

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: PNEUMOLOGIA

**ESTUDO DE FASE I COM DECITABINA, UM AGENTE HIPOMETILADOR DO DNA, EM
COMBINAÇÃO COM CISPLATINO EM PACIENTES PORTADORES DE TUMORES SÓLIDOS
AVANÇADOS E UMA AVALIAÇÃO PRELIMINAR DE FASE II EM PACIENTES PORTADORES
DE CARCINOMA DE PULMÃO NÃO DE PEQUENAS CÉLULAS AVANÇADO**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para obtenção do título
de Doutor em Medicina

HUGO EDUARDO SCHUNEMANN

Orientadores:

Prof. Dr. Gilberto Schwartzmann

Prof. Dr. José da Silva Moreira

PORTO ALEGRE, 2000

AGRADECIMENTOS

Uma tese é uma longa jornada em cuja estrada não se pode viajar sozinho. O sucesso necessariamente depende de muitas pessoas, e o autor gostaria de citar algumas aqui.

Dr. Gilberto Schwartzmann, grande amigo e exemplo, cujo estímulo e incentivo fora determinantes na realização deste trabalho.

Dr. José da Silva Moreira, orientador da tese e pessoa que soube compreender os momentos de dificuldade por que costumam passar os alunos de pós-graduação.

Ao funcionário Marco, amigo-secretário do curso que tanto se empenhou para transformar questões técnico-burocráticas em “detalhes técnicos”.

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, Egon, pelo exemplo de trabalho ao longo de uma vida.

À minha mãe, Hildegard, por uma vida de carinho.

A minha esposa, Adélia, parceira incansável e mãe dedicada;

As minhas filhas, Anna Augusta e Luise Helena, como razão para as coisas.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas.....	5
Lista de tabelas e figuras.....	6
Introdução.....	7
1 Revisão da literatura.....	9
2 Objetivos.....	31
3 Referências bibliográficas.....	32
Estudo de Fase I com cisplatino e decitabina – um novo agente hipometilante – em pacientes com tumores sólidos avançados e avaliação preliminar de Fase II em pacientes com câncer pulmonar não de pequenas células inoperável.....	42
Resumo.....	43
Introdução.....	44
Pacientes e métodos.....	46
Resultados.....	52
Discussão.....	55
Referências bibliográficas.....	60
Conclusão.....	63
Anexos.....	65
Anexo I A Phase I trial of cisplatin plus decitabine, a new dna hypomethylating agent, in patients with advanced solid tumors and a follow-up early Phase II evaluation in patients with inoperable non-small cell lung cancer.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS

Ara-C	= Citarabina
CEP	= Comitê de Ética e Pesquisa
CCNU	= Carmustina
CONEP	= Conselho Nacional de Ética em Pesquisa
CPPC	= Câncer de Pulmão de Pequenas Células
CPNPC	= Câncer de Pulmão Não de Pequenas Células
CAP	= Ciclofosfamida, Adriamicina, Cisplatino
CEP	= Ciclofosfamida, Epirubicina, Cisplatino
DAC	= Decitabina
DNA	= Ácido Desoxirribonucléico
DMT	= Dose Máxima Tolerada
ECOG	= Eastern Cooperative Oncology Group
EORTC	= European Organization for Research and Treatment of Cancer
GCP	= Good Clinical Practice (Boa Prática Clínica)
ID	= Intensificação de Dose
MACC	= Metotrexate, Adriamicina, Ciclofosfamida
LMA	= Leucemia Linfocítica Aguda
N, N ^a	= Número
NOC	= Normas Operacionais Convencionais
NSCLC	= Non-Small Cell Lung Cancer
NCI-CTC	= National Cancer Institute – Common Toxicity Criteria
OMS	= Organização Mundial da Saúde
RC	= Resposta Completa
RO	= Resposta Objetiva

