UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
(Fisiopatologia e Toxicologia)
Área: Análises Clínicas

Avaliação preliminar do tratamento de pacientes portadoras de câncer
de ovário avançado com nanopartícula lipídica associada ao
quimioterápico paclitaxel

Carolina Graziani Vital

Dissertação para obtenção do Título de **Mestre**

Orientador: Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão

São Paulo

2016

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
(Fisiopatologia e Toxicologia)
Área: Análises Clínicas

Avaliação preliminar do tratamento de pacientes portadoras de câncer
de ovário avançado com nanopartícula lipídica associada ao
quimioterápico paclitaxel

Carolina Graziani Vital

Versão Original

Dissertação para obtenção do Título de **Mestre**

Orientador: Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão

São Paulo

2016

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

V836a	<p>Vital, Carolina Graziani</p> <p>Avaliação preliminar do tratamento de pacientes portadoras de câncer de ovário avançado com nanopartícula lipídica associada ao quimioterápico paclitaxel / Carolina Graziani Vital. -- São Paulo, 2016.</p> <p>95p.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.</p> <p>Orientador: Maranhão, Raul Cavalcante</p> <p>1. Toxicologia clínica 2. Câncer : Quimioterapia I. T. II. Maranhão, Raul Cavalcante, orientador.</p> <p>615.9 CDD</p>
-------	---

Carolina Graziani Vital

Avaliação preliminar do tratamento de pacientes portadoras de câncer
de ovário avançado com nanopartícula lipídica associada ao
quimioterápico Paclitaxel

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão
Orientador/Presidente

1º Examinador

2º Examinador

São Paulo, ____ de ____ de 2016.

Dedicatória

À minha querida mãe, por ser a idealizadora deste projeto.

Às pacientes, pelas preciosas contribuições.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão, meu orientador: por permitir o meu retorno em seu laboratório; pela oportunidade de realização deste projeto; por acreditar no meu potencial e pelos valiosos ensinamentos ao longo da minha jornada acadêmica.

À minha mãe: pelo apoio incondicional nos momentos em que eu mais precisava e pelas palavras de consolo sempre que necessárias;

Aos funcionários e amigos do Laboratório de Metabolismo e Lípidos do InCor: pelo apoio, ajuda e momentos agradáveis durante a execução deste projeto.

Ao Serviço de Oncologia do Instituto do Câncer Dr. Arnaldo Vieira de Carvalho: local de atendimento das pacientes.

Às secretarias do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas: pelo auxílio sempre que necessário.

Ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas: pela oportunidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ): pela bolsa concedida.

*“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada.
Caminhando e semeando, no fim terás o que colher”*

(Cora Coralina)

Resumo

VITAL, C. G. **Avaliação preliminar do tratamento de pacientes portadoras de câncer de ovário avançado com nanopartícula lipídica associada ao quimioterápico paclitaxel.** 2016. 95f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Introdução: O câncer de ovário é frequentemente diagnosticado em estágios avançados e é pouco responsivo aos tratamentos empregados atualmente. O tratamento de primeira linha consiste em esquemas incluindo cirurgia citorrredutora seguido de quimioterapia adjuvante por derivados de platina e taxano. Os esquemas de segunda linha são baseados em gemcitabina e doxorubicina lipossomal. Em seguida, a doença tende a progredir rapidamente e a quimioterapia não é indicada pela ausência de resposta e pela alta toxicidade desses medicamentos. Anteriormente, mostramos que nanopartículas lipídicas semelhantes à composição química da LDL, porém sem proteína, e associadas à agentes antineoplásicos são captadas por células neoplásicas. **Objetivos:** Testamos a hipótese se o paclitaxel associado à nanopartícula poderia beneficiar com segurança pacientes com câncer de ovário avançado e refratário ao tratamento, e portanto, não mais elegíveis para quimioterapia convencional. **Métodos:** Quatorze mulheres com câncer de ovário avançado de 61 ± 10 anos, com estadiamento clínico IV e TqNqM1 (FIGO e TNM Scale, respectivamente) que não eram responsivas à quimioterapia em terceira linha foram incluídas no estudo. O tratamento consistiu com o paclitaxel associado à nanopartícula na dose 175 mg/m^2 de superfície corporal, a cada 3 semanas. As pacientes foram submetidas a exames clínicos antes de cada ciclo de quimioterapia. Determinações bioquímicas séricas e exames de imagem foram realizados para acompanhamento de novas lesões ou progressão da doença. **Resultados:** Foi

realizado o total de 74 ciclos, e não foram observadas toxicidades laboratoriais e clínicas. Em quatro pacientes a doença permaneceu estável. **Conclusões:** A notável ausência de toxicidade, não registrada na literatura até hoje nos vários sistemas de veiculação descritos abre uma nova perspectiva de tratamento da doença. Evita-se o desconforto e os riscos da quimioterapia convencional, podem ser incluídos pacientes muito idosos ou com outras fragilidades que contraindiquem a quimioterapia e não há limite para a continuação do tratamento.

Palavras-chaves: câncer de ovário avançado, nanopartícula lipídica, paclitaxel, toxicidades clínicas e laboratoriais.

Abstract

VITAL, C. G. **Preliminary evaluation of treatment of patients with advanced ovarian cancer with lipid nanoparticle associated with chemotherapy paclitaxel.** 2016. 95f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Introduction: Ovarian cancer is often diagnosed at advanced stages and is poorly responsive to standard treatment. First-line treatment consists in schemes including cytoreductive surgery followed by adjuvant chemotherapy schemes with platinum and taxane derivatives. Second-line regimens are based in gemcitabine and liposomal doxorubicin. Thereafter, the disease progresses rapidly and chemotherapy is no longer indicated for lack of response rate together with high toxicity of antineoplastic agents. Previously, we showed that non-protein lipid nanoparticles resembling chemical structure of LDL, however without protein and associated with antineoplastic agents are uptaken by neoplastic cells. **Aims:** We tested the hypothesis whether paclitaxel associated to the nanoparticle could safely benefit patients with advanced ovarian cancer refractory to previous treatment, thus not eligible for further conventional chemotherapy. **Methodology:** Fourteen women with advanced ovarian cancer aged 61 ± 10 years were included, with clinical stage IV and TqNqM1 (FIGO and TNM Scale, respectively) that were unresponsive for third line chemotherapy treatments. Treatment consisted with paclitaxel associated to the nanoparticle at 175 mg/m^2 body surface dose, every 3 weeks. Patients were submitted to clinical examinations before each chemotherapy cycle. Serum biochemistry determinations and imaging exams were performed to monitoring new lesions or disease progression. **Results:** Total of 74 cycles of chemotherapy was performed, clinical and laboratorial toxicities were not observed. Four

patients stayed with stable disease. **Conclusions:** The notable absence of toxicity, not recorded in the oncology literature to date described in various drug delivery systems, opens a new perspective on the treatment of cancer. Avoiding the discomfort and risks of conventional chemotherapy, can be included very aged patients or with other weaknesses, that chemotherapy is contraindicated, and there is no limit for continued treatment.

Key-words: Advanced ovarian cancer, lipid nanoparticle, paclitaxel, clinical and laboratory toxicities.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	Esquema de quimioterapia para câncer de ovário.....	21
Figura 2-	Estrutura química do paclitaxel.....	23
Figura 3-	Nanopartículas lipídicas da LDL e da LDE.....	27
Figura 4-	Evolução do tratamento com a LDE-paclitaxel.....	42
Figura 5-	Sobrevida livre de Progressão da doença.....	44
Figura 6-	Níveis plasmáticos de colesterol total.....	53
Figura 7-	Níveis plasmáticos de LDL.....	53
Figura 8-	Imunohistoquímica da expressão dos receptores de LDL (LDLR e LRP-1) no tecido tumoral de ovário e tecidos com infiltração tumoral adjacentes.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Idade e dados clínicos das pacientes.....	35
Tabela 2-	Resposta clínica do tratamento.....	43
Tabela 3-	Contagem da hemoglobina (g/dL).....	45
Tabela 4-	Contagem dos neutrófilos (k/L).....	46
Tabela 5-	Contagem dos leucócitos (k/L).....	47
Tabela 6-	Contagem das plaquetas (mil/mm ³).....	48
Tabela 7-	Contagem da uréia (mg/dL).....	49
Tabela 8-	Contagem da creatinina (mg/dL).....	50
Tabela 9-	Valores da TGO (U/L).....	51
Tabela 10-	Valores da TGP (U/L).....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Apo B-100: apolipoproteína B-100

Apo E: apolipoproteína E

CTCAE: Common Terminology Criteria for Adverse Events (Critérios Comuns de Terminologia para Eventos Adversos)

DNA: ácido desoxirribonucleico

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

FDA: Food and Drug Administration

FIGO: Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia

HPLC: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

ICAVC: Instituto do Câncer Dr. Arnaldo Vieira de Carvalho

INCA: Instituto Nacional de Câncer

LDL: lipoproteína de baixa densidade

LDLR: receptores de LDL

LLA: leucemia linfóide aguda

LMA: leucemia mieloide aguda

LRP1: receptor de lipoproteína de baixa densidade relacionado à proteína 1

PARP: polimerase poli-adenosina difosfato ADP-ribose

RECIST: Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos)

SGO: Sociedade de Ginecologia Oncológica

TGO: aspartato aminotransferase

TGP: alanina aminotransferase

VEGF: fator de crescimento vascular endotelial

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1 Câncer Epitelial de Ovário.....	17
1.2 Estudo de nanopartículas lipídicas no câncer.....	26
2. OBJETIVOS.....	32
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
3.1 Casuística.....	33
3.2 Critérios de Inclusão.....	33
3.2.1 Dados clínicos das pacientes.....	34
3.3 Critérios de Exclusão.....	36
3.4 Protocolo Experimental.....	36
3.4.1 Plano de tratamento.....	36
3.4.2 Avaliação da resposta clínica ao tratamento.....	37
3.4.3 Avaliação das toxicidades hematológicas e os lipídeos plasmáticos.....	38
3.4.4 Avaliação da toxicidade clínica.....	38
3.5 Nanopartícula lipídica associada ao quimioterápico paclitaxel.....	39
3.5.1 Síntese e modificação química do paclitaxel.....	39
3.5.2 Preparo da nanopartícula lipídica associada ao paclitaxel.....	40
3.6 Ensaio de imunohistoquímica para os receptores de LDL	40
3.7 Análise Estatística.....	41
4. RESULTADOS.....	42
5. DISCUSSÃO.....	57
6. CONCLUSÕES.....	65

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
ANEXOS.....	79

1. INTRODUÇÃO

1.1 Câncer Epitelial de Ovário

Dados publicados pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA), órgão do Ministério da Saúde para notificação de Câncer no Brasil, indicam que o câncer de ovário é uma das principais patologias que causam a morte em mulheres por tumores ginecológicos, com proporção de 3,7% calculada entre os anos 2009 e 2013, mantendo-se semelhante à proporção calculada para dez anos antes (INCA, 2016).

A estimativa para o ano de 2016 é de ocorrer aproximadamente 300.870 casos novos de câncer no geral, dos quais 6.150 casos correspondem ao câncer de ovário. Embora não seja o mais prevalente entre as mulheres, é considerado o 7º câncer de maior incidência no Brasil, sendo o primeiro mais incidente o câncer de mama com 59.960 casos novos (INCA, 2016).

Com cerca de 90% de prevalência entre os tumores de ovário, o câncer epitelial de ovário é o mais frequente e o mais letal entre os cânceres ginecológicos (GARCES et al., 2014; BURCHIM; JARCHOWSKY-DOLBERG; FISHMAN, 2013; FERREIRA, 2012; ROMERO; BAST, 2012). Cerca de 44% dos casos ocorrem em mulheres com idade entre 55 e 64 anos de idade, e mulheres mais idosas com idade acima de 70 anos possuem as maiores porcentagens de mortalidade (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2016).

Embora não existam exames que auxiliem o rastreamento da doença, no momento do diagnóstico as mulheres são assintomáticas (DEVITA LAWRENCE; ROSENBERG, 2011). As taxas de sobrevida para o câncer epitelial de ovário estão diretamente relacionadas com o estadiamento no diagnóstico e variam de 80 a 90% nos estágios iniciais, para 25% nos

estágios avançados, que corresponde aos estágios I e IV, respectivamente, segundo a classificação da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO) (NCCN, 2015).

A maioria das mulheres são diagnosticadas em estádios avançados com metástase intraperitoneal, fazendo com que a sobrevida global em 5 anos seja de aproximadamente 30% (INCA, 2016). A metástase é explicada pelo fato da facilidade do câncer de ovário se disseminar principalmente por uma extensão direta onde as células tumorais de ovário ou tuba de falópio, dependendo do tipo histológico, alcançarem a cavidade peritoneal ou abdominal, formando o fluído peritoneal, através da circulação linfática ou vascular (AUST; PILS, 2014).

Pelo fato da via intraperitoneal ser a principal via de disseminação da doença, ocorrem manifestações clínicas de desconforto nas pacientes, com sintomas como perda de apetite, distensão abdominal, dificuldades respiratórias, dor abdominal, fadiga, fraqueza e obstrução intestinal (GARCES et al., 2014; LU et al., 2010). Esses acontecimentos indicam que a doença já está em fase de progressão.

A sobrevida de mulheres com carcinoma de ovário é afetada negativamente pelo estágio da doença no momento em que o diagnóstico é realizado (FERREIRA et al., 2012). O prognóstico das pacientes está diretamente relacionado com o estadiamento no diagnóstico, o tipo histológico da doença (GROEN; GERSHENSON; FADER, 2015), o estado geral, a idade e a presença de metástase peritoneal (LU et al., 2010) indicando que quanto mais avançado o estadiamento, assim como a idade e a metástase, pior e mais limitado será o prognóstico.

As neoplasias malignas do ovário são grupo de tumores heterogêneos que expressão diferentes características patológicas e comportamentos biológicos (SMOLLE et al., 2013). Segundo a classificação pela

Organização Mundial de Saúde são reconhecidos e divididos em seis diferentes subtipos histológicos, sendo os mais frequentes os serosos, representando 80% dos casos, e os tipos mais raros que compreendem aos endometriais, os de células claras, os mucinosos, os de células em transição e os carcinomas indiferenciados (OMS, 2016).

