Gustavo Fernandes Godoy Almeida

Doxorrubicina e ifosfamida em dose densa em pacientes com sarcomas de partes moles e expressão de ezrina como fator de prognóstico

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

Área de concentração: Oncologia

Orientadora: Profa. Dra. Miriam Hatsue Honda Federico

São Paulo

2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Almeida, Gustavo Fernandes Godoy
Doxorrubicina e ifosfamida em dose densa em pacientes com sarcomas de partes moles e expressão de ezrina como fator de prognóstico / Gustavo Fernandes Godoy Almeida. -- São Paulo, 2010.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Radiologia.
Área de concentração: Oncologia.
Orientadora: Miriam Hatsue Honda Federico.

Descritores: 1.Relação dose-resposta a droga 2.Doxorrubicina 3.Ifosfamida 4.Sarcoma 5.Neoplasias de tecidos moles 6.Sobrevida 7.Imunoistoquímica

USP/FM/SBD-017/10

Dedicatória

Dedico esta tese A Deus pela força de me fazer sair de Recife e ir para São Paulo, em busca dos meus sonhos e por me fazer seguir sempre em frente.

Aos meus pais que sempre me apoiaram e incentivaram, acreditando no resultado dos meus esforços.

A minha irmã, meu cunhado, meu sobrinho e a minha irmã falecida (onde estiver) que sempre comemoraram as minhas conquistas.

A Camilla Almeida, minha esposa que esteve sempre ao meu lado durante esta jornada. Obrigada por me aturar nos momentos de maior dificuldade.

A minha filha que me fez entender o sentido da vida, e me permitiu discernir o que realmente importa.

Aos amigos e familiares que sempre torceram pelo meu crescimento.

Agradecimentos

Agradeço aos pacientes e seus familiares que participaram desta pesquisa, sem os quais, isso não seria possível.

A minha orientadora, Profa. Dra Miriam, que sempre mostrou o caminho pelo qual devemos seguir na vida.

Ao Dr. Gilberto que participou ativamente da minha formação, além da dedicação para comigo, permitindo a conclusão de etapas importantes da minha vida profissional.

A Dra Cida que ofereceu a sua amizade, além do apoio ao longo da minha vida acadêmica.

Ao Dr Igor, pelos ensinamentos.

A Dra. Sheila pelos conhecimentos em patologia e pela solicitude em relação aos casos da pesquisa.

Aos radiologistas que se envolveram na pesquisa.

Aos cirurgiões pelo encaminhamento dos pacientes.

A assistente social Carmen que permitiu a resolução de dificuldades ao longo do estudo.

Sumário

Lista de abreviaturas.....7

Lista de símbolos.....8

Lista de siglas.....9

Lista de figuras.....11

Lista de tabelas.....12

Resumo.....13

Summary.....16

1 INTRODUÇÃO.....19

2 OBJETIVOS.....29

3 PACIENTES E MÉTODOS.....30

3.1 Critérios de inclusão e exclusão.....30

3.2 Desenho do tratamento.....32

3.3 Avaliação inicial e seguimento clínico.....35

3.4 Avaliação de resposta, toxicidade, qualidade de vida e intensidade de dose.....36

3.5 Avaliação de ezrina por imunohistoquímica.....37

3.6 Análises estatísticas.....39

4 RESULTADOS.....41

4.1 Características dos pacientes.....41

4.2 Aderência ao tratamento.....45

4.3 Intensidade de dose.....48

4.4 Toxicidades.....50

4.5 Toxicidade cardíaca 53

4.6 Taxa de resposta.....55

4.7 Sobrevida.....57

4.8 Qualidade de vida.....63

4.9 Cirurgia de resgate.....66

4.10 Expressão de ezrina.....70

5 DISCUSSÃO.....76

6 CONCLUSÕES.....99

7 REFERÊNCIAS.....101

LISTA DE ABREVIATURAS

DOXO	doxorrubicina
IFO	ifosfamida
QT	quimioterapia
RDT	radioterapia
pts	pacientes/patients
ed.	edição
et al.	e outros
ex.	exemplo
fig.	figura
jan.	janeiro
p.	página
rev.	revista
v.	volume
y	years
Nº	número

LISTA DE SÍMBOLOS

mg/m^2	miligrama (s) por metro quadrado
g/m^2	grama (s) por metro quadrado
=	igual a

LISTA DE SIGLAS

ANOVA	*Analyses of variance*
ASCO	*American Society of Clinical Oncology*
ECOG	*Eastern Cooperative Oncology Group*
GCSF	*Granulocyte colony stimulating factor*
USP	Universidade de São Paulo
OMS	Organização Mundial de Saúde
Mesna	Mercaptoetano sulfonato de sódio
RECIST	*Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*
NCI	*National Cancer Institute*
EORTC	*European* Organisation for Research and Treatment of Cancer
QLQ-C30	*Quality of Life Questionnaire* C30
FEVE	Fração de ejeção de ventrículo esquerdo
SOE	Sem outras especificações
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
PNET	*Primitive neuroectodermal tumor* (tumor neuroectodérmico primitivo)
GIST	*Gastrointestinal stromal tumor* (tumor do estroma gastrointestinal)
QV	Qualidade de vida

TVP	Trombose venosa profunda
TEP	Tromboembolismo pulmonar
NA	Não se aplica
LVEF	*Left ventricular ejection fraction*
SPM	Sarcoma de partes moles
SLP	Sobrevida livre de progressão
SG	Sobrevida global
TR	Taxa de resposta
RP	Resposta parcial
RC	Resposta completa
DE	Doença estável
PD	Progressão de doença
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP
EE	Expressão de ezrina
STS	Soft tissue sarcoma
RO	Resposta objetiva
SFB	Soro fetal bovino

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Inclusão e desfechos dos pacientes.....43

Figura 2 – Sobrevida livre de progressão de pacientes com sarcoma de partes moles de alto grau, segundo o estadiamento.....59

Figura 3 – Sobrevida global de pacientes com sarcoma de partes moles de alto grau, segundo o estadiamento.....60

Figura 4 – Sobrevida global de pacientes com sarcoma de partes moles de alto grau, segundo a histologia.....61

Figura 5 – Sobrevida global de pacientes com sarcoma de partes moles de alto grau, segundo a idade.....62

Figura 6 – Evolução temporal dos escores de qualidade de vida de acordo com o EORTC QLQ-C30, no domínio Dor.....64

Figura 7 – Evolução temporal dos escores de qualidade de vida de acordo com o EORTC QLQ-C30, no domínio Saúde Global.....65

Figura 8 – Sobrevida global de pacientes com sarcoma de partes moles de alto grau, segundo expressão de ezrina.....71

Figura 9 – Exemplo de imunorreatividade positiva (4+) para a ezrina à imunoistoquímica (caso 4).....73

Figura 10 – Exemplo de imunorreatividade positiva (1+) para a ezrina à imunoistoquímica (caso 7).....74

Figura 11 – Exemplo de imunorreatividade negativa (0) para a ezrina à imunoistoquímica (caso 12).....75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características dos pacientes.....44

Tabela 2 – Aderência ao tratamento 47

Tabela 3 – Intensidade de dose.....49

Tabela 4 – Toxicidades (Nº de ciclos).....52

Tabela 5 – Avaliação da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE).....54

Tabela 6 – Desfechos de pacientes com doença localmente avançada operados.....69

Tabela 7 – Desfechos dos pacientes e expressão de ezrina.....72

Tabela 8 – Fatores de prognóstico potenciais em estudos de combinação doxorrubicina/ifosfamida.....77

Tabela 9 – Toxicidades renal e neurológica de acordo com o protocolo de IFO e MESNA.....83

Resumo

O prognóstico de pacientes portadores de sarcomas de partes moles (SPM) avançados é reservado. Aumentar o benefício de quimioterapia é necessário, sendo, uma das estratégias, quimioterapia em dose densa, a qual demonstrou benefício em câncer de mama. Por outro lado, a busca de um marcador prognóstico é importante para uma melhor seleção de pacientes que se beneficiariam de protocolo de tratamento mais intensivo. A ezrina é uma proteína que liga o citoesqueleto celular a proteínas de membrana, está associada a invasão celular e metástase e sua hiperexpressão tem sido associada a um pior prognóstico em sarcomas de partes moles. O objetivo deste estudo foi avaliar o papel de quimioterapia com dose densa em pacientes portadores de SPM de alto grau, avançados. O desfecho primário foi taxa de resposta e os secundários foram sobrevida global (SG), sobrevida livre de progressão (SLP), perfil de toxicidade, qualidade de vida e controle de dor. Avaliou-se também a expressão de ezrina por imunohistoquímica como marcador de prognóstico, com o intuito de estratificação da população que poderia se beneficiar mais desta abordagem intensificada. Neste estudo de fase II prospectivo, vinte e um pacientes foram incluídos. A idade mediana foi 37 anos (23-60) e extremidades inferiores foram o sítio primário mais comum. Sarcoma sinovial, leiomiossarcoma e sarcoma sem outras especificações foram as histologias mais frequentes. O protocolo consistiu de seis ciclos seqüenciais

de doxorubicina 30mg/m^2 D1-3 e ifosfamida 2,5g/m^2 D1-5 a cada 14 e 21 dias, respectivamente, seguidos por sete dias de suporte hematopoiético. As intensidades de dose medianas de doxorrubicina e ifosfamida foram, respectivamente, 42mg/m^2/semana e 3,63g/m^2/semana (93% e 87% do planejado, respectivamente) e 15 pacientes (71%) receberam todo o tratamento. Toxicidades graus 3 e 4 foram observadas em 19 pacientes e em 77/105 ciclos, neutropenia febril em 6 ciclos (5 pacientes) e reduções da fração de ejeção de ventrículo esquerdo de pelo menos 10% em três pacientes. Não houve toxicidade renal provavelmente pela adminsitração da ifosfamida em duas horas. A resposta foi avaliada pelos critérios de RECIST, com três respostas parciais, totalizando uma taxa de resposta de 14%. Seis respostas deveriam ser observadas para que o estudo completasse a inclusão de todos os pacientes programados. Como não se atingiu a taxa de resposta prevista, o protocolo foi fechado. Três mortes precoces foram observadas com suspeita de toxicidade. Após seguimento mediano de 11 meses, a SLP e a SG medianas foram 8,1 e 20,1 meses respectivamente. Pacientes com sarcoma sinovial e idade inferior a 45 anos apresentaram maior sobrevida na análise univariada. A expresão de ezrina foi positiva em 10 pacientes (47%) e houve tendência a uma correlação direta entre sua expressão e sobrevida mais longa (p=0,1191). Todos os pacientes com histologia sinovial foram positivos para ezrina (teste de Fischer, p= 0,0325). Este esquema de quimioterapia sequencial com dose densa de doxorubicina e ifosfamida foi tóxico, a taxa de resposta foi baixa em um grupo de pacientes com doença avançada e não pode ser empregado na prática

clínica diária fora de protocolo de pesquisa.

Palavras chaves: ezrina, dose densa, doxorrubicina, ifosfamida, sarcoma de partes moles, resposta, sobrevida.

Summary

Advanced soft tissue sarcoma (STS) patients have a dismal prognosis. Efforts to increase benefit from chemotherapy are needed and dose-dense chemotherapy could be an option, since this approach has demonstrated survival benefit in breast cancer. On the other hand, the identification of a prognostic marker is essential to stratify which patients could benefit most from intensified strategies. Ezrin is a member of the ERM (ezrin, radixin, moesin) cytoeskeleton-associated protein family associated with invasion and metastasis, and has been pointed as important prognostic marker in sarcomas. The objective of this study was to explore the role of dose-dense doxorubicin- and ifosfamide-based chemotherapy in advanced high grade STS patients. Primary endpoint was response rate and secondary endpoints were overall survival (OS), progression free survival (PFS), toxicity profile, quality of life and pain control evaluation. Tumor ezrin immunoreactivity was an exploratory endpoint as a predictor of response to chemotherapy and as a prognostic factor in this population, trying to find which patients could benefit most from this intensified strategy. This prospective, single arm, phase II study included 21 advanced STS patients. Median age was 37 years (23-60y) and lower limbs were the most frequent primary site. Synovial, leiomyo and unclassified sarcoma were the most common histologies. Protocol consisted of 6 cycles of sequential dose-dense doxorubicin 30 mg/m^2 D1-3 and ifosfamide 2.5 g/m^2 D1-5 every 14 and 21

days, respectively, followed by seven days of hematopoietic support. The median doxorubicin and ifosfamide dose-intensities were, respectively, 42 mg/m^2/week and 3.63 g/m^2/week (93% and 87% of planned, respectively) and 15 patients (71%) received all cycles. Grade 3/4 toxicities occurred in 19 patients and 77/105 cycles, febrile neutropenia in 5 patients (six cycles) and three LVEF drops of at least 10%, one symptomatic. No renal toxicity was observed what could occurred due to the two-hour-schedule of ifosfamide. Responses were evaluated by RECIST criteria and three patients presented partial response (response rate of 14%). Six responses were necessary to the inclusion of the target population, however, this was not observed and the study was closed. Three deaths were probably related to toxicity. After a median follow-up was 11 months, PFS and OS were 8.1 months and 20.1 months, respectively. Patients with synovial sarcoma and those younger than 45y presented better survival at univariate analysis. Ezrin expression was positive in 10 patients (47%) and a trend was observed for a correlation between positive ezrin expression and longer survival (p= 0.1191). There was a statistically significant correlation between positive ezrin expression and synovial hystology (Fisher's exact test, p= 0.0325). This sequential dose-dense doxorubicin/ifosfamide-based chemotherapy protocol was toxic, response rate was low in advanced STS patients and can not be considered for routine practice outside clinical trials.

Introdução

Sarcomas de partes moles (SPM) são tumores relativamente raros, correspondendo a apenas 1% das neoplasias malignas do adulto.[1,2] Para se ter uma idéia da incidência, nos Estados Unidos, os sarcomas de partes moles são responsáveis por 7.800 casos novos, com 4.400 mortes anuais.[3] Não existem dados brasileiros exatos. Entretanto, no município de São Paulo, em 1998, foram diagnosticados 164 casos novos em homens e 222 em mulheres por 100.000 habitantes.[4]

Por serem tumores de origem mesenquimal, podem surgir em qualquer parte do corpo, estando um terço deles localizados em extremidades. Além disso, podem se originar em diversos tecidos, o que gera numerosos subtipos histológicos. Esta gama de tumores agrupa doenças com comportamento biológico extremamente variável, sendo que alguns deles tem propostas de quimioterapia diferenciadas. Alguns exemplos são: o mesotelioma maligno que é intrinsecamente resistente à quimioterapia e quase sempre é tratado com a combinação pemetrexate e cisplatina;[5] os tipos juvenis de rabdomiossarcoma, neuroblastoma e o sarcoma de Ewing também chamado de PNET (do inglês *primitive neuroectodermal tumor* - tumor neuroectodérmico primitivo), estes três são tratados com esquemas de varias drogas alternadas; tumores mesodérmicos mistos malignos e carcinossarcomas que respondem a esquemas baseados

em platina[6] e por último, o tumor do estroma gastrointestinal (GIST), hoje tratado com o inibidor de tirosina quinase do cKit, imatinibe. Além desses subtipos específicos, a classificação histológica dos sarcomas em geral vem sendo revisada várias vezes nos últimos anos,[7] ocasionando heterogeneidade entre os artigos científicos e dificultando uma comparação adequada entre os diversos estudos. Diante disso, entende-se porque o prognóstico desses pacientes é bastante variável.

A agressividade desses tumores traduz-se pela recidiva frequente, sendo o pulmão o sítio mais comum de metástases à distância. Isso depende de fatores como: tamanho do tumor, grau histológico e localização. Desses, as análises multivariadas parecem indicar como mais importante o grau histológico, seguido do tamanho da lesão.[8,9]

O tratamento principal é a ressecção cirúrgica. Até a década de 80, a amputação era a única forma de cura. Nas últimas décadas, a cirurgia associou-se com a radioterapia, o que permitiu preservação dos membros em até 90% dos casos,[10] ficando a amputação reservada para as lesões com envolvimento vascular, ósseo ou nervoso.[11,12] Para os pacientes com doença avançada, a combinação de cirurgia e radioterapia não é suficiente para oferecer cura, pois tem um papel limitado no controle das metástases. A adição de tratamento sistêmico acrescentou um benefício discreto. Em relação à quimioterapia, várias combinações foram testadas, mas o melhor protocolo ainda precisa ser definido.

Dentre os diversos agentes empregados nessas combinações, os mais ativos são doxorrubicina (DOXO) e ifosfamida (IFO). Alguns estudos

de fase II, testando ambos os agentes em pacientes portadores de SPM avançados, sugeriram relação direta entre intensidade de dose de quimioterapia e resposta.[13-18] Nestes estudos, 259 pacientes foram tratados com doses de DOXO variando entre 60 mg/m^2 e 90 mg/m^2 em combinação com IFO em doses entre 5 g/m^2 e 16 g/m^2. A taxa de resposta observada variou entre 36% e 69%, entretanto, não se observa claramente uma relação direta entre taxa de resposta e sobrevida mais longa, a qual variou entre 8 meses e 37 meses.

Estudos de fase III compararam diferentes doses de quimioterapia, conforme dados apresentados a seguir. No primeiro deles, 279 pacientes receberam DOXO 80 mg/m^2 (grupo A), DOXO 60 mg/m^2 em combinação com IFO 7,5 g/m^2 (grupo B) e DOXO 40 mg/m^2 em combinação com mitomicina e cisplatina (grupo C).[19] Em estudo do EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer Soft Tissue and Bone Sarcoma Group), 663 pacientes foram tratados com DOXO 75 mg/m^2 (grupo 1), DOXO 50 mg/m^2 associada à IFO 5 g/m^2 (grupo 2), ou (CYVADIC) ciclofosfamida 500 mg/m^2, vincristina 1,5 mg/m^2, DOXO 50 mg/m^2 e dacarbazina 750 mg/m^2 (grupo 3).[20] Num terceiro estudo, 294 pacientes foram avaliados, comparando-se dois esquemas de DOXO em doses de 50 mg/m^2 (braço A) e 75 mg/m^2 (braço B) ambos com IFO 5 g/m^2.[21] Noutro estudo, 79 pacientes receberam DOXO 60 mg/m^2 em combinação com IFO 6 g/m^2 ou 12 g/m^2.[22] Não houve diferença estatisticamente significativa de sobrevida entre os diversos grupos, com diferentes intensidades de dose de quimioterapia, confirmando ausência de relação direta entre resposta e

sobrevida. Resta, portanto, definir se existe um subgrupo que se beneficiaria da combinação DOXO/IFO com melhor perfil de toxicidade. Isto porque os estudos acima não empregaram os mesmos esquemas, a população incluída foi heterogênea em termos de proporção de pacientes com tumores de alto e baixo grau, de numero de pacientes com doença localizada ou com subtipos histológicos com maior ou menor sensibilidade à quimioterapia.[14,18,23,24] Diante disso, conclui-se ser imprescindível a inclusão desses pacientes em pesquisa clínica observando esses detalhes.

Além da aparente ausência de benefício de sobrevida, outro problema associado à intensificação de dose de DOXO e IFO em combinação é a toxicidade. Antes de um aprofundamento sobre toxicidade, é importante comentar que o conhecimento sobre a doxorrubicina está relativamente bem consolidado, pois a administração da mesma ocorre de maneira mais homogênea entre os diversos estudos, através de aplicações *in bolus* ao longo de 1 a 3 dias, a depender da dose utilizada. A mesma tem seu mecanismo de ação através da inibição da topoisomerase IIA (topo IIA), enzima relacionada à excisão e reparação da lesão causada ao DNA.[25] Já o conhecimento sobre os aspectos de eficácia e segurança em relação à IFO já não se encontra tão sedimentado porque a mesma foi testada de diversas maneiras, em apenas um ou em mais dias, em um período de algumas horas por dia ou em infusão contínua, nas mais variadas doses, em combinações diferentes. Diante disso, é importante descrevermos alguns aspectos das bases farmacológicas da mesma.