RP = Resposta Parcial

SV = Sobrevida

SWOG = South-West Oncology Group

SOAD = South American Office of Anticancer Drug Development

TLD = Toxicidade Limitante da Dose

UMC = Unidade de Monitorização Clínica

VB = Vimblastina

VD = Vindesina

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Lista de tabelas

Tabela 1	Principais etapas no desenvolvimento de novas drogas anticâncer.....	10
Tabela 2	Distribuição dos pacientes com CPNPC de acordo com o estadiamento.....	15
Tabela 3	Percentagem de sobrevida de pacientes com CPNPC de acordo com o estadiamento clínico da doença.....	15
Tabela 4	Respostas objetivas com agentes isolados no CPNPC avançado.....	16
Tabela 5	Exemplos de combinações quimioterápicas utilizadas no tratamento de pacientes com CPNPC avançado.....	16
Tabela 6	Tratamento quimioterápico <i>versus</i> melhor tratamento de suporte em pacientes com CPNPC avançado.....	17
Tabela 7	Estudos randomizados com novos agentes em combinação com cisplatino em pacientes com CPNPC avançado.....	18
Tabela 8	Fatores prognósticos associados à maior sobrevida em pacientes com CPNPC avançado (Análise multivariada dos estudos do SWOG n=2290).....	19
Tabela 9	Principais mecanismos de resistência aos complexos de platina.....	21
Tabela 10	Novas estratégias potenciais no tratamento do CPNPC avançado.....	24

Lista de figura

INTRODUÇÃO

A introdução de uma nova droga anticâncer em estudos clínicos obedece a uma série de etapas através das quais sua segurança e eficácia são determinadas. Os estudos de Fase I representam a primeira etapa de avaliação em seres humanos (1, 2, 3).

Nesta fase, pacientes que apresentam tumores avançados refratários ao tratamento convencional, ou que sejam portadores de tumores avançados sem tratamento efetivo disponível, recebem uma dose inicial da droga, a qual é previamente definida em estudos toxicológicos em animais (4, 5). A tolerância dessa dose inicial é avaliada em um grupo de pacientes (geralmente, em número de 3 a 5) e, não havendo efeitos tóxicos significativos, a mesma é escalonada progressivamente em subsequentes grupos de pacientes. Os objetivos principais dos estudos de Fase I são a determinação da dose máxima tolerável (DMT) da droga, o seu perfil toxicidade e a recomendação de uma dose segura para estudos de Fase II. Os objetivos secundários dessa fase de avaliação são a obtenção de informações iniciais quanto ao seu comportamento farmacocinético e quanto à existência de atividade antitumoral (6, 7, 8, 9).

Nos estudos de Fase II, grupos de pacientes com tumores específicos são tratados com a nova droga na dose e no regime recomendados a partir de dados obtidos em estudos de Fase I. Portanto, são incluídos pacientes com tumores mensuráveis de forma consecutiva, em um número suficiente para estimar os percentuais de respostas tumorais e os efeitos colaterais produzidos de maneira segura. Quando o perfil de toxicidade e a atividade antitumoral da nova droga são considerados de interesse, estudos subsequentes de Fase II são iniciados (1, 4, 7,10).

Nos estudos de Fase III, busca-se comparar o esquema de tratamento tradicional utilizado em uma doença específica com esquemas experimentais que incluam a nova droga. Para que não haja o risco de problemas de seleção de pacientes, tais estudos são sempre delineados de forma prospectiva e randomizada. Caso a nova droga produza evidências de que pode ser vantajosa em termos de atividade antitumoral e/ou toxicidade, passa por uma avaliação em um número maior de pacientes até que seja introduzida no armamentário terapêutico convencional (8, 9, 11, 12).

O câncer de pulmão representa um dos maiores desafios na prática oncológica, pois constitui uma das mais importantes causas de morte por câncer em ambos os sexos. É o tumor maligno responsável pelo maior número de mortes em homens no mundo e o terceiro em número de mortes em mulheres (13, 14).

No mundo, anualmente, mais de 590.000 pessoas desenvolvem câncer de pulmão. Nos EUA, o câncer de pulmão corresponde a 28% das mortes por câncer. Hoje, nesse país, morrem mais mulheres devido ao câncer de pulmão do que devido ao câncer de mama (15, 16). No Brasil, o câncer de pulmão figura entre as três primeiras causas de morte por câncer na maioria dos Estados da União, sendo que no Rio Grande do Sul é a primeira causa de morte por câncer, responsável por cerca de 2.000 mortes ao ano (17).

Cerca de 80% dos casos de câncer de pulmão correspondem ao tipo denominado câncer de pulmão não de pequenas células (CPNPC). Infelizmente, a maioria dos pacientes com CPNP é diagnosticada em estádios tardios da doença, e cerca de 50% dos casos não são candidatos ao tratamento cirúrgico inicial (13, 18, 19).

