto DF, Júlio T, De Castro G Jr, et al. Modified FLOX as first-line chemotherapy for metastatic colorectal cancer patients in the public health system in Brazil: Effectiveness and cost-utility analysis. *Mol Clin Oncol*. 2013;1(1):175-9.
 11. Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, Navarro M, James RD, Karasek P, et al. Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. *Lancet*. 2000; 355(9209):1041-7.
 12. Saltz LB, Cox JV, Blanke C, Rosen LS, Fehrenbacher L, Moore MJ, et al. Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan Study Group. *N Engl J Med*. 2000;343(13):905-14.
 13. Fuchs CS, Marshall J, Mitchell E, Wierzbicki R, Ganju V, Jeffery M, et al. Randomized, controlled trial of irinotecan plus infusional, bolus, or oral fluoropyrimidines in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results from the BICC-C Study. *J Clin Oncol*. 2007;25(30):4779-86.
 14. Tournigand C, Andre T, Achille E, Lledo G, Flesh M, Mery-Mignard D, et al. FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study. *J Clin Oncol*. 2004, 22(2):229-37.
 15. Grothey A, Sargent D, Goldberg RM, Schmoll HJ. Survival of patients with advanced colorectal cancer improves with the availability of fluorouracil-leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin in the course of treatment. *J Clin Oncol*. 2004;22(7):1209-14.
 16. Grothey A, Sargent D. Overall survival of patients with advanced colorectal cancer correlates with availability of fluorouracil, irinotecan, and oxaliplatin regardless of whether doublet or single-agent therapy is used first line. *J Clin Oncol*. 2005;23(36):9441-2.
 17. Cunningham D, Pyrhonen S, James RD, Punt CJ, Hickish TF, Heikkila R, et al. Randomised trial of irinotecan plus supportive care versus supportive

- care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet*. 1998;352(9138):1413-8.
18. Rougier P, Van Cutsem E, Bajetta E, Niederle N, Possinger K, Labianca R, et al. Randomised trial of irinotecan versus fluorouracil by continuous infusion after fluorouracil failure in patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet*. 1998;352(9138):1407-12.
 19. Diretrizes Câncer de cólon. Site do Grupo Brasileiro de Tumores Gastro Intestinais. Disponível em <http://www.gtg.org.br/>
 20. Falcone A, Ricci S, Brunetti I, Pfanner E, Allegrini G, Barbara C, et al. Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nord Ovest. *J Clin Oncol*. 2007;25(13):1670-6.
 21. Cremolini C, Loupakis F, Antoniotti C, Lupi C, Sensi E, Lonardi S, et al. FOLFOXIRI plus bevacizumab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer: updated overall survival and molecular subgroup analyses of the open-label, phase 3 TRIBE study. *Lancet Oncol*. 2015;16(13):1306-15.
 22. Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Karapetis CS, Zalcberg JR, Tu D, Au HJ, et al. Cetuximab for the treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2007;357(20):2040-8.
 23. Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Tu D, Tebbutt NC, et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2008;359(17):1757-65.
 24. Van Cutsem E, Peeters M, Siena S, Humblet Y, Hendlisz A, Neyns B, et al. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25(13):1658-64.

25. Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van Cutsem E, Siena S, Freeman DJ, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(10):1626-34.
26. Douillard JY, Oliner KS, Siena S, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, et al. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2013;369(11):1023-34.
27. Douillard JY, Siena S, Cassidy J, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, et al. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol*. 2010;28(31):4697-705.
28. Berlin J, Posey J, Tchekmedyian S, Hu E, Chan D, Malik I, et al. Panitumumab with irinotecan/leucovorin/5-fluorouracil for first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer*. 2007;6(6):427-32.
29. Cohn AL, Shumaker GC, Khandelwal P, Smith DA, Neubauer MA, Mehta N, et al. An open-label, single-arm, phase 2 trial of panitumumab plus FOLFIRI as second-line therapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer*. 2011;10(3):171-7.
30. Maughan TS, Adams RA, Smith CG, Meade AM, Seymour MT, Wilson RH, et al. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. *Lancet*. 2011;377(9783):2103-14.
31. Tveit KM, Guren T, Glimelius B, Pfeiffer P, Sorbye H, Pyrhonen S, et al. Phase III trial of cetuximab with continuous or intermittent fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (Nordic FLOX) versus FLOX alone in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: the NORDIC-VII study. *J Clin Oncol*. 2012;30(15):1755-62.
32. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, Bleiberg H, Santoro A, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-

- refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2004;351(4):337-45.
33. Andre T, Blons H, Mabro M, Chibaudel B, Bachet JB, Tournigand C, et al. Panitumumab combined with irinotecan for patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer refractory to standard chemotherapy: a GERCOR efficacy, tolerance, and translational molecular study. *Ann Oncol*. 2013;24(2):412-9.
34. Hurwitz HI, Tebbutt NC, Kabbinavar F, Giantonio BJ, Guan ZZ, Mitchell L, et al. Efficacy and safety of bevacizumab in metastatic colorectal cancer: pooled analysis from seven randomized controlled trials. *Oncologist*. 2013;18(9):1004-12.
35. Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, Siena S, Falcone A, Ychou M, et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2013;381(9863):303-12.
36. Mayer RJ, Van Cutsem E, Falcone A, Yoshino T, Garcia-Carbonero R, Mizunuma N, et al. Randomized trial of TAS-102 for refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2015;372(20):1909-19.
37. Miranda VC, Barroso-Sousa R, Glasberg J, Riechelmann RP. Exploring the role of metformin in anticancer treatments: a systematic review. *Drugs Today (Barc)*. 2014;50(9):623-40.
38. Ling S, Tian Y, Zhang H, Jia K, Feng T, Sun D, et al. Metformin reverses multidrug resistance in human hepatocellular carcinoma Bel7402/5fluorouracil cells. *Mol Med Rep*. 2014;10(6):2891-7.
39. Nangia-Makker P, Yu Y, Vasudevan A, Farhana L, Rajendra SG, Levi E, et al. Metformin: a potential therapeutic agent for recurrent colon cancer. *PLoS One*. 2014;9(1):e84369.
40. Lee JH, Kim TI, Jeon SM, Hong SP, Cheon JH, Kim WH. The effects of metformin on the survival of colorectal cancer patients with diabetes mellitus. *Int J Cancer*. 2012;131(3):752-9.

41. Garrett CR, Hassabo HM, Bhadkamkar NA, Wen S, Baladandayuthapani V, Kee BK, et al. Survival advantage observed with the use of metformin in patients with type II diabetes and colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2012;106(8):1374-8.
42. Tseng CH. Diabetes, metformin use, and colon cancer: a population-based cohort study in Taiwan. *Eur J Endocrinol*. 2012;167(3):409-16.
43. Zhang ZJ, Zheng ZJ, Kan H, Song Y, Cui W, Zhao G, Kip KE. Reduced risk of colorectal cancer with metformin therapy in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care*. 2011;34(10):2323-8.
44. Higurashi T, Hosono K, Takahashi H, Komiya Y, Umezawa S, Sakai E, et al. Metformin for chemoprevention of metachronous colorectal adenoma or polyps in post-polypectomy patients without diabetes: a multicentre double-blind, placebo-controlled, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2016 Apr;17(4):475-83.
45. Belfiore A, Frasca F. IGF and insulin receptor signaling in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2008;13(4):381-406.
46. Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Pezzino V, Squatrito S, Belfiore A, Vigneri R. The role of insulin receptors and IGF-I receptors in cancer and other diseases. *Arch Physiol Biochem*. 2008;114(1):23-37.
47. Cusi K, Consoli A, DeFronzo RA. Metabolic effects of metformin on glucose and lactate metabolism in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(11):4059-67.
48. Santomauro Junior AC, Ugolini MR, Santomauro AT, Souto RP. [Metformin and AMPK: an old drug and a new enzyme in the context of metabolic syndrome]. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2008;52(1):120-5.
49. Dowling RJ, Goodwin PJ, Stambolic V, et al. Understanding the benefit of metformin use in cancer treatment. *BMC Med*. 2011 Apr 6;9:33.
50. Dowling RJ, Zakikhani M, Fantus IG, Pollak M, Sonenberg N. Metformin inhibits mammalian target of rapamycin-dependent translation initiation in breast cancer cells. *Cancer Res*. 2007;67(22):10804-12.