A IFO é ativada através do sistema P450 (CYP450). A conversão da IFO em 4-hidroxi-ifosfamida é catalizada pela isoforma CYP3A4. Competindo com a formação da 4-hidroxi-ifosfamida está a via catabólica que gera os metabólitos inativos 2- e 3-dicloroetilifosfamida e cloroacetaldeído (CAA).[26] Aproximadamente 45% da IFO é metabolizada em CAA, considerado o responsável pelas toxicidades renal e neurológica[27] para as quais ainda não existe uma forma padronizada de prevenção, cujo tratamento envolve a suspensão do medicamento.[28] A 4-hidroxi-ifosfamida é um produto instável, em equilíbrio com a aldofosforamida que se decompõe espontaneamente em mustarda isofosforamida (o metabólito ativo) e acroleína, molécula com afinidade pelo urotélio, responsável pela cistite hemorrágica[29] que teve sua incidência diminuída após a introdução de MESNA aos esquemas com IFO (Scheef & Soemer, 1980[30] apud Shaw & Graham, 1987[29]). O grupo tiol da MESNA, a glutationa, liga-se espontaneamente ou catalisada através de enzimas (glutationa transferase) a vários compostos químicos reativos, formando conjugados (Parke, 1968[31] apud Schaw, 1987[29]), tornando a molécula menos tóxica e mais hidrosolúvel, facilitando sua excreção, neste caso à acroleína. Vários esquemas de administração de MESNA também foram desenvolvidos, restando ainda encontrar o melhor. O metabolismo da IFO pode ser afetado por alguns fatores como a autoindução, interações medicamentosas e polimorfismos de genes que codificam enzimas responsáveis pelo metabolismo e transporte da IFO.[32] A autoindução é o processo através do qual a adminstração repetida da IFO resulta no aumento do clearance e

diminuição do tempo de meia-vida da mesma. A importância clínica da autoindução,[33] de interações medicamentosas e das diferenças interindividuais ainda não está estabelecida.[28] A aplicação de doses únicas elevadas de IFO pode resultar em necrose tubular aguda e insuficiência renal.[34] Esta foi uma das razões para que esquemas com doses fracionadas de IFO fossem desenvolvidos.[28]. Uma baixa incidência de toxicidade renal e vesical foi observada com a administração em cinco dias.[35] Alguns autores sugerem que a IFO em infusão contínua poderia ser mais bem tolerada,[36,37] entretanto, outros autores sugerem que poderia ter menor eficácia.[38] Apesar da utilização da IFO em altas doses estar associada a maiores taxas de resposta, o benefício em sobrevida não é claro.[39] Em doses muito acima de 12 g/m^2 são observadas toxicidades inaceitáveis,[40] além de não ser observada uma relação direta entre dose e resposta, pela menor formação do metabólito ativo mustarda isofosforamida.[41] Isso pode sugerir que a dose limite para a utilização da IFO isolada seja 12 g/m^2, entretanto, desconhecemos esta dose quando a mesma está associada (concomitante ou sequencialmente) à DOXO. Dois estudos que empregaram a IFO na dose de 9 g/m^2 em infusão contínua ou em bolus não evidenciaram diferenças farmacocinéticas.[42,43] Em termos de eficácia, o melhor esquema de IFO ainda não foi determinado.[42] Um estudo que analisou a IFO em infusão contínua ou em doses fracionadas em três dias em pacientes portadores de SPM avançados, virgens de tratamento, não evidenciou diferenças em termos de resposta ou sobrevida.[44] Em estudo empregando a IFO em 2 a 3 horas por dia, em 3 a 5 dias, não foi observada toxicidade renal e toxicidade

neurológica só foi observada em apenas um de 33 pacientes incluídos.[17] Outro problema importante relacionado aos esquemas em combinação é a neutropenia severa que varia entre 32% e 92% e a neutropenia febril entre 11% e 22% dos pacientes nos diversos estudos. [15,16,20-24]

Diante do exposto, em relação à toxicidade da combinação DOXO/IFO, surge uma alternativa desenhada com a intenção de reduzir a toxicidade, através da administração sequencial de agentes quimioterápicos. Esta abordagem tem grande potencial porque a quimioterapia poderia ser empregada por um período mais prolongado. Como vantagem, consegue-se potencializar o tratamento, através do aumento da densidade de dose, reduzindo-se o intervalo entre os ciclos. Adicionalmente, a IFO demonstrou atividade após falha à DOXO,[45] o que mostra ausência de resistência cruzada entre esses agentes. Seguindo esse raciocínio, a IFO seria adicionada após a DOXO, para que ambas oferecessem benefício, antes do tumor se apresentar refratário a qualquer agente. Esta estratégia demonstrou benefício de sobrevida em câncer de mama.[46]

Essa estratégia, chamada de dose densa, foi testada pelo Grupo Espanhol de Pesquisa em Sarcomas em dois estudos.[47,48] No primeiro estudo, a DOXO foi empregada na dose de 90 mg/m^2 e a IFO 12,5 g/m^2 sob o regime de infusão contínua ao longo de cinco dias. Foram incluídos alguns tipos histológicos para os quais talvez outros protocolos trouxessem maior benefício. A taxa de resposta (TR) foi de 38%, a toxicidade foi contornável, mas a toxicidade cardíaca pode ter sido subestimada, pois apenas 28% dos pacientes tiveram a fração de ejeção do

ventrículo esquerdo (FEVE) avaliada. No estudo subseqüente, o mesmo protocolo acima foi comparado com o braço controle de DOXO 75 mg/m^2, não sendo observada diferença em termos de resposta ou sobrevida entre os grupos. Nestes estudos, as toxicidades renais e neurológicas moderadas a graves atingiram até 35% dos pacientes.

Em resumo, observa-se que: Não se conhece o melhor esquema de tratamento sistêmico para uma população com sarcoma de partes moles, avançado, de alto grau, devido dificuldade no controle de doença local e de metástases; o aumento da intensidade de dose só parece não se traduzir em aumento de sobrevida, além de trazer piora do perfil de toxicidade; o tratamento sequencial pode ser mais bem tolerado e é possível potencializar o tratamento sistêmico através do aumento da densidade de dose, administrando os agentes de forma seqüencial; talvez exista uma subpopulação de pacientes para a qual valha a pena oferecer tratamento mais intensivo com o intuito de evitar amputação e/ou garantir a ressecção de metástases pulmonares com potencial curativo; não se pode relevar a toxicidade e a preocupação com a manutenção da qualidade de vida desses pacientes; é fundamental a identificação de um marcador de prognóstico para melhor seleção de pacientes elegíveis.

A ezrina faz parte de uma família de proteínas conhecida como ERM (Ezrina-Radixina-Moesina) que conecta os filamentos de actina à membrana celular[49] e parece ser interessante em sarcomas. Elas aparentemente pode m ser ativadas por fatores de crescimento epidermal[50] ou hepatocítico[51] e promover alterações na conformação da membrana

celular, da adesão célula-célula, migração, invasão, além de participar de várias vias de transdução de sinal envolvidas com proliferação, vantagem adaptativa, inibição da apoptose e perpetuação da sobrevivência da célula.[52-54] Estudos têm observado relação direta entre a expressão da ezrina (EE) e capacidade metastática tumoral em ensaios pré-clínicos[55-57] e em lesões ressecadas de humanos.[54,58] Em sarcomas, estudo em osteossarcoma murino demonstrou que uma maior expressão de ezrina estava relacionada ao surgimento de metástases pulmonares.[59] Estudo subsequente demonstrou que este fenômeno diminuía significativamente após a supressão da ezrina.[60] O papel da ezrina foi analisado em 50 pacientes portadores de sarcomas de partes moles e ficou demonstrado que pacientes com reatividade positiva para a mesma desenvolveram mais metástases à distância e morte relacionada à doença, refletindo menor sobrevida global (SG).[61] Observações opostas seguiram-se a estudo envolvendo carcinomas de ovário, em que os tumores que apresentaram menor expressão de ezrina estavam associados a menor tempo para progressão de doença e menor sobrevida.[62]

Levando em consideração os dados acima, os objetivos do presente estudo foram o de avaliar a eficácia e a segurança de um esquema de quimioterapia com dose densa e sequencial de DOXO e IFO, esta última administrada em duas horas diárias, por cinco dias, o que o diferencia de outros protocolos em dose densa, numa população específica de pacientes portadores de SPM avançados, de alto grau, virgens de tratamento,

atendidos no Serviço de Oncologia Clínica do HCFMUSP. Foram excluídas histologias para as quais protocolos específicos já existissem.

Alem desses objetivos, como análise exploratória, foi avaliada a expressão de ezrina como preditor de resposta e prognóstico de sobrevida com o intuito de se individualizar o tratamento desses pacientes em protocolos futuros.

Objetivos:

Primário: determinar a taxa de resposta à quimioterapia primária com dose densa de DOXO e IFO em pacientes portadores de sarcomas de partes moles de alto grau, avançados.

Secundários: analisar a segurança e aderência ao tratamento, medir sobrevida livre de progressão e sobrevida global, além de avaliar a qualidade de vida dos pacientes, controle de dor e investigar o papel da ezrina como um fator preditivo de resposta à quimioterapia e como um fator de prognóstico de sobrevida nesta população.

Pacientes e métodos

Critérios de inclusão e exclusão

Pacientes elegíveis foram aqueles com confirmação histológica de SPM de alto grau de acordo com a classificação da OMS[63] e virgens de tratamento, com doença recidivada, metastática ou localmente avançada, caracterizada por tumor profundo à fascia e maiores que 5 cm e/ou não candidatos a cirurgia de conservação de membro por invasão vascular, óssea ou nervosa, com pelo menos uma lesão mensurável através de método de imagem, exceto lesões únicas tratadas com radioterapia, pacientes com desempenho clínico de acordo com a classificação do ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*) de 0 a 2, idade de 18 a 60 anos, função medular óssea normal (neutrófilos > 1000/dl, plaquetas > 100.000/dl e hemoglobina > 10 g/dl), funções renal (creatinina sérica < 1,5 mg/dl) e hepática adequadas (bilirrubina sérica < 2 mg/dl e transaminases < 2 vezes o limite superior da normalidade na ausência de metástases hepáticas e < 5 vezes na presença das mesmas) e ausência de doença cardíaca relevante, com fração de ejeção normal. Transfusões ou eritropoetina foram usadas para manter a hemoglobina acima de 10 g/dl. O protocolo número 359/05 foi aprovado em 28 de julho de 2005 pelo comitê de ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e cada

paciente assinou um termo de consentimento livre e esclarecido. Este protocolo foi conduzido de acordo com o guia de boas práticas clínicas.[64]

Pacientes com metástases cerebrais ou diagnóstico prévio de outro câncer nos últimos cinco anos foram excluídos, com exceção de carcinoma *in situ* do colo uterino ou carcinoma basocelular ou espinocelular da pele tratados adequadamente. Também foram excluídos pacientes com tipos histológicos específicos, tais como, mesotelioma maligno, subtipos juvenis de rabdomiossarcoma, neuroblastoma, PNET/Sarcoma de Ewing, variantes de partes moles de osteossarcoma, tumores malignos mesodérmicos mistos, carcinossarcoma e tumor do estroma gastrointestinal (GIST – *gastrointestinal stromal tumor*).

Desenho do Tratamento

Durante a primeira fase do protocolo, os pacientes receberam aplicações em *bolus* de DOXO 30 mg/m^2/dia, dias 1-3, a cada 14 dias, por três ciclos. Após estes três ciclos, os pacientes foram submetidos à segunda fase do protocolo com IFO 2,5 g/m^2/dia em duas horas, dias 1-5, a cada 21 dias, por mais três ciclos. Ciclos adicionais de IFO foram permitidos naqueles pacientes que apresentaram resposta. Mercaptoetanosulfonado de sódio (MESNA) foi administrado na dose de 1,25 g/m^2, 15 minutos antes e quatro horas após cada aplicação diária de IFO, totalizando 100% da dose de IFO. Essas doses de DOXO e IFO foram escolhidas porque, na rotina do ambulatório do Serviço de Oncologia Clínica do HC-FMUSP, no tratamento dos pacientes portadores de SPM, esses agentes são empregados em combinação nas doses de 75 mg/m^2 e 10 g/m^2, respectivamente, sem suporte hematopoético (GCSF) profilático. Diante disso, como os medicamentos seriam utilizados em seqüência, com GCSF, doses mais elevadas foram exploradas no intuito de extrair o máximo efeito desses medicamentos. Este esquema de MESNA foi adotado porque se tratava da rotina do Serviço de Oncologia Clínica do Hospital das Clínicas da FMUSP quando da utilização de IFO. Todos os ciclos foram administrados em regime ambulatorial. Cada ciclo de quimioterapia foi seguido de filgrastima 300 mcg via subcutânea por sete dias, iniciando 24 horas após a última aplicação de cada ciclo. Os pacientes foram pré-medicados com injeções

endovenosas de dexametasona 20 mg e ondansetrona 8 mg. Pacientes receberam dexametasona 4 mg por via oral a cada 12 horas e ondansetrona 8 mg por via oral a cada 6 horas por quatro dias após cada ciclo de quimioterapia. Não utilizamos azul de metileno nem profilático nem terapêutico para toxicidade neurológica.

As fases de tratamento de DOXO e IFO foram desenhadas para durar 42 e 63 dias respectivamente. O tratamento completo deveria durar 110 dias (5 dias adicionais entre os ciclos de DOXO e IFO). O tratamento deveria administrar 45 mg/m^2/semana e 4,16 g/m^2/semana de DOXO e IFO respectivamente. As consultas médicas aconteceram nas terças-feiras. Os ciclos de DOXO iniciaram nas quartas-feiras. O primeiro ciclo de IFO deveria iniciar 19 dias após o ultimo ciclo de DOXO, para iniciar na segunda-feira. A dose total de cinco dias de IFO foi dividida em quatro dias se houvesse feriado. Os ciclos de quimioterapia não foram reiniciados antes da recuperação da medula óssea e antes que os parâmetros laboratoriais dos critérios de inclusão fossem atingidos.

A dose de quimioterapia foi reduzida em 20% em ciclo subsequente, após qualquer toxicidade não hematológica graus 3 ou 4 ou hematológica grau 4, incluindo o primeiro ciclo de IFO. Quando essas toxicidades se repetiram, uma segunda redução foi realizada na ordem de 40%. Os pacientes foram excluídos do protocolo quando uma terceira redução foi necessária. Após a conclusão do protocolo, os pacientes foram avaliados para tratamento cirúrgico das lesões primária e metastática (se fosse o caso). Quando houve progressão de doença durante a primeira fase

do tratamento, a segunda foi antecipada se nenhuma toxicidade graus 3 ou 4 tivesse sido observada. Entretanto, quando houve progressão de doença e toxicidade graus 3 ou 4, os pacientes foram encaminhados para tratamento cirúrgico. Em caso de progressão de doença após exposição a ambos os agentes, os pacientes receberam quimioterapia de segunda linha a critério do médico investigador.

Avaliação inicial e seguimento clínico

A avaliação pré-tratamento incluiu história clínica, exame físico e determinação do desempenho clínico (ECOG). Hemograma completo, urina I, funções renal e hepática, enzimas canaliculares, sódio, potássio, magnésio e bicarbonato séricos foram avaliados dentro de 7 dias antes do tratamento e nos dias 13 e 15 dos ciclos de DOXO e IFO, respectivamente, ou quando necessários para aqueles pacientes que anteciparam suas consultas por toxicidade.

Exames de imagem da lesão primária e metastática (tomografia computadorizada – TC – e/ou ressonância nuclear magnética – RNM) foram realizados antes do tratamento, entre os ciclos de DOXO e IFO e após os ciclos de IFO. Até a inclusão do décimo paciente, ecocardiograma foi realizado apenas antes dos ciclos de quimioterapia e após todos eles. A partir de então, foi adicionado ao protocolo um ecocardiograma entre os ciclos de DOXO e IFO. Após a conclusão do protocolo, os pacientes foram seguidos mensalmente com avaliação clínica e com radiografia de tórax e, a cada 2 meses, com outros exames de imagem.

Avaliação de resposta, toxicidade, qualidade de vida e intensidade de dose.

A resposta foi avaliada através dos critérios RECIST[65] e foram confirmadas internamente por radiologista não informado quanto ao tratamento. Os critérios de toxicidade do Instituto Nacional do Câncer Americano (*National Cancer Institute* – NCI), versão 2.0[66] foram utilizados para caracterização do perfil de toxicidades. Morte precoce foi atribuída ao tratamento quando ocorreu dentro de seis semanas após qualquer ciclo de quimioterapia, enquanto morte precoce atribuída à doença foi caracterizada se ocorresse neste mesmo período por conta da neoplasia, sem evidências de toxicidade. Qualidade de vida foi avaliada através do questionário do EORTC QLQ-C30[67] antes do tratamento, entre os ciclos de DOXO e IFO e após os ciclos de IFO. Dor foi avaliada nos mesmos momentos da avaliação de qualidade de vida, através de escala numérica de 0 (sem dor) a 10 (excruciante). A intensidade de quimioterapia foi definida a partir da razão da intensidade de dose recebida e a projetada e foi calculada pela razão entre a dose total de quimioterapia administrada e o intervalo entre o primeiro dia do primeiro ciclo e o primeiro dia do último ciclo de quimioterapia acrescidos de mais 14 e 21, respectivamente, para DOXO (em mg/m^2/semana) e IFO (em g/m^2/semana). A intensidade de dose só foi calculada para aqueles pacientes que receberam pelo menos dois ciclos de quimioterapia.

Avaliação de ezrina por imunoistoquímica

A expressão de ezrina foi analisada por imunoistoquímica em cortes de blocos de biópsia de tumores primários ou metástases fixados em formalina e embebidos em parafina. Após desparafinização em xilol e hidratação em álcool, os cortes foram tratados com tampão citrato (pH 6). A atividade de peroxidase foi bloqueada com água oxigenada a 6%. Os cortes foram novamente tratados com tampão citrato (pH 6) e soro fetal bovino (SFB). Os cortes foram, então, imersos no tampão citrato (pH 6) e SFB e incubados com o anticorpo primário anti-ezrina (clone 3C12 NeoMarkers®, Estados Unidos da América, diluição 1:1000 em albumina a 1% e SFB) durante toda a noite numa câmara a 4° C. Os cortes foram incubados com um anticorpo secundário (biotina) por 60 minutos, seguido por imersão e incubação com avidina-biotina-peroxidase (LSAB - Dako K 690) por 30 minutos. A reação da peroxidase foi desenvolvida utilizando-se diaminobenzidine 60 mg% por 3 minutos. Após contra-coloração com hematoxilina (Harrys), os cortes foram desidratados e montados. Como controle positivo e negativo foram utilizados cortes de placenta submetidos ao mesmo processo descrito acima, com e sem o anticorpo primário respectivamente. Marcação citoplasmática em mais de 1% das células tumorais foi considerada positiva e graduada em cruzes de acordo com o percentual em (+) quando 1%-25% das células foram positivas, (++) quando

26-50% foram positivas, (+++) quando 51%-75% foram positivas e (++++) quando 76%-100% das células foram positivas.[61]

Análises Estatísticas

Como desfecho primário, explorou-se o papel de quimioterapia primária em termos de taxa de resposta. Como desfechos secundários, avaliaram-se sobrevida global (SG), sobrevida livre de progressão (SLP), segurança, perfil de toxicidade, qualidade de vida, controle de dor e expressão de ezrina. A sobrevida livre de progressão foi calculada da data do início do tratamento e o primeiro sinal de recidiva, progressão ou morte. A sobrevida global foi medida da data do início do tratamento e a morte do paciente. Não houve perda de seguimento. Os pacientes vivos no momento da análise dos dados foram censurados na data do fechamento das informações de seguimento. As análises estatísticas foram realizadas através do programa SPSS®, versão 8.1.1.0. As análises de sobrevida global e livre de progressão foram realizadas pelo método de Kaplan-Meier, sendo as curvas comparadas pelo método de Log-rank. Para análise de variáveis contínuas, foram realizadas comparações utilizando o teste-t. Fatores prognósticos clínicos e patológicos potenciais foram avaliados por técnicas univariadas. O teste de Wilcoxon, pareado, não paramétrico, foi feito a fim de compararmos escores de qualidade de vida (QV) obtidos entre 2 análises seguidas de QV. A análise *ANOVA* foi utilizada para comparar a evolução longitudinal dos escores de QV. O teste de Fischer foi utilizado para avaliar a correlação entre a expressão de ezrin e reposta à quimioterapia e sobrevida. Trinta e nove pacientes seriam necessários para se obter um poder

estatístico de 80% e um índice de significância de 0,05 para se detectar uma resposta objetiva 20% maior em relação a uma taxa de resposta esperada de 30%. Após a inclusão de 21 pacientes, uma análise interina foi realizada. De acordo com o modelo em dois estágios,[68] seis respostas deveriam ser observadas para se permitir a continuação da inclusão da população alvo. Foram observadas apenas três respostas, além da ocorrência de três mortes precoces, uma morte súbita de causas desconhecidas, outra por complicações de diarréia relacionada à quimioterapia, e a terceira por embolia pulmonar documentada por necrópsia. Isso determinou o fim da inclusão de pacientes em 31 de janeiro de 2007, com o intuito de preservar a população, e os resultados foram reunidos e apresentados.