A curabilidade e a duração da sobrevida dos pacientes é diretamente dependente do estadiamento da doença, sendo que pacientes com estádios avançados apresentam percentuais de sobrevida em cinco anos inferiores a 5% (20, 21).

Por muitos anos, o agente cisplatino tem sido considerado uma arma central no tratamento quimioterápico paliativo de pacientes com CPNP avançado, fazendo parte de vários regimes de tratamento para essa doença. Entretanto, os resultados com a utilização de combinações quimioterápicas contendo cisplatino são ainda pouco eficazes e não produzem a cura da doença (22, 23, 24).

Considerando que o principal mecanismo de ação citotóxica do cisplatino envolve a produção de quebras no DNA (25), decidiu-se estudar um novo composto, a decitabina, que apresenta sinergismo com o cisplatino em modelos experimentais *in vitro* (26, 27). A decitabina é um análogo do agente antimetabólito citarabina, cujo principal mecanismo de ação parece ser a interferência no processo de metilação do DNA (28, 29, 30). Ao interferir nesse processo, a decitabina altera a expressão de genes envolvidos na diferenciação celular e interfere nos mecanismos de reparo ao dano produzido no DNA devido a vários agentes citotóxicos, incluindo cisplatino (31, 32, 33).

Desse modo, os resultados aqui apresentados dizem respeito ao primeiro estudo de Fase I com a combinação de cisplatino e decitabina em pacientes com tumores sólidos refratários publicado na literatura. Uma vez completado esse estudo de Fase I, realizou-se um estudo inicial

de Fase II com a combinação em pacientes com CPNPC avançado sem tratamento sistêmico prévio.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 O desenvolvimento de novas drogas anticâncer

As drogas anticâncer são, via de regra, desenvolvidas em várias etapas, as quais iniciam com a identificação de um composto de interesse (aquisição) e com a realização de estudos *in vitro* e em animais que possam estimar o seu potencial efeito antitumoral. Uma vez confirmado o interesse pelo novo composto, inicia-se o processo de elaboração de uma formulação farmacêutica adequada para uso em seres humanos e a produção do composto em maior escala, de modo a viabilizar a realização de estudos toxicológicos e farmacológicos em animais (1, 2).

Após ser definida a segurança do novo composto em modelos animais e uma dose recomendável para o início de estudos em seres humanos, passa-se à fase de estudos

Tabela 1 Principais etapas no desenvolvimento de novas drogas anticâncer

Etapas pré-clínicas

Aquisição

Testes de atividade (screening)

In vitro

In vivo

Produção em maior escala

Formulação

Estudos toxicológicos/farmacológicos em animais

Etapas clínicas

Estudos de Fase I/farmacocinética

Estudos de Fase II

Estudos de Fase III

Estudos de Fase IV

clínicos. Os estudos clínicos com novos compostos anticâncer envolvem várias etapas, denominadas estudos de Fase I, II, III, IV (3,4).

Na Fase I, estima-se principalmente o perfil de toxicidade do novo composto e determina-se um nível de dose seguro para estudos clínicos subsequentes (5,6). Sempre que possível, são obtidas informações quanto ao comportamento farmacocinético do novo agente no homem e à

ocorrência de efeitos antitumorais. Nessa fase, pacientes com câncer recebem a droga investigacional pela primeira vez, ou uma nova combinação de drogas é estudada. Podem ser incluídos pacientes com diferentes tipos de câncer, desde que estejam em estádios avançados e em progressão clínica e que já tenham sido tentadas as formas de tratamento convencional da doença.

O delineamento padrão dos estudos de Fase I utiliza grupos de inclusão consecutiva, a intervalos de pelo menos 1 semana, contendo de 3 a 5 pacientes por nível de dose, iniciando-se com uma dose baixa e segura definida em estudos toxicológicos em animais, a qual é escalonar em grupos subsequentes de pacientes para doses mais elevadas, até que sejam definidas a dose máxima tolerável (DMT) e as toxicidades limitantes da dose (TLD) (7,8).

A partir desse processo, identifica-se a dose recomendada para os estudos futuros de Fase II. Em Fase I, podem ser incluídos pacientes com ou sem tumor mensurável uma vez que a determinação de atividade antitumoral não constitui o objetivo central dessa fase de estudo.