Os tumores de ovário do tipo histológico seroso compreendem dois diferentes subtipos com características distintas: o carcinoma seroso bem diferenciado, conhecido como de baixo grau histológico, associado aos tumores *boderline* (tumores de baixa malignidade) e adenomas (tumores benignos). O outro tipo de carcinoma seroso é o de alto grau histológico, com acentuada atipia celular, arquitetura papilífera, áreas em arranjo glandular, e é o mais comum quando o diagnóstico é realizado em estágios avançados da doença, com evolução desfavorável (FERREIRA et al., 2012). Este tipo tumoral possui morfologia heterogênea sugerindo que a sua transformação e progressão se originem de outros tipos tumorais (SOSLOW, 2008).

Acredita-se que os carcinomas de baixo grau seroso, assim como os mucinosos e os de células claras são intrinsecamente resistentes aos agentes quimioterápicos utilizados nos tratamentos padrões de quimioterapia, embora ainda não exista terapia específica para cada tipo tumoral (SOSLOW, 2008).

Na literatura existe evidência considerável sugerindo que o subtipo de baixo grau seroso está relativamente ligado à resistência em esquemas primários de quimioterapia, principalmente ao paclitaxel e a carboplatina.

No tocante aos tipos mais raros de tumores de ovário do tipo endometrial, compreendendo aproximadamente 10 % dos casos, e está relacionado à endometriose em mulheres, antes da menopausa (SEIDMAN et al., 2004). Os tumores de células claras compreendem 5% dos casos. Já

os tumores mucinosos são bem mais diferenciados com 3% de incidência na população e no momento que são diagnosticados estão em estágios iniciais, assim como os de células claras e os indiferenciados (SOSLOW, 2008; MCCLUGGAGE, 2011).

O principal fator de risco da doença é o histórico familiar, que abrange parentesco em primeiro grau com histórico de câncer de mama ou câncer de ovário, e o risco diminui se o parentesco é de segundo grau. Aproximadamente 20% é de natureza familiar e está relacionado com as mutações nos genes BRCA 1 e BRCA 2, além de outros genes envolvidos (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2016).

Mulheres com mutações no gene BRCA 1 possuem risco de 40-60% de desenvolver câncer epitelial de ovário. Já mutações no gene BRCA 2 o risco de desenvolvimento é reduzido para 10-30%, ou seja, mesmo assim continua sendo um risco elevado na população em geral (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2016).

No estudo conduzido por Zhang e colaboradores (2011), foi observado que em mulheres portadoras de câncer de ovário invasivo em órgãos e tecido adjacentes, diagnosticadas com o tipo histológico de alto grau seroso ou endometrial, houve 161 mutações nos genes BRCA1 e BRCA2. No tipo histológico de carcinoma de alto grau seroso a frequência foi de 18% e no tipo histológico de carcinoma do tipo endometrial, a frequência foi de 9%. Isso confirma que a existência das mutações herdadas nesses genes é incidente numa minoria significativa entre todos os tipos de câncer de ovário. A história familiar de câncer de mama ou ovário foi o fator preditivo das mutações, pois 33% das pacientes incluídas no estudo tinham parentes próximos de primeiro grau com câncer de mama e ovário (ZHANG et al., 2011).

O tratamento para o câncer de ovário em estágios avançados é multimodal, com intensão paliativa consistindo na combinação de cirurgia e quimioterapia. Como padrão internacional em primeira linha de tratamento, é indicada e realizada cirurgia primária para obter completa ressecção do tumor, se possível, ou cirurgia citorrredutora ótima em casos avançados, com a remoção dos tumores com mais de 1 cm de tamanho, por via laparoscópica (GABRA, 2014; YE; KARIM; LOH, 2014).

A cirurgia primária é reconhecida mundialmente como padrão no tratamento para o câncer epitelial de ovário, e a citorredução ótima permanece o principal fator prognóstico para a sobrevida e o risco da recorrência (CHI et al., 2001). Após a cirurgia, a quimioterapia endovenosa adjuvante é indicada e está baseada na associação da carboplatina e o paclitaxel (COVENS et al, 2002; DU BOIS et al., 2010).

Essa combinação tem sido padrão desde meados dos anos 2000 por diversos grupos internacionais de estudos clínicos, onde foi comprovada a eficácia farmacológica neste tipo de tumor (BUKOWSKA; GALEK; MARCZAK, 2015). A Figura 1 representa o esquema sugerido do tratamento de quimioterapia levando em consideração o tempo após a cirurgia.

Figura 1 - Esquema de quimioterapia para câncer de ovário. (Adaptado de ENG et al, 2015)

A terapia endovenosa consiste em 6 ciclos da associação da carboplatina na dosagem de 6 ou 7 mg/mL, e o paclitaxel na dose de 175 mg/m² de superfície corpórea durante 3 horas de infusão, a cada 3 semanas. (DEVITA; LAWRENCE; ROSENBERG, 2011).

A associação da carboplatina e o paclitaxel gera graves toxicidades com elevadas incidências de eventos adversos hematológicos como mielossupressão (anemia, trombocitopenia, neutropenia e neutropenia febril) e eventos adversos não hematológicos como alopecia, ototoxicidade, e neuropatia periférica, o que possivelmente leva à redução da dose de um dos agentes quimioterápicos (DU BOIS et al., 2010; OZOLS, et al., 2003).

O paclitaxel é usado como agente citotóxico desde 1984 quando entrou para estudos clínicos em Fase I, e foi aprovado pela Food And Drug Administration (FDA) em 1992 para o tratamento de câncer de ovário avançado. Este fármaco é um diterpeno natural originalmente isolado da casca da árvore Teixo Pacífico (*Taxus brevifolia*) (HUIZING et al., 1995).

O mecanismo de ação do paclitaxel é bloquear a mitose celular causando a morte celular pela via de estabilização e polimerização dos microtúbulos presentes nos fusos mitóticos celulares, ligando-se à beta tubulina. No entanto, a sua hidrofobicidade é um grande desafio farmacêutico, e a sua formulação é uma dissolução líquida composta pelos excipientes em quantidades de 50% do veículo Cremophor EL (óleo de castor polietoxilado usado como surfactante solubilizante) e 50% do diluente etanol (TEN TIJE et al., 2003).

Apesar da necessidade de solubilizar o paclitaxel no Cremophor EL, este excipiente possui elevada toxicidade, pois não somente altera a farmacocinética e a biodistribuição do paclitaxel, mas resulta em efeitos adversos clínicos como graves reações de hipersensibilidade, nefrotoxicidade e neurotoxicidade, com manifestações de neuropatia

periférica sensorial (GARDNER; DAHUT; FIGG, 2008; KIM et al, 2015; KOUDELKA; TOURÁNEK, 2012; BREWER; MORRISON; DOLAN, 2016). Esses eventos adversos podem ser explicados pelo fato de não haver seletividade e especificidade do quimioterápico em atingir preferencialmente as células tumorais (BREWER; MORRISON; DOLAN, 2016).

Figura 2 - Estrutura química do paclitaxel (adaptado de The Pubchem Project).

Embora as pacientes com câncer de ovário apresentem alta taxa de resposta no tratamento de primeira linha, cerca de 75% têm recidiva da doença dentro de 3 e 5 anos após o tratamento inicial (BURCHIM; JARCHOWSKY-DOLBERG; FISHMAN, 2013). Assim, tratamentos quimioterápicos subsequentes são necessários (HANKER et al., 2012).

Deve-se considerar que algumas pacientes não prosseguem com a terapia subsequente devido à perda das atividades laborais, pelo impacto negativo em suas vidas em consequência das toxicidades na primeira linha de tratamento (DIZON et al., 2012).

A taxa média de sobrevida após o diagnóstico do câncer de ovário recorrente é de 4 a 10 meses (TEMPFER; SOLASS; REYMOND, 2014; HANKER et al., 2012). A recorrência da doença é o momento em que o câncer é detectado em exames de imagem após falhas terapêuticas

anteriores. O tratamento administrado na recorrência é conhecido como tratamento de recorrência tumoral (National Comprehensive Cancer Network, 2013).

O tempo de retorno da doença primária é conhecido como intervalo livre de progressão entre o final do tratamento inicial e a recorrência da doença. A intenção do tratamento na doença recorrente é a promoção de cuidados paliativos, e consiste principalmente em linhas adicionais de quimioterapia, onde as expectativas são de baixa taxa de resposta em comparação à primeira linha de tratamento (LATORRE et al., 2002).

Como segunda linha de tratamento quimioterápico, alguns fatores devem ser considerados como o intervalo livre de progressão, a “performance status” da paciente, sintomas aparentes, histórico de toxicidade do tratamento anterior, existência do escalonamento de dose e o custo do tratamento (RAKOWSKI et al., 2012).

Com o objetivo de otimizar o tratamento em segunda linha de quimioterapia após a recorrência da doença, um consenso realizado em 2010 durante a Conferência do Intergupo de Câncer Ginecológico, classificou 4 subgrupos distintos de câncer de ovário recorrente, baseado no intervalo livre de progressão (STUART et al., 2011).

Pacientes com intervalo livre de progressão maior que 12 meses são classificadas como sensíveis às platinas. Quando esse intervalo está entre 6 e 12 meses, as pacientes são parcialmente sensíveis às platinas. Se o intervalo é menor que 6 meses as pacientes são resistentes às platinas ou ainda, se o intervalo for menor que 4 semanas, as pacientes apresentam doença refratária (FRIEDLANDER et al., 2011).

Fármacos que não são à base das platinas como a doxorubicina lipossomal peguilada, o topotecan, o paclitaxel, a gemcitabina (SHAPIRO et al., 1996), a ciclofosfamida e o etoposídeo oral (MOOSAVI et al., 2004)

administrados como agente único, ou em combinação, são opções para o tratamento recorrente, e demonstraram aumentar a sobrevida das pacientes. Já a reintrodução de regimes terapêuticos com as platinas pode ser eficaz em pacientes classificadas como sensíveis às platinas (MARKMAN et al., 1991).

Embora existam diversas opções de segunda linha de tratamento, há informações limitadas referente à resposta ao tratamento quimioterápico além da segunda linha, ou seja, em terapias subsequentes (BURCHIM; JARCHOWSKY-DOLBERG; FISHMAN, 2013).

Poucas evidências na literatura descrevem os benefícios da terceira linha de tratamento. O estudo de Yoshimaha e colaboradores (2015) reportou que o intervalo livre de tratamento após segunda linha de quimioterapia pode influenciar na sobrevida da paciente no tratamento quimioterápico em terceira linha, embora esse intervalo fosse incerto, devido a casos limitados na literatura (YOSHIHAMA et al., 2015).

Poucos estudos comprovaram as aplicações e a eficácia após a segunda recidiva. A análise exploratória de Hanker e colaboradores (2012), demonstrou que linhas de quimioterapia subsequentes à primeira recidiva apresentam benefício clínico na associação de esquemas quimioterápicos, mas é considerado desafio no remanejamento clínico do paciente (HANKER et al., 2012).

Aos pacientes que progridem a doença em dois regimes consecutivos de quimioterapia sem evidência clínica do benefício do tratamento são oferecidos ou cuidados paliativos com a intensão de promover alívio de dores relacionadas à doença ou ainda a introdução em estudos clínicos (GRZANKOWSKI; CARNEY, 2011).

1.2 Estudo de nanopartículas lipídicas no câncer

Atualmente existe a necessidade crescente em direcionar os fármacos em células tumorais, minimizando a toxicidade e aumentando as possibilidades de resposta terapêutica (WICKI et al., 2015). Essa estratégia farmacológica é conhecida como “drug delivery” e está sendo cada vez mais evidenciada na literatura médica com o desenvolvimento de formulações que são capazes de reduzir os eventos adversos no tratamento com os agentes antineoplásicos (ESTANQUEIRO et al., 2015)

A nanotecnologia está revolucionando o tratamento do câncer e é a nova tendência do tratamento oncológico atual. A nanotecnologia se baseia em dois dos principais componentes: a nanopartícula usada como agente carregador direcionado ao alvo tumoral, e o agente quimioterápico (THAKOR; GAMBHIR, 2013).

Com base nas estratégias em desenvolver um sistema capaz de reduzir a toxicidade e melhorar a farmacocinética e a farmacodinâmica dos agentes quimioterápicos atualmente utilizados na clínica oncológica, e principalmente proporcionar o direcionamento dos agentes ao alvo tumoral, o presente estudo teve a finalidade de tratar em terceira linha de quimioterapia pacientes portadoras de câncer epitelial de ovário.

Foi sugerida a reintrodução no tratamento quimioterápico com o paclitaxel em nova formulação, associado à nanopartícula lipídica desenvolvida e sintetizada por Maranhão e colaboradores em 1993.

A nanopartícula lipídica denominada LDE possui estrutura e composição química semelhante à lipoproteína de baixa densidade (LDL) e foi evidenciada a sua capacidade em mimetizar o metabolismo da lipoproteína (MARANHÃO et al., 1993) (Figura 3).

Figura 3 - Nanopartículas lipídicas da LDL e da LDE. (Adaptado de MARANHÃO et al., 1993)

A LDL é uma nanopartícula com aproximadamente 20 nm de diâmetro composta por um núcleo contendo ésteres de colesterol e triglicerídeos residuais, envoltos pela monocamada de fosfolípides e colesterol livre. A superfície da nanopartícula possui a apolipoproteína B-100 (apo B-100), responsável pela interação e ligação com os receptores de LDL (LDLR). A LDL é responsável pelo transporte do colesterol para os tecidos do organismo (BROWN; GOLDSTEIN, 1986).

A LDE possui aproximadamente 40 nm de diâmetro e após administração endovenosa adquire a apolipoproteína E (apo E) por afinidade ou pela lipólise de outras lipoproteínas que liberam a apo E. Com este conhecimento foi possível concluir que a LDE é reconhecida e captada pelos LDLR na membrana celular, através da endocitose (MARANHÃO et al., 1993; MARANHÃO et al., 1997).