Resultados

Características dos Pacientes

Neste estudo de fase II prospectivo, uni-institucional, os pacientes foram incluídos de agosto de 2005 a janeiro de 2007. Trinta e um de agosto de 2007 foi a data para a inclusão das últimas informações de seguimento. Vinte e cinco pacientes foram considerados potenciais candidatos ao protocolo (figura 1). O primeiro paciente recusou o protocolo por conta de mais visitas ao hospital; o segundo, por apresentar idade acima do limite; o terceiro por apresentar diminuição assintomática da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) e o quarto pela ausência de doença mensurável. Vinte e um pacientes foram incluídos no estudo, oito com doença localmente avançada e 13 com doença metastática, sete deles como apresentação inicial. Dentre estes 13 pacientes, foi incluído um com recidiva local de lesão retroperitoneal. O intervalo mediano entre o primeiro diagnóstico até a inclusão no estudo foi de 2,6 meses (0,6-30 meses). Dentre oito pacientes com doença localmente avançada, seis apresentavam tumores que envolviam o feixe vásculo-nervoso. Os dois pacientes restantes apresentavam tumores em extremidades maiores que cinco cm, a primeira com lesão em raiz de coxa com diâmetro de 13 cm e o outro com lesão em braço com nove cm. Dentre os 21 pacientes, 14 eram do sexo masculino e

sete do feminino. A idade mediana foi de 37 anos (23-60). Dezoito pacientes apresentavam ECOG status performance 0 e 1 (nove cada) e três pacientes, ECOG 2. A duração de tempo mediana desde o diagnóstico até a inclusão foi de 2,6 meses (0,6-30 meses). Leiomiossarcoma, sarcoma sinovial e sarcoma sem outras especificações (SOE) foram os tipos histológicos mais frequentes, com cinco pacientes cada. Um paciente foi inicialmente diagnosticado com sarcoma SOE e, na recidiva, confirmado como portador de sarcoma mixóide. Duas outras pacientes tiveram o diagnóstico alterado após revisão de lâmina. A primeira, com o diagnóstico inicial de carcinoma de ovário, foi confirmada como portadora de um sarcoma sinovial. A segunda paciente, com o diagnóstico de tumor maligno da bainha neural periférica, teve confirmado um tumor desmóide após ter recebido o primeiro ciclo de quimioterapia. O sítio primário mais comum foi extremidade inferior (8), seguido por retroperitôneo (6) e extremidade superior (4). A mediana de diâmetro tumoral da lesão primária para aqueles pacientes com doença primária à época da inclusão no estudo foi 12 cm (2-18). O número mediano de sítios de metástases por paciente foi de dois (1-4) e os pulmões foram o sítio mais frequente de metástase, presente em 11 pacientes (tabela 1).

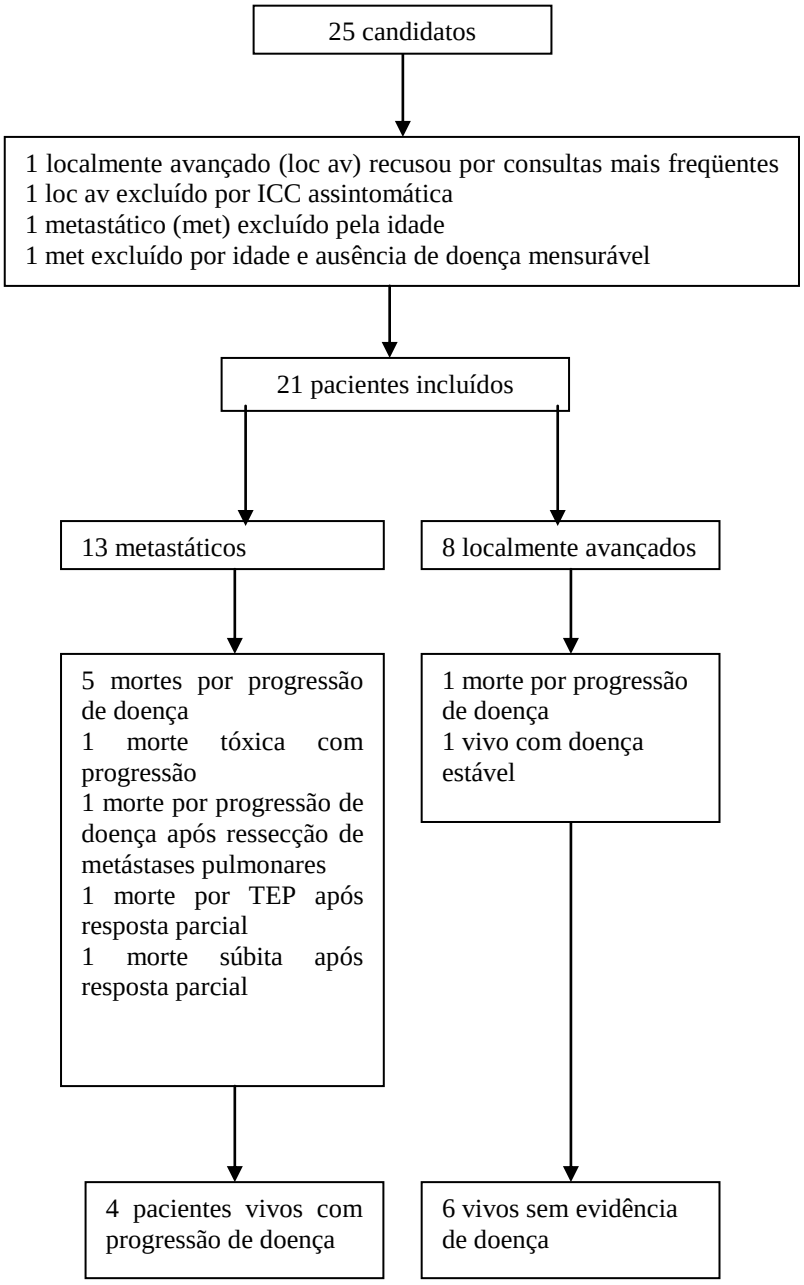


Fig. 1. Inclusão e desfechos dos pacientes.

Tabela 1. Características dos pacientes

	META[1] No. (%)	LOCA[2] No. (%)	Total No. (%)
Total	13 (61)	8 (39)	21 (100)
Sexo			
Masculino	7 (50)	7 (50)	14 (66)
Feminino	6 (85)	1 (15)	7 (34)
Idade (anos)			
Mediana	47	28	37
Variação	26-60	23-45	23-60
Performance status			
0	4	5	9
1	6	3	9
2	3	0	3
Status da doença			
Primária	7	8	15
Recidiva	6	0	6
Histologias			
Sinovial	1	4	5
Leiomio	5	0	5
Sarcoma SOE[3]	2	2	4
FHM[4]	2	0	2
Mixóide	1	1	2
Outros[5]	1	2	3
Sítio primário			
Extremidade inferior	3	5	8
Retroperitôneo	5	1	6
Extremidade superior	2	2	4
Visceral	2	0	2
Cabeça e Pescoço	1	0	1
Diâmetro lesão primária (cm)			
Mediana	12,4	11,7	12
Variação	2-18	6,1-15	2-18
Sítios de Metástases			
Pulmão	11	NA[6]	11
Lifonodo	5	NA	5
Fígado	4	NA	4
Osso	4	NA	4
Pleura	2	NA	2
Outro[7]	2	NA	2
Nº de sítios de metástases			
1	5	NA	5
2	3	NA	3
$\geq$ 3	5	NA	5

[1]Doença metastática
[2]Doença localmente avançada
[3]Sem outras especificações
[4]Fibrohistiocitoma maligno
[5]Epitelióide, desmóide, tumor maligno da bainha neural periférica
[6]Não se aplica
[7]baço, adrenal

Aderência ao Tratamento

Cento e cinco ciclos foram administrados, 57 durante a fase da DOXO e 48 da IFO. Quinze pacientes, do total de 21, receberam todos os ciclos de quimioterapia planejados, o que correspondeu a uma aderência ao tratamento de 71%. Uma mediana de seis ciclos (1-7) foi administrada em cada paciente. Seis pacientes não completaram o protocolo: dois no grupo de doença localmente avançada, cujas razões foram violação de protocolo e progressão de doença, ambos após o primeiro ciclo de DOXO, e quatro no grupo de doença metastática: uma por progressão de doença, após o segundo ciclo de IFO, e três mortes, a primeira por progressão de doença após o primeiro ciclo de DOXO, o segundo por toxicidade (diarréia) e o terceiro por embolia pulmonar. Estes dois últimos casos de óbito ocorreram após os pacientes terem recebido, respectivamente, três ciclos de DOXO e dois ciclos de IFO (tabela 2).

Atrasos no tratamento por toxicidade ocorreram após 11 ciclos, com mediana de duração de atraso de sete dias (2-49) durante a fase de DOXO. Atrasos no tratamento por toxicidade ocorreram após sete ciclos, com mediana de duração de atraso de sete dias (5-28) durante a fase de IFO. Reduções de dose foram necessárias em um paciente apenas durante a fase de DOXO, em três pacientes durante ambas as fases do tratamento e em sete pacientes apenas durante a fase de IFO. Outros pacientes não tiveram suas doses reduzidas após toxicidade em ciclo prévio por terem sido

encaminhados para tratamento cirúrgico ou por terem apresentado progressão de doença ou morte.

Tabela 2. Aderência ao tratamento

	META[Ψ] No.	LOCA[#] No.	Total No.
Quimioterapia			
Doxorrubicina			
Ciclo 1	13	8	21
Ciclo 2	12	6	18
Ciclo 3	12	6	18
Total	37	20	57
Ifosfamida			
Ciclo 1	11	6	17
Ciclo 2	10	6	16
Ciclo 3	9	6	15
Total	30	18	48
Completaram o protocolo			15
Mediana ciclos/pt (variação)			6 (1-7)
Atraso por toxicidade			
DOXO ciclos			11
DOXO dias (variação)			7 (2-49)
IFO ciclos			7
IFO dias (variação)			7 (5-28)
Redução de dose (pts/fase)			
DOXO apenas			1
DOXO/IFO			3
IFO apenas			7
Cirurgia	2*	7	9
Radioterapia	4[Ω]	5[£]	9

ΨDoença metastática
#Doença localmente avançada
*Metastasectomia pulmonar e ressecção de lesão retroperitoneal recidivada.
ΩPaliativa
£Uma pré- e quatro pós-operatórias.

Intensidade de Dose

A dose cumulativa mediana de DOXO foi de 268 mg/m^2 (88-272 mg/m^2). Oitenta por cento dos pacientes (17/21) receberam pelo menos 75% da dose planejada de DOXO, o mesmo acontecendo com 75% dos pacientes (13/17) em relação à IFO. A intensidade de dose mediana para a toda a população do estudo foi de 42 (27-45) mg/m^2/semana para a DOXO e 3,6 (1,3-4,1) g/m^2/semana para a IFO, o que correspondeu a 93% (61%-101%) e a 87% (32%-100%) da intensidade de dose planejada, respectivamente (tabela 3).

Tabela 3. Intensidade de dose.

Cumulativa DOXO (mg/m^2)	268 (88-272)
75% planejada DOXO	17/21 pts (80%)
75% planejada IFO	13/17 pts (75%)
Intensidade DOXO (mg/m^2/semana)	42
Intensidade IFO (g/m^2/semana)	3,6
Planejada DOXO todos os pacientes (variação %)	93% (61%-101%)
Planejada IFO todos os pacientes (variação %)	87% (32%-100%)

Toxicidades

As toxicidades relacionadas ao tratamento apresentadas em mais de cinco ciclos está descrita na tabela 4. Toxicidades graus 3 ou 4 ocorreram em 77 ciclos (73%) e em 19 pacientes (90%), com predominância de toxicidade hematológica. Outras toxicidades grau 3 não descritas na tabela 4 incluem: amenorréia (1), cólicas abdominais (1), dispnéia (4), faringite (1), hipofosfatemia (1), hematoquezia (1), mialgia (1) e vertigem (1). Nenhuma toxicidade grau 4 diferente daquelas descritas na tabela 4 foi observada. Cinco neutropenias febris grau 3 e uma grau 4 foram observadas, 3 na primeira fase do tratamento e duas na segunda, o que correspondeu a 4,7% (6/105) dos ciclos e a 24% (5/21) dos pacientes. Anemia, plaquetopenia e neutropenia graus 3 e 4 ocorreram, respectivamente, em cinco, dois e sete ciclos e em cinco (24%), dois (10%) e oito (38%) pacientes, respectivamente. Apenas uma toxicidade não hematológica grau 4 (colite) foi observada. Três encefalopatias grau 1 e uma grau 2, revertidas espontaneamente, foram diagnosticadas. Não foi observada insuficiência renal (elevação de creatinina acima do limite superior da normalidade), mas foram observadas duas hematúrias grau 3: a primeira ocorreu numa paciente após o terceiro ciclo de DOXO, sendo necessária redução de 20% da dose do primeiro ciclo de IFO, conforme estabelecia o protocolo, não havendo repetição do quadro; o segundo paciente apresentou hematúria grau 3 após o primeiro ciclo de IFO, também

resolvendo com a redução de dose no ciclo subsequente. Três mortes precoces ocorreram no grupo metastático. Conforme comentado anteriormente na seção *Aderência ao tratamento*, um paciente apresentou morte súbita em um período de três semanas após o terceiro ciclo de IFO (58 anos), sem sinais de toxicidade. O segundo paciente faleceu de complicações relacionadas a uma colite grau 4, 1,9 mês após o terceiro ciclo de DOXO (60 anos) e o terceiro paciente faleceu de tromboembolismo pulmonar (TEP), confirmada por necropsia, após o segundo ciclo de IFO (47 anos). Além deste paciente que faleceu de TEP, outros cinco apresentaram complicações trombo-embólicas: três no grupo metastático (duas tromboses venosas profundas – TVP – grau 3 e um TEP grau 4) e dois no grupo localmente avançado (ambas TVP grau 3). Todos os pacientes que evoluiram com TVP apresentaram-na no membro ipsilateral à lesão primária.

Tabela 4. Toxicidades (Nº de ciclos)

	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Não-Hematológicas				
Alopécia	8	12	NA	NA
Anorexia	6	6	0	0
Astenia	1	16	5	0
Cefaléia	4	6	0	0
Colite	0	0	0	1
Constipação	5	16	1	0
Dermatite	9	5	0	0
Diarréia	7	1	4	0
Disgeusia	8	6	0	0
Disúria	6	1	0	0
Dor	0	7	0	0
Elevação enzimas canaliculares	34	5	2	0
Elevação transaminases	18	3	1	0
Hematúria	12	2	2	0
Hipobicarbonatemia	13	0	0	0
Hipocalemia	6	0	3	0
Infecção	3	1	0	0
Mucosite	17	13	3	0
Náusea	23	15	4	0
Perda de Peso	7	3	0	0
Proteinúria	7	2	0	0
Síndrome mão-pé	6	0	1	0
Tosse	3	7	0	0
Trombose/TEP	NA	0	4	1
Vômitos	20	9	6	0
Hematológicas				
Anemia	41	20	5	0
Leucopenia	4	5	6	0
Linfopenia	9	4	3	0
Neutropenia	4	5	6	1
Neutropenia febril	NA	NA	5	1
Plaquetopenia	7	3	2	0

NA – não se aplica.

Toxicidade cardíaca

Dentre dez pacientes avaliáveis, nos quais ecocardiogramas foram realizados antes dos ciclos de DOXO e imediatamente após os mesmos, uma queda da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) de 10% (grau 1) foi documentada (tabela 5). Dentre 13 pacientes avaliáveis, nos quais ecocardiogramas foram realizados antes dos ciclos de DOXO e após os ciclos de IFO, uma queda da FEVE de 10% (grau 1) e uma queda de FEVE de 26% (grau 2) foram registradas. Dentre 16 pacientes avaliáveis, nos quais pelo menos dois ecocardiogramas foram realizados (cobertura de 76%), duas quedas da FEVE de 10% (grau 1) e uma queda da FEVE de 26% (grau 2) foram observadas. Isso correspondeu a uma taxa de toxicidade cardíaca de 18% (3/16). Desses três pacientes, apenas um com bloqueio de ramo esquerdo e uma FEVE pré-tratamento de 60% apresentou sintomas de insuficiência cardíaca congestiva (ICC), responsiva a tratamento, o que representou uma taxa de ICC de 4,7% (1/21). As razões pelas quais os cinco pacientes restantes não fizeram um segundo ecocardiograma foram: progressão de doença em quatro e violação de protocolo em um, todos eles sem evidência clínica de ICC.

Tabela 5. Avaliação da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE)[a].

Pacientes	FEVE 1	FEVE 2	FEVE 3
META[b]			
1	68		
2	77	78	68
3	70		
4	74	65	64
5	73		
6	69		68
7	58	58	60
8	69	79	
9	69		67
10	73	63	66
11	65	72	
12	69	64	
13	60		34
LOCA[c]			
14	77	69	74
15	73		65
16	67	73	66
17	60		67
18	70		71
19	69		
20	75	69	67
21	69		

[a]FEVE (fração de ejeção ventricular esquerda) avaliada antes da quimioterapia, entre os ciclos de DOXO e IFO e após os ciclos de IFO.
[b]Doença metastática
[c]Doença localmente avançada

Taxa de resposta

Dois pacientes não realizaram exame de imagem após terem recebido um único ciclo de DOXO. O primeiro, no grupo metastático, morreu por progressão de doença sem sinais ou sintomas de toxicidade. O segundo, no grupo de doença localmente avançada, apresentou elevação de transaminases grau 3, evidência clínica de progressão de doença e foi submetido à cirurgia. Liquefação (necrose) tumoral foi observada em nove pacientes, três com doença metastática e seis com doença localmente avançada, ao longo de todo o tratamento. Destes, apenas dois, com doença metastática, preencheram critérios para resposta parcial à DOXO.

Considerando que todos os pacientes receberam pelo menos 1 ciclo de DOXO, todos foram incluídos na avaliação de resposta como intenção de tratar, apesar de dois deles não terem repetido exame de imagem. Não foi observada nenhuma resposta completa (RC). Foram observadas duas respostas parciais (RP), o que correspondeu a uma taxa de resposta (TR) de 9% (2/21). Catorze pacientes apresentaram doença estável (DE) e cinco, progressão de doença (PD).