Em Fase II, a dose recomendada é estudada em grupos de pacientes que apresentem tumores específicos e tumores mensuráveis de forma objetiva. Com isso, pode-se avaliar os índices de respostas tumorais objetivas do novo composto à luz dos efeitos adversos produzidos. As informações sobre a toxicidade também são um componente importante desses estudos. Os estudos de Fase II são, via de regra, não-randomizados e incluem pacientes de forma consecutiva, utilizando-se regras estatísticas de modo a estimar o potencial de o novo composto ou de a combinação produzirem respostas tumorais objetivas com o menor número de pacientes possível (9,10).

Tal aspecto é fundamental para que não seja incluído um número excessivo de pacientes em estudos com drogas ineficazes. Observando-se uma atividade antitumoral significativa e/ou um perfil de toxicidade de interesse, a equipe poderá decidir por manter o desenvolvimento clínico desse composto ou combinação, estender o número de estudos de Fase II, com a inclusão de um maior número de pacientes, e após prosseguir com estudos de Fase III (11,12).

Os estudos de Fase III têm como objetivo comparar o tratamento convencional utilizado em um tumor específico com uma nova substituição, incluindo o novo composto ou combinação. Para

tanto, utiliza-se um delineamento de estudo prospectivo e randomizado, no qual um número suficiente de pacientes é incluído no braço de tratamento convencional (grupo-controle), e este é comparado ao braço que contém o novo composto em adição ou substituição a uma das drogas utilizadas no esquema convencional (1,8,12).

Uma vez demonstradas vantagens em eficácia e/ou toxicidade com o braço experimental, essa experiência é estendida a um número maior de pacientes através de estudos de Fase IV. Nessa etapa, a eficácia do novo composto é avaliada em um número elevado de pacientes e com seguimento de longo tempo, geralmente já durante a sua fase de comercialização e uso em larga escala. Com isso, pode-se estimar com maior precisão o real valor do novo composto no contexto geral do tratamento, sobretudo em relação aos seus efeitos menos comuns ou dependentes de uma exposição prolongada.

Como se pode depreender a partir das informações mencionadas, o processo de desenvolvimento de novas drogas anticâncer é muito complexo e requer uma conjunção de esforços normalmente disponíveis apenas em instituições acadêmicas e/ou científicas especializadas ou, ainda, em laboratórios pertencentes à indústria farmacêutica. Na grande maioria das vezes, conjugam-se esforços do setor público e privado, tornando-se este um trabalho interdisciplinar, multiinstitucional e de dimensão e logística de desenvolvimento internacional (34,35,36).

O longo e detalhado processo de investigação clínica de um novo composto é fundamentado na elaboração de protocolos de estudos clínicos. Nos países em que são desenvolvidas pesquisas clínicas dessa natureza, deve-se seguir uma série de normas legais, éticas e científicas (6,10,37). No Brasil, por exemplo, todos os projetos de investigação clínica devem ser previamente submetidos à aprovação pelos órgãos reguladores. O Departamento de Vigilância Sanitária é o órgão do Conselho Nacional de Saúde responsável pela aprovação dos protocolos de pesquisa em seres humanos.

1.2 O controle de qualidade em estudos clínicos com novas drogas anticâncer

A Unidade de Motorização Clínica (UMC) é estabelecida para assegurar que os padrões de assistência médica e ética determinados pelas recomendações de Good Clinical Practice (GCP) sejam respeitados. O GCP pode ser definido como um conjunto de normas por meio das quais os estudos clínicos com seres humanos são delineados, implantados e relatados, de forma que os dados gerados pelo estudo tornem-se confiáveis para a comunidade científica e não-científica, respeitando a integridade, a confidencialidade e o

direito dos sujeitos participantes do experimento. Os membros da equipe de pesquisa envolvidos em estudos clínicos são o médico investigador, o monitor clínico, o enfermeiro de pesquisa, o gerente de dados, o psicólogo e o assistente social. Um deles será sempre o investigador principal para efeitos administrativos e legais (4).

Inicialmente, o protocolo de um novo estudo é enviado ao investigador principal para ser avaliado quanto ao seu conteúdo, sendo então encaminhado à UMC. Cabe a esta providenciar a aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da instituição na qual será realizado o estudo. Assim, o monitor clínico deverá coletar documentos e providenciar os esclarecimentos necessários. O conhecimento e a aprovação do protocolo de estudo clínico pelo Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e pelo Ministério da Saúde é de responsabilidade do CEP (6).