Os LDLR são denominados *coated pit*, e se encontram em regiões específicas nas depressões da membrana celular. Após a interação com as lipoproteínas, essas regiões sofrem invaginação formando vesículas

endocíticas compostas de clatrina, proteína de sustentação da célula, responsável pelo transporte na membrana plasmática. O envoltório de clatrina, então, funde-se com lisossomas, formando endossomas e assim, a lipoproteína é degradada liberando o colesterol que possui função fundamental em processos celulares na produção de hormônios e na síntese de novas membranas celulares (BROWN; GOLDSTEIN, 1986; FIELDING; FIELDING, 1996), principalmente no processo de proliferação celular tumoral (GABITOVA; GORIN; ASTATUROV, 2014).

As células neoplásicas apresentam aumento na expressão de LDLR como consequência da maior demanda de colesterol para a síntese de novas membranas, exigida pela proliferação exacerbada na célula tumoral (HO et al., 1978).

Ho e colaboradores (1978) demonstraram que há superexpressão dos LDLR em células leucêmicas coletadas do sangue periférico de pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA), em comparação com células mononucleares de indivíduos saudáveis. O aumento de receptores nas células neoplásicas é um fenômeno intenso que atinge de 3 a 100 vezes a quantidade de células normais correspondentes. Isso indica que aumenta a remoção plasmática da LDL e reduz a concentração tanto da LDL quanto do colesterol (HO et al., 1978).

A solução para o uso do fenômeno da superexpressão dos LDLR para o direcionamento de agentes antineoplásicos foi descrita por Maranhão e colaboradores (1993) que propuseram o potencial uso da LDE como veículo de quimioterápicos. Em 1992 Hirata e colaboradores demonstraram que a LDE possui maior afinidade pelos LDLR em relação à LDL (HIRATA et al., 1992).

No estudo em pacientes com LMA, verificou-se que a LDE foi removida mais rapidamente nesses pacientes comparando com os pacientes

portadores de leucemia linfóide aguda (LLA), que expressão quantidades normais de LDLR (MARANHÃO et al., 1994).

Por outro lado, após serem tratados com esquemas quimioterápicos convencionais e atingirem remissão completa da doença, a remoção plasmática da LDE tornava-se mais lenta, normalizando-se aos poucos. Foi demonstrado que as células de LMA, contendo quantidades muito maiores de receptores, provocaram a remoção acelerada da LDE (MARANHÃO et al., 1994).

Ressalta-se que as células leucêmicas captaram 70% da LDE injetada, e foi observado em imagens de medicina nuclear obtidas com a LDE marcada com o radioativo Tecnécio^{99m}, indicativas da captação direta da nanoemulsão pela medula óssea infiltrada de células de LMA (MARANHÃO et al., 1994)

Posteriormente, o aumento na captação e na concentração da LDE também foi evidenciado em estudos pilotos conduzidos em pacientes com tumores sólidos de ovário e de mama, onde a LDE se concentrou nos tecidos neoplásicos.

No estudo em pacientes com câncer de ovário, após administração pela via endovenosa, foi comprovada a captação da LDE dez vezes maior no tecido neoplásico do que no tecido de ovário normal contralateral (ADES et al., 2001). E no estudo em pacientes com câncer de mama, a captação foi 4,5 vezes maior no tecido tumoral que no tecido mamário normal também contralateral (GRAZIANI et al., 2002). Esses estudos foram realizados com a LDE marcada com o radioisótopo Tecnécio^{99m} e as imagens obtidas foram visualizadas através do exame de cintilografia. Portanto, esses experimentos vieram a sugerir a possibilidade de direcionamento, por via endovenosa, da LDE como veículo lipídico para o tecido neoplásico.

Nos anos seguintes, os estudos mais importantes que fortaleceram a hipótese do direcionamento da LDE foram desenvolvidos com os quimioterápicos carmustina (MARANHÃO et al., 2002), paclitaxel (DIAS et al., 2007; RODRIGUES et al., 2002; RODRIGUES et al., 2005;) e etoposídeo (AZEVEDO et al., 2005; LO PETRE et al., 2006; PINHEIRO et al., 2006; VALDUGA et al., 2003).

A carmustina é um fármaco lipofílico e a sua associação com a LDE apresentou diminuição dos efeitos adversos quando pacientes com câncer em estádios avançados foram tratados com o escalonamento de dose, recebendo até o dobro da dose convencional. Foi demonstrada também a eficácia no efeito antitumoral com importante melhora na qualidade de vida dos pacientes (MARANHÃO et al., 2002).

Em pacientes com mieloma múltiplo ainda não tratados com quimioterapia convencional foi possível avaliar a ação terapêutica do complexo LDE-carmustina, com melhora clínica dos 6 pacientes e redução de mais de 60% dos níveis do biomarcador de progressão da doença, a imunoglobulina M, sem a evidência de eventos adversos importantes observados (HUNGRIA et al., 2004).

Com a exceção da carmustina que é lipofílica, os outros quimioterápicos foram modificados quimicamente com a finalidade de se tornarem lipofílicos para melhor incorporação na LDE. O paclitaxel foi transformado no derivado oleato de paclitaxel e a sua associação com a nanopartícula demonstrou boa estabilidade sem a redução da ação citotóxica do fármaco (RODRIGUES et al., 2005).

Dias e colaboradores em 2007 demonstraram que pacientes com tumores ginecológicos de ovário, endométrio e cérvix uterino, a captação da LDE-paclitaxel pelos tecidos tumorais foi 3,5 vezes maior que nos respectivos tecidos normais (DIAS et al., 2007).

Quando essa associação foi estudada em pacientes com câncer de mama submetidas à mastectomia, a concentração da LDE foi 3 vezes maior no tecido tumoral comparado com o tecido normal, além de melhorar a farmacocinética do paclitaxel, em comparação com a formulação comercial (PIRES et al., 2009). Além disso, neste mesmo estudo piloto foi demonstrado que pacientes com câncer de mama refratárias a quimioterapia convencional e tratadas com a LDE-paclitaxel, o perfil de toxicidade foi extremamente baixo (PIRES et al., 2009).

2. OBJETIVOS

- Avaliar o tratamento e as toxicidades laboratoriais e clínicas da associação do paclitaxel à LDE em pacientes com câncer de ovário avançado e resistentes à quimioterapia convencional.
- Identificar a expressão dos LDLR em tecidos tumorais.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Casuística

Foram selecionadas 14 pacientes do ambulatório do Serviço de Oncologia Clínica do Instituto do Câncer Dr. Arnaldo Vieira de Carvalho (ICAVC) na cidade de São Paulo, local onde foram realizados o tratamento e o acompanhamento das pacientes, entre julho de 2012 e novembro de 2013.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do ICAVC em março de 2011, sob número 218/09. Todas as pacientes foram devidamente esclarecidas e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes do tratamento (TCLE).

3.2 Critérios de Inclusão

Os critérios adotados para a inclusão das pacientes neste estudo foram:

- Idade entre 18 a 80 anos;
- Diagnóstico histológico de câncer epitelial de ovário com metástase peritoneal;
- Estadiamento clínico IV e TqNqM1 (Anexos A e B);
- Doença mensurável;
- “Performance status” de 0 a 2 classificado pelo Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) (Anexo C);
- Ter recebido tratamento anterior com duas linhas de quimioterapia, sem a comprovação da evidência clínica do benefício, com segunda recidiva da doença;

- Resistentes ao tratamento anterior com platina.

3.2.1. Dados Clínicos das pacientes

Os dados clínicos das pacientes como idade (61 ± 10 anos), estadiamento, tipo histológico tumoral e tratamentos de primeira e segunda linhas quimioterápicas estão na Tabela 1.

Tabela 1. Idade e dados clínicos das pacientes.

Paciente	Idade	Estadiamento no Diagnóstico	Tipo histológico	Tratamento anterior com primeira linha	Tratamento anterior com segunda linha
1	54	IV TqNqM1	Carcinoma Papilífero Seroso	Carboplatina e Paclitaxel	Gemcitabina
2	55	IV TqNqM1	Carcinoma Papilífero Seroso	Carboplatina e Paclitaxel	Gemcitabina
3	52	IV TqNqM1	Carcinoma Papilífero Seroso	Carboplatina e Paclitaxel	Gemcitabina
4	73	IV TqNqM1	Carcinoma Papilífero Seroso	Carboplatina e Paclitaxel	Doxorrubicina Lipossomal
5	52	IV TqNqM1	Carcinoma Papilífero Seroso	Carboplatina e Paclitaxel	Gemcitabina
6	58	IV TqNqM1	Carcinoma Papilífero Seroso	Carboplatina e Paclitaxel	Doxorrubicina Lipossomal
7	76	IV TqNqM1	Carcinoma Papilífero Seroso	Carboplatina e Paclitaxel	Doxorrubicina Lipossomal
8	71	IV TqNqM1	Carcinoma Papilífero Seroso	Carboplatina e Paclitaxel	Gemcitabina
9	69	IV TqNqM1	Carcinoma Papilífero Seroso	Carboplatina e Paclitaxel	Gemcitabina
10	64	IV TqNqM1	Carcinoma Papilífero Seroso	Carboplatina e Paclitaxel	Gemcitabina
11	76	IV TqNqM1	Carcinoma Papilífero Seroso	Carboplatina e Paclitaxel	Doxorrubicina Lipossomal
12	59	IV TqNqM1	Carcinoma Papilífero Seroso	Carboplatina e Paclitaxel	Gemcitabina
13	44	IV TqNqM1	Carcinoma Endometrióide	Carboplatina e Paclitaxel	Gemcitabina
14	57	IV TqNqM1	Carcinoma Endometrióide	Carboplatina e Paclitaxel	Doxorrubicina Lipossomal

3.3 Critérios de Exclusão

Foram estabelecidos os seguintes critérios de exclusão:

- Metástase cerebral;
- Gravidez ou lactação;
- Arritmia cardíaca grave;
- Infecções ativas;
- Icterícia;
- Insuficiência renal aguda ou crônica;
- Infarto agudo do miocárdio há pelo menos 3 meses;
- Acidente vascular cerebral há pelo menos 6 meses.

3.4 Protocolo Experimental

3.4.1 Plano de Tratamento

As pacientes receberam o esquema de quimioterapia por via endovenosa contendo a LDE- Paclitaxel na dose convencional indicada para o câncer de ovário avançado de 175 mg/m^2 de superfície corpórea, diluída em Solução Fisiológica 0,9%, a cada 3 semanas, durante 6 ciclos. O tratamento foi interrompido e as pacientes excluídas do protocolo quando houvesse a manifestação de toxicidades indesejáveis ou a progressão da doença.

Com finalidade profilática reduzindo possíveis eventos adversos de náusea e vômito antecipatórios, cada paciente recebeu a combinação de

pré-medicações contendo medicamentos anti-hemético e corticoide, por via endovenosa, antes da infusão da quimioterapia.

3.4.2 Avaliação da resposta clínica ao tratamento

A avaliação da resposta clínica foi baseada nos Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos (RECIST, versão 1.1, 2009. Anexo D). Estes critérios consistem em avaliar as lesões mensuráveis (lesões tumorais com tamanhos entre 10-20 mm e a presença de linfonodos malignos maiores que 15 mm) e as lesões não mensuráveis (lesões tumorais com tamanhos menores que 10 mm, assim como linfonodos malignos com tamanhos menores que 15 mm, presença de ascite peritoneal, efusão pleural e pericardial, e inflamação), durante o período de execução do estudo clínico.

A avaliação se baseou nos exames de tomografia computadorizada e ultrassonografia da cavidade abdominal, com a finalidade de observar a evolução, acompanhamento e surgimento de possíveis novas lesões ou metástase.

A sobrevida livre de progressão, correspondendo ao período do início do tratamento até a progressão da doença (DEVITA; LAWRENCE; ROSENBERG, 2011) também foi avaliada.

3.4.3 Avaliação das toxicidades hematológica e os lipídeos plasmáticos

As amostras de sangue das pacientes foram coletadas no dia inicial do tratamento quimioterápico e antes de cada ciclo de quimioterapia realizado. Em seguida, o material foi enviado ao Laboratório de Análises Clínicas do ICAVC para mensuração dos parâmetros bioquímicos.

A avaliação da toxicidade hematológica com os indicadores bioquímicos: hemoglobina, neutrófilos, leucócitos, contagem das plaquetas, uréia, creatinina, aspartato aminotransferase (TGO) e alanina aminotransferase (TGP) foi baseada segundo a graduação de toxicidade pelo Critério Comum de Terminologia de Toxicidade de Eventos Adversos (CTCAE- Department of Health & Human Services, versão 4.0, 2009, National Cancer Institute, USA).

Os lipídeos plasmáticos também foram mensurados. Para tanto, os indicadores bioquímicos foram o colesterol total e a lipoproteína de baixa densidade (LDL).

3.4.4 Avaliação da toxicidade clínica

No momento da consulta com o médico oncologista, para a avaliação clínica e indicação de ciclos subsequentes, os parâmetros de avaliação da toxicidade clínica foram a ocorrência de:

- Reações de hipersensibilidade;
- Alopecia;
- Fadiga;
- Náusea e/ou vômito;
- Mialgia;

- Cefaléia e dor;
- Neuropatia periférica.

3.5 Nanopartícula lipídica associada ao quimioterápico paclitaxel

3.5.1 Síntese e modificação química do paclitaxel

A síntese do paclitaxel ocorreu em duas etapas a partir da adaptação do método de Lundberg e colaboradores (1994) que se segue (LUNDBERG et al, 1994):

Foram dissolvidos 378 mg (1,34 mmol) de ácido oléico em diclorometano e adicionados 35 uL (4,02 mmol) de cloreto de oxalila dissolvido em diclorometano, sob atmosfera de nitrogênio. O solvente foi seco e o produto imediatamente utilizado.

O cloreto de oleíla preparado foi dissolvido em 10 mL de acetonitrila anidra em temperatura ambiente; em seguida foi rapidamente adicionada sobre esta solução uma mistura de 1 g (1,11 mmol) de paclitaxel e 32 uL (3,17 mmol) de trietilamina dissolvidos em 50 mL de acetonitrila anidra. Deixou-se sob agitação por 45 minutos. A fase orgânica foi lavada com solução de HCl 0,5N, em seguida com água e, por último, com uma solução de cloreto de sódio saturada.

O produto foi seco com sulfato de magnésio e filtrado posteriormente. O solvente foi removido em rotaevaporador. Ao sólido ligeiramente amarelado obtido foi adicionada lentamente uma mistura de 1:10 de diclorometano/hexano, sob agitação. O precipitado branco (paclitaxel modificado) foi filtrado e lavado com hexano anidro e seco a vácuo.