Dezessete pacientes receberam ciclos de IFO. As razões pelas quais os demais pacientes não receberam IFO são descritas na sessão *Aderência ao Tratamento.* Dois pacientes com RP pela DOXO faleceram após terem recebido três e um ciclo de IFO, respectivamente, antes que os exames de imagem fossem realizados. Mesmo assim, esses pacientes

foram considerados avaliáveis para resposta. Não foi observada RC. Um paciente apresentou RP (não se tratando daqueles mencionados na fase de DOXO), dez DE e quatro PD, o que correspondeu a uma TR de 6% (1/17). Considerando todo tratamento, observamos 3 respostas parciais, 11 doenças estáveis (DE) e 7 progressões de doença (PD), determinando uma TR de 14% (3/21), todos no grupo de doença metastática. Os tipos histológicos com resposta parcial foram: fibrohistiocitoma maligno (1/2), sarcoma sem outra especificação (1/5) e sarcoma sinovial (1/5). A duração mediana de resposta foi de 2,1 meses (1,3-4,9).

Sobrevida

Após um seguimento de 11,7 meses, com onze mortes, a análise de sobrevida livre de progressão (SLP) da população como um todo foi de 8,1 meses, excluída uma paciente portadora de tumor desmóide, de baixo grau, cujo diagnóstico se confirmou, na revisão histopatológica, após o primeiro ciclo de quimioterapia. Na análise global da população definida como com intenção de tratar (*intent to treat*), a sobrevida livre de progressão foi de 8,9 meses.

A sobrevida global (SG) mediana no mesmo período foi de 20,1 meses nos dois grupos, da população total e na população com tumores de alto grau.

As demais análises, restritas aos pacientes de alto grau, mostraram SLP mediana maior para aqueles pacientes com doença localmente avançada em relação aqueles com doença metastática (não atingida vs. seis meses, respectivamente, HR 0,0717, IC 95%, 0,0499-0,4366; p= 0,0005, fig 2), o mesmo acontecendo com a SG mediana (não atingida vs. 8,6 meses, respectivamente, HR 0,1297, IC 95%, 0,0619 - 0,7823; p= 0,0193, figura 3).

Na análise univariada, pacientes com sarcoma sinovial apresentaram maior SG mediana em relação a outras histologias (não atingida vs. 14,2 meses, HR 0,0; IC 95% 0,0560-0,7890, p= 0,0208, figura 4). O mesmo ocorreu com pacientes de idade até 45 anos em relação aos

maiores de 45 anos (20,1 vs. 4,2 meses HR 0,3203; IC 95%, 0,0314 - 0,9901; p= 0,0487, figura 5). Uma tendência para maior SG mediana foi observada entre aqueles pacientes com desempenho clínico (ECOG) mais baixo (20,8 meses para ECOG 0; 8,6 meses para ECOG 1; 4,2 meses para ECOG 2; p= 0,1050). Outros fatores potencialmente importantes para o prognóstico, tais como, histologia leiomiossarcoma, sítio primário (extremidades vs. não extremidades) e o número de sítios de metástases não influenciaram a SG.

Fig 2. Sobrevida livre de progressão de pacientes com sarcoma de partes moles de alto grau, segundo o estadiamento. Pacientes com doença localmente avançada apresentaram sobrevida global mediana mais longa (não atingida) quando comparados com os pacientes com doença metastática (6 meses); HR 0,0717, IC 95%, 0,0499-0,4366; p=0,0005.

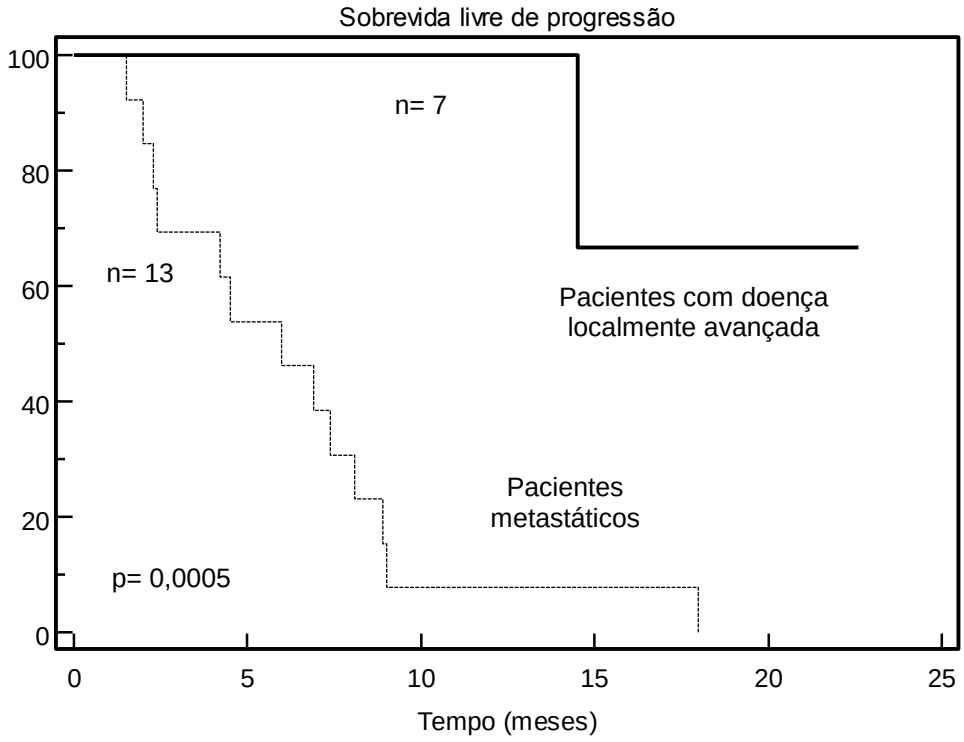


Fig 3. Sobrevida global de pacientes com sarcoma de partes moles de alto grau, segundo o estadiamento. Pacientes com doença localmente avançada apresentaram sobrevida global mediana mais longa (não atingida) quando comparados com os pacientes com doença metastática (8,6 meses); HR 0,1297, IC 95%, 0,0619-0,7823; p=0,0193.

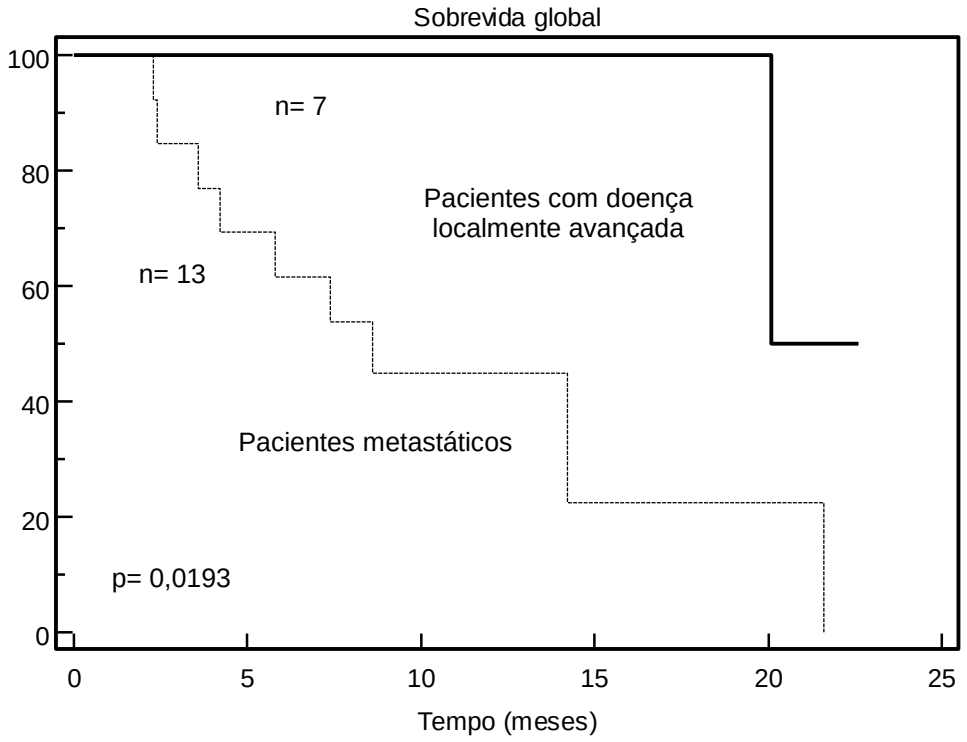


Fig 4. Sobrevida global de pacientes com sarcoma de partes moles de alto grau, segundo a histologia. Pacientes com histologia sarcoma sinovial apresentaram sobrevida global mediana mais longa (não atingida) quando comparados com os pacientes com outras histologias (14,2 meses); HR 0,0000, IC 95%, 0,0560-0,7890, p=0,0208.

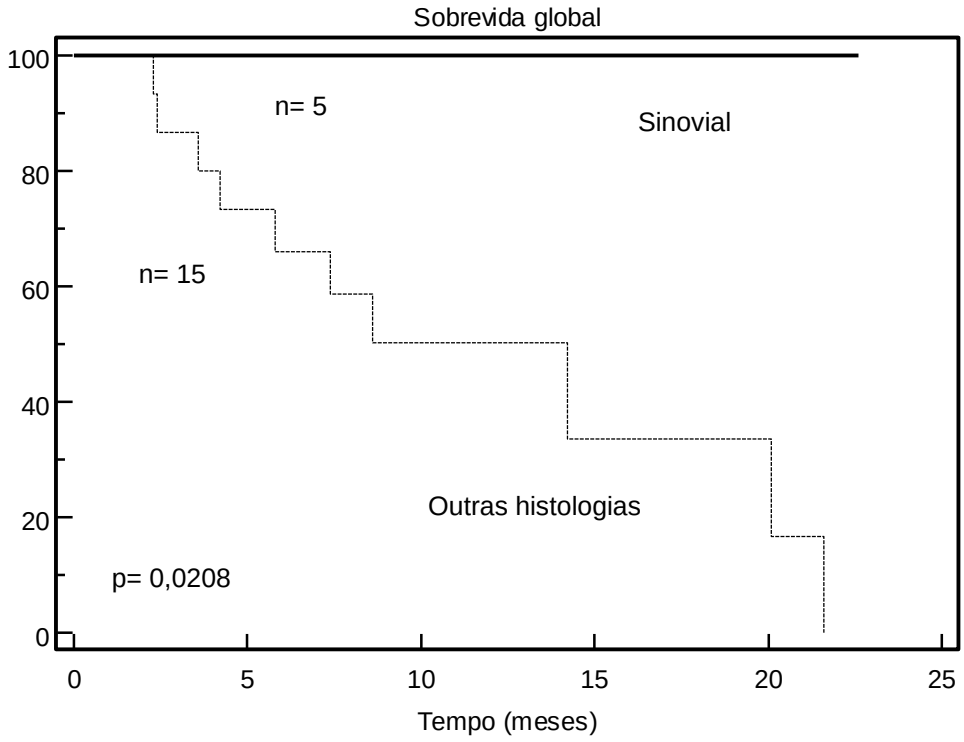
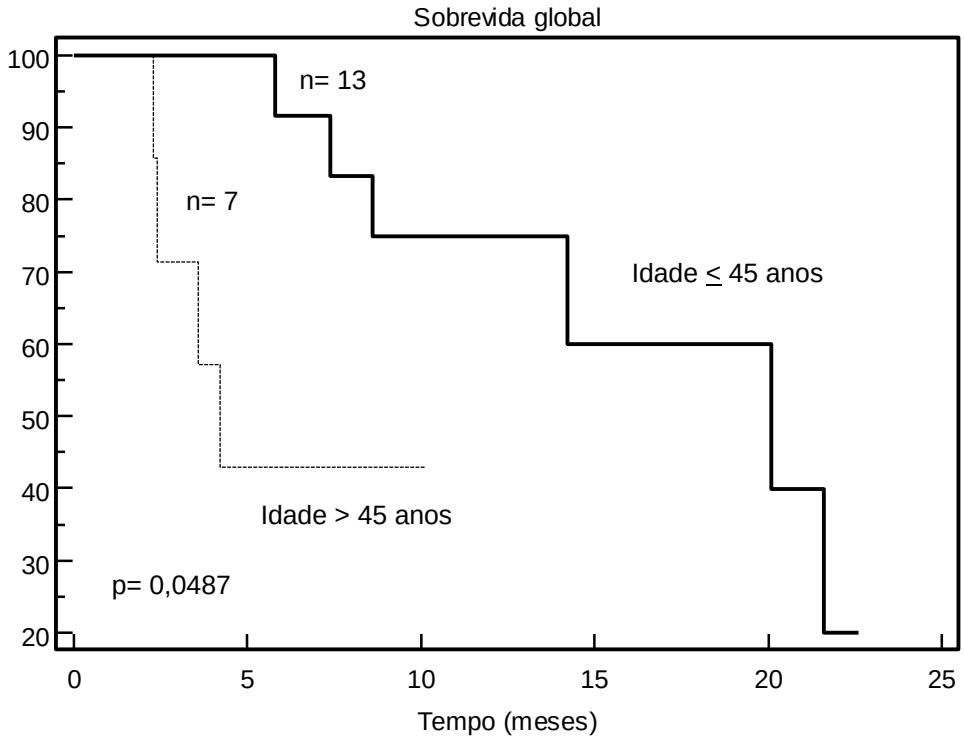


Fig. 5. Sobrevida global de pacientes com sarcoma de partes moles de alto grau, segundo a idade. Pacientes com idade até 45 anos apresentaram sobrevida global mediana mais longa (20,1 meses) quando comparados com os pacientes com idade maior que 45 anos (4,2 meses); HR 0,3203; IC 95%, 0,0314-0,9901; p=0,0487.



Qualidade de Vida

Quatro pacientes não responderam ao questionário de qualidade de vida EORTC QLQ-C30 adotado neste estudo, por desvio do protocolo. O desfecho desses pacientes, no último seguimento, foi: morte por progressão de doença; morte súbita; um vivo com doença; e um vivo sem evidência de doença. Outros três pacientes não responderam ao segundo questionário, um por progressão de doença e duas mortes precoces. Uma última paciente não respondeu ao terceiro questionário por morte por progressão de doença.

Fazendo uma análise longitudinal nos catorze pacientes que responderam a pelo menos dois questionários, não observamos diferença significativa nos domínios náusea e vômitos e funcionamento físico, quando comparados por *ANOVA.* Entretanto, observamos uma tendência a um melhor controle de dor (p= 0,10) e melhor saúde global (p= 0,16) na segunda avaliação em relação à primeira por Wilcoxon (figuras 6 e 7).

Fig. 6. Evolução temporal dos escores de qualidade de vida de acordo com o EORTC QLQ-C30, no domínio Dor (p= 0,1055, bicaudado, Wilcoxon).

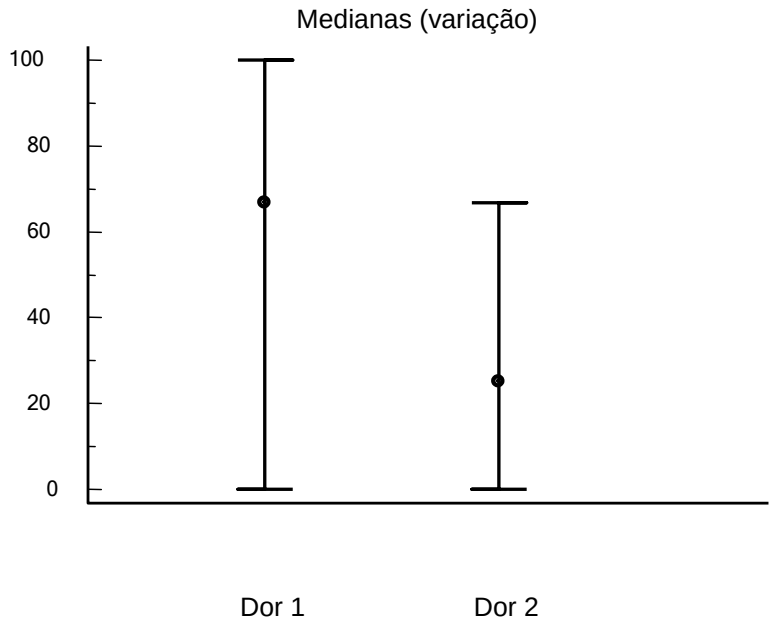
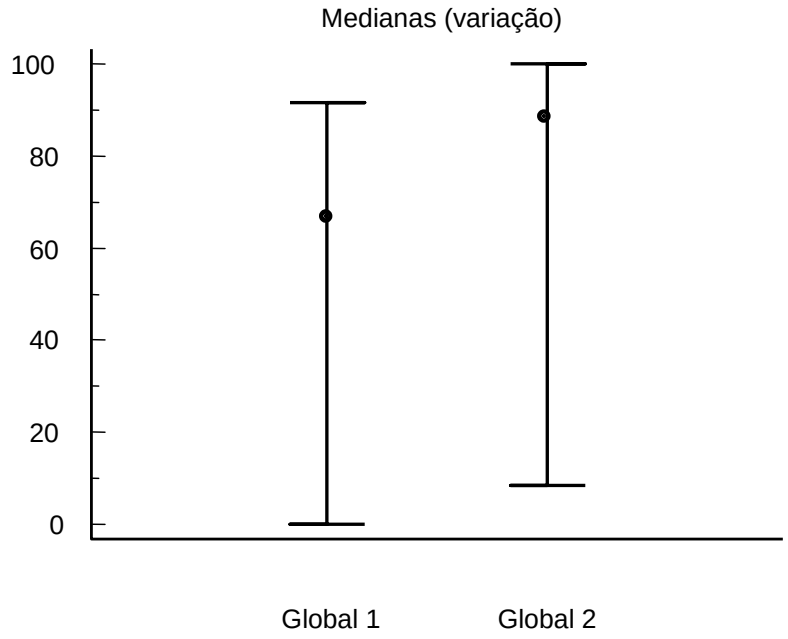


Fig. 7. Evolução temporal dos escores de qualidade de vida de acordo com o EORTC QLQ-C30, no domínio Saúde Global (p= 0,1641, bicaudado, Wilcoxon).



Cirurgia de Resgate

Dentre aqueles pacientes do grupo com doença metastática, dois se submeteram à cirurgia de resgate. O primeiro deles foi submetido à ressecção de metástases pulmonares, seis meses após o último ciclo de IFO. O segundo paciente foi submetido à ressecção de um leiomiossarcoma de retroperitôneo recidivado. O intervalo livre de doença foi de 4,6 e 1,8 meses respectivamente. Dentre aqueles pacientes no grupo de doença localmente avançada, sete foram submetidos à cirurgia. Apenas uma paciente, aquela com histologia desmóide após revisão histopatológica central, com lesão retroperitoneal envolvendo vasos pélvicos, apresentando doença estável após o primeiro ciclo de quimioterapia, não havia sido submetida à cirurgia no momento da análise desses resultados. Dentre estes sete pacientes, três foram submetidos à cirurgia conservadora e quatro à cirurgia de amputação. Três desses sete pacientes operados eram portadores de histologia sinovial, primários de extremidades inferiores, todos com doença estável após os seis ciclos de quimioterapia, estavam vivos sem doença. O primeiro paciente, que apresentava lesão em fossa poplítea com invasão do feixe vásculo-nervoso, foi submetido à ressecção tumoral com confecção de enxerto vascular de veia safena para poplítea e enxerto nervoso dos nervos surais para tibial. O achado da peça cirúrgica evidenciou necrose em 35% do volume tumoral. Devido à insuficiência do enxerto vascular, foi submetido à amputação transfemoral, evoluindo com infecção

no pós-operatório, necessitando de antibioticoterapia endovenosa. A segunda paciente que apresentava uma lesão de 13 cm em raiz de coxa, sem invasão do feixe vásculo-nervoso, foi submetida à cirurgia conservadora, cuja peça cirúrgica evidenciou tumor viável em 100% do volume tumoral, sem sinais de necrose. Evoluiu no pós-operatório com complicação da cicatrização, a qual ocorreu por segunda intenção. E a última paciente, também com lesão em coxa, mas com envolvimento do feixe vásculo-nervoso, foi submetida à ressecação tumoral e confecção de enxerto vascular. A peça cirúrgica evidenciou tumor viável em mais de 50% do volume tumoral. A paciente evoluiu com insuficiência do enxerto vascular e infecção, necessitando de amputação transtibial e antibioticoterapia endovenosa. Os outros quatro pacientes operados incluíram: um paciente portador de tumor maligno de bainha neural periférica de coxa, com invasão de feixe vásculo-nervoso, apresentou doença estável após seis ciclos de quimioterapia, sendo submetido à amputação, cuja peça cirúrgica evidenciou necrose em 30% a 40% do volume tumoral. Evolui com progressão de doença pulmonar e morte. O segundo paciente, portador de um sarcoma mixóide em coxa com envolvimento do feixe vásculo-nervoso, apresentou doença estável após seis ciclos de quimioterapia, foi submetido à amputação, sem complicações no pós-operatório, cuja peça cirúrgica evidenciou necrose em 50% do volume tumoral, estando vivo, sem doença. O terceiro paciente portador de sarcoma SOE em antebraço, envolvendo o feixe vásculo-nervoso e atingindo a ulna, apresentou doença estável após seis ciclos de quimioterapia e foi submetido à cirurgia conservadora. A peça

cirúrgica deste paciente evidenciou 60% de alterações regressivas, além de presença de necrose e hemorragia. Este paciente se encontra vivo, sem doença. O último paciente portador de sarcoma SOE de braço com nove cm, sem invasão de feixe vásculo-nervoso, apresentou progressão clínica de doença e hepatite medicamentosa (elevação de transaminases glutâmico pirúvica grau 3 e glutâmico oxalacética grau 2), foi submetido à ressecção tumoral (cirurgia conservadora) e reconstrução com retalho de grande dorsal e enxertia de pele. Recebeu dois concentrados de hemáceas. Evoluiu sem intercorrências no pós-operatório e se encontra vivo, sem doença (tabela 6).