Somente após a aprovação do CEP é que se poderá iniciar a inclusão de pacientes no estudo. Identificado o paciente potencialmente candidato ao estudo, discute-se a sua inclusão com a equipe e, considerada correta a indicação, o estudo é proposto a ele. Na sequência, o paciente e seus familiares esclarecem detalhes sobre o estudo com a equipe, discutem as informações livremente com o seu médico de confiança e aceitam ou não participar do estudo. No caso de uma resposta afirmativa, o paciente expressa (termo verbal) ou assina (termo escrito) o seu termo de consentimento livre e esclarecido, iniciando-se após sua avaliação pré-tratamento (11).

Durante o tratamento, o paciente é acompanhado com vistas à adequação da administração e adesão ao tratamento, à monitorização de seus efeitos colaterais e atividade antitumoral, seguindo critérios objetivos reconhecidos internacionalmente (6,34).

Após o tratamento, o paciente deverá ser acompanhado de acordo com o protocolo utilizado, com ênfase na identificação precoce de efeitos tóxicos pelo tratamento. O acompanhamento é realizado pela equipe nos intervalos preestabelecidos no protocolo de estudo. O médico investigador concentra a sua atenção na monitorização dos aspectos de ordem médica, enquanto os demais integrantes da equipe multidisciplinar encarregam-se do controle de suas respectivas atribuições (6).

Entre as responsabilidades do investigador clínico, estão a avaliação dos pacientes, a revisão dos parâmetros utilizados no estudo, a avaliação de efeitos tóxicos e de respostas tumorais. Além disso, também cabe ao investigador realizar ajustes de dose da droga em caso de toxicidade severa, os quais devem seguir rigidamente as instruções contidas no protocolo de estudo. Convém salientar que um protocolo de estudo bem-estruturado deve contemplar a ocorrência de potenciais eventos mais prováveis,

restringindo ao mínimo a possibilidade de que sejam tomadas decisões dependentes apenas da subjetividade do investigador (1,6,11).

A equipe também deve contar com um gerente de dados, responsável pela avaliação dos instrumentos utilizados na coleta de dados e na transcrição dos mesmos para as fichas clínicas e, posteriormente, para o banco de dados do estudo. Esse processo é guiado por um conjunto de normas técnicas denominadas Standard Operating Procedures (Normas

Operacionais Convencionadas – NOC), que constituem um código de regras e instruções específicas desenvolvidas por vários grupos de pesquisa internacionais e que dão uniformidade ao tratamento dos dados obtidos no estudo com vistas a uma futura troca de informações científicas e/ou registro do composto (6,34).

Em caso de estudos que envolvam outros centros de pesquisa, sempre é necessária a realização de auditorias regulares, bem como de visitas ao local do estudo pelos monitores clínicos, com o acompanhamento e a verificação dos dados registrados pelo investigador. O objetivo de tais visitas é garantir a boa qualidade dos dados coletados. Os resultados preliminares do estudo são enviados periodicamente aos investigadores para a sua apreciação clínica e para a elaboração de um relatório final pela equipe após o término do estudo. Esses dados servirão de base para uma futura publicação científica ou para a preparação de uma proposta de registro do novo composto para uso comercial (6).

1.3 O uso de drogas anticâncer no tratamento do CPNPC avançado

1.3.1 Considerações gerais

Considerando-se a distribuição dos casos de CPNPC ao diagnóstico, observa-se que em mais de 50% dos casos o paciente chega ao médico em estádios avançados da doença (Tabela 2) (21). Consequentemente, as possibilidades de cura ou de sobrevida prolongada são muito pequenas para os pacientes com estádios IIIB e IV (Tabela 3) (14,35).

Nas últimas décadas, foi identificada uma série de drogas citóxicas que produzem respostas objetivas em, pelo menos, 10% dos pacientes com CPNPC (Tabela 4). Infelizmente, esses agentes produzem um baixo percentual de respostas completas e, via de regra, produzem pouco ou nenhum impacto na sobrevida global dos pacientes (37,38,39,40,41).

Tabela 2 Distribuição dos pacientes com CPNPC de acordo com o estadiamento

Estádio Clínico	Percentagem de pacientes (%)
I	13
II	10
IIIA	22
IIIB	22
IV	32

Dados adaptados de Bülzebruck H e cols., Cancer, 770:1102-1110, 1992.