3.5.2 Preparo da nanopartícula lipídica associada ao paclitaxel

De acordo com a técnica descrita por Maranhão et al (1993), a LDE foi preparada em um frasco de vidro adicionando 40 mg de fosfatidilcolina (Lipoid, Ludwigshafen, Germany), 20 mg de oleato de colesterol (Alfa Aesar, Harverhill, MA), 1,0 mg de triglicerídeos e 0,5 mg de colesterol (Fabrichem, Trumbull, Connecticut).

O fármaco paclitaxel modificado foi associado à nanopartícula em razão de massa lípides: fármaco, na proporção de 10:1.

A emulsificação dos lípides foi iniciada adicionando-se solução tampão Tris-HCl (0,001 M e pH 8,05), e o agente tensoativo Tween 80® (Merck, Hohenbrum, Alemanha) no equipamento homogeneizador de alta pressão Microfluidizer-M110S (Microfluidics™, EUA).

A homogeneização ocorreu entre 30 e 40 minutos em temperatura constante (55-60°C). A nanopartícula foi esterilizada em filtro Milipore® de 0,22 µm e armazenada a 4°C. A denominação da associação do paclitaxel à nanopartícula foi LDE-paclitaxel.

A quantificação da associação da LDE-paclitaxel foi determinada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) (Shimadzu LC10A - Shimadzu, Columbia, ML).

3.6 Ensaio de imunohistoquímica para os receptores de LDL (LDLR e LRP-1)

Para o ensaio de imunohistoquímica, os fragmentos de tecidos tumorais foram seccionados em cortes para confecção das lâminas. A desparafinização dessas lâminas consistiu em três banhos de xilol por 10 minutos cada, seguidos de banhos com concentrações decrescentes de

etanol, sendo 3 etanóis absoluto, 2 de etanol 95% e um de etanol 75%. As lâminas foram então lavadas com água corrente. Para o antígeno LRP-1, a recuperação antigênica foi realizada por calor úmido e pressão em câmara de pressão Pascal (Dako, Carpinteria, EUA) com tampão citrato 10 mM pH 6,0. Para o antígeno LDLR, não foi necessário proceder a recuperação antigênica. A atividade da peroxidase endógena foi bloqueada com 4 banhos de 5 minutos com peróxido de hidrogênio a 3%. O bloqueio de reações inespecíficas foi realizado com soro fetal bovino durante 1 hora em estufa umidificada a 37° C. Em seguida, as lâminas foram incubadas por 18 horas a 4°C com os anticorpos primários anti-LRP-1 (Calbiochem, Darmstadt, Alemanha) e anti-LDLR (LifeSpan, Seattle, EUA), nas titulações 1:50 e 1:400, respectivamente.

Os sistemas de detecção foram polímeros Envision (Dako, Carpinteria, EUA) para o anticorpo anti-LRP-1 e SuperPicture (Dako, Carpinteria, EUA) para o anticorpo anti-LDLR. A reação foi revelada com diaminobenzidina (DAB) (Dako, Carpinteria, EUA) e contra corado com Hematoxilina de Harris. Para a captura das imagens, foi utilizado o microscópio óptico equipado com o software Leica® (Leica Q500 iW e Leica DMLS, Leica Imaging Systems LTD., Cambridge, Reino Unido).

3.7 Análise Estatística

A sobrevida livre de progressão de doença foi calculada no software do programa GraphPad Prism® versão 5.00 para Windows (GraphPad Software, San Diego, California, USA).

4. RESULTADOS

Foi realizado o total de 74 ciclos e as pacientes apresentaram evolução no tratamento em tempos diferentes, conforme apresenta a Figura 4. Nas pacientes 2, 3, 4 e 13, a evolução foi mais prolongada, pois receberam mais ciclos de quimioterapia e dentre essas, as pacientes 2, 4 e 13 atingiram mais de 10 meses de tratamento.

Figura 4 - Evolução do tratamento com a LDE-paclitaxel.

A Tabela 2 apresenta a resposta clínica do tratamento. Das 14 pacientes, quatro apresentaram doença estável. Nas outras 10 pacientes houve progressão da doença.

As quatro pacientes com doença estável são as mesmas que receberam mais ciclos de quimioterapia.

E a análise da sobrevida livre de progressão da doença obtivemos a mediana de 3 meses, apresentada na Figura 5.

Tabela 2 - Resposta clínica do tratamento.

Paciente	Resposta pelo RECIST
1	Progressão da doença
2	Doença Estável
3	Doença Estável
4	Doença Estável
5	Progressão da doença
6	Progressão da doença
7	Progressão da doença
8	Progressão da doença
9	Progressão da doença
10	Progressão da doença
11	Progressão da doença
12	Progressão da doença
13	Doença Estável
14	Progressão da doença

Tempo (meses)	2	3	4	6	9	10	20	36
Nº pacientes	2	6	1	1	1	1	1	1

Figura 5 - Sobrevida livre de Progressão da doença.

Ao avaliar a toxicidade hematológica, observamos que não houve alterações nos perfis hematológico (Tabelas 3, 4, 5 e 6), renal (Tabelas 7 e 8) e hepático (Tabelas 9 e 10) que caracterizassem eventos adversos, de acordo com a classificação do CTCAE. Dessa forma, a toxicidade hematológica foi classificada como grau zero.

A análise dos lipídeos plasmáticos foi realizada nas pacientes com resposta de doença estável no tratamento (pacientes 2, 3, 4 e 13). Observamos que houve aumento nos níveis de colesterol total e LDL durante o tratamento quimioterápico nas pacientes 3, 4 e 13, conforme as Figuras 6 e 7.

Durante a avaliação clínica, não houve manifestações de reações de hipersensibilidade no momento da infusão da LDE-paclitaxel, e nem a ocorrência de neuropatia periférica, alopecia, mialgia, cefaléia e dor. A náusea e o vômito também não foram observados no decorrer do tratamento. Portanto, a incidência de toxicidade clínica também foi classificada como grau zero.

Tabela 3 - Contagem da hemoglobina (g/dL).

	Ciclos de quimioterapia														
	Pré	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Paciente 1	10	11	10												
Paciente 2	12	13	12	13	13	13	14	13	14	14	14				
Paciente 3	13	15	14	12	13	13	13	13	12						
Paciente 4	12	14	15	14	15	15	16	15	15	16	16	15	14	15	
Paciente 5	13	13	14												
Paciente 6	12	11	13	11											
Paciente 7	13	12	13	13											
Paciente 8	10	12	11												
Paciente 9	11	12	11	11	11	12									
Paciente 10	10	11	11	11											
Paciente 11	12	12	13	13											
Paciente 12	12	13	12	12	11										
Paciente 13	12	11	11	12	11	12	11	11	12	12	11	11	12	10	11
Paciente 14	11	10	10												

Valor de referência: 12 a 15g/dL.

Tabela 4 - Contagem dos neutrófilos (k/L).

	Ciclos de quimioterapia														
	Pré	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Paciente 1	2037	3423	2730												
Paciente 2	3752	3599	4433	4459	4485	4472	4843	5214	5530	4830	6074				
Paciente 3	4752	4825	5040	4350	4992	6955	5964	6985	7104						
Paciente 4	2052	2948	2992	3317	1755	2474	4464	1714	3458	3548	3299	2278	3283	5052	
Paciente 5	2378	2916	5394												
Paciente 6	1888	2889	2388	2638											
Paciente 7	1398	2861	3557	3452											
Paciente 8	2329	4398	3145												
Paciente 9	2548	2530	2950	2754	5772	4263									
Paciente 10	2179	4099	4151	7345											
Paciente 11	3147	3652	4836	5010											
Paciente 12	6164	6432	7512	7732	8132										
Paciente 13	5300	4028	5850	4275	3976	5073	4617	4902	4558	5472	5160	5841	6695	7930	7490
Paciente 14	5050	7232	7225												

Valores de referência: 1.700 a 8.000 k/L

Tabela 5 - Contagem dos leucócitos (k/L).

	Ciclos de quimioterapia														
	Pré	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Paciente 1	3700	5340	4520												
Paciente 2	5600	6100	6100	6600	6500	6264	6042	6600	7000	6900	8400				
Paciente 3	7200	7910	9000	7500	7800	10100	8400	10100	9300						
Paciente 4	2940	3900	4460	4900	3250	4010	6490	3180	4990	5460	4910	3390	5130	6710	
Paciente 5	5800	5400	8700												
Paciente 6	8200	7700	6400	8000											
Paciente 7	3040	5020	5310	5320											
Paciente 8	3767	7270	4945												
Paciente 9	5820	5200	5500	5900	5100	7400									
Paciente 10	3700	5540	5930	6800											
Paciente 11	5650	6690	8066	7780											
Paciente 12	9200	9600	10200	10200	10100										
Paciente 13	6700	7600	9000	7500	7100	8900	8100	8600	8600	9600	8600	9900	10100	10000	10200
Paciente 14	7230	8930	8540												

Valor de referência: 3.500 a 10.000 k/L.

Tabela 6 - Contagem das plaquetas (mil/mm³).

	Ciclos de quimioterapia														
	Pré	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Paciente 1	389	261	415												
Paciente 2	224	217	184	222	239	227	202	187	208	207	202				
Paciente 3	249	145	211	253	294	245	368	377	436						
Paciente 4	312	148	140	146	139	127	131	133	135	184	140	144	148	146	
Paciente 5	343	108	206												
Paciente 6	446	321	407	402											
Paciente 7	160	220	105	125											
Paciente 8	339	261	161												
Paciente 9	207	171	203	249	191	223									
Paciente 10	160	353	334	308											
Paciente 11	217	210	270	375											
Paciente 12	363	259	238	282	289										
Paciente 13	258	177	148	140	307	124	227	153	151	174	236	197	230	143	224
Paciente 14	311	379	402												

Valor de referência: 150 a 400 mil/mm³.

Tabela 7 - Contagem da uréia (mg/dL).

	Ciclos de quimioterapia														
	Pré	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Paciente 1	34	33	34												
Paciente 2	40	41	41	36	32	34	35	42	29	31	39				
Paciente 3	30	24	30	17	19	26	19	23	21						
Paciente 4	21	25	27	27	24	21	22	28	22	27	28	25	23	30	
Paciente 5	33	24	38												
Paciente 6	20	36	42	41											
Paciente 7	35	31	38	27											
Paciente 8	28	27	23												
Paciente 9	33	35	20	25	28	38									
Paciente 10	34	42	34	40											
Paciente 11	44	41	36	41											
Paciente 12	38	27	38	29	21										
Paciente 13	15	26	30	30	33	36	33	27	27	25	27	26	31	35	32
Paciente 14	22	23	28												

Valor de referência: 10 a 40 mg/dL.

Tabela 8 - Contagem da creatinina (mg/dL).

	Ciclos de quimioterapia														
	Pré	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Paciente 1	0,7	0,7	0,7												
Paciente 2	0,9	1,1	0,9	1	0,9	0,7	0,8	0,8	1	0,7	0,9				
Paciente 3	0,8	0,7	1,1	1	0,9	1,2	1,2	1,2	1,2						
Paciente 4	0,6	0,4	0,6	0,6	0,8	0,7	0,6	0,7	0,8	0,8	0,7	0,8	0,6	0,9	
Paciente 5	1	1	1												
Paciente 6	0,6	0,9	1	1,3											
Paciente 7	1,0	1	1	1											
Paciente 8	0,7	0,8	0,6												
Paciente 9	1	0,9	0,9	0,9	1,1	1,3									
Paciente 10	1,2	1,1	1	1,2											
Paciente 11	1	1,1	1	1,1											
Paciente 12	0,8	0,7	0,9	0,9	0,7										
Paciente 13	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	1	1
Paciente 14	0,7	1	0,8												

Valor de referência: 0,7 a 1,2 mg/dL.

Tabela 9 - Valores da TGO (U/L).

	Ciclos de quimioterapia														
	Pré	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Paciente 1	17	16	17												
Paciente 2	20	19	23	21	19	24	23	19	25	16	20				
Paciente 3	19	25	21	21	16	18	20	24	19						
Paciente 4	14	15	15	16	14	13	16	17	17	23	17	18	16	16	
Paciente 5	33	21	26												
Paciente 6	11	16	17	15											
Paciente 7	19	33	19	19											
Paciente 8	16	15	16												
Paciente 9	14	13	17	13	14	15									
Paciente 10	13	10	10	12											
Paciente 11	13	12	12	15											
Paciente 12	20	21	23	25	35										
Paciente 13	17	16	18	16	15	14	14	14	17	17	13	14	19	23	19
Paciente 14	21	28	57												

Valor de referência: 12 a 46 U/L.

Tabela 10 - Valores da TGP (U/L).

	Ciclos de quimioterapia														
	Pré	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Paciente 1	12	27	20												
Paciente 2	24	23	29	33	27	30	37	22	32	21	27				
Paciente 3	16	25	21	17	15	17	17	18	18						
Paciente 4	11	9	10	11	10	11	10	9	10	9	9	9	7	9	
Paciente 5	49	27	32												
Paciente 6	10	14	17	14											
Paciente 7	17	17	14	13											
Paciente 8	9	10	8												
Paciente 9	15	15	15	18	10	14									
Paciente 10	5	6	6	4											
Paciente 11	18	8	6	10											
Paciente 12	10	11	16	11	23										
Paciente 13	23	15	15	16	15	13	13	12	14	14	16	12	17	17	12
Paciente 14	18	48	22												

Valor de referência: 3 a 50 U/L.

Figura 6 – Níveis plasmáticos de colesterol total.

Figura 7 – Níveis plasmáticos de LDL.

A Figura 8 demonstra a expressão dos receptores de LDL (LDLR e LRP-1). O ensaio foi realizado com tecido tumoral de 4 pacientes e todas apresentavam o tipo histológico de carcinoma papilífero seroso, com tumor primário em ovário (C e F). Existia a infiltração de carcinoma de ovário em tecidos e órgãos adjacentes em duas amostras de tubas uterinas direita (D e G), uma amostra de omento (H), uma amostra de segmento de intestino grosso (B), uma amostra grande epíplon (E) e uma amostra de peritônio (A).