Tabela 6. Desfechos de pacientes com doença localmente avançada operados

Histologia	Sítio primário	Resposta à quimioterapia	Ciclos	NV	Cirurgia	Desfechos
Sinovial	Coxa	doença estável	6	Sim	Amputação	Vivo sem doença
TMBNP*	Coxa	doença estável	6	Sim	Amputação	Morte por progressão de doença
Mixóide	Coxa	doença estável	6	Sim	Amputação	Vivo sem doença
Sinovial	Coxa	doença estável	6	Não	Conservadora	Vivo sem doença
Sinovial	Coxa	doença estável	6	Sim	Amputação	Vivo sem doença
Sarcoma SOE#	Antebraço	doença estável	6	Sim	Conservadora	Vivo sem doença
Sarcoma SOE	Braço	progressão de doença	1	Não	Conservadora	Vivo sem doença

*TMBNP: tumor maligno da bainha neural periférica;
#SOE: sem outra especificação;
NV: envolvimento neurovascular.

Expressão de ezrina

Nesse estudo, a imunorreatividade para ezrina revelou-se positiva em dez pacientes e negativa em 11 (total de 21 pacientes estudados). Dos pacientes que apresentaram resposta parcial, apenas um foi positivo para ezrina. Todos os cinco pacientes com histologia sinovial apresentaram expressão positiva para ezrina, o que determinou uma correlação estatisticamente significativa (teste de Fischer, p= 0,0325). Foi observada uma tendência a uma correlação direta entre imunorreatividade positividade para ezrina e sobrevida global (SG 21,1 meses para expressão de ezrina positiva vs. 8,6 meses para expressão de ezrina negativa; HR 0,3973; CI 95%, 0,0890-1,3181; p=0,1191, figura 8), independentemente do percentual de células positivas. De acordo com a histologia, os outros casos positivos para ezrina foram: um tumor mixóide de um total de dois (1/2), sarcoma de alto grau sem outras especificações (1/4), FHM (1/2), leiomiossarcoma (1/5) e epitelióide (1/1) (tabela 7 e figuras 9, 10 e 11). Não houve correlação entre a expressão de ezrina e resposta, SLP ou presença de necrose.

Fig. 8. Sobrevida global de pacientes com sarcoma de partes moles de alto grau, segundo expressão de ezrina. Pacientes cujos tumores foram definidos como tendo expressão positiva para ezrina, com pelo menos 1% das células tumorais imunorreativas em exame de imunoistoquímica, apresentaram tendência a maior sobrevida global mediana (21,1 meses) quando comparados com os pacientes com expressão negativa (8,6 meses); HR 0,3973; CI 95%, 0,0890-1,3181; p=0,1191.

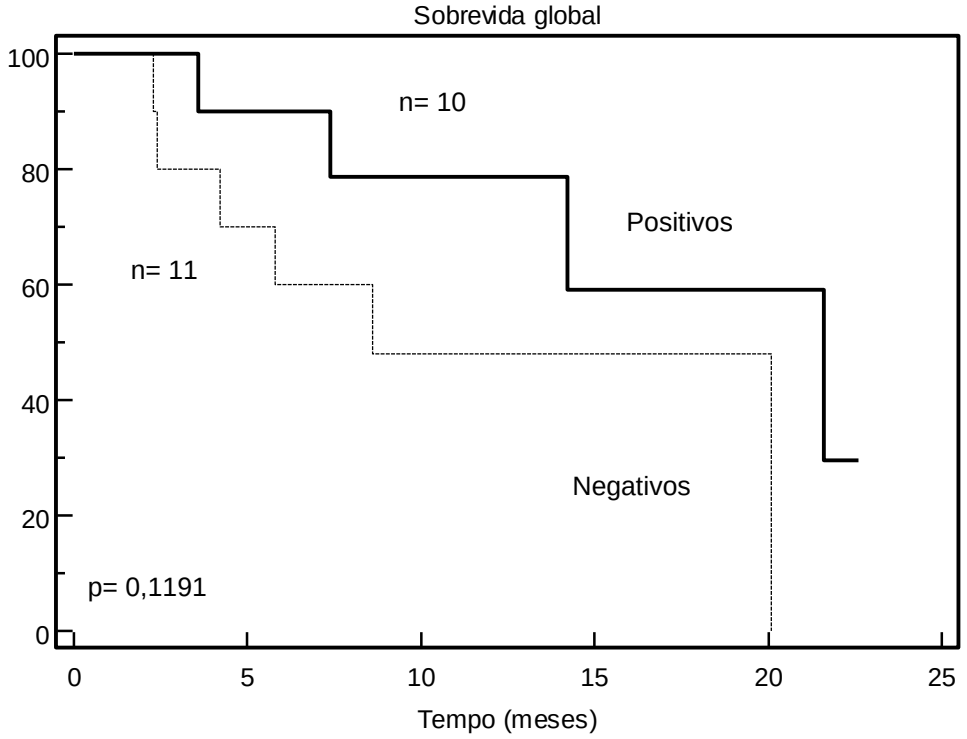


Tabela 7. Desfechos dos pacientes e expressão de ezrina

Pts	Stad.	Sexo	Idade	Sítio primário	Histologia	D£	I€	Ciclos	ENV∞	Cirurgia	Ezrina¥	Desfecho	SLP	SG
1	META	F	59	Pelve	SOEΩ	NA	NA	1	NAp	Nenhuma	0	Morte PD	2,4	2,4
2	META	M	31	Pelve	Mixóide	DE	DE	6	NAp	Nenhuma	+++	Morte PD	7,4	7,4
3	META	M	60	Ombro	FHM§	PD	NA	3	NAp	Nenhuma	+	Morte PD	1,5	3,6
4	META	F	26	Inguinal	Sinovial	DE	RP	6	NAp	Nenhuma	++++	Vivo PD	8,9	12
5	META	F	35	RTPT¶	Leiomio	DE	PD	6	NAp	Nenhuma	0	Morte PD	4,5	8,6
6	META	F	31	Braço	Leiomio	PD	PD	6	NAp	Nenhuma	0	Morte PD	2	5,8
7	META	M	27	Couro cabeludo	Epitelióide	DE	DE	7	NAp	Metast Pulm	+	Morte PD	18	21,6
8	META	M	47	Pulmão	SOE	RP	NA	4	NAp	Nenhuma	0	Morte EP	2,3	2,3
9	META	M	58	Coxa	FHM§	RP	NA	6	NAp	Nenhuma	0	Morte súbita	4,2	4,2
10	META	M	54	Coxa	Sinovial	PD	PD	6	NAp	Nenhuma	+	Vivo LP	6,9	9,3
11	META	M	48	Mesentério	Leiomio	DE	DE	6	NAp	Nenhuma	0	Vivo LP	9	10,1
12	META	F	48	Útero	Leiomio	DE	PD	5	NAp	Nenhuma	0	Vivo LP	6	7,8
13	META	F	41	RTPT¶	Leiomio	DE	DE	6	NAp	Recid. local	+++	Morte PD	8,1	14,2
14	LOCA	M	25	Fossa poplítea	Sinovial	DE	DE	6	Sim	Amputação	+++	Vivo LP	12,7	12,7
15	LOCA	M	28	Coxa	TMBNP*	DE	DE	6	Sim	Amputação	0	Morte PD	14,5	20,1
16	LOCA	M	45	Coxa	Mixóide	DE	DE	6	Sim	Amputação	0	Vivo LP	13,6	13,6
17	LOCA	F	42	Coxa	Sinovial	DE	DE	6	Não	Conservadora	++	Vivo LP	19,2	19,2
28	LOCA	F	37	Coxa	Sinovial	DE	DE	6	Sim	Amputação	+	Vivo LP	22,6	22,6
19	LOCA	F	23	RTPT¶	Desmóide	DE	NA	1	Sim	Nenhuma	0	Vivo LP	11,7	11,7
20	LOCA	M	28	Antebraço	SOE	DE	DE	6	Sim	Conservadora	0	Vivo LP	8,6	8,6
21	LOCA	M	25	Braço	SOE	PD	NA	1	Não	Conservadora	++	Vivo LP	4,4	4,4

Pts: pacientes; Stad: estádio; £Resposta à doxorrubicina; €Resposta à ifosfamida; ∞ENV: envolvimento neurovascular;
¥Expressão imunohistoquímica; SLP: sobrevida livre de progressão em meses; SG: sobrevida global em meses; META: doença metastática; F: feminino;
ΩSOE: sem outra especificação; NA: não avaliável; NAp: não aplicável; PD: progressão de doença; M: masculino; DE: doença estável;
§FHM: fibrohistiocitoma maligno; RP: resposta parcial; ¶RTPT: retroperitôneo; Leiomyo: leiomyosarcoma; Metast pulm: metastasectomia pulmonar;
EP: embolia pulmonar; LP: livre de progressão; Recid local: recidiva local; LOCA: doença localmente avançada.
*TMBNP: tumor maligno da bainha neural periférica.

Figura 9. Exemplo de imunorreatividade positiva (4+) para a ezrina à imunoistoquímica (caso 4).

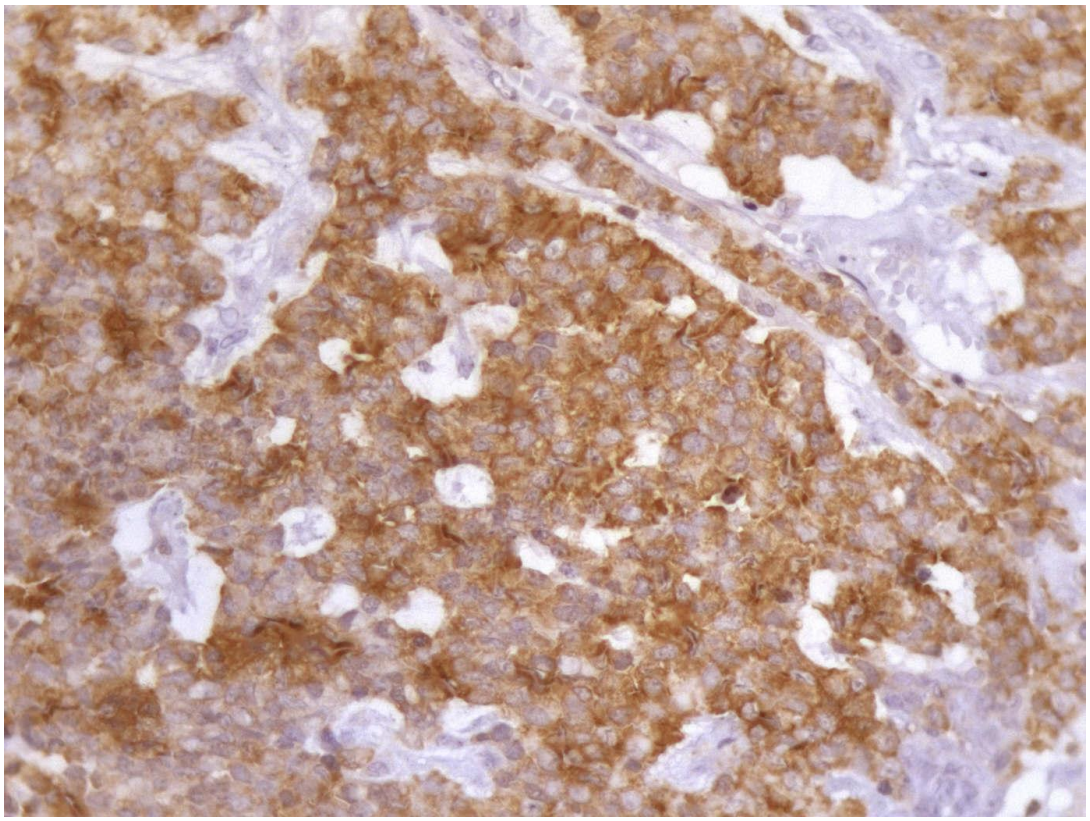


Figura 10. Exemplo de imunorreatividade positiva (1+) para a ezrina à imunoistoquímica (caso 7).

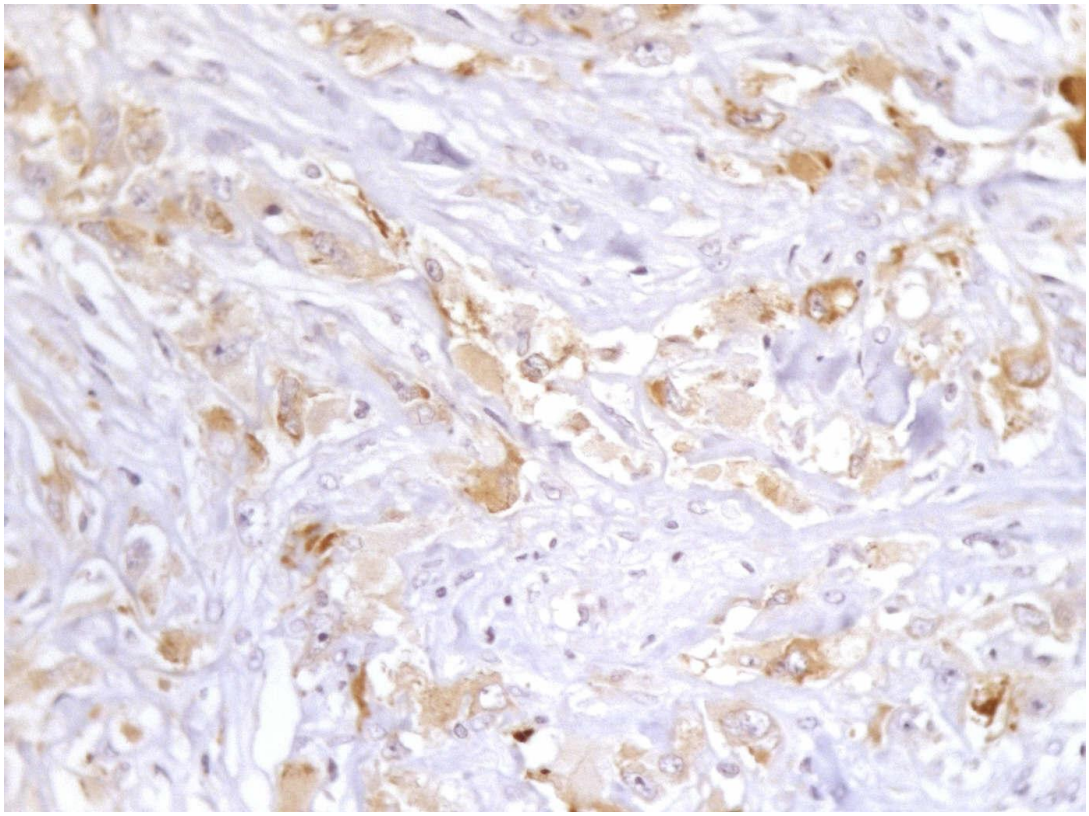
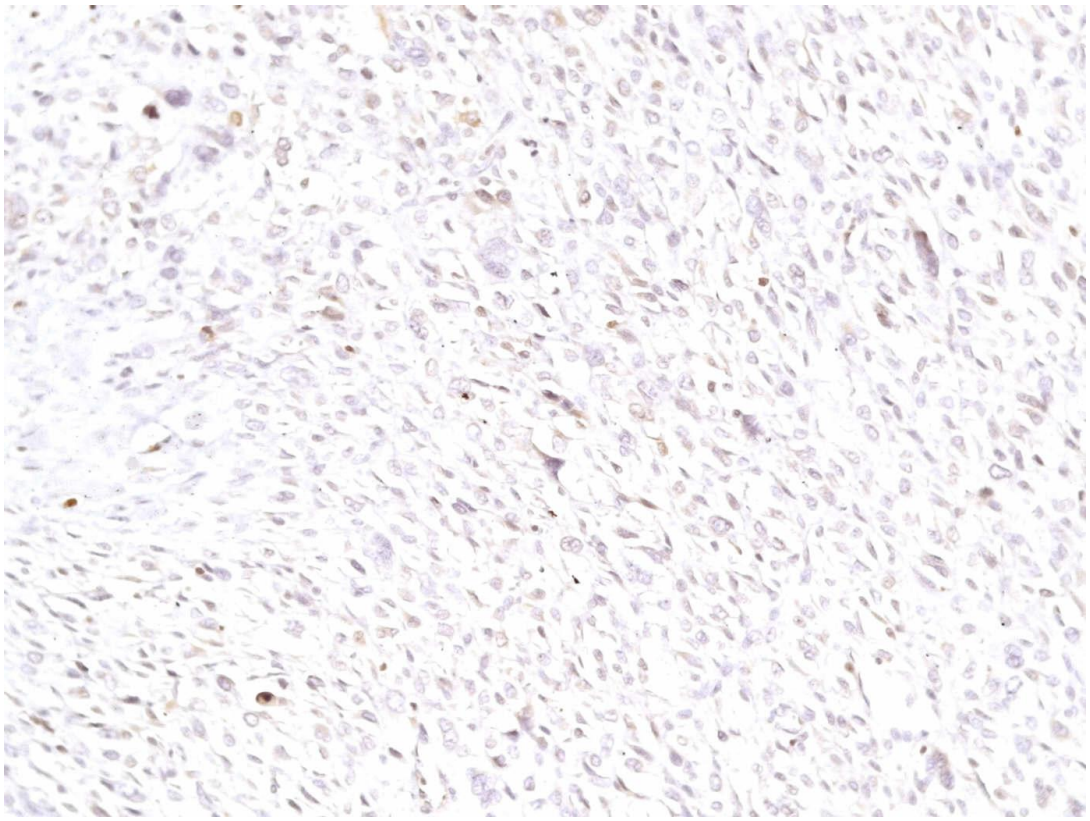


Figura 11. Exemplo de imunorreatividade negativa (0) para a ezrina à imunoistoquímica (caso 12).