51. Inoki K, Zhu T, Guan KL. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell*. 2003;115(5):577-90.
52. Kourelis TV, Siegel RD. Metformin and cancer: new applications for an old drug. *Med Oncol*. 2012;29(2):1314-27.
53. Denise C, Paoli P, Calvani M, Taddei ML, Giannoni E, Kopetz S, et al. 5-fluorouracil resistant colon cancer cells are addicted to OXPHOS to survive and enhance stem-like traits. *Oncotarget*. 2015;6(39):41706-21.
54. Wheaton WW, Weinberg SE, Hamanaka RB, Soberanes S, Sullivan LB, Anso E, et al. Metformin inhibits mitochondrial complex I of cancer cells to reduce tumorigenesis. *Elife*. 2014 May 13;3:e02242.
55. Sui X, Xu Y, Yang J, Fang Y, Lou H, Han W, et al. Use of metformin alone is not associated with survival outcomes of colorectal cancer cell but AMPK activator AICAR sensitizes anticancer effect of 5-fluorouracil through AMPK activation. *PLoS One*. 2014;9(5):e97781.
56. Rho JK, Choi YJ, Lee JK, Ryoo BY, Na II, Yang SH, et al. Gefitinib circumvents hypoxia-induced drug resistance by the modulation of HIF-1alpha. *Oncol Rep*. 2009;21(3):801-7.
57. Harada K, Ferdous T, Harada T, Ueyama Y. Metformin in combination with 5-fluorouracil suppresses tumor growth by inhibiting the Warburg effect in human oral squamous cell carcinoma. *Int J Oncol*. 2016 Jul;49(1):276-84.
58. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009;45(2):228-47.
59. Pinedo HM, Peters GF. Fluorouracil: biochemistry and pharmacology. *JCO*. October 1988;6(10): 1653-1664.
60. Jäger E, Heike M, Bernhard H, Klein O, Bernhard G, Lautz D, et al. Weekly high-dose leucovorin versus low-dose leucovorin combined with fluorouracil in advanced colorectal cancer: results of a randomized

- multicenter trial. Study Group for Palliative Treatment of Metastatic Colorectal Cancer Study Protocol 1. *J Clin Oncol*. 1996 Aug;14(8):2274-9.
61. Braghiroli MI, de Celis Ferrari AC, Pfiffer TE, Alex AK, Nebuloni D, Carneiro AS, et al. Phase II trial of metformin and paclitaxel for patients with gemcitabine-refractory advanced adenocarcinoma of the pancreas. *Ecancermedicalscience*. 2015;9:563.
62. Mills KT, Bellows CF, Hoffman AE, Kelly TN, Gagliardi G. Diabetes mellitus and colorectal cancer prognosis: a meta-analysis. *Dis Colon Rectum*. 2013;56(11):1304-19.
63. Sandhu MS, Dunger DB, Giovannucci EL. Insulin, insulin-like growth factor-I (IGF-I), IGF binding proteins, their biologic interactions, and colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94(13):972-80.
64. Moghaddam AA, Woodward M, Huxley R. Obesity and risk of colorectal cancer: a meta-analysis of 31 studies with 70,000 events. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16(12):2533-47.
65. Haydon AM, Macinnis RJ, English DR, Giles GG. Effect of physical activity and body size on survival after diagnosis with colorectal cancer. *Gut*. 2006;55(1):62-7.
66. Wu S, Liu J, Wang X, Li M, Gan Y, Tang Y. Association of obesity and overweight with overall survival in colorectal cancer patients: a meta-analysis of 29 studies. *Cancer Causes Control*. 2014;25(11):1489-502.
67. Hoff PM, Pazdur R, Lassere Y, Carter S, Samid D, Polito D, Abbruzzese JL. Phase II study of capecitabine in patients with fluorouracil-resistant metastatic colorectal carcinoma. *J Clin Oncol*. 2004;22(11):2078-83.
68. Gubanski M, Naucier G, Almerud A, Lidestahl A, Lind PA. Capecitabine as third line therapy in patients with advanced colorectal cancer. *Acta Oncol*. 2005;44(3):236-9.
69. de Gramont Lesparre AH, Chibaudel B, Bourges O, Perez-Staub N, Tournigand C, Maindrault-Goebel F, et al. Definition of oxaliplatin