Tabela 3 Percentagem de sobrevida de pacientes com CPNPC de acordo com o estadiamento clínico da doença

Estádio	Sobrevida (%)		
	1 ano	2 anos	5 anos
IA	91	79	61
IB	72	54	38
IIA	79	49	34
IIB	59	41	24
IIIA	50	25	13

IIIB	34	13	5
IV	19	6	1

Tabela 4 Respostas objetivas com agentes isolados no CPNPC avançado

Agente com RO > 15%	Agentes com RO > 15%	Agentes em estudos
Cisplatino	Carboplatino	Irinotecan
Epirubicina ID	Ciclofosfamida	Topotecan
Ifosfamida	Adriamicina	
Mitomomicina C	Epirubicina	
Taxol	Etoposide	
Taxotere	Teniposide	
Gemcitabina	5-Fluorouracil	
Vinblastina	Metotrexate	
Vindesina		
Vinorelbina		

Dados compilados de Feld e cols, 2000.

Nos últimos anos, entretanto, estudos comparando o tratamento quimioterápico, sobretudo com esquemas baseados em cisplatino, com o melhor tratamento clínico de suporte disponível mostraram vantagens com o tratamento quimioterápico na duração da remissão e no controle de sintomas (Tabela 5) (43,44,45,46,47,48,49).

Tabela 5 Exemplos de combinações quimioterápicas utilizadas no tratamento de pacientes com CPNPC avançado

Sigla	Agentes quimioterápicos	Respostas objetivas (%)
CAP	ciclofosfamida-adriamicina-cisplatino	15-25
BEP	bleomicina-etoposide-cisplatino	20-40
PV	cisplatino-vindesina ou vinblastina	15-30
MVP	mitomicina C-vinblastina-cisplatino	30-60

EP	etoposide-cisplatino	20-30
CE	carboplatino-etoposide	15-25
TP	teniposide-cisplatino	10-20
IM	ifosfamida-mitomicina C	27
IP	ifosfamida-cisplatino	18-35
ICE	ifosfamida-carboplatino-etoposide	35-40
GP	gemcitabina-cisplatino	28-54
PacP	taxol-cisplatino	27-44
PacC	taxol-carboplatino	25-62
VrbP	vinorelbine-cisplatino	30-45
DocP	taxotere-cisplatino	30-51

Dados compilados de Feld e cols, 2000.

Tabela 6 Tratamento quimioterápico versus melhor tratamento de suporte em pacientes com CPNPC avançado

Autor	Tratamento	Nº de pacientes	SV mediana (semana)	Valor de P
Cormier e cols. (43)	MACC	20	30,5	0,0005
	Suporte	19	8,5	
Rapp e cols. (38)	Vd/P	44	32,6	0,01
	CAP	43	24,7	0,05
	Suporte	50	17,0	
Ganz e cols. (44)	Vd/P	22	18,6	0,26
	Suporte	26	14,4	
Woods e cols. (24)	Vd/P	97	27,0	0,33
	Suporte	91	17,0	
Cellerino e cols. (46)	CEP/MEC	58	34,3	0,13
	Suporte	57	21,1	
Kassa e cols. (46)	Vd/P	44	22,0	0,29
	Suporte	43	16,5	
Quoix e cols. (47)	Vd/P	28	27	0,33
	Suporte	10	17	

Dados compilados de Feld e cols., 2000.

Estudos randomizados com o apoio de estudos de meta-análise respaldam a conclusão de que regimes com quimioterapia baseados em complexos de platina aumentam a sobrevida, o controle de sintomas e a qualidade de vida de pacientes com CPNPC avançado quando comparados a controles com apenas cuidados paliativos adequados (Tabela 6). Do mesmo modo, esquemas com quimiorradioterapia baseados em complexos de platina resultam em maior sobrevida quando comparados à irradiação isolada em pacientes com estágio III (50,51,52,53,54).

Os dados acima mencionados, associados a resultados obtidos com um dos vários novos agentes (como os taxanos, a gemcitabina, a vinorelbina e os inibidores da topoisomerase irinotecan e topotecan), têm mudado significativamente o universo de opções terapêuticas em casos de CPNPC avançado (Tabela 7). Em função disso, é possível dizer que hoje a utilização de quimioterapia é uma forma de tratamento convencional para pacientes com estágio IIIB portadores de derrame pleural e pacientes com estágio IV em progressão clínica sintomática (1).