Discussão

Nesse estudo, foi investigada a atividade e a segurança de um esquema ambulatorial de quimioterapia seqüencial, em dose densa, de DOXO seguida por IFO, em 20 pacientes portadores de SPM avançados de alto grau e um desmóide. Com essa abordagem, observamos sobrevida livre de progressão e sobrevida global de 8,1 meses e 20,1 meses, respectivamente, na população de alto grau. Considerando apenas a sobrevida global, esta foi superior ao descrito na literatura de 8 a 15 meses, com os mesmos agentes em esquemas convencionais de quimioterapia com intensidades de doses de DOXO de 50 a 75 mg/m^2 e IFO de 5 a 7,5 g/m^2.[14,15,20,21] Dois estudos com esse tipo de esquema descreveram 17 e 19 meses de sobrevida global possivelmente por terem empregado intensidades mais elevadas de quimioterapia, com DOXO entre 50 e 90 mg/m^2 e IFO entre 10 e 14 g/m^2.[23,24] Outro estudo descrevendo 37 meses de sobrevida global, uma das mais elevadas em estudos em sarcomas de partes moles, têm a particularidade de ter incluído muitos pacientes com tumores de baixo grau (20%) e potencialmente ressecáveis (67%) (tabela 8).[18]

Tabela 8. Fatores de prognóstico potenciais em estudos de combinação doxorrubicina/ifosfamida

Referência	Idade[+]	Baixo grau	DOXO/IFO[#]	Ressecáveis % (pts)	Sinovial	Leiomiossarcoma	SG*
Loehrer et al, 1989	49	NR	60/5	NR (42)	2%	43%	8
Steward et al, 1993	49	NR	75/5	0 (104)	NR	NR	15
Santoro et al, 1995	50	NR	50/5	26% (258)	NR	NR	13
Barista et al, 2000	33	13%	60/7,5	67% (40)	7%	15%	37
Le Cesne et al, 2000	50	NR	50 OU 75/5	13% (294)	10%	38%	13-14
Lópes-Pousa et al, 2006	55	20%	50/10-14	27% (71)	4%	21%	17
Leyvraz et al, 2006	51	6%	90/10	30% (46)	2%	28%	19
Maurel et al, 2004	51	NR	90/12.5	15% (57)	5%	26%	14
Maurel et al, 2009	49	NR	90/12.5	7% (64)	6%	30%	16
Este estudo	37	4%[¶]	90/12.5	38% (21)	23%	23%	20

+Mediana (anos)
#Doses de doxorrubicina (DOXO) em mg/m^2 e ifosfamida (IFO) em g/m^2 por ciclo
Pts - pacientes
*Mediana (meses)
NR: Não relatado
¶Paciente excluído da análise de sobrevida

Estudos publicados utilizando esquema de dose densa com as mesmas doses de DOXO e IFO descrevem sobrevida global de 14-16 meses,[47,48] que foi inferior ao nosso estudo, usando IFO em infusão em 2 horas. Uma possível explicação para isso pode ser o fato de a nossa população ser constituída de maior porcentagem de pacientes com doença potencialmente ressecável, embora de grandes dimensões, com potencial metastático elevado; outra explicação pode ser a alta proporção de tumores com histologia sinovial no nosso estudo (23%) e de 5-6% no descrito por outros autores.[47,48] Esse subtipo sinovial já havia sido descrito anteriormente como sendo associado a taxas de respostas elevadas[19,47,69] e idade precoce.[63] Também pode ter contribuído a menor incidência de leiomiossarcoma no nosso estudo, subtipo histológico associado a baixas taxas de resposta[16] (tabela 8). Adicionalmente, além das histologias sinovial e leiomiossarcoma, outros fatores também podem estar presentes, influenciando negativamente a sobrevida dos pacientes dos estudos em dose densa.[47,48] Num desses estudos[47] foram incluídos tumores mesodérmicos mistos, para os quais esquemas de quimioterapia baseados em platina talvez sejam mais apropriados,[70] e de sarcomas células claras, doença conhecidamente resistente a quimioterapia.[71] No estudo subseqüente,[48] que empregou DOXO 75 mg/m^2 como agente único e a comparou com o esquema sequencial de DOXO 90 mg/m^2 e IFO 12,5 g/m^2 em dose densa, a taxa de resposta (TR), a sobrevida livre de progressão (SLP) e a sobrevida global (SG) foram semelhantes entre os grupos. Entretanto, no braço de tratamento intensificado, o emprego de eritropoetina

antes da administração dos ciclos de IFO fazia parte do protocolo, o que pode ter influenciado negativamente no braço experimental, igualando as curvas de sobrevida. Uma pior sobrevida tem sido observada em pacientes com câncer tratados com eritropoetina, sugerindo um crescimento tumoral associado ao estímulo hematopoiético.[72] Outra possível explicação seria o protocolo de ifosfamida empregado em infusão contínua, em ambos os estudos de dose densa,[47,48] que já foi sugerido como menos eficaz.[38]

A sobrevida observada no presente estudo demonstrou que este tratamento não comprometeu o desfecho desses pacientes, destacando-se uma evolução mais favorável nos pacientes com idade até 45 anos, sem metástases à distância e histologia sinovial, além de uma tendência de sobrevida mais longa naqueles pacientes com melhor desempenho clínico (ECOG), o que está de acordo com um estudo com mais de 2000 pacientes analisados.[73] Por outro lado, não foi possível identificar outros fatores prognósticos influenciando a sobrevida, possivelmente pela pequena população estudada.

Em relação à intensidade do tratamento, a aderência ao tratamento em nosso estudo, de 71%, foi semelhante aos 66% e 74% descritos na literatura em estudos de dose densa.[47,48] O mesmo ocorreu para a intensidade de dose de DOXO de 42 mg/m^2/semana e IFO de 3,6 g/m^2/semana; semelhantes aos 40 e 37 mg/m^2/semana e 3,8 e 3,9 g/m^2/semana, respectivamente, dos estudos em dose densa.[47,48] Esses achados foram superiores aos dos estudos com a combinação desses agentes administrados de forma concomitante ou com os mesmos agentes

empregados isoladamente, nos quais a aderência ao tratamento variou entre 20% e 32%[23,44] e intensidades de doses de DOXO entre 11 e 26 mg/m^2/semana e de IFO entre 2,7 e 2,8 g/m^2/semana.[23,24] Esses fatores também podem ter influenciado positivamente na sobrevida mais longa dos pacientes deste estudo. Isso demonstra que a abordagem seqüencial permite a administração de quimioterapia em doses mais altas por ciclo.

Como consequência desta alta intensidade de tratamento associada aos esquemas em dose densa, observamos alta toxicidade em nosso estudo, o que nos levou a questionar a dose de quimioterapia estaria apropriada. Talvez, uma dose mais baixa por ciclo de ambos os agentes permitiria tratamento por um período mais longo, lembrando que sarcomas não respondem como carcinomas. Quando se compara o estudo atual aos estudos de combinação, nos quais neutropenia graus 3 ou 4 atinge entre 73% e 90% dos pacientes apesar do uso de GCSF,[21-24] observa-se que a terapia sequencial pode apresentar um perfil de toxicidade mais favorável, diante do índice de 28% do presente estudo, o que está de acordo com o estudo de dose densa sequencial,[47] presente em 24% dos pacientes, dos quais cinco apresentaram durante a fase de DOXO e 23 pacientes durante a fase de IFO, mostrando que a reserva medular ficou reduzida ao longo do tratamento, reforçando a necessidade do desenvolvimento de estudos com dose inferior de IFO após exposição à DOXO. Em relação à incidência de neutropenia febril, esta foi 5% a 15% maior que o estudo que utilizou DOXO e IFO como agentes isolados,[44] 5% a 73% inferior quando comparada a dos estudos de combinação[17,18,21,23,24] e semelhante aos 24% dos estudos de

dose densa.[47,48] Isso ocorreu, mesmo se utilizando um patamar de 1000 neutrófilos por decilitro para se repetir um ciclo subseqüente, além do uso de sete dias de GCSF após cada ciclo, diferentemente dos 10 dias utilizados em estudos, tanto de quimioterapia em dose densa quanto de convencional.[23,24,48] Isso é importante porque a expressão de fatores de crescimento hematopoiéticos e seus receptores em células de sarcoma pode trazer consequências desfavoráveis pela administração de GCSF,[74] de forma semelhante ao discutido em relação à eritropoetina.[72]

Como comentado anteriormente, quase a metade da dose da IFO leva à formação do cloroacetaldeído (CAA).[27] Como o mesmo é apontado como o causador das toxicidades renal e neurológica e pelo fato de a detoxificação do CAA ser renal,[75] é possível observarmos ambas as toxicidades associadas e mutuamente perpetuadas. Com este raciocínio, far-se-á um julgamento paralelo das mesmas.

No presente estudo, não foi observada insuficiência renal, provavelmente pelo fato da IFO ter sido administrada em 2 horas, o que está de acordo com o estudo que também utilizou a IFO em duas horas.[17] A baixa incidência de neurotoxicidade observada neste estudo pode ser decorrente da ausência de insuficiência renal. Este perfil de toxicidade demonstrou-se mais favorável que os estudos de dose densa do Grupo Espanhol de Pesquisa em Sarcomas, nos quais, toxicidade renal moderada foi observada em 3,5% dos pacientes (grau 2) e toxicidade neurológica em 35% dos pacientes, sendo 8% de toxicidades mais graves (graus 3 e 4), no primeiro estudo, o que pode estar relacionado ao esquema de IFO utilizado

em infusão contínua.[47] No segundo estudo, foi observado 1% de neurotoxicidade grau 3, sem relato de toxicidade renal.[48] A baixa incidência de neurotoxicidade e a ausência de toxicidade renal, neste último estudo, podem ter sido causadas pela utilização da tiamina profilaticamente. É possível que a exposição à IFO, em um período mais curto por dia, determine uma menor sensibilidade renal à toxicidade. Apesar da importância clínica dos polimorfismos de genes, responsáveis pelo metabolismo da IFO ainda não estar estabelecida,[32] é possível que exista um padrão brasileiro que influencie favoravelmente a população do estudo.

Na tabela 9, foram agrupados os protocolos de administração de IFO e MESNA nos diversos estudos. Grosso modo, pode-se observar, a partir destes resultados, que há uma maior incidência dessas toxicidades nos protocolos que administraram a IFO em doses mais elevadas, em infusão contínua, de forma menos fracionada ou naqueles que utilizaram a MESNA em doses inferiores a 100% da IFO.

Tabela 9. Toxicidades renal e neurológica de acordo com o protocolo de IFO e MESNA

Referência	N	DOXO/IFO#	IFO	Mesna§	Renal % (grau)	Neurológica % (grau)
Mansi 1988	50	40 ou 60/5	IC,* dia 1	100	0	12% (3)
Loehrer 1989	42	60/5	IC, dia 1	162	NR	17% (NR)
Steward 1993	104	75/5	IC, dia 1	87	1% (2)	0
Santoro 1995	258	50/5	IC, dia 1	87	4% (NR)	9% (2% graus 3 e 4)
Bokemeier 1997	18	75/8-16	IC, dias 1-4	100	22% (1 a 3)	51% (1 a 3)
Patel 1998	16	75/10	2h/dia, dias 1-5	65	0	6% (3)
Patel 1998	17	90/10	3h/dia, dias 1-3	65	0	0
Barista 2000	40	60/7,5	IC, dias 1-3	100	0	10% (1-3)
Le Cesne 2000	294	50-75/5	IC, dia 1	75	1 (óbito)	NR
Maurel 2004	57	90/12.5	IC, dias 1-5	100	3,5% (2)	35% (8% graus 3 e 4)
Worden 2005	39	60/6	2h/dia, dias 1-4	60	5% (3 e 4)	0
Worden 2005	40	60/12	2h/dia, dias 1-4	60	25% (3 e 4)	10% (3 e 4)
Leyvraz 2006	46	90/10	IC, dias 1-5	120	6% (NR)	6% (1 e 3)
Lópes-Pousa 2006	71	50/10-14	IC, dias 1-5	65	14% (1 e 2)	44% (1-3)
Lorigan 2007	66	9	IC, dias 1-3	127	NR	9% (3e 4)
Lorigan 2007	60	9	3h/dia, dias 1-3	150	NR	10% (3 e 4)
Maurel 2009	64	90/12.5	IC, dias 1-5	100	NR	2,4% (3/4)
Este estudo	21	90/12.5	2h/dia, dias 1-5	100	0	19% (1 e 2)

#Doses de doxorrubicina (DOXO) em mg/m^2 e ifosfamida (IFO) em g/m^2 por ciclo.
§% da dose equimolar de IFO
*IC – Infusão contínua 24h/dia.
NR – não relatado

Em relação à toxicidade cardíaca de protocolos baseados na combinação DOXO/IFO, observa-se um baixo risco de complicações graves, entretanto, há grande variabilidade na cobertura de avaliação da função miocárdica. Nos diversos estudos, a incidência de eventos cardiovasculares variou entre 1,9% a 4,3%, incluindo algumas mortes de causa cardíaca.[14,15,20,18,21,24] A cobertura de avaliação de toxicidade cardíaca no primeiro estudo de dose densa[47] foi de 28%, dos quais, apenas 1 paciente, dos 57 incluídos, apresentou toxicidade grau 2. Em outro estudo de quimioterapia convencional, a avaliação cardíaca estava disponível em 52 de 71 pacientes (73%), sendo observado redução da FEVE em 17 pacientes, com média de queda de 10,94% $\pm$ 4,14%.[23]

Toxicidade cardíaca aguda ou subaguda decorrente do uso de antraciclina é rara.[76] Pode variar desde alterações eletrocardiográficas assintomáticas até casos raros de miocardite aguda severa.[77] Raramente surgem sintomas que se resolvem espontaneamente.[78] O surgimento dessas alterações precoces é um sinal de cardiotoxicidade tardia.[79] Alterações eletrocardiográficas podem surgir durante a infusão ou em algumas horas após a mesma, durando até duas semanas.[25]

Sabe-se que o risco de toxicidade cardíaca pela antraciclina é dependente do protocolo de tratamento, com risco menor em esquemas em infusão contínua.[80] Este risco aumenta pela presença de alguns fatores como hipertensão, diabetes ou obesidade.[81,82] Estudo retrospectivo com mais de 4000 pacientes mostrou que o risco de cardiotoxicidade aumentou

com a presença de fatores como doença cardíaca prévia, hipertensão ou ambos, entretanto, este achado não foi estatisticamente significativo.[83]

Em relação aos métodos de investigação de cardiotoxicidade, de forma bastante resumida, a biópsia endomiocárdica é o método mais confiável de confirmação da cardiotoxicidade, mas é um exame excessivamente invasivo, não sendo realizado na prática clínica diária;[84] O ecocardiograma tem sido amplamente adotado como exame de preferência, entretanto, não existe consenso em relação ao grau de redução da FEVE que indique suspensão do tratamento. Uma redução acima de 10% tem sido utilizada,[85] entretanto, quando isso é observado, já caracteriza dano miocárdico significativo;[86] a ventriculografia por radionuclídeo (*multiple uptake gated acquisition* - MUGA) é um método bem estabelecido de avaliação da fração de ejeção do ventrículo esquerdo,[87] mas, apesar de custo-efetiva,[88] não é um método tão acessível; enzimas cardíacas (troponinas I e T), sensíveis e específicas para dano miocárdico,[89] e os peptídeos natriuréticos (*atrial natriuretic peptide, left ventricle brain natriuretic peptide* – BNP), secretados em resposta ao aumento da pressão intracardíaca,[90] ainda requerem validação em estudo clínicos;[91] a resolução espacial da ressonância magnética é equivalente ao ecocardiograma, mas a resolução temporal é significativamente inferior;[87] limitação semelhante é encontrada na tomografia computadorizada;[87] a cintilografia miocárdica é um método sensível que tem sido utilizado para avaliar dano ao miócito,[92] mas que, também, requer validação clínica.

Considerando toda a população incluída neste estudo, apenas um dos pacientes que apresentaram queda da FEVE de pelo menos 10% apresentou sintomas de ICC responsiva a tratamento. Outro paciente com uma fração de ejeção basal de 58% e hipocontratilidade miocárdica difusa apresentou tosse após um único ciclo de DOXO, mas não sofreu queda de sua fração de ejeção e a IFO foi antecipada com segurança. Ele não apresentava outro fator de risco para cardiotoxicidade relacionada à antraciclina. É possível que o ecocardiograma realizado antes da realização do segundo ciclo da DOXO, deste último paciente citado, não pudesse mais flagrar sinais de toxicidade cardíaca aguda. Isso mostra que os pacientes assintomáticos, com doença cardíaca identificada pelo ecocardiograma, são mais sensíveis a este tipo de toxicidade, mas que aqueles sem estas alterações também estão sujeitos ao mesmo risco e devem ser monitorados rigorosamente, durante este tipo de protocolo.

A comparação da incidência de cardiotoxicidade com outros estudos não é precisa, pois o método, a frequência e a cobertura da avaliação é bastante variável nas publicações anteriores, quando a informação é fornecida. Além disso, mortes precoces (tóxicas) podem estar relacionadas à cardiotoxicidade, mas não podem ser confirmadas. No protocolo em questão, estes resultados estão de acordo com a literatura.[14,15,18,20,21,23,24,47]

Conclui-se que, apesar de um baixo risco, a função miocárdica deve ser avaliada rigorosamente, antes de cada ciclo de DOXO, em pacientes submetidos a tratamento com DOXO e IFO, dada a gravidade das

complicações, principalmente naqueles com algum tipo de alteração basal, mesmo com fração de ejeção normal, através de ecocardiograma, que, apesar de não evidenciar alterações precoces de sofrimento miocárdico causado pela antraciclina, é um exame rápido, barato, de fácil acesso que fornece informações tanto de morfologia (miocárdio, valvas) quanto de função ventricular (sistólica e diastólica).

A maioria dos pacientes (quatro de seis), nos quais complicações tromboembólicas foram documentadas, apresentavam lesão primária em extremidades ipsilaterais ao evento (dois com doença metastática e dois, localmente avançada). Não se pode definir se essas complicações estavam relacionadas a alterações precoces na hemostasia da coagulação e anticoagulação decorrentes da quimioterapia,[93] da cirurgia,[94] de fator mecânico,[95] ou da uma associação de todos.[96,97]

Em relação às mortes precoces, observamos na literatura que causas desconhecidas eram mais comuns, perdendo lugar para as causas tóxicas nas publicações mais recentes. No estudo de Steward et al., 1993,[15] um paciente morreu subitamente. No estudo de Edmonson et al., 1993,[19] houve 3 mortes precoces, uma hemorragia por mielossupressão e duas paradas cardiorrespiratórias de causas desconhecidas. No estudo de Le Cesne et al., 2000,[21] três mortes tóxicas foram documentadas. No estudo de Worden et al., 2005,[22] houve cinco mortes precoces, duas por neutropenia e sepse e três por progressão de doença, todas em pacientes acima de 65 anos. No estudo de Leyvraz et al., 2006,[24] houve sete mortes precoces, sendo um infarto agudo do miocárdio (IAM), dois TEP, uma sepse e três

causas desconhecidas. No presente estudo, as mortes precoces ocorreram numa população específica de pacientes metastáticos, com idade acima de 45 anos. Percebe-se que, assim como o estudo atual, outros estudos documentaram mortes tóxicas e precoces, às vezes sem uma causa aparente, enfatizando a idade como um possível fator facilitador. Isso cria a necessidade de melhor seleção de pacientes para diminuirmos tais complicações, como ocorreu em nosso estudo, levando ao fechamento precoce do mesmo, e tornar o tratamento mais seguro, através do emprego de doses menores de DOXO e IFO.

Isso mostra que, se a terapia sequencial for de igual eficácia, o que deve ser testado em estudo de fase III, a mesma apresenta um perfil de toxicidade melhor do que o da terapia de combinação. Isso reforça a importância da exposição a ambos os agentes de forma sequencial, em oposição à combinação, para aumentar a aderência ao tratamento e diminuir a incidência de toxicidades graves.