- sensitivity in patients with advanced colorectal cancer previously treated with oxaliplatin-based therapy. *J Clin Oncol*. 2009;27:4024.
70. Joseph SJ, Osborne T, Word B, Lyn-Cook B. Metformin upregulates hENT1 expression and enhances gemcitabine efficacy in pancreatic cancer cells. *American association for cancer research annual meeting*; 2015.
71. Kordes S, Pollak MN, Zwinderman AH, Mathot RA, Weterman RJ, Beeker A, et al. Metformin in patients with advanced pancreatic cancer: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(7):839-47.
72. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*. 2015;21(11):1350-6.
73. Iglesias DA, Yates MS, Van der Hoeven D, Rodley TL, et al. Another surprise from Metformin: novel mechanism of action via K-Ras influences endometrial cancer response to therapy. *Mol Cancer Ther*. 2013;12(12):2847-56.
74. Soliman, Pamela T., et al. Phase II study of everolimus, letrozole, and metformin in women with advanced/recurrent endometrial cancer. In Abstracts of the 2016 American Society of Clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting. June, 3-7. Chicago, Illinois, USA. *Annual Meeting Proceedings*. Vol. 34. No. 15_suppl. 2016.
75. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, Carbone PP. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol*. 1982;5(6):649-55.

APÊNDICE

APÊNDICE 1 – APROVAÇÃO DO CÔMITE DE ÉTICA EM PESQUISA

APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 05/09/2012, APROVOU o Protocolo de Pesquisa nº 273/12 intitulado: "ESTUDO PROSPECTIVO DA ADIÇÃO DE METFORMINA A 5-FLUOURACIL EM PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL AVANÇADO PREVIAMENTE TRATADOS COM OXALIPLATINA E IRINOTECANO PALLIATIVOS" apresentado pelo Instituto do Câncer do Estado de São Paulo "Octávio Frias de Oliveira".

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: Rachel Simões Pimenta Riechelmann

Pesquisador (a) Executante: Vanessa da Costa Miranda

CEP-FMUSP, 10 de Setembro de 2012.

Prof. Dr. Roger Chammas
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

APÊNDICE 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

INSTITUTO DO CANCER DO ESTADO DE SÃO PAULO
Octávio Frias de Oliveira
Secretaria de Estado da Saúde

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE
CEP: TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº
APTO:
BAIRRO:
CIDADE:
CEP:
TELEFONE: DDD (.....)
-

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. **TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA** “Estudo prospectivo da adição de metformina a 5-fluoracil em pacientes com adenocarcinoma colorretal avançado previamente tratados com oxaliplatina e irinotecano paliativos”.
2. **PESQUISADOR:** VANESSA DA COSTA MIRANDA e RACHEL RIECHELMANN
CARGO/FUNÇÃO: Dra Vanessa: Médico Residente de Oncologia,
INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 136077
CARGO/FUNÇÃO: Dra Rachel: Coordenadora de Pesquisa Clínica e Médica Oncologista,
INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 98131
UNIDADE: Instituto do Câncer do Estado de São Paulo “Octavio Frias de Oliveira” – ICESP

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	☐	RISCO MÉDIO	☐
RISCO BAIXO	X	RISCO MAIOR	☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 3 ANOS

INSTITUTO DO CANCER DO ESTADO DE SÃO PAULO
Octávio Frias de Oliveira
Secretaria de Estado da Saúde

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

1 – Desenho do estudo e objetivo(s)

A senhor(a) está sendo convidada para participar deste estudo clínico a ser realizado no Instituto do Câncer do Estado de São Paulo.

Você tem o diagnóstico de câncer coloretal metastático, isto é, disseminado para outros órgãos do corpo. Neste momento, o tumor cresceu depois de pelo menos duas ou três linhas de quimioterapia paliativa, isto é, o tumor está resistente as quimioterapias que você já recebeu.

Até o momento, o tratamento habitual, aqui no ICESP, para casos como o seu é o suporte clínico exclusivo (tratamento dos sintomas apenas) ou quimioterapia com mitomicina ou 5FU, em alguns casos. Porém, mesmo estas quimioterapias, oferecem muito pouco benefício ao paciente.