Tabela 7 Estudos randomizados com novos agentes em combinação com cisplatino em pacientes com CPNPC avançado

Autor	Droga associada	Número de pacientes	RO (%)	SV (meses)	SV 1 ano (%)
Bonomi e cols. (30)	Taxol	189	27	9,6	37
	Taxol-ID	191	32	10	39
	Etoposide	194	12	7,7	32
Giaccone e cols. (55)	Taxol	155	44	9,4	41
	Teniposide	157	30	9,7	43
Wozniak e cols. (46)	-	218	10	6,0	16
	Vinorelbine	214	25	7,0	35
Manegold e cols. (48)	Gemcitabina	71	18	6,6	
	Etoposide	75	15	7,6	?
Peng e cols. (49)	Gemcitabina	27	19	37	40
	Etoposide	25	21	48	33

1.3.2 O estado atual do tratamento de pacientes com CPNPC

A despeito da escolha do regime terapêutico, alguns parâmetros clínicos e laboratoriais são reconhecidamente associados ao padrão de comportamento resposta ao tratamento no CPNPC (56,57,58,59). São eles o desempenho clínico, o estadiamento da doença e a perda de peso. Outros fatores provavelmente importantes são a albumina e a desidrogenase láctica séricas, além de alguns marcadores moleculares mais recentes (60,61).

O efeito na sobrevida é, certamente, O objetivo central do tratamento. Ainda que as taxas de respostas objetivas também possam ser um alvo a ser perseguido no tratamento, no caso de doenças ainda incuráveis, como o CPNPC avançado, o controle dos sintomas, a manutenção da qualidade de vida e o prolongamento da sobrevida são, sem dúvida, mais relevantes para o paciente (62,63,64,65,66).

O cisplatino tem sido considerado o agente mais ativo no tratamento de pacientes com CPNPC, tanto no manejo paliativo de pacientes com estágio IV quanto em esquemas combinados de quimiorradioterapia em pacientes com estágio III. Em pacientes com estágio IV, esquemas baseados em cisplatino resultaram em uma maior sobrevida *versus* controles com tratamento de suporte isolado (63,66,67,68,69,70,71).

Tabela 8 Fatores prognósticos associados à maior sobrevida em pacientes com CPNPC avançado (Análise multivariada dos estudos do SWOG n=2290)

Variáveis favoráveis	Valor de P	Razão de risco (Hazard)
Desempenho clínico 0-1	<0,0005	1,7
Regime baseado em cisplatino	<0,005	1,3
Sexo feminino	<0,005	1,3

Dados adaptados de Albain e cols., *JCO*, 9:1618, 1991.

Uma análise de 2290 pacientes tratados em protocolos quimioterápicos do SWOG para CPNPC avançado sugeriu que a utilização de esquemas contendo cisplatino foi um dos principais fatores associados a uma maior sobrevida (Tabela 8) (21).

Igualmente, em pacientes com estágio III, O tratamento combinado com cisplatino e irradiação ou cisplatino prévio à cirurgia foi superior em termos de impacto na sobrevida em relação ao tratamento radioterápico ou cirúrgico isolado (6,7,8,9,10). Curiosamente, esse impacto na sobrevida tem sido confirmado em vários estudos apesar dos baixos percentuais de respostas objetivas com cisplatino como droga única em estudos de Fase III (63,64,65,66,67,72).

Até pouco tempo, não havia na literatura dados claros quanto à superioridade em termos de sobrevida com esquemas combinados de quimioterapia versus cisplatina ou carboplatino isolados em pacientes com CPNPC avançado. Embora estudos realizados em grupos cooperativos como o SWOG, a European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) e o Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) tivessem documentado um aumento nos índices de respostas objetivas com a adição de etoposide, mitomicina C ou outros agentes ao complexo de platina, nenhum estudo havia comprovado um ganho real de sobrevida com tais combinações versus um complexo de platina isolado (73,74,75,76).

Nos últimos cinco anos, foi estudada uma série de novos agentes quimioterápicos ativos em pacientes com CPNPC, incluindo agentes que atuam através de mecanismos de ação distintos dos quimioterápicos clássicos. São exemplos os taxanos (taxol e taxotere), os inibidores da topoisomerase I (irinotecan e topotecan) e novos análogos, como a vinorelbina e a gemcitabina. Estudos de Fase II com esses novos agentes, principalmente em combinação com o cisplatino ou o carboplatino, têm produzido respostas impressionantes e sugerem potenciais vantagens terapêuticas (77