Apesar da alta intensidade de dose e da inclusão de um número elevado de pacientes com histologia sinovial, uma menor taxa de resposta foi observada no estudo atual em relação aos estudos de combinação de DOXO e IFO anteriormente citados que variaram entre 22% e 50%.[13-24] Essa observação vai de encontro aos achados de Rosen et al, 1994,[69] que avaliaram o papel da IFO em 13 pacientes consecutivos portadores de sarcoma sinovial. Neste estudo, a IFO foi utilizada em infusão contínua na dose de 14-18 g/m^2 com MESNA em dose equimolar à IFO e concomitante à mesma, a idade mediana dos pacientes foi de 28 anos (14-

39), quatro deles virgens de tratamento e nove previamente expostos à DOXO, associada ou não à cisplatina ou à ciclofosfamida. Resposta objetiva foi observada em todos os 13 pacientes (quatro completas e nove parciais). Apesar disso, a TR de 14% observada neste estudo está de acordo com aquela descrita no estudo de quimioterapia convencional (não dose densa) de Lorigan et al, 2007[44] que comparou a DOXO na dose de 75 mg/m^2 com dois outros braços experimentais de IFO 9 g/m^2, um deles em infusão contínua e o outro em doses fracionadas diárias, observando um TR entre 5% e 11%. Neste ínterim, nos estudos de dose densa do Grupo Espanhol de Pesquisa em Sarcomas (*Spanish Group for Research on Sarcomas*), tratando populações semelhantes, com o mesmo protocolo de tratamento, foram observadas taxas de respostas decrescentes, de 37% e 24%, respectivamente, de acordo com o ano de publicação.[47,48] É mais provável que isso tenha ocorrido, assim como no presente estudo, por conta da aplicação de métodos mais rigorosos de avaliação de resposta.[44]

Por outro lado, observamos liquefação (necrose) tumoral em nove dos 21 pacientes, três com doença metastática e seis com doença localmente avançada. Destes, apenas dois com doença metastática preencheram critérios para resposta parcial. Não é possível discernir se essa observação esteve relacionada à resposta ao tratamento ou exclusivamente ao comportamento biológico de lesões de alto grau. Nesse cenário, Schmidt et al., em 1993,[98] avaliaram essa questão e observaram que a avaliação de resposta foi errônea 28% (superestimados em 16% e subestimados em 12%) quando comparou mensuração clínica, por métodos de imagem e a

peça cirúrgica de pacientes submetidos à quimioterapia neoadjuante (pré-operatória). Além disso, maiores taxas de resposta (fator preditivo) e piores sobrevidas (fator prognóstico) são observadas em pacientes com tumores de alto grau.[8,9,73] Consequentemente, taxa de resposta pode não ser um desfecho adequado para estudos em SPM que, pelo seu estroma abundante, não regridem como carcinomas. Talvez, o PET (*positron emission tomography* – tomografia por emissão de pósitrons), método recentemente incorporado ao arsenal de avaliação de resposta de tumores,[99] pudesse nos responder se a diminuição do tumor, assim como a presença de necrose, em sarcomas de partes moles exerce influência na história natural da doença e seu impacto em sobrevida.

Mesmo tendo sido observada uma relativa baixa taxa de resposta neste estudo, o que motivou a sua suspensão, sete pacientes com doença localmente avançada e dois com doença metastática foram submetidos à cirurgia de resgate com intenção curativa. Isso está de acordo com o estudo de Maurel 2004, no qual treze pacientes foram submetidos à cirurgia, seis a metastasectomia pulmonar, cinco ressecções com conservação de membro e duas amputações. Isso confirma que é possível resgatar cirurgicamente esses pacientes mesmo após tratamento mais intensivo.

Considerando-se apenas os sete pacientes do estudo atual com doença localmente avançada que se submeteram a cirurgia de resgate, cinco apresentavam envolvimento de estruturas neurovasculares, para os quais a amputação seria a única opção. Entretanto, um desses pacientes foi

submetido à cirurgia de conservação de membro, caracterizando assim que essa abordagem pode ter revertido a indicação de amputação em 20% dos casos. Isso é de extrema importância para ser discutido com aqueles pacientes que refutam a cirurgia radical.

Nesse grupo de pacientes, sem metástases à distância, apenas um apresentou recidiva pulmonar de doença no momento da análise dos resultados. Essa observação pode representar um controle precoce e eficiente de micrometástases. Se tal hipótese for verdadeira, talvez exista uma subpopulação de pacientes para a qual seja vantajoso iniciar tratamento sistêmico mais precocemente num esquema de dose densa sequencial que poderia suplantar resistência intrínseca de micrometástases (Maurel, 2004). É sabido que o papel da quimioterapia adjuvante (pós-operatória) em SPM restringe-se a uma pequena população de pacientes,[100] principalmente aqueles expostos a ambos os agentes doxorrubicina e ifosfamida.[101] Neste sentido, observamos no estudo de Maurel et al, 2004,[47] mais pacientes que apresentaram resposta à DOXO também o fizeram em relação à IFO (10 de 12) quando comparados aqueles com doença estável (8 de 28) e com progressão de doença (1 de 5) ao primeiro medicamento. No presente estudo, a resposta à IFO observada ocorreu numa paciente que havia apresentado doença estável após DOXO (tabela 6). Esses achados ressaltam a ausência de resistência induzida/cruzada entre os agentes. Considerando que ambos têm a mesma eficácia quando utilizadas como agentes únicos na primeira linha de tratamento,[44] talvez a melhor abordagem para estes pacientes seja oferecer a DOXO até o limite da

cardiotoxicidade, quando, então, a IFO em altas doses seria adicionada, antes de progressão de doença quando observamos o desenvolvimento de resistência aos agentes quimioterápicos. A justificativa para a utilização da IFO em altas doses é o seu próprio mecanismo de ação que, por ser um agente alquilante, tem como alvo o DNA, não havendo, teoricamente, um limite de atividade, ou seja, haveria uma relação linear dose-resposta até o limite da toxicidade.[102] Hipoteticamente, esse seria o motivo para uma maior taxa de resposta determinada pela combinação desses agentes (sinergismo), já que a DOXO inibiria a correção da lesão no DNA causada pela IFO. O próximo passo seria identificar o esquema com o melhor perfil de toxicidade e com a maior eficácia. Em relação ao esquema de quimioterapia empregado neste protocolo, a observação de que o esquema de IFO em duas horas apresenta um perfil de toxicidade aceitável, mantendo a eficácia, permite aos pacientes uma permanência na sala de quimioterapia por menos tempo e permite uma abordagem ambulatorial, o que se traduziria em melhora na qualidade de vida.

Neste sentido, apesar da elevada incidência de toxicidade, não houve comprometimento da qualidade de vida dos pacientes que preencheram pelo menos dois questionários, entretanto, esta análise pode ter sido prejudicada pela baixa adesão de 60% (13/21). A maior dificuldade foi a aplicação de questionários em pacientes com estado geral decaído, sintomáticos por progressão de doença, em regime de tratamento de suporte clínico exclusivo. O nosso propósito, com a avaliação da qualidade de vida, foi o de julgar se valeria a pena empregar um protocolo de tratamento

supostamente mais tóxico numa população de pacientes avançados para os quais pouco se pode oferecer do ponto de vista sistêmico (quimioterapia). Diante dos resultados, a impressão é que se pode oferecer um protocolo mais intensivo numa população específica de pacientes jovens, com boas condições clínicas e doença localmente avançada, ou metastática potencialmente ressecável, com ajuste do protocolo.

Neste aspecto, procurou-se conhecer quais foram os pacientes que mais se beneficiaram do protocolo e a ezrina foi a molécula apontada como capaz de identificá-los. A ezrina é um componente do complexo processo de interação célula-célula, célula-matrix extracelular, de transdução de sinal através de receptores do tipo tirosina quinase e da maquinaria apoptótica.[103,104] Khanna et al., em 2001 e em 2004,[59,60] demonstraram em osteossarcomas uma maior expressão de ezrina relacionada ao surgimento de metástases pulmonares, em modelos murinos. Em seu estudo de 2004 os autores demonstraram que este fenômeno diminuía significativamente nos camundongos após a supressão da ezrina. Neste mesmo estudo, os autores ainda usaram ténicas de *microarray* tecidual para examinar a expressão da ezrina em 73 cães com osteossarcoma espontâneo. Encontraram-na expressa em 83% de seus tumores primários, sendo um alto padrão de expressão correlacionado com menor sobrevida livre de doença em comparação a cães com tumores que a expressavam menos intensamente ($p = 0,02$).

Em melanoma, também, é bem provável que exista relação entre maior expressão de ezrina e eventos desfavoráveis. Em melanoma

cutâneo primário a ezrina foi avaliada em 95 casos de, em associação a eventos clínicos e fatores prognósticos estabelecidos, como a Classificação de Breslow (espessura), de Clark (grau de profundidade) e o acometimento de linfonodo sentinela.[54] Os pacientes foram classificados em três grupos, de acordo com o grau de imunorreatividade: 0 (negativa), 1 (positiva fraca) e 2 (positiva forte). A expressão de ezrina por imunoistoquímica revelou-se positiva em mais de 70 % dos tumores primários. Em tumores metastáticos esta expressão era, em geral, mais intensa do que nos tumores primários. Nenhuma metástase foi negativa para a expressão de ezrina. Houve correlação positiva importante com a espessura ($p = 0,0008$) e grau de invasão do tumor ($p = 0,004$). Os autores concluíram que a maior expressão da ezrina deve ter um papel na progressão do tumor e eventos desfavoráveis, embora não se saiba o mecanismo exato. Acreditam que, mais do que agir em uma única via, exista influência da ezrina em vários processos de sinalização intracelular e em moléculas de adesão.

A exemplo dos melanomas cutâneos primários, os melanomas uveais mostram grande expressão de ezrina e isto pode ser um evento prognóstico independente, segundo demonstraram Mäkitie et al., em 2001.[58] Neste estudo, a expressão da ezrina estava nitidamente ligada à densidade da microvasculatura, um indicador indireto da vascularização tumoral e angiogênese. Maior expressão foi relacionada a mais metástases e maior mortalidade ($p = 0,016$), após análise multivariada.

Observações opostas seguiram-se ao estudo envolvendo apenas os carcinomas de ovário do tipo seroso.[62] Em 440 casos

consecutivos, submetidos à imunoistoquímica e técnica de *microarray*, a expressão de ezrina demonstrou-se inversamente proporcional ao estadiamento tumoral e a eventos desfavoráveis. Isto é, os tumores que apresentavam uma menor expressão de ezrina estavam associados a menor tempo de progressão e menor sobrevida (p = 0,0003 e teste de Kaplan - Meier). A causa para a diminuta expressão de ezrina em carcinomas de ovário serosos não é conhecida. Os autores questionam se carcinomas de ovário de histologia serosa pode ter influência nestes resultados aparentemente conflitantes, já que há indícios de que a ezrina pode desempenhar papéis diferentes de acordo com o tipo de célula.

Em relação à ezrina em sarcomas de partes moles, maior expressão da mesma tem sido relacionada a estadiamento tumoral mais avançado e comportamento metastático de células de rabdomiossarcoma.[105] Em um estudo envolvendo 50 pacientes portadores de SPM, a maior expressão de ezrina se correlacionou com uma pior sobrevida.[61] Neste estudo, metade dos pacientes apresentou imunoreatividade para o anticorpo anti-ezrina. Apesar do percentual de positividade da expressão de ezrina neste estudo estar de acordo com o estudo de Weng et al, 2005,[61] antagonicamente, foi observada uma tendência a sobrevida mais longa naqueles pacientes com expressão positiva para a mesma, ou seja, a ezrina foi capaz de segregar os pacientes que apresentaram sobrevida mais longa, o que pode estar associado ao tratamento. Estes resultados estão de acordo com as observações de Moilanen et al, 2003,[62] em carcinoma de ovário. Diante desses achados, cabe uma discussão sobre o papel que a mesma

pode desempenhar em cada modelo de tumor, o que é facilmente compreensível em sarcomas de partes moles que representam um grupo bastante heterogêneo de doenças. Neste estudo, todos os pacientes portadores de histologia sinovial apresentaram positividade para ezrina. Por outro lado, 75% dos pacientes com histologia sem outras especificações e 80% dos leiomiossarcomas apresentaram negatividade para a mesma. A sobrevida por histologia, conforme mostrada anteriormente na seção *sobrevida*, mostrou que aqueles com histologia sinovial apresentaram sobrevida mais longa. Os pacientes com leiomiossarcoma e sarcoma sem outras especificações apresentaram sobrevidas medianas de 7,8 e 3,4 meses, respectivamente. No estudo de Weng et al, 2005,[61] o único paciente com histologia sinovial também apresentou positividade para a ezrina e teve uma sobrevida de 16 meses, o que pode ser considerada longa, de maneira semelhante ao que foi observado neste estudo. Também no estudo citado, 34/50 pacientes apresentaram histologia FHM, o que pode ter determinado viés na interpretação de análise de expressão de ezrina.

Apesar da maior expressão de expressão de ezrina estar relacionada à maior agressividade tumoral na maioria dos estudos anteriormente citados, esta molécula ainda requer validação se estaria contribuindo diretamente para o desenvolvimento de metástases em cada modelo tumoral de sarcomas de partes moles. Portanto, exceção feita aos carcinomas serosos de ovário, o aumento da expressão de ezrina tem sido cada vez mais observado em tumores.

Neste sentido, é válido questionar se o maior padrão de expressão da ezrina estaria contribuindo diretamente para o desenvolvimento de metástases. A resposta definitiva ainda carece de mais e maiores estudos. Entretanto, a avaliação por imunoistoquímica da ezrina pode proporcionar um fator de prognóstico independente e, mais importante, um alvo terapêutico para o desenvolvimento de um novo agente direcionado para a mesma, associado à quimioterapia convencional.

Planejamos ampliar a avaliação da ezrina em uma população de pacientes portadores de sarcomas de partes moles tratados com doses crescentes de doxorrubicina e ifosfamida nesta instituição.[106]

Pode-se observar, então, através da análise dos resultados do presente estudo e de outros, que o prognóstico de pacientes portadores de SPM avançados é reservado por conta do limitado impacto das modalidades de tratamento no controle de metástases. É imprescindível a inclusão desses pacientes em estudos clínicos para aumentarmos o benefício de quimioterapia em pacientes jovens, em boas condições clínicas, sem comorbidades significativas, com doença localmente avançada, assim como a identificação de pacientes quimiossensíveis, que podem apresentar sobrevida mais longa, pelo potencial de controle de micrometástases e evitar amputação, dada a inexistência de um padrão de tratamento sistêmico nesta população.

Este esquema sequencial com estas doses de DOXO e IFO determinou, para esta população de pacientes estudada, sobrevidas livre de progressão e global de 8,1 e 20,1 meses, respectivamente, sem prejuízo na

qualidade de vida. Na minha opinião, o protocolo foi factível, evidenciada por uma aderência ao tratamento de 71%, o que determinou toxicidade significativa. Por esta razão, talvez as doses de DOXO de 75 mg/m^2, que tem sido empregada em estudos mais recentes como braço controle, e de IFO 9 g/m^2 como no estudo de Lorigan et al, 2007,[44] talvez sejam mais apropriadas para serem testadas em estudos futuros com manipulação de densidade de dose associadas a outras terapias. Esta modalidade de tratamento requer mais investigação com a determinação do protocolo que determine a melhor eficácia com a maior segurança.

A insistência nesta questão é cabível pelo pouco conhecimento sobre o emprego dos agentes mais efetivos em sarcomas de partes moles (DOXO e IFO) em terapia seqüencial, lembrando que pacientes previamente expostos à IFO em doses convencionais podem ser resgatados com doses elevadas da mesma.[107] Além disso, quimioterapia de segunda linha não prolonga a sobrevida. Conclui-se, portanto, que ambos agentes devem ser empregados na primeira linha de tratamento, antes de progressão do tumor, tornando-se refratário aos agentes empregados. Por outro lado, é importante a identificação de novos agentes direcionados contra a topoisomerase IIA e o próprio DNA ou contra outros alvos terapêuticos.

Conclusões

1) Neste estudo de fase II, a quimioterapia sequencial com dose densa em sarcoma de partes moles avançado localmente ou metastático, e de alto grau, usando DOXO e IFO, resultou em taxa de resposta de 14%;

2) Este esquema nestas doses mostrou-se tóxico, com três mortes precoces/tóxicas, na primeira parte do estudo, não alcançando o mínimo de 6 respostas previstas para ir para fase II do estudo. Concluímos tratar-se de esquema tóxico, não podendo ser ainda empregado na prática clínica diária fora de protocolo de pesquisa. Entretanto, a IFO administrada em infusões curtas pode apresentar perfil de toxicidades renal e neurológica mais favorável que o esquema em infusão contínua descrito na literatura com esquemas semelhantes;

3) A análise de qualidade de vida mostrou uma tendência a melhor controle de dor e saúde global nos pacientes que responderam o EORTC QLC30 pelo menos duas vezes;

4) A sobrevida foi pelo menos igual ou superior aos protocolos de quimioterapia com dose densa ou convencional com estes agentes em combinação;

5) Houve tendência a uma sobrevida mais longa naqueles pacientes com maior expressão de ezrina e com histologia sinovial. Concluímos que este esquema deva ser melhor estudado em pacientes com essa histologia e com imunoreatividade para esse marcador.

Referências

1. Pisters PWT, O'Sullivan BO: Soft-Tissue Sarcomas em Cancer Medicine, Editado por Kufe DW, Pollock RE, Weickseldav RR, Bast Jr RC, Gansler TS, Holland JF, Frei III E. Sexta Edição, Editora BC Decker Inc. Hamilton, 2003. Páginas 2049 a 2076.
2. Guillou L, Coindre LM, Bonichon F, et al: Comparative study of the National Cancer Institute and French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group grading systems in a population of 410 adult patients with soft tissue sarcoma. J Clin Oncol 1997;15:350-362
3. Landis SH, Murray T, Bolden S, et al: Cancer statistics, 1999. CA Cancer J Clin 1999;49:8-31
4. Mirra AP, Latorre MRDO, Veneziano RB.— Incidência de Câncer no município de São Paulo, Brasil 1997-1998. Brasília, DF: 2001 Ministério da Saúde Instituto Nacional do Câncer/Comprev Secretaria do Estado da Saúde/Fundação Oncocentro de São Paulo Secretaria Municipal de Saúde/PRO-AIM Faculdade de Saúde pública da Universidade de São Paulo/Departamento de Epidemiologia. Tomograf Editora Ind. Gráfica LTDA.
5. Nowak AK, Byrne MJ, Williamson R, et al: A multicentre phase II study of cisplatin and gencitabine for malignant mesothelioma. Br J Cancer 2002;87:491-496
6. Gourley C, Al Nafussi A, Abdulkader M, et al: Malignant mixed mesodermal tumors: biology and clinical aspects. Eur J Cancer 2002;38:1437-1446
7. Deyrup AT, Weiss SW. Grading of soft tissue sarcoma: the challenge of providing precise information in an imprecise world. Histopathology 2006;48:42-50.

8. Pisters PW, Leung DH, Woodruff J, et al. Analysis of prognostic factors in 1,041 patients with localized soft tissue sarcomas of the extremities. J Clin Oncol. 1996;14(5):1679-1689.
9. Coindre JM, Terrier P, Bui NB, et al. Prognostic factors in adult patients with locally controlled soft tissue sarcoma. A study of 546 patients from the French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group. J Clin Oncol. 1996;14(3):869-877.
10. Spiro IJ, Gebhardt MC, Candance JL, et al: Prognostic factors for local control of sarcomas of the soft tissue managed by radiation and surgery. Semin Oncol 1997;24:540-546
11. Williard WC, Collin CF, Casper ES, et al: The changing role of amputation for soft tissue sarcoma of the extremity in adults. Surg Gynecol Obstet 1992;175:389-396
12. Williard WC, Hajdu SI, Casper ES, Brennan MF. Comparison of amputation with sparing operations for adult soft tissue sarcoma of the extremity. Ann Surg 1992;215:269-275.
13. Mansi JL, Fisher C, Wiltshaw E, et al. A Phase I-II Study of Ifosfamide in Combination with Adriamycin in the Treatment of Adult Soft Tissue Sarcomas. Eur J Cancer Clin Oncol 1988, 24(9), 1439-1443.
14. Loehrer PJ, Sledge GW, Nicaise C, et al. Ifosfamide plus doxorubicin in metastatic adult sarcomas: A multi-institutional phase II trial. J Clin Oncol 1989, 7(11), 1655-1659.
15. Steward WP, Verweij J, Somers R, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor allows safe escalation of dose-intensity of chemotherapy in metastatic adult soft tissue sarcomas: A study of the

European Organization for Research and Treatment of Cancer Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. J Clin Oncol 1993, 11(1), 15-21.