Figura 8 - Imunohistoquímica da expressão dos receptores de LDL (LDLR e LRP-1) no tecido tumoral de ovário e tecidos com infiltração tumoral adjacentes. A corresponde ao tecido de peritônio da paciente 3. B corresponde ao tecido de segmento de intestino grosso da paciente 4. C, D e E correspondem aos tecidos de ovário direito, tuba uterina direita e grande epíplon, respectivamente, da paciente 7. F, G e H correspondem aos tecidos de ovário direito, tuba uterina direita e omento, respectivamente, da paciente 11. (400X).

5. DISCUSSÃO

O câncer de ovário está entre as neoplasias ginecológicas de maior mortalidade em mulheres (National Cancer Institute, 2016). Quando diagnosticado encontra-se em estádios avançados da doença, com a metástase em tecidos e órgãos adjacentes, sendo a cavidade peritoneal o principal alvo de proliferação de tumor secundário. Apresentam alta taxa de recorrência da doença e sabe-se que é tumor quimiosensível a múltiplas linhas de quimioterapia (AGARWAL; KAYE, 2003).

Todas as pacientes do presente estudo realizaram cirurgia citorrredutora e foram expostas ao paclitaxel associado a carboplatina no tratamento de primeira linha. Dentro de um período de 6 meses, com a progressão da doença, apresentaram a primeira recorrência, e assim classificadas como resistentes às platinas. Com o intuito de prosseguir com os tratamentos disponíveis, as pacientes receberam segunda linha de quimioterapia com a gemcitabina ou a doxorrubicina liposomal, conforme a padronização internacional na clínica oncológica.

As pacientes não foram responsivas ao tratamento de segunda linha de quimioterapia, pois apresentaram toxicidades e novamente progressão da doença, com a segunda recidiva. Neste caso, as opções terapêuticas foram limitadas sem que houvesse indicação ao tratamento quimioterápico subsequente.

Há poucos relatos na literatura que se referem à indicação ou uniformidades em protocolos de terceira linha ou mais de quimioterapia em pacientes com câncer de ovário em estágio avançado e mais de uma recorrência da doença.

Ao analisarmos o estudo de Bruchim e colaboradores em 2013 cujo objetivo era quantificar as linhas do tratamento quimioterápico em pacientes com câncer epitelial de ovário, 76 pacientes apresentava o tipo histológico papilífero seroso, assim como o presente estudo, e também estavam em estágio avançado da doença (BRUCHIM et al., 2013).

Neste mesmo estudo, 27 pacientes eram resistentes às platinas e receberam tratamento além da segunda linha. Das que receberam três linhas de quimioterapia, 84% progrediram a doença e a sobrevida livre de progressão foi de 6 semanas. Os quimioterápicos indicados na terceira linha de maior frequência foram o topotecan e o paclitaxel. O estudo de Bruchim e colaboradores (2013), não avaliou a incidência de toxicidade no tratamento quimioterápico.

O estudo retrospectivo de Tangjitgamol e colaboradores (2004) avaliou as taxas de resposta clínica e a sobrevida das pacientes que receberam terceira linha de quimioterapia. A maioria das pacientes apresentava tipo histológico de carcinoma seroso. Elas foram tratadas com segunda linha de quimioterapia e progrediram a doença entre 1 e 2 meses, sem a comprovação clínica do benefício terapêutico. O quimioterápico indicado foi a doxorrubicina lipossomal e o número de ciclos de tratamento foi entre 1 a 19 (TANGJITGAMOL et al., 2004).

A taxa de resposta ao tratamento quimioterápico de terceira linha foi inferior à segunda linha e as pacientes progrediram a doença. Neste estudo, os autores indicam o tratamento paliativo para o alívio de sintomas relacionados à doença em estádios avançados (TANGJITGAMOL et al., 2004).

Com o tratamento proposto com a LDE-paclitaxel não houve resposta clínica objetiva, pois a maioria das pacientes apresentou progressão da doença, e a sobrevida livre de progressão foi de 3 meses. É importante ressaltar a ausência

das toxicidades clínicas e laboratoriais durante o tratamento, o que caracterizou boa tolerabilidade pelas pacientes, pois se deve considerar que houve nova exposição ao quimioterápico paclitaxel. Este resultado está de acordo com o estudo de Fase I no qual pacientes com tumores sólidos tratados com LDE-carmustina também não apresentaram toxicidade no tratamento (Maranhão et al., 2002), visto que o uso da carmustina na clínica oncológica é limitante devido à alta taxa de toxicidade cumulativa. Assim como no estudo piloto de Pires e colaboradores (2009) não houve toxicidade relatada em pacientes com câncer de mama tratadas com a LDE-paclitaxel (PIRES et al., 2009)

No cenário atual do tratamento para o câncer de ovário em estádios avançados, existem alguns estudos clínicos reportados na literatura que são conduzidos para o tratamento em primeira linha da doença avançada ou em segunda linha com a doença recidivada ou sensível ao tratamento quimioterápico anterior (CHUNG; LEE, 2016).

Nesses estudos há a adição de fármacos associados ao esquema quimioterápico padronizado, como por exemplo, o bevacizumab cujo alvo molecular é o receptor de fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR) (GARCIA; SINGH, 2013) com o uso em primeira linha de tratamento, e o olaparib cujos alvos moleculares são as enzimas que atuam no reparo do DNA (OZA et al., 2015), na segunda linha de quimioterapia.

O perfil de toxicidade grave foi elevado com o uso do bevacizumab, se manifestando principalmente em perfuração gastrointestinal. O tratamento com este anticorpo monoclonal demonstrou sobrevida livre de progressão da doença de 4 meses. Além do mais, não existem estudos publicados do bevacizumab na doença resistente à platina e também na indicação do uso do fármaco em terceira linha de quimioterapia.

O olaparib, cujo mecanismo de ação é inibir a polimerase poliadenosina difosfato ADP-ribose (PARP) (ASHWORTH, 2008) foi estudado em

pacientes com tipo histológico seroso com ou sem mutações nos genes BRCA 1 e BRCA 2, e sensíveis às platinas após primeira linha de quimioterapia. O esquema terapêutico do estudo foi associar o olaparib na combinação de quimioterapia ou em terapia de manutenção, comparado com a quimioterapia convencional. Como já era conhecido o perfil de toxicidade do olaparib, principalmente a ocorrência de mielossupressão, as doses foram reduzidas e a sobrevida livre de progressão foi de 2,6 meses a mais no tratamento da associação da quimioterapia convencional com o inibidor de polimerase (OZA et al., 2015). Assim como o bevacizumab, não há evidência clínica na indicação do olaparib em pacientes resistentes às platinas, tão pouco no uso em terceira linha de quimioterapia.

Por outro lado, no tratamento de terceira linha de quimioterapia também foi estudado o sorafenib, outro fármaco inibidor de VGFR, sendo que a via de administração foi a oral. Onze pacientes com câncer de ovário foram incluídas e a sobrevida livre de progressão da doença foi de 2 meses com mediana de 2 ciclos de tratamento. As principais toxicidades hematológicas que ocorreram nas pacientes foram neutropenia, leucopenia e anemia, além de grave síndrome de mão-pé. Toxicidade não hematológica grau 1 e 2 de rash cutâneo, diarreia, artrite e mucosite também ocorreram (BODNAR; GÓRNAS; SZCZYLAŁ, 2011).

As pacientes do presente estudo foram diagnosticadas com faixa etária entre 45 e 76 anos, dentre elas, cinco tinham mais de 65 anos. Essa faixa etária é de maior prevalência nos casos diagnosticados em estádios avançados da doença na população feminina (National Cancer Institute, 2016).

Na literatura existem poucos estudos clínicos que incluem mulheres idosas, avaliando a eficácia e a toxicidade do tratamento. Dessa forma, a falta de informações publicadas dificulta ainda mais as possibilidades de tratamento nesta população de pacientes, pois elas são mais propensas à elevadas incidências de toxicidades e à baixas respostas clínicas no tratamento (AHMED, 2015).

Sabe-se também que a idade está associada com o declínio acentuado na sobrevida global, sendo fator prognóstico independente (JOSEPH et al., 2015). A principal razão para isso é incerta, mas as possibilidades incluem o diagnóstico tardio, os tratamentos quimioterápicos anteriores e a carcinogênese (TROSOSANDOVAL; LICHTMAN, 2015).

No presente estudo observamos que a paciente 4, com 73 anos na época da inclusão no protocolo, é a única que está viva até a presente data e foi uma das quais apresentou melhor evolução no tratamento recebendo 13 ciclos de quimioterapia, sem a evidência de toxicidades clínicas e laboratoriais relatadas. Este dado está em contrapartida com um estudo realizado pelo Grupo de Oncologia Ginecológica em 2011, no qual pacientes idosas que também foram expostas ao paclitaxel, receberam apenas 6 ciclos de quimioterapia (HURRIA et al., 2011).

A veiculação da LDE ao quimioterápico paclitaxel substitui o Cremophor EL, responsável pelas altas incidências de toxicidade da quimioterapia, como reações de hipersensibilidade no momento da infusão e sintomas graves neurotóxicos, como neuropatia periférica que contribui para o impacto negativo na qualidade de vida das pacientes, interferindo nas atividades laborais do dia a dia.

Além do mais, o paclitaxel foi modificado quimicamente, tornando-o lipofílico, para que fosse viável e possível a sua incorporação na nanopartícula, o que justifica o desnecessário uso do Cremophor EL na formulação do quimioterápico paclitaxel.

Podemos também afirmar que é a primeira vez já reportada do tratamento alternativo aos convencionais indicados para o câncer de ovário em estádios avançados, com o objetivo de avaliar a resposta terapêutica em terceira linha de quimioterapia, onde se observou ausência de toxicidades laboratoriais e clínicas.

No presente estudo ao analisarmos os níveis de lipídeos plasmáticos observamos que houve aumento no colesterol total e na LDL em 3 das 4 pacientes avaliadas. Este resultado está de acordo com o estudo clínico piloto realizado por Hungria e colaboradores em 2004, onde sete pacientes com mieloma múltiplo foram tratados com a LDE-carmustina e os níveis de colesterol total aumentaram durante o tratamento (HUNGRIA et al., 2004).

O ensaio de imunohistoquímica foi realizado com o objetivo de ilustrar o direcionamento da LDE-paclitaxel no câncer epitelial de ovário, pois se trata da expressão dos receptores de LDL, em amostras de tecido tumorais obtidas antes do tratamento convencional padrão e com a LDE-paclitaxel. Este ensaio foi válido para comprovar o direcionamento da nanopartícula aos tecidos tumorais, principalmente em tecidos metastáticos na cavidade intraperitoneal, visto que na literatura há relatos confirmando que essa é a principal via de metastatização e disseminação tumoral no câncer de ovário (AUST; PILS, 2014).

É plausível também uma justificativa pela ausência de toxicidade com o direcionamento da nanopartícula para o tecido tumoral, evitando danos aos tecidos normais. Neste experimento foram avaliados os receptores de LDL, o LDLR e o LRP-1, sendo este o receptor de transmembrana da família dos receptores de LDL. Na literatura há relatos de superexpressão do LRP-1 em vários tipos de câncer, como em câncer de mama e próstata, além de possuir um papel significativo na carcinogênese e na progressão tumoral, induzindo a proliferação, migração e invasão celular tumoral (LIN; HU, 2014).

A expressão dos receptores LDLR e LRP-1 também foi estudada por Pires e colaboradores (2012), onde pacientes com câncer de mama apresentavam a expressão de ambos receptores no tecido tumoral, anteriormente ao tratamento neoadjuvante com quimioterapia convencional (PIRES et al., 2012).

Pelo fato da LDE-paclitaxel ser considerada nanotecnologia, na literatura encontramos outros estudos clínicos com preparações contendo o paclitaxel como agente quimioterápico, também indicadas para o câncer de ovário avançado e refratário ao tratamento quimioterápico anterior. Essas preparações compreendem a veiculação do paclitaxel com a proteína sérica albumina e a associação à nanopartículas poliméricas.

O paclitaxel veiculado à albumina é conhecido como “nanoparticle albumin bound paclitaxel”. Na sua formulação possui a albumina humana, e pelo método de homogeneização permite a solubilização do paclitaxel em água. É nanopartícula que possui tamanho de partícula de aproximadamente 130 nm e apresenta vantagem pelo uso desnecessário do Cremophor EL (ELSADEK; KRATZ, 2012), o que evita a ocorrência dos eventos adversos como reações de hipersensibilidade.

Atualmente existe apenas um estudo clínico de Fase II indicando o uso da albumina veiculada ao paclitaxel no tratamento de pacientes com câncer de ovário, peritoneal ou de tubas de falópio recorrentes e resistentes às platinas.

O estudo foi conduzido por Coleman e colaboradores em 2011, onde a administração foi em dose menor (100 mg/m^2) do que a dose convencional do paclitaxel (175 mg/m^2), em esquema semanal. Os resultados demonstraram a sobrevida livre de progressão de aproximadamente 4 meses e as toxicidades hematológicas mais prevalentes foram neutropenia e anemia. É importante observar nesse estudo que metade das pacientes avaliadas vieram à óbito devido à progressão da doença (COLEMAN et al., 2011).

Já a outra formulação contendo o paclitaxel associado à nanopartícula polimérica é conhecido como paclitaxel “poliglumex”. Na sua formulação contém o conjugado de aminoácido ácido poli-L-glutâmico e o paclitaxel, e não necessita do Cremophor EL para veicular o agente antineoplásico (CHUN, 2002).

O estudo clínico de Fase II conduzido por Sabbatini e colaboradores em 2008 incluiu pacientes com indicação de uso em terceira linha de quimioterapia. No estudo houve redução da dose administrada de paclitaxel poliglumex, de 235 mg/m² para 175 mg/m² sendo que as pacientes eram resistentes às platinas ou ao paclitaxel após tratamento de primeira linha quimioterápica. A mediana da sobrevida livre de progressão da doença foi de 2,8 meses e houve alta incidência de toxicidades grau 3 e 4, com manifestações de neutropenia, alterações gastrointestinais e neuropatia periférica (SABBATINI et al., 2008).

No presente estudo não consideramos os níveis séricos do marcador tumoral CA-125 como indicador de progressão de doença, pois de acordo com o estudo canadense de Oza e colaboradores em 2011, esses níveis geram interpretações confusas e não devem ser usados como indicador de tratamento (OZA et al., 2011).

Em adição a essa justificativa seguimos as diretrizes internacionais publicadas pela Sociedade de Ginecologia Oncológica (SGO) e a National Comprehensive Cancer Network (NCCN) que indicam o não oferecimento de meios convencionais de monitorização quando as pacientes apresentam recorrência da doença (ALVAREZ et al., 2016).

Quanto aos níveis séricos de CA-125 intermitente, a SGO indica ser opcional o monitoramento na doença recorrente (SALANI et al., 2011). Por outro lado, a NCCN indica o seu monitoramento, mas não há evidências de melhora na sobrevida (MORGAN Jr et al., 2013). Então, consideramos que desde o início deste estudo, os níveis de CA-125 estavam muito acima da normalidade, não sendo possível prever a sua influência na análise de sobrevida.

6. CONCLUSÕES

- A LDE-paclitaxel foi bem tolerada durante o tratamento quimioterápico que foi evidenciado pela ausência de toxicidades clínica e laboratorial.
- Os receptores de LDL podem ser considerados alvo para o tratamento do câncer de ovário com a LDE-paclitaxel.
- A preparação LDE-paclitaxel abre uma perspectiva para o seu uso em estudos clínicos mais amplos, em caráter comparativo com o presente estudo, principalmente em pacientes idosos, com doença avançada e refratária aos tratamentos quimioterápicos anteriores.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADES, A. et al. Uptake of a protein free lipid emulsion by normal and neoplastic ovarian tissue. **Gynecologic Oncology**, v. 82, n. 1, p. 84-7, Jul 2001.

AHMED, A. Gynecologic Cancer in the Older Patient: The Activities of the Elderly Working Group of NRG Oncology. Disponível em:<<http://www.ascopost.com/issues/july-25-2015/gynecologic-cancer-in-the-older-patient-the-activities-of-the-elderly-working-group-of-nrg-oncology/>> Acesso em: 14 Out 2015.

ALVAREZ, R.D. et al. Moving beyond the platinum sensitive/resistant paradigm for patients with recurrent ovarian cancer. **Gynecologic Oncology**, v. 141, n. 3, p. 405-409, Jun 2016.

AGARWAL, R.; KAYE, S.B. Ovarian cancer: strategies for overcoming resistance to chemotherapy. **Nature Reviews Cancer**, v.3, p. 502-516, Jul 2003.

AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER. United States of America, 2016. Disponível em:< <https://cancerstaging.org/Pages/default.aspx>> Acesso em: 18 Jul 2016

ASHWORTH, A. A synthetic lethal therapeutic approach: poly(ADP) ribose polymerase inhibitors for the treatment of cancers deficient in DNA double-strand break repair. **Journal of Clinical Oncology**, v. 26, p. 3785-3790, Aug 2008.

AUST, S.; PILS, D. Epithelial ovarian cancer - more data, more questions? **Wien Med Wochenschr**, v. 164, n. 21-22, p. 479-486, Nov 2014.

AZEVEDO, C.H. et al. Plasma kinetics and uptake by the tumor of a cholesterol-rich microemulsion (LDE) associated to etoposide oleate in patients with ovarian carcinoma. **Gynecologic Oncology**, v. 97, n. 1, p. 178-182, Apr 2005.

BODNAR, L.; GÓRNAS, M.; SZCZYLIK, C. Sorafenib as a third line therapy in patients with epithelial ovarian cancer or primary peritoneal cancer: A phase II study. **Gynecologic Oncology**, v. 123, p. 33-36, 2011.

BREWER, J.R. et al. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Current status and progress. **Gynecologic Oncology**, v. 140, n. 1, p. 176-183, Jan 2016.

BROWN, M.S.; GOLDSTEIN, J.L. A receptor mediated pathway for cholesterol homeostasis. **Science**, v. 232, n. 4746, p. 34-47, Apr 1986.

BRUCHIM, I.; JARCHOWSKY-DOLBERG, O.; FISHMAN, A. Advanced (>second) line chemotherapy in the treatment of patients with recurrent epithelial ovarian cancer. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 166, n. 1, p. 94-98, Jan 2013.

BUKOWSKA, B.; GALEK, A.; MARCZAK, A. Two drugs are better than one. A short story of combined therapy for ovarian cancer. **Contemporary Oncology**, v. 19, n. 5, p. 350-3, 2015.

CHI, D.S. et al. Identification of prognostic factors in advanced epithelial ovarian carcinoma. **Gynecologic Oncology**, v. 82, n. 3, p. 532-537, Sep 2001.

CHUN, L. Poly(l-glutamic acid)–anticancer drug conjugates. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 5, p. 695-713, Sep 2002.

CHUNG, C.; LEE, R. An update on current and emerging therapies for epithelial ovarian cancer: Focus on poly(adenosine diphosphate-ribose) polymerase inhibition and antiangiogenesis. **Journal of Oncology Pharmacy Practice**, Jun 2016. In press. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=An+update+on+current+and+emerging+therapies+for+epithelial+ovarian+cancer%3A+Focus+on+poly\(adenosine+diphosphate-ribose\)+polymerase+inhibition+and+antiangiogenesis](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=An+update+on+current+and+emerging+therapies+for+epithelial+ovarian+cancer%3A+Focus+on+poly(adenosine+diphosphate-ribose)+polymerase+inhibition+and+antiangiogenesis)>. Acesso em: 13 Jul 2016.

COLEMAN, R.L. et al. A phase II evaluation of nanoparticle, albumin-bound (nab) paclitaxel in the treatment of recurrent or persistent platinum-resistant ovarian, fallopian tube, or primary peritoneal cancer: a Gynecologic Oncology Group study. **Gynecologic Oncology**, v. 122, n. 1, p. 111-115, Jul 2011.

COVENS, A. et al. Systematic review of first-line chemotherapy for newly diagnosed postoperative patients with stage II, III, or IV epithelial ovarian cancer. **Gynecologic Oncology**, v. 85, n. 1, p. 71-80, Apr 2002.

DEVITA, V.T.; LAWRENCE, T.S.; ROSENBERG, S.A. Cancer: Principles & Practice of Oncology. 9th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011.

DIAS, M.L. et al. Pharmacokinetics and tumor uptake of a derivatized form of paclitaxel associated to a cholesterol-rich nanoemulsion (LDE) in patients with gynecologic cancers. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 59, n. 1, p. 105-111, Jan 2007.

DIZON, D.S. et al. Analysis of patients with epithelial ovarian cancer or fallopian tube carcinoma retreated with cisplatin after the development of a carboplatin allergy. **Gynecologic Oncology**, v. 84, p. 378-382, Mar 2012.

DU BOIS, A. et al. A randomized clinical trial of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel as first-line treatment of ovarian cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 95, n. 17, p. 1320–1329, Sep 2003.

EISENHAUER, E.A.; THERASSEB, P.; BOGAERTS. J. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). **European Journal of Cancer**, v. 45, n. 2, p. 228 – 247, Jan 2009.

ENG, K.H. et al. Prognostic factors modifying the treatment-free interval in recurrent ovarian cancer. **Gynecologic Oncology**, v. 139, n. 2, p. 228–235, Nov 2015.

ESTANQUEIRO, M. et al. Nanotechnological carriers for cancer chemotherapy: the state of the art. **Colloids and Surface. B, Biointerfaces**, v. 126, p. 631-648, Feb 2015.

FERREIRA, P.A. et al. Serous and non-serous ovarian carcinoma: histological tumor type as related to the grade of differentiation and disease prognosis. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 34, n. 5, p. 196-202, May 2012.

FIELDING, P.E.; FIELDING, C.J. Dynamics of lipoprotein transport in the human circulatory system. **Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes**. New York: Elsevier, 1996.

FRIEDLANDER, et al. Clinical trials in recurrent ovarian cancer. **International Journal of Gynecological Cancer**, v. 21, n. 4, p. 771-775, May 2011.

GABITOVA, L.; GORIN, A.; ASTSATUROV, I. Molecular Pathways: sterols and receptor signaling in cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 20, n. 1, p. 28-34, Jan 2014.

GABRA, H. Introduction to managing patients with recurrent ovarian cancer. **EJC Supplements**, v. 12, n. 2, p. 2-6, Dec 2014.

GARCIA, A.; SINGH, H. Bevacizumab and ovarian cancer. **Therapeutic Advances in Medical Oncology**, v. 5, n. 2, p. 133-141, Mar 2013.

GARDNER, E.R.; DAHUT, W.; FIGG, W.D. Quantitative determination of total and unbound paclitaxel in human plasma following Abraxane treatment. **Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 862, n. 1-2, p. 213-218, Feb 2008.

GRAZIANI, S.R. et al. Uptake of a cholesterol rich emulsion by breast cancer. **Gynecologic Oncology**, v. 85, n. 3, p. 493-7, Jun 2002.

GROEN, R.S.; GERSHENSON, D.M.; FADER, A.N. Updates and emerging therapies for rare epithelial ovarian cancers: one size no longer fits all. **Gynecologic Oncology**, v. 136, n. 2, p. 373-383, Feb 2015.

GRZANKOWSKI, K.S.; CARNEY, M. Quality of life in ovarian cancer. **Cancer Control**, v. 18, n. 1, p. 52-58, Jan 2011.

HANKER, L.C. et al. The impact of second to sixth line therapy on survival of relapsed ovarian cancer after primary taxane/platinum-based therapy. **Annals of Oncology**, v. 23, n. 10, p. 2605-2612, Oct 2012.

HIRATA, M.; GARCIA, P.B.; MARANHÃO, R.C. Metabolism of triglyceride-rich emulsions in rats with protein malnutrition. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 12, n. 1, p. 47-52, Feb 1992.

HO, Y.K. et al. Low-density lipoprotein (LDL) receptors activity in human acute myelogenous leukemia cells. **Blood**, v. 52, p. 1099-1104, 1978.

HUIZING, M.T. et al. Taxanes: a new class of antitumor agents. **Cancer Investigation**, v. 13, n. 4, p. 381-404, 1995.

HUNGRIA, V.T.M. et al. Metabolism of a cholesterol-rich microemulsion (LDE) in patients with multiple myeloma and preliminar clinical study of LDE as a drug vehicle for the treatment of the disease. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 53, n.1, p. 51-60, Jan 2004.

HURRIA, A. et al. Predicting chemotherapy toxicity in older adults with cancer: a prospective multicenter study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 29, n. 25, p. 3457-3465, Sep 2011.

Instituto Nacional do Câncer. Estatísticas do Câncer, Incidência de Câncer no Brasil. Ministério da Saúde. Rio de Janeiro, 2016. Disponível em:<<http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/>> Acesso em: 14 Jun 2016.

Instituto Nacional do Câncer. Estatísticas do Câncer, Atlas on-line de Mortalidade por Câncer no Brasil. Ministério da Saúde. Rio de Janeiro, 2016. Disponível em:<<http://www1.inca.gov.br/vigilancia/mortalidade.asp>> Acesso em: 14 Jun 2016.

JOSEPH, N. et al. Delay in chemotherapy administration impacts survival in elderly patients with epithelial ovarian cancer. **Gynecologic Oncology**, v. 137, n. 3, p. 401-405, Jun 2015.

KIM, J.H. Tumor-targeted delivery of paclitaxel using low density lipoprotein-mimetic solid lipid nanoparticles. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, n. 4, p. 1230-1234, Apr 2015.

KOUDELKA, S.; TURÁNEK, J. Liposomal paclitaxel formulations. **Journal of Control Release**, v. 163, n. 3, p. 322-334, Nov 2012.

LATORRE, A. et al. Epithelial ovarian cancer: second and third line chemotherapy (review). **International Journal of Oncology**, v. 21, n. 1, p. 179-186, Jul 2002.

LI, A.J. et al. Serum low-density lipoprotein levels correlate with survival in advanced stage epithelial ovarian cancers. **Gynecologic Oncology**, v. 116, n. 1, p. 78-81, Jan 2010.

LIN, L.; HU, K. LRP-1: functions, signaling and implications in kidney and other diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 12, p. 22887-22901, Dec 2014.

LO PETRE, A.C. et al. Evaluation in melanoma-bearing mice of an etoposide derivative associated to a cholesterol-rich nanoemulsion. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 58, n. 6, p. 801-808, Jun 2006.

LU, Z. et al. Intraperitoneal therapy for peritoneal cancer. **Future Oncology**, v. 6, n. 10, p. 1625-41, Oct 2010.

LUNDBERG, B. et al. The solubilization of lipophilic derivatives of podophyllotoxins in sub-micron sized lipid emulsions and their cytotoxic activity against cancer cells in culture. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 1, n. 109, p. 73-81, 1994.

MARANHÃO, R.C. et al. Increased plasma removal of microemulsions resembling the lipid phase of low-density lipoproteins (LDL) in patients with acute myeloid leucemia: a possible new strategy for the treatment of the disease. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 25, n. 10, p. 1003-1007, 1992.

MARANHÃO, R.C. et al. Metabolic behavior in rats of a nonprotein microemulsion resembling LDL. **Lipids**, v. 28, n. 8, p. 691-696, Aug 1993.

MARANHÃO, R.C. et al. Plasma kinetics and biodistribution of a lipid emulsion resembling low-density lipoprotein in patients with acute leucemia. **Cancer Research**, v. 54, n. 17, p. 4660-4666, 1994.

MARANHÃO, R.C. et al. Plasma kinetic behavior in hyperlipidemic subjects of a lipidic microemulsion that binds to low density lipoprotein receptors. **Lipids**, v. 32, n. 6, p. 627-633, Jun 1997.

MARANHÃO, R.C. et al. Association of carmustine with a lipid emulsion: in vitro, in vivo and preliminar studies in cancer patients. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 49, n. 6, p. 487-498, Jun 2002.

MARKMAN, M. et al. Second-line platinum therapy in patients with ovarian cancer previously treated with cisplatin. **Journal of Clinical Oncology**, v. 9, n. 3, p. 389-393, Mar 1991.

MEERUM TERGOGT, J.M. et al. Alternative formulations for paclitaxel. **Cancer Treatment Reviews**, v. 23, n.2, p. 87-95, Mar 1997.

MOOSAVI, A.S. et al. Daily low-dose oral etoposide for recurrent epithelial ovarian cancer after platinum-based therapy. **Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 24, n. 3, p. 292-293, Apr 2004.

MORGAN Jr., R. J. et al. Ovarian Cancer, version 2.2013: Featured updates to the NCCN Guidelines. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**, v. 11, n. 10, p. 1199- 1209, Oct 2013.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. United States of America, 2016. Disponível em:< <https://www.cancer.gov/>> Acesso em: 15 Jul 2016.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. United States of America, 2016. Disponível em:< <http://seer.cancer.gov/>> Acesso em: 15 Jul 2016.

NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK. Guideline for Patients, Ovarian Cancer, version 1.2015. United States of America. Philadelphia, 2016. Disponível em:< https://www.nccn.org/patients/guidelines/recent_updates/ovarian_cancer.aspx> Acesso em: 15 Jul 2016.

OKEN, M.M. et al. Toxicity And Response Criteria Of The Eastern Cooperative Oncology Group. **American Journal of Clinical Oncology**, v. 5, n. 6, p. 649-655, Dec. 1982.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2016.

OZA, A.M. et al. Progression-free survival in advanced ovarian cancer: a Canadian review and expert panel perspective. **Current Oncology**, v. 18, p. 20-27, Oct 2011. Supplement 2.

OZA, A.M. et al. Olaparib combined with chemotherapy for recurrent platinum-sensitive ovarian cancer: a randomised phase 2 trial. **Lancet Oncology**, v. 16, n. 1, p. 87-97, Jan 2015.

OZOLS, R.F. et al. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a

Gynecologic Oncology Group study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 21, n. 17, p. 3194-3200, Sep 2003.

PINHEIRO, K.V. et al. Plasma kinetics of a cholesterol-rich microemulsion (LDE) in patients with Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma and preliminar study on the toxicity of etoposide associated with LDE. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 57, n. 5, p. 624-630, May 2006.

PIRES, L.A. et al. Use of cholesterol-rich nanoparticles that bind to lipoprotein receptors as a vehicle to paclitaxel in the treatment of breast cancer: pharmacokinetics, tumor uptake and a pilot clinical study. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 63, n.2, p. 281-287, Jan 2009.

PIRES, L.A. et al. Effect of neoadjuvant chemotherapy on low-density lipoprotein (LDL) receptor and LDL receptor-related protein 1 (LRP-1) receptor in locally advanced breast cancer. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, n. 6, p. 557-564, Jun 2012.

RAKOWSKI, J.A. et al. Use of pegylated liposomal doxorubicin in the management of platinum-sensitive recurrent ovarian cancer: current concepts. **Expert Reviews of Anticancer Therapy**, v. 12, n. 1, p. 31-40, Jan 2012.

RIGAKOS, G.; RAZIS, E. BRCAness: finding the Achilles heel in ovarian cancer. **The Oncologist**. v 17, n. 7, p. 956-62, 2012.

RODRIGUES, D.G. et al. Use of a cholesterol-rich emulsion that binds to low-density lipoprotein receptors as a vehicle for paclitaxel. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 54, n. 6, p. 765-772, Jun 2002.

RODRIGUES, D.G. et al. Improvement of paclitaxel therapeutic index by derivatization and association to a cholesterol-rich microemulsion: in vitro and in vivo studies. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 55, n. 6, p. 565, Jun 2005.

ROMERO, I.; BAST R.C. Jr. Minireview: human ovarian cancer: biology, current management, and paths to personalizing therapy. **Endocrinology**, v. 153, n. 4, p. 1593-1602, Apr 2012.

SABBATINI, P. et al. A phase II trial of paclitaxel poliglumex in recurrent or persistent ovarian or primary peritoneal cancer (EOC): A gynecologic oncology group study. **Gynecologic Oncology**, v. 111, n. 3, p. 455-460, Dec 2008.

SALANI, R. et al. Posttreatment surveillance and diagnosis of recurrence in women with gynecologic malignances: Society of Gynecologic Oncologists recommendations. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 204, n. 6, p. 466-478, 2011.

SEIDMAN, J.D. et al. The histologic type and stage distribution of ovarian carcinomas of surface epithelial origin. **International Journal of Gynecological Pathology**, v. 23, n. 1, p. 41-44, Jan 2004.

SHAPIRO, J.D. et al. Activity of gemcitabine in patients with advanced ovarian cancer: responses seen following platinum and paclitaxel. **Gynecologic Oncology**, v. 63, n. 1, p. 89-93, Oct 1996.

SMOLLE, E. et al. Targeting signaling pathways in epithelial ovarian cancer. **International Journal of Molecular Science**, v. 14, n. 5, p. 9536-9555, May 2013.

SOSLOW, R.A. Histologic subtypes of ovarian carcinoma: an overview. **International Journal of Gynecological Pathology**, v. 27, n. 2, p. 161-174, Apr 2008.

STUART, G.C. et al. 2010 Gynecologic Cancer InterGroup (GCIG) consensus statement on clinical trials in ovarian cancer: report from the Fourth Ovarian Cancer Consensus Conference. **International Journal of Gynecological Cancer**, v. 21, n. 4, p. 750-755, May 2011.

TANGJITGAMOL, S. et al. Third-line chemotherapy in platinum- and paclitaxel-resistant ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal carcinoma patients. **International Journal of Gynaecological Cancer**, v. 14, n. 5, p. 804-814, Sep 2004.

TEMPFER, C.B.; SOLASS, W.; REYMOND, M.A. Pressurized intraperitoneal chemotherapy (PIPAC) in women with gynecologic malignancies: a review. **Wien Medizinische Wochenschrift**, v. 163, n. 23-24, p. 519-528, Dec 2014.

TEN TIJE, A.J. et al. Pharmacological effects of formulation vehicles: implications for cancer chemotherapy. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 42, n. 7, p. 665-85, 2003.

THAKOR, A.S.; GAMBHIR, S.S. Nanooncology: the future of cancer diagnosis and therapy. **CA: Cancer Journal for Clinicians**, v. 63, n. 6, p. 395-418, Nov-Dec 2013.

THE PUBCHEM PROJECT: Paclitaxel. Disponível em:<
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/36314>> Acesso em: 14 Jun 2016.

TROSO-SANDOVAL, T.A.; LICHTMAN, S.M. Chemotherapy of ovarian cancer in elderly patients. **Cancer Biology & Medicine**, v. 12, n. 4, p. 292-301, Dec 2015.

VALDUGA, C.J. et al. Use of a cholesterol-rich microemulsion that binds to low-density lipoprotein receptors as vehicle for etoposide. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 55, n. 12, p. 1615-1622, Dec 2003.

WICKI, A. et al. Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications. **Journal of Controlled Release**, v. 200, p. 138-157, Feb 2015.

YE, H.; KARIM, A.A.; LOH, X.J. Current treatment options and drug delivery systems as potential therapeutic agents for ovarian cancer: a review. **Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications**, v. 45, p. 609-619, Dec 2014.

YOSHIHAMA, T. et al. Effectiveness of third-line chemotherapy in recurrent ovarian cancer patients. **European Journal of Gynaecological Oncology**, v. 36, n. 4, p. 424-427, 2015.

ZHANG, S. et al. Frequencies of BRCA1 and BRCA2 mutations among 1,342 unselected patients with invasive ovarian cancer. **Gynecologic Oncology**, v. 121, n. 2, p. 353-7, May 2011.

ANEXOS

ANEXO A - Definição do estadiamento pelos sistemas FIGO e TNM, para tumor primário de câncer epitelial de ovário ou câncer peritoneal primário. (American Joint Committee on Cancer, versão 3.2014, Chicago, Illinois, USA, 2014).

TNM	FIGO	Definição
T= tamanho do tumor e invasão em tecidos		
TX		Tumor primário não pode ser avaliado
T0		Não há evidência de tumor primário
T1	I	Tumor primário limitado a um ou ambos os ovários
T1a	IA	Tumor limitado a um ovário, cápsula intacta, ausência de tumor na superfície ovariana. Ausência de células malignas em ascites ou lavagens peritoneais.
T1b	IB	Tumor limitado a ambos os ovários, cápsula intacta, ausência de tumor na superfície ovariana. Ausência de células malignas em ascites ou lavagens peritoneais
T1c	IC	Tumor primário limitado a um ou ambos os ovários com a cápsula rompida ou presença de tumor na superfície ovariana ou presença de células maligna na ascite ou lavagens peritoneais
T2	II	Tumor envolve um ou ambos os ovários com extensão pélvica
T2a	IIA	Há extensão e/ou implantes no útero e/ou tubas de falópio. Ausência de células malignas na ascite ou lavagens peritoneais
T2b	IIB	Há extensão e/ou implantes em outros tecidos pélvicos. Ausência de

células malignas na ascite ou lavagens peritoneais		
T2c	IIC	Extensão pélvica e/ou implantes (T2a ou T2b) com presença de células malignas na ascite ou na lavagem peritoneal
T3	III	Tumor envolve um ou ambos os ovários com microscopia confirmando metástase peritoneal além da pelve.
T3a	IIIA	Microscopia peritoneal com presença de metástase além da pelve (sem tumor macroscópico)
T3b	IIIB	Metástase macroscópica peritoneal além da pelve com 2 cm ou menos de dimensão
T3c	IIIC	Microscopia extra pélvica, com metástase peritoneal < 2 cm com linfonodos retro peritoneais positivos. Inclui extensão para cápsula ou fígado/baço.
N= Linfonodos regionais comprometidos		
NX		Linfonodo regional não pode ser avaliado
N0		Ausência de metástase nos linfonodos
N1	IIIC	Presença de linfonodos metastáticos
M= Metástase a distância		
M0		Ausência de metástase
M1	IV	Metástase a distancia

ANEXO B - Simplificação e agrupamento dos estadiamentos (American Joint Committee on Cancer, versão 3.2014, Chicago, Illinois, USA, 2014).

Estadiamento agrupado (FIGO e TNM)			
Estágio 1	T1	N0	M0
Estágio I A	T1a	N0	M0
Estágio I B	T1b	N0	M0
Estágio I C	T1c	N0	M0
Estágio II	T2	N0	M0
Estágio II A	T2a	N0	M0
Estágio II B	T2b	N0	M0
Estágio II C	T2c	N0	M0
Estágio III	T3	N0	M0
Estágio III A	T3a	N0	M0
Estágio III B	T3b	N0	M0
Estágio III C	T3c	N0	M0
	Qualquer T	N1	M0
Estágio IV	Qualquer T	Qualquer N	M1

ANEXO C - Classificação da escala de “performance status” pelo ECOG (OKEN et al, 1982).

Grau	ECOG
0	Completamente ativo capaz de realizar todas as atividades sem restrição
1	Restrição em atividade física rigorosas, é capaz de realizar trabalhos leves e de natureza sedentária, como por exemplo, em casa ou no escritório
2	Capaz de realizar todos os auto-cuidados, mas incapaz de realizar qualquer atividade de trabalho em pé aproximadamente 50% das horas em que o paciente está acordado
3	Capaz de realizar somente auto-cuidados limitados, confinado ao leito ou cadeira mais de 50% das horas em que o paciente está acordado
4	Completamente incapaz de realizar auto-cuidados básico, totalmente confinado ao leito ou à cadeira

ANEXO D - RECIST. Definições de resposta clínica no tratamento com a LDE-paclitaxel (EISENHAUER; THERASSED; BOGAERTS, 2009).

Tipo de Resposta ao tratamento	Definição
Resposta Completa (RC)*	Desaparecimento de todas as lesões incluindo os linfonodos
Resposta Parcial (RP)*	Redução de pelo menos 30% na soma dos diâmetros das lesões
Progressão da Doença (PD)	Aumento de pelo menos 20% na soma dos diâmetros das lesões e o surgimento de novas lesões
Doença Estável (DE)	Quando não se observa nenhuma das definições acima

Nota: * as respostas completas e as respostas parciais caracterizam a resposta objetiva global do tratamento.

ANEXO E - Instruções para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Secretaria de Pós-Graduação

Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado

1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de trinta minutos.

2. Os membros da banca farão a arguição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de trinta minutos para arguir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de trinta minutos para sua resposta.

2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a arguição na forma de diálogo em até sessenta minutos por examinador.

3. A sessão de defesa será aberta ao público.

4. Terminada a arguição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na arguição.

4.1 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.

4.2 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.

5. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: pgfarma@usp.br, (11) 3091 3621.

São Paulo, 23 de maio de 2014.

Prof. Dr. Adalberto Pessoa Junior
Presidente da CPG/FCF/USP

ANEXO F - Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa do ICAVC.

Instituto do Câncer Arnaldo Vieira de Carvalho
Fundado em 19/02/1920 – CGC 60.945.854/0001-72
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS – CEP
APROVADO PELA CONEP/MS EM 25/08/97 CARTA Nº1555/97

São Paulo, 01 de março de 2011

Ilmo Sra Dra.
Silvia Regina Graziani
Investigador Principal
Serviço de Oncologia Clínica do ICAVC (chefe:Dra. Brigitte van Eyell)

CEP: 218/09

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto do Câncer Dr. Arnaldo, reunido no dia **24 de fevereiro de 2010** e no cumprimento de suas atribuições, de acordo com Resolução CNS 196/96, após revisão do seu protocolo de pesquisa, "Avaliação de injeção local(Tratamento locorregional) do quimioterápico paclitaxel associado à nanoemulsão lipídica artificial LDE(paclitaxel/LDE)em pacientes portadores de neoplasia de mama localmente avançada".e das pendências posteriormente entregues, emitiu parecer enquadrando-o na seguinte categoria:

☐ Aprovado;

☐ com pendência modificações ou informação relevante, a serem atendidas em 60 dias;

☐ retirado, por não ser reapresentado no prazo determinado;

☐ Não aprovado

☒ Aprovado Protocolo e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Enviar todo trimestre relatório - MS, a qual deverá emitir parecer no prazo de 60 dias.

Prof. Dr. Carlos Elias Fristachi,
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisas

Rua Dr. Cesário Motta Júnior, 112 - Vila Buarque - São Paulo - SP-Tel.: 222-7081 - CEP - 01221-020
Cepa@doutorarnaldo.org

ANEXO G - Ficha do aluno (Sistema Janus)

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9136 - 8092867/1 - Carolina Graziani Vital

Email: cgvital@usp.br
Data de Nascimento: 01/09/1987
Cédula de Identidade: RG - 44.247.235-3 - SP
Local de Nascimento: Estado de São Paulo
Nacionalidade: Brasileira
Graduação: Farmacêutico - Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Bioquímicas - Faculdades Oswaldo Cruz - São Paulo - Brasil - 2011

Curso: Mestrado
Programa: Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia)
Área: Análises Clínicas
Data de Matrícula: 07/03/2014
Início da Contagem de Prazo: 07/03/2014
Data Limite para o Depósito: 07/11/2016
Orientador: Prof(a). Dr(a). Raul Cavalcante Maranhao - 07/03/2014 até o presente. Email: ramarans@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 07/03/2014
Prorrogação(ões): 60 dias
Período de 07/09/2016 até 06/11/2016
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 22/05/2015
Data do Depósito do Trabalho:
Título do Trabalho:
Data Máxima para Aprovação da Banca:
Data de Aprovação da Banca:
Data Máxima para Defesa:
Data da Defesa:
Resultado da Defesa:
Histórico de Ocorrências: Primeira Matrícula em 07/03/2014
Nova Matrícula em 22/07/2014
Prorrogação em 08/08/2016

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 5473 em vigor de 18/09/2008 até 19/04/2013).

Última ocorrência: Prorrogação em 08/08/2016

Impresso em: 18/10/2016 07:55:38

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
 Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

9136 - 8092867/1 - Carolina Graziani Vital

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Termo	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBC5748-4/1	Trabalhos Científicos: da Elaboração à Publicação	08/04/2014	19/05/2014	60	4	83	A	N	Concluída
FBC5771-7/2	Bioinformática Aplicada às Análises Clínicas	02/06/2014	15/06/2014	60	4	89	A	N	Concluída
MCM5880-3/2	Bioestatística I (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	19/08/2014	29/09/2014	90	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBC5709-5/2	Biologia Molecular em Análises Clínicas	22/09/2014	27/10/2014	75	0	-	-	N	Matrícula cancelada
BMF5862-4/1	Ciclo Celular e Apoptose (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	03/11/2014	23/11/2014	90	0	-	-	N	Matrícula cancelada
QBO5747-8/1	Animais de Laboratório (Instituto de Química - Universidade de São Paulo)	24/11/2014	30/11/2014	15	0	-	-	N	Matrícula cancelada
MPR5765-1/3	Políticas e Sistemas de Saúde (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	14/04/2015	08/06/2015	120	8	100	B	N	Concluída
MPR5764-1/3	Equidade em Saúde (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	23/04/2015	03/06/2015	60	4	83	C	N	Concluída
EPI5700-1/1	Análise de Sobrevida (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	20/05/2015	08/07/2015	60	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBC5757-6/2	Tópicos em Análises Clínicas II	04/08/2015	16/11/2015	15	1	100	A	N	Concluída
FBF5805-2/1	Delineamento de Experimentos e Ferramentas Estatísticas Aplicadas às Ciências Farmacêuticas	05/08/2015	13/10/2015	90	0	-	-	N	Matrícula cancelada
SAS5703-1/2	Gestão de Resíduos Sólidos (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	06/08/2015	28/10/2015	60	0	-	-	N	Matrícula cancelada
BMH5772-1/2	Prática de Ensino em Biologia Tecidual com Recursos Digitais (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	14/08/2015	06/11/2015	60	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBC5793-12/3	Tópicos em Análises Clínicas I	08/03/2016	20/06/2016	15	1	100	A	N	Concluída
FBF5805-2/2	Delineamento de Experimentos e Ferramentas Estatísticas Aplicadas às Ciências	10/03/2016	19/05/2016	90	6	100	A	N	Concluída

Farmacêuticas

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	0	25	28
Estágios:			
Total:	0	25	28

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

Conceito a partir de 02/01/1997:	
A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.	
Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.	

Última ocorrência: Prorrogação em 08/08/2016

Impresso em: 18/10/2016 07:55:38

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9136 - 8092867/1 - Carolina Graziani Vital

Comissão-julgadora da dissertação de mestrado:			
NUSP	Nome	Vínculo	Função
85812	Raul Cavalcante Maranhao	FCF - USP	Presidente

Última ocorrência: Prorrogação em 08/08/2016

Impresso em: 18/10/2016 07:55:38

ANEXO H - Currículo Lattes do aluno.

Carolina Graziani Vital

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/9357438051113666>

Última atualização do currículo em 27/09/2016

Possui graduação em Farmácia e Bioquímica - Faculdades Oswaldo Cruz (2010). Tem experiência na área de Bioquímica, com ênfase em Bioquímica. Atualmente é aluna do curso de Mestrado na Área de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. (Texto informado pelo autor)

Identificação

Nome Carolina Graziani Vital

Nome em citações bibliográficas VITAL, C. G.

Endereço

Endereço Profissional Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas.
Avenida Professor Lineu Prestes, 580
Butantã
05508000 - São Paulo, SP - Brasil
Telefone: (011) 30913642

Formação acadêmica/titulação

2014 Mestrado em andamento em Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia) (Conceito CAPES 7).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Orientador: Raul Cavalcante Maranhão.
Grande área: Ciências da Saúde

2006 - 2010 Graduação em Farmácia e Bioquímica.
Faculdades Oswaldo Cruz, FOC, Brasil.
Orientador: Osvaldo Cirilo da Silva.

Formação Complementar

2016 - 2016 Extensão universitária em Metodologias do Estudo In Vitro e Recursos para Análise de Células em Cultura. (Carga horária: 40h).
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Brasil.

2016 - 2016 Extensão universitária em Módulo 2 - Metodologias do estudo in vitro e recursos para análise de células. (Carga horária: 48h).
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Brasil.

- 2016 - 2016** Pré-Módulo 1: Princípios de Biologia Molecular - da teoria à aplicação. (Carga horária: 16h). Thermo Fisher Scientific, TFS, Brasil.
- 2016 - 2016** Fundamentos da PCR Quantitativa em Tempo Real (qPCR). (Carga horária: 20h). Customer Experience Center - Thermo Fischer Scientific, TFS, Brasil.
- 2016 - 2016** Cultura de Células - Técnicas Avançadas. (Carga horária: 28h). TOXOPAT, TOXOPAT, Brasil.
- 2016 - 2016** Atualização em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE/HPLC). (Carga horária: 20h). Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein, IIEPAE, Brasil.
- 2015 - 2015** Cromatografia a Líquido e Cromatografia Acoplada à Espectrometria de Massas. (Carga horária: 24h). Centro de Educação Profissional, CEP, Brasil.

Atuação Profissional

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Vínculo institucional

2014 - Atual Vínculo: Pós Graduação, Enquadramento Funcional: Aluno de Pós Graduação em Análises Clínicas, Carga horária: 30

Vínculo institucional

2008 - 2009 Vínculo: Estágio Curricular, Enquadramento Funcional: Estágio em Programa de Iniciação Científica, Carga horária: 20

Hospital Novo Atibaia, HNA, Brasil.

Vínculo institucional

2010 - 2010 Vínculo: Estágio Curricular, Enquadramento Funcional: Estágio em Laboratório de Análises Clínicas, Carga horária: 20

Vínculo institucional

2007 - 2007 Vínculo: Estágio Curricular, Enquadramento Funcional: Estágio em Farmácia Hospitalar, Carga horária: 20

Atividades

01/2010 - 12/2010 Estágios , Hospital Novo Atibaia, .

Estágio realizado
estágio em Laboratório de Análises Clínicas.

Projetos de pesquisa

2008 - 2009 Efeitos da Modificação Composicional na Estabilidade e Captação Celular de uma Nanoemulsão Lipídica para a Terapêutica da Aterosclerose

Descrição: Programa de Iniciação Científica.

Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Carolina Graziani Vital - Integrante / Cristina Pio de Almeida - Integrante / Raul Cavalcante Maranhão - Coordenador.

Áreas de atuação

1. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Bioquímica.
2. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Farmácia.
3. Grande área: Ciências Exatas e da Terra / Área: Química / Subárea: Química Orgânica.

Idiomas

Inglês Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

Espanhol Compreende Razoavelmente, Fala Razoavelmente, Lê Razoavelmente, Escreve Razoavelmente.

Produções

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

Ordenar por

Ordem Cronológica ▼

1. ALMEIDA, C. P. ; **VITAL, C. G.** ; CONTENTE, T. C. ; MARIA, D. A. ; MARANHÃO, R.C. . Modification of composition of a nanoemulsion with different cholesteryl ester molecular species: Effects on stability, peroxidation, and cell uptake. International Journal of Nanomedicine (Online) **ICR**, v. 2010:5, p. 679-686, 2010.

Citações: **SCOPUS** 6

Resumos publicados em anais de congressos

1. ★ GRAZIANI, S. R. ; **VITAL, C. G.** ; FERNANDES, H. J. ; COSTA, C. ; NAIME, F. F. ; EYLL, B. M. V. ; FONSECA, R. O. ; DIAS, C. A. R. ; ALMEIDA, L. R. ; MARUBAYASHI, P. M. ; AZUAGA NETO, R. F. ; RODRIGUES, A. B. C. ; ABISSAMRA FILHO, J. ; YAMADA, K. E. ; ABREU, M. S. S. G. ; PONTES, T. C. ; SILVA, D. ; Carlos Elias Fristachi . Evaluation of Spirulina in the supportive treatment associated to palliative chemotherapy in patients with advanced oncologic disease.. In: ASCO American Society of Clinical Oncology- Annual Meeting, 2016, Chicago, IL. Journal of Clinical Oncology, 2016. v. 34.
2. Siilvia Regina Graziani ; **VITAL, C. G.** ; Brigitte M. Van Eyll ; Aleksandra Tiemi Morikawa ; Carlos Elias Fristachi ; Marisa Nosralla ; Alvaro Peres Neto ; Raul Cavalcante Maranhão ; **VITAL, C. G.** . Preliminary results of patients with advanced ovarian carcinoma treated with paclitaxel associated to nanoemulsions. In: ASCO - American Society of Clinical Oncology, 2015, Chicago. Meeting Library ASCO, 2015.

3. ★ GRAZIANI, S. R. ; FONSECA, R. O. ; DIAS, C. A. R. ; ALMEIDA, L. R. ; MARUBAYASHI, P. M. ; AZUAGA NETO, R. F. ; RODRIGUES, A. B. C. ; YAMADA, K. E. ; PERES NETO, A. ; **VITAL, C. G. ; VITAL, C. G.** . Avaliação do uso da Spirulina no tratamento de suporte associado a quimioterapia paliativa em pacientes com doença oncológica avançada. In: 19º Congresso de Oncologia Clínica - Oncologia sem Fronteiras, 2015, Foz do Iguaçu. 19º Congresso de Oncologia Clínica, 2015.
4. ★ GRAZIANI, S. R. ; **VITAL, C. G.** ; MORIKAWA, A. T. ; DEUS, D. F. ; EYLL, B. M. V. ; PERES NETO, A. ; **MARANHÃO, R.C.** . Tratamento de pacientes com carcinoma de ovário avançado com o Paclitaxel associado à nanoemulsões lipídicas: uma nova e promissora estratégia terapêutica. In: 19º Congresso de Oncologia Clínica - Oncologia sem Fronteiras, 2015, Foz do Iguaçu. 19º Congresso de Oncologia Clínica, 2015.
5. ★ GRAZIANI, S. R. ; FONSECA, R. O. ; DIAS, C. A. R. ; ALMEIDA, L. R. ; MARUBAYASHI, P. M. ; AZUAGA NETO, R. F. ; RODRIGUES, A. B. C. ; YAMADA, K. E. ; PERES NETO, A. ; **VITAL, C. G.** . Uso de quimioterapia paliativa intraperitoneal para controle de ascite maligna por carcinomatose peritoneal e o impacto na qualidade de vida. In: 19º Congresso de Oncologia Clínica - Oncologia sem Fronteiras, 2015, Foz do Iguaçu. 19º Congresso de Oncologia Clínica, 2015.

Apresentações de Trabalho

1. **VITAL, C. G.**; ALMEIDA, C. P. ; CONTENTE, T. C. ; **MARANHÃO, R.C.** . Efeitos da modificação composicional na estabilidade e captação celular de uma nanoemulsão lipídica para a terapêutica da aterosclerose. 2009. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
2. ★ **VITAL, C. G.**; ALMEIDA, C. P. ; CONTENTE, T. C. ; **MARANHÃO, R.C.** . ESTABILIDADE E CAPTAÇÃO CELULAR DE NANOEMULSÕES LIPÍDICAS RICAS EM COLESTEROL UTILIZADAS COMO TRANSPORTADORAS DE FÁRMACOS NO TRATAMENTO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES. 2009. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
3. **VITAL, C. G.**; ALMEIDA, C. P. ; CONTENTE, T. C. ; **MARANHÃO, R.C.** . Estabilidade de Nanoemulsões Lipídicas ricas em colesterol utilizadas como transportadoras de fármacos no tratamento de doenças cardiovasculares. 2009. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. Simpósio Internacional - Estado da Arte no uso de Marcadores Tumorais no Diagnóstico e Acompanhamento do Câncer. 2016. (Seminário).
2. 1º Simpósio de Oncologia da Santa Casa de São Paulo e Instituto do Câncer Dr. Arnaldo Vieira de Carvalho. 2015. (Simpósio).
3. Atuação do Centro de Biologia e Química de Proteína Quinases da UNICAMP. 2015. (Seminário).
4. Destaques do ASCO (American Society of Clinical Oncology) 2014. 2014. (Simpósio).
5. XVI Congresso Brasileiro de Oncologia Clínica. 2009. (Congresso).
6. XXIV Reunião Anual - Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE). 2009. (Congresso).
7. I Simpósio Paulista sobre Saúde, Espiritualidade e Educação-uma Relação Simbiótica. 2007. (Simpósio).
8. XV Congresso Brasileiro de Oncologia Clínica. 2007. (Congresso).

9. "Responsabilidade Social e Prevenção ao uso de Drogas: o Papel das Universidades Brasileiras. 2006. (Simpósio).
10. II Curso de Perícia Criminal (Toxicologia Forense). 2006. (Simpósio).
11. Segundo ciclo de palestras sobre atenção farmacêutica. 2006. (Encontro).