Neste estudo para o qual você está sendo convidado(a) a participar de forma voluntária, temos como objetivo avaliar se um esquema de quimioterapia previamente utilizado por você (5-fluoracil) associado à metformina, pode lhe ajudar, controlando o crescimento do tumor. O uso de 5 fluoracil neste cenário é aceito e utilizado em casos selecionados na nossa instituição. Estudos recentes têm mostrado que a metformina, um remédio para tratar diabetes, pode apresentar efeito anti-tumoral, isto é, reduzir o tamanho do tumor, em pacientes com diagnóstico de vários tipos de cânceres.

Portanto, investigaremos o benefício de se combinar as drogas 5-fluoracil semanal, em ciclos com um intervalo de 28 dias, a metformina de forma contínua. O tratamento continua enquanto o tumor ficar controlado e você se sentir bem.

2 – Procedimentos que serão realizados e seus propósitos

Todos os pacientes que aceitarem participar do estudo receberão quimioterapia com 5 fluoracil uma vez por semana e deverão tomar 3 comprimidos de metformina por dia (de 8/8/horas) continuamente, enquanto houver benefício, de acordo com opinião do médico oncologista.

Após cada ciclo de tratamento (28 dias), os pacientes passarão em consulta com oncologista com exames laboratoriais, e a cada dois ciclos de tratamento, aproximadamente 2 meses, farão exames de

INSTITUTO DO CANCER DO ESTADO DE SÃO PAULO
Octávio Frias de Oliveira
Secretaria de Estado da Saúde

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

tomografia para avaliar o tamanho do tumor. A quimioterapia com 5 fluoracil será administrada em 60 minutos, aqui no ICESP. Os exames de sangue e tomografias já fazem parte da rotina de tratamento do ICESP e você não fará exames a mais do que estaria já fazendo, caso não participasse desta pesquisa.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados

Os procedimentos aos quais a senhor(a) será submetido(a) durante o período do estudo serão descritos a seguir:

- Visitas para exame clínico e avaliação dos resultados dos exames laboratoriais. Frequência:
 - A cada 28 dias durante a quimioterapia associada a metformina;
 - Ou mais vezes, se necessário
- Exame de sangue, com retirada de aproximadamente 5 ml (1 colher de sopa) de sangue por punção da veia do braço (ou outro local). Frequência:
 - Antes do início do tratamento;
 - Antes de cada consulta com oncologista;
 - A critério médico;
- Esta coleta será utilizada para fazer exames de sangue de rotina e para avaliar outros componentes que podem ajudar no entendimento de sua doença e no entendimento de sua resposta ao tratamento.
- Dentre os exames de sangue, será realizado um teste de gravidez em casos de suspeita de gravidez.
- Exames para avaliar a extensão do câncer no colon e sua resposta ao tratamento, que incluem tomografias de abdome, tórax e pelve. Frequência:
 - Antes do início do tratamento;
 - A cada dois ciclos (aproximadamente 60 dias) durante o tratamento;
- A tomografia computadorizada costuma necessitar de injeção de contraste, por punção da veia do braço (ou outro local).

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos;

Serão descritos a seguir os riscos associados ao tratamento.

INSTITUTO DO CANCER DO ESTADO DE SÃO PAULO
Octávio Frias de Oliveira
Secretaria de Estado da Saúde

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

5- fluouracil: remédio que você já recebeu antes como parte do seu tratamento.

- Frequentes (>10%): diarreia; cólica abdominal; mucosite (aftas na boca); pigmentação escura na pele; diminuição dos glóbulos brancos sem maiores repercussões; anemia sem maiores repercussões e diminuição das plaquetas sem maiores repercussões.
- Pouco frequentes ou raro (<10%): problemas cardíacos; náusea e vômito, queda de cabelo, reação alérgica grave (reação anafilática), anemia e baixa de imunidade graves.

Metformina:

- Os principais efeitos colaterais relacionados ao uso **de metformina** são: diarreia, náusea, desconforto abdominal, falta de apetite e sensação de gosto metálica na boca.
- É recomendada a suspensão da metformina até 48 horas antes de exames de imagem que necessitem contraste, reiniciando seu uso 24 horas após o exame.

Tomografia

- Exames de imagem que necessitem de contraste endovenoso podem causar reações alérgicas, informe seu médico sobre qualquer alergia que já tenha apresentado no passado.

5 – Riscos relacionados à gravidez:

A quimioterapia e medicamentos administrados neste estudo podem afetar o feto (bebê que ainda não nasceu). Os efeitos dos medicamentos do estudo na gravidez não são completamente conhecidos e podem ser prejudiciais. Sendo assim, para participar deste estudo as mulheres em idade fértil devem concordar em utilizar métodos efetivos para evitar a gravidez.

Você não pode estar grávida, ficar grávida ou amamentar durante a participação neste estudo. Se você ainda pode ficar grávida, ou seja, não fez cirurgia para evitar gravidez e ainda tem menstruações, será necessário utilizar métodos que realmente funcionem para evitar a gravidez, como preservativos – camisinha, diafragma, pílula anticoncepcional ou outros medicamentos injetáveis ou implantes, durante o tratamento e por seis meses após a última vez que você receber as medicações. Seu médico irá conversar com você sobre o melhor método para você.

INSTITUTO DO CANCER DO ESTADO DE SÃO PAULO
Octávio Frias de Oliveira
Secretaria de Estado da Saúde

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Será feito um teste de gravidez antes do início do tratamento se houver suspeita de gravidez. Se você ficar grávida durante a sua participação no estudo, você deve avisar ao médico do estudo imediatamente.

6 – Benefícios para o participante

A hipótese do estudo é que o esquema de quimioterapia com 5 fluouracil e metformina seja eficaz, sem aumento de efeitos adversos graves. Somente ao final do estudo poderemos concluir sobre a presença de algum benefício. Caso isso comprove, é possível que, futuramente, estudos maiores precisem ser realizados antes que o esquema proposto possa ser usado em mais larga escala. Outros pacientes no futuro poderão se beneficiar das informações obtidas com este estudo.

7 – Pagamento ao sujeito de pesquisa

A participação deste estudo não trará nenhum custo adicional para você, nenhum tipo de pagamento será feito caso você concorde em participar deste estudo.

8 – Participação voluntária/ Descontinuação do estudo

A participação neste estudo é totalmente voluntária (você decide se quer fazer parte ou não). Mesmo que você decida participar do estudo, você poderá deixá-lo a qualquer momento, sem dar explicações para isto, podendo inclusive recusar a publicação de dados coletados a seu respeito. Caso isso ocorra os médicos não mais coletaram os dados a seu respeito, mas poderão publicar informações não pessoais coletadas antes do cancelamento. Esta decisão não afetará seu tratamento médico futuro de forma alguma.

O médico do estudo também poderá retirá-lo deste estudo se achar que isto é melhor para você, ou no caso de o estudo ser interrompido antes do planejado.

9 – Confidencialidade

Se você optar por participar deste estudo, as informações sobre a sua saúde e o registro de sua participação serão mantidas de maneira confidencial e sigilosa. Os pesquisadores identificarão você através de um número exclusivo e através das iniciais do seu nome (não utilizando seu nome completo).

INSTITUTO DO CANCER DO ESTADO DE SÃO PAULO
Octávio Frias de Oliveira
Secretaria de Estado da Saúde

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

10 – Garantia de acesso

Dúvidas sobre os procedimentos devem ser dirigidas diretamente aos pesquisadores listados no final deste termo de consentimento.

11 – Assinaturas

Eu confirmo que li o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e tive a oportunidade de esclarecer todas minhas dúvidas relacionadas a este estudo. Eu entendo que se eu tiver qualquer dúvida adicional no futuro relacionada ao estudo ou minha participação nele, posso entrar em contato com os telefones 11- 3893-4531.

Através da minha assinatura, eu concordo em participar deste estudo como voluntário. Eu recebi uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nome do Participante (letra de forma)

Data ____ / ____ / ____

Assinatura do Participante

Nome do Investigador (letra de forma)

Data ____ / ____ / ____

Assinatura do Investigador

INSTITUTO DO CANCER DO ESTADO DE SÃO PAULO
Octávio Frias de Oliveira
Secretaria de Estado da Saúde

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Caso que testemunha ou representante legal seja necessário:

Assinatura da testemunha/ representante legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha/ representante legal

Contato com investigadores:

Instituto do Câncer do Estado de São Paulo
Departamento de Pesquisa Clínica
Av. Dr Arnaldo
São Paulo- SP
Brasil
Telefone- (11) 3893- 2686