16. Bokemeier C, Franke A, Hartmann JT, et al. A Phase I/II Study of Sequential, Dose-Escalated, High Dose Ifosfamide plus Doxorubicin with Peripheral Blood Stem Cell Support for the Treatment of Patients with Advanced Soft Tissue Sarcomas. Cancer 1997, 80, 1221-1227.
17. Patel SR, Vadhan-Raj S, Burgess MA, et al. Results of two consecutive trials of dose-intensive chemotherapy with doxorubicin and ifosfamide in patients with sarcomas. Am J Clin Oncol. 1998 Jun;21(3):317-321.
18. Barista I, Tekuzman G, Yalcin S, et al. Treatment of Advanced Soft Tissue Sarcomas With Ifosfamide and Doxorubicin Combination Chemotherapy. J Surg Oncol 2000, 73, 12-16.
19. Edmonson JH, Ryan, LM, Blum RG, et al. Randomized comparison of doxorubicin alone versus ifosfamide plus doxorubicin or mitomycin, doxorubicin and cisplatin against advanced soft tissue sarcomas. J Clin Oncol 1993, 11(7), 1269-1275.
20. Santoro A, Rouesse J, Steward W, et al. Doxorubicin versus CYVADIC versus doxorubicin plus ifosfamide in first-line treatment of advanced soft tissue sarcomas: A randomized study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Soft Tissue and Bone sarcoma Group. J Clin Oncol 1995, 13(7), 1537-1545.
21. Le Cesne A, Judson I, Crowther D, et al: Randomized Phase III Study Comparing Convetional-Dose Doxorubicin Plus Ifosfamide versus High-Dose Doxorubicin Plus Ifosfamide Plus Recombinant Human

Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor in Advanced Soft Tissue Sarcomas: A Trial of the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Soft Tissue and Bone sarcoma Group. J Clin Oncol 2000;18:2676-2684.

22. Worden FP, Taylor JMG, Biermann JS, et al. Randomized Phase II Evaluation of 6 g/m^2 of Ifosfamide Plus Doxorubicin and Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) Compared With 12 g/m^2 of Ifosfamide Plus Doxorubicin and G-CSF in the Treatment of Poor-Prognosis Soft Tissue Sarcoma. J Clin Oncol 2005, 23(1), 105-112.
23. López-Pousa A, Martín J, Montalar J, et al. Phase II Trial of Doxorubicin Plus Escalated High-Dose Ifosfamide in Patients With Advanced Soft Tissue Sarcomas of the Adult: A Study of the Spanish Group for Research on Sarcomas (GEIS). Sarcoma 2006, 2006, 26986.
24. Leyvraz S, Herrmann R, Guillou L, et al. Treatment of advanced soft-tissue sarcomas using a combined strategy of high-dose ifosfamide, high-dose doxorubicin and salvage therapies. British Journal of Cancer 2006, 95, 1342 – 1347.
25. Rose BD editor. Doxorubicin: Drug Information. www.uptodate.com ed. Waltham, Massachusetts: UpToDate; 2005.
26. Boddy AV, Yule SM. Metabolism and pharmacokinetics of oxazaphosphorines. Clin Pharmacokinet. 2000 Apr;38(4):291-304.
27. Kaijser GP, Korst A, Beijnen JH, et al. The analysis of ifosfamide and its metabolites (review). Anticancer Res. 1993;13(5A):1311-1324.

28. Tascilar M, Loos WJ, Seynaeve C, et al. The pharmacologic basis of ifosfamide use in adult patients with advanced soft tissue sarcomas. Oncologist. 2007 Nov;12(11):1351-1360.
29. Shaw IC, Graham MI. Mesna--a short review. Cancer Treat Rev. 1987 Jun;14(2):67-86.
30. Scheef W, Soemer G. Treatment of solid malignant tumors with Holoxan and Uromitexan. Joint Symposium Study Group for Oncology of the German Cancer Society and Asta-Werke AG, Düsselfdorf 29 February, 1980. pp. 21-25.
31. Parke DV. The Biochemistry of Forein Compounds, 1968 1st Ed. London: Pergamon Press.
32. Zhang J, Tian Q, Yung Chan S, et al. Metabolism and transport of oxazaphosphorines and the clinical implications. Drug Metab Rev. 2005;37(4):611-703.
33. Kerbusch T, Mathôt RA, Keizer HJ, et al. Influence of dose and infusion duration on pharmacokinetics of ifosfamide and metabolites. Drug Metab Dispos. 2001;29(7):967-975.
34. Ho PT, Zimmerman K, Wexler LH, et al. A prospective evaluation of ifosfamide-related nephrotoxicity in children and young adults. Cancer. 1995;76(12):2557-2564.
35. Marina NM, Poquette CA, Cain AM, et al. Comparative renal tubular toxicity of chemotherapy regimens including ifosfamide in patients with newly diagnosed sarcomas. J Pediatr Hematol Oncol. 2000;22(2):112-118.

36. Antman KH, Ryan L, Elias A, et al. Response to ifosfamide and mesna: 124 previously treated patients with metastatic or unresectable sarcoma. J Clin Oncol. 1989;7(1):126-131.
37. Cerny T, Castiglione M, Brunner K, et al. Ifosfamide by continuous infusion to prevent encephalopathy. Lancet. 1990 Jan 20;335(8682):175.
38. Patel SR, Vadhan-Raj S, Papadopolous N, et al. High-dose ifosfamide in bone and soft tissue sarcomas: results of phase II and pilot studies--dose-response and schedule dependence. J Clin Oncol. 1997;15(6):2378-2384.
39. Benjamin RS, Legha SS, Patel SR, Nicaise C. Single-agent ifosfamide studies in sarcomas of soft tissue and bone: the M.D. Anderson experience. Cancer Chemother Pharmacol. 1993;31 Suppl 2:S174-179.
40. Nielsen OS, Judson I, van Hoesel Q, et al. Effect of high-dose ifosfamide in advanced soft tissue sarcomas. A multicentre phase II study of the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. Eur J Cancer. 2000;36(1):61-67.
41. Cerny T, Leyvraz S, von Briel T, et al. Saturable metabolism of continuous high-dose ifosfamide with mesna and GM-CSF: a pharmacokinetic study in advanced sarcoma patients. Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK). Ann Oncol 1999;10(9):1087-1094
42. Brain EG, Rezai K, Weill S, et al. Variations in schedules of ifosfamide administration: a better understanding of its implications on pharmacokinetics through a randomized cross-over study. Cancer Chemother Pharmacol. 2007;60(3):375-381.

43. Singer JM, Hartley JM, Brennan C, et al. The pharmacokinetics and metabolism of ifosfamide during bolus and infusional administration: a randomized cross-over study. Br J Cancer. 1998 Mar;77(6):978-984.
44. Lorigan P, Verweij J, Papai Z, et al. Phase III Trial of Two Investigational Schedules of Ifosfamide Compared With Standard-Dose Doxorubicin in Advanced or Metastatic Soft Tissue Sarcoma: A European Organization for Research and Treatment of Cancer Soft Tissue and Bone Sarcoma Group Study. J Clin Oncol 2007, 25(21), 3144–3150.
45. Yalcin B, Pamir A, Buyukcelik A, et al. High-dose ifosfamide with hematopoietic growth factor support in advanced bone and soft tissue sarcomas. Exp Oncol 2004, 26, 320-325.
46. Citron ML, Berry DA, Cirrincione C, et al. Randomized trial of dose-dense versus conventionally scheduled and sequential versus concurrent combination chemotherapy as postoperative adjuvant treatment of node-positive primary breast cancer: first report of Intergroup Trial C9741/Cancer and Leukemia Group B Trial 9741. J Clin Oncol 2003, 21(8), 1431-1439.
47. Maurel J, Fra J, López-Pousa A, et al. Sequential dose-dense doxorubicin and ifosfamide for advanced soft tissue sarcomas. Cancer 2004, 100, 1498-1506.
48. Maurel J, López-Pousa A, de las Penas R, et al. Efficacy of Sequential High-Dose Doxorubicin and Ifosfamide Compared With Standard-Dose Doxorubicin in Patients With Advanced Soft Tissue Sarcoma: An Open-

Label Randomized Phase II Study of the Spanish Group for Research on Sarcomas. J Clin Oncol 2009;27:1893-1898.

49. Hunter KW. Ezrin, a key component in tumor metastasis. Trends Mol Med 2004; 10: 201-204.
50. Krieg J, Hunter T. Identification of the two major epidermal growth factor-induced tyrosine phosphorylation sites in the microvillar core protein ezrin. J Biol Chem 1992;267:19258-19265.
51. Crepaldi T, Gautreau A, Comoglio PM, et al: Ezrin is an effector of hepatocyte growth factor-mediated migration and morphogenesis in epithelial cells. J Cell Biol 1997;138:423-434.
52. Lodish H, Berk A, Zipursky S, et al. Molecular Cell Biology. 4ª edição, Nova Iorque: W. H. Freeman & Co. 2000.
53. Shiue H, Musch MW, Wang Y, et al: Akt2 phosphorylates ezrin to trigger NHE3 translocation and activation. J Biol Chem 2005; 280(2):1688-95.
54. Ilmonen S, Vaheri A, Seljavaara SA, Carpen O: Ezrin in primary cutaneous melanoma. Modern Pathology 2005;18: 503-510.
55. Ohtani K, Sakamoto H, Rutherford T, et al. Ezrin, a membrane-cytoeskeletal linking protein, is involved in the process of invasion of endometrial cancer cells. Cancer Letters 1999;147:31-38.
56. Ohtani K, Sakamoto H, Rutherford T, et al. Ezrin, a membrane-cytoeskeletal linking protein, is highly expressed in atypical endometrial hyperplasia and uterine endometrioid adenocarcinoma. Cancer Letters 2002;179:79-86.

57. Elliot BE, Meens JA, SenGupta SK, et al. The membrane cytoskeletal crosslinker ezrin is required for metastasis of breast carcinoma cells. Breast Cancer Research 2005;7(3):365-373.
58. Mäkitie M, Carpen O, Vaheri A, Kivela T. Ezrin as a prognostic indicator and its relationship to tumor characteristics in uveal malignant melanoma. Investigative Ophthalmology & Visual Science 2001;42(11):2442-2449.
59. Khanna C, Khan J, Nguyen P, et al. Metastasis-associated differences in gene expression in a murine model of osteosarcoma. Cancer Res 2001;61:3750-3759.
60. Khanna C, Wan X, Bose S, et al. The membrane – cytoskeleton linker ezrin is necessary for osteosarcoma metastasis. Nature Medicine 2004;10(2):182-186.
61. Weng WH, Ahlén J, Aström K, et al. Prognostic Impact of Immunohistochemical Expression of Ezrin in Highly Malignant Soft Tissue Sarcomas. Clin Cancer Res 2005;11(17):6198-6204.
62. Moilanen J, Lassus H, Leminem A, et al. Ezrin immunoreactivity in relation to survival in serous ovarian carcinoma patients. Gynecol Oncol 2003;90:273-281.
63. Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F. World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Soft Tissue and Bone. Lyon: IARC Press; 2002.
64. Dixon JR Jr. The International Conference on Harmonization Good Clinical Practice guideline. Qual Assur. 1998 Apr-Jun;6(2):65-74.

65. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, et al: New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors. J Natl Cancer Inst 2000, 92, 205-216.
66. Cancer Therapy Evaluation Program. Common toxicity criteria. Version 2.0. Bethesda: National Cancer Institute, 1998.
67. Aaronson NK, Ahmedzai S, Bergman B, et al. The European Organization for Reasearch and Treatment of Cancer QLQ-C30: A Quality-of-life Instrument for Use in International Clinical Trials in Oncology. J Natl Cancer Institute 1993;85:365-376.
68. Simon R. Optimal two-stage design for phase II clinical trials. Control Clin Trials 1989;10:1-10.
69. Rosen G, Forscher C, Lowenbraun S, et al. Synovial sarcoma. Uniform response of metastases to high dose ifosfamide. Cancer. 1994;73(10):2506-2511.
70. Sutton GP, blessing JA, Rosenshein N, et al. Phase II trial of ifosfamide and mesna in mixed mesodermal tumors of the uterus (a Gynecology Oncology Group study). Am J Obstet Gynecol 1989;161:309.
71. Ferrari A, Casanova M, Bisogno G, ET al. Clear cell sarcoma of tendons and aponeuroses in pediatric patients: a report from the Italian and German Soft Tissue Sarcoma Cooperative Group. Cancer. 2002;94:3269-3276.
72. Saintigny P, Besse B, Callard P, et al. Erythropoietin and erythropoietin receptor coexpression is associated with poor survival in stage I non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 2007, 13(16), 4825–4831.

73. Van Glabbeke M, van Oosterom AT, Oosterhuis JW, et al. Prognostic Factors for the Outcome of Chemotherapy in Advanced Soft Tissue Sarcoma: An Analysis of 2,185 Patients Treated With Anthracycline-Containing First-Line Regimens-A European Organization for Research and Treatment of Cancer Soft Tissue and Bone Sarcoma Group Study. J Clin Oncol 1999, 17(1), 150-157.
74. Morales-Arias J, Meyers PA, Bolontrade MF, Rodriguez Net al. Expression of granulocyte-colony-stimulating factor and its receptor in human Ewing sarcoma cells and patient tumor specimens: potential consequences of granulocyte-colony-stimulating factor administration. Cancer 2007, 110, 1568–1577.
75. Dubourg L, Michoudet C, Cochat P, Baverel G. Human kidney tubules detoxify chloroacetaldehyde, a presumed nephrotoxic metabolite of ifosfamide. J Am Soc Nephrol 2001;12:1615–1623.
76. Barrett-Lee PJ, Dixon JM, Farrell C, et al. Expert opinion on the use of anthracyclines in patients with advanced breast cancer at cardiac risk Annals of Oncology 2009;20: 816–827.
77. Fumoleau P, Roche H, Kerbrat P et al. Long-term cardiac toxicity after adjuvant epirubicin-based chemotherapy in early breast cancer: French Adjuvant Study Group results. Ann Oncol 2006; 17:85–92.
78. Steinberg JS, Cohen AJ, Wasserman AG et al. Acute arrhythmogenicity of doxorubicin administration. Cancer 1987; 60: 1213–1218.

79. Barry E, Alvarez JA, Scully RE et al. Anthracycline-induced cardiotoxicity: course, pathophysiology, prevention and management. Expert Opin Pharmacother 2007;8: 1039–1058.
80. van Dalen EC, van der Pal HJ, Caron HN, Kremer LC. Different dosage schedules for reducing cardiotoxicity in cancer patients receiving anthracycline chemotherapy. Cochrane Database Syst Rev 2006; 4: CD005008.
81. Yancik R, Wesley MN, Ries LA et al. Effect of age and comorbidity in postmenopausal breast cancer patients aged 55 years and older. JAMA 2001;285: 885–892.
82. Jones LW, Haykowsky MJ, Swartz JJ et al. Early breast cancer: therapy and cardiovascular injury. J Am Coll Cardiol 2007; 50: 1435–1441.
83. Von Hoff DD, Layard MW, Basa P et al. Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. Ann Intern Med 1979; 91: 710–717.
84. Ng R, Better N, Green MD. Anticancer agents and cardiotoxicity. Semin Oncol 2006; 33: 2–14.
85. Batist G, Ramakrishnan G, Rao CS et al. Reduced cardiotoxicity and preserved antitumor efficacy of liposome-encapsulated doxorubicin and cyclophosphamide compared with conventional doxorubicin and cyclophosphamide in a randomized, multicenter trial of metastatic breast cancer. J Clin Oncol 2001;19: 1444–1454.
86. Zuppinger C, Timolati F, Suter TM. Pathophysiology and diagnosis of cancer drug induced cardiomyopathy. Cardiovasc Toxicol 2007; 7: 61–66.

87. Jurcut R, Wildiers H, Ganame J et al. Detection and monitoring of cardiotoxicity—what does modern cardiology offer? Support Care Cancer 2008;16: 437–445.
88. Mitani I, Jain D, Joska TM et al. Doxorubicin cardiotoxicity: prevention of congestive heart failure with serial cardiac function monitoring with equilibrium radionuclide angiocardiography in the current era. J Nucl Cardiol 2003; 10: 132–139.
89. Appel JM, Nielsen D, Zerahn B et al. Anthracycline-induced chronic cardiotoxicity and heart failure. Acta Oncologica 2007; 46: 576–580.
90. Elliott P. Pathogenesis of cardiotoxicity induced by anthracyclines. Semin Oncol 2006; 33: S2–S7.
91. Dodos F, Halbsguth T, Erdmann E, Hoppe UC. Usefulness of myocardial performance index and biochemical markers for early detection of anthracyclineinduced cardiotoxicity in adults. Clin Res Cardiol 2008; 97: 318–326.
92. Estorch M, Carrio I, Berna L et al. Indium-111-antimyosin scintigraphy after doxorubicin therapy in patients with advanced breast cancer. J Nucl Med 1990;31: 1965–1969.
93. Kirwan CC, McDowell G, McCollum CN et al. Early changes in the haemostatic and procoagulant systems after chemotherapy for breast cancer. Br J Cancer 2008; 99: 1000-1006.
94. Kakkar AK: Prevention of venous thromboembolism in the cancer surgical patient. J Clin Oncol 2009;27:4881-4884.

95. Rana P, Levine MN. Prevention of thrombosis in ambulatory patients with cancer. J Clin Oncol. 2009;27(29):4885-4888.

96. Kasthuri RS, Taubman MB, Mackman N: Role of tissue factor in cancer. J Clin Oncol 2009;27:4834-4838.

97. Khorana AA, Connolly GC: Assessing risk of venous thromboembolism in the patient with cancer. J Clin Oncol 2009;27:4839-4847.

98. Schmidt RA, Conrad EU 3rd, Collins C, Rabinovitch P, Finney A. Measurement and prediction of the short-term response of soft tissue sarcomas to chemotherapy. Cancer 1993, 72(9), 2593-2601.

99. Ben-Haim S, Ell P. 18F-FDG PET and PET/CT in the evaluation of cancer treatment response. J Nucl Med. 2009 Jan;50(1):88-99.

100. Sarcoma Meta-analysis Collaboration. Adjuvant chemotherapy for localised resectable soft-tissue sarcoma of adults: meta-analysis of individual data. Sarcoma Meta-analysis Collaboration. Lancet 1997;350(9092):1647-54.

101. Pervaiz N, Colterjohn N, Farrokhyar F, et al. A Systematic Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials of Adjuvant Chemotherapy for Localized Resectable Soft-Tissue Sarcoma. Cancer 2008;113:573–581.

102. Patel SR, Benjamin RS. Ifosfamide in sarcomas: is it a schedule-dependent drug? Cancer Invest. 1996;14(3):290-291.

103. Martin TA, Harrison G, Mansel RE, Jiang WG. The role of the CD44/ezrin complex in cancer metastasis. Crit Rev Oncol Hematol 2003; 46: 165-186.

104. Gautreau A, Poullet P, Louvard D, Arpin M. Ezrin, a plasma membrane-microfilament linker, signals cell survival through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. Proc Natl Acad Sci U S A 1999; 96: 7300-7305.

105. Yu Y, Khan J, Khanna C et al. Expression profiling identifies the cytoskeletal organizer ezrin and the developmental homeoprotein Six-1 as key metastatic regulators. Nat Med 2004; 10: 175-181.

106. Almeida GF, Castro, G, Snitcovsky IM, et al. Ifosfamide (IFO) and doxorubicin (DOX) dose-intensities seem related to overall survival in adult soft-tissue sarcoma (STS) patients. Journal of Clinical Oncology, 2006 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 24, No. 18S (June 20 Supplement), 2006: 9581.

107. Le Cesne A, Antoine E, Spielmann M et al. High-dose ifosfamide: circumvention of resistance to standard-dose ifosfamide in advanced soft tissue sarcomas. J Clin Oncol 1995; 13: 1600-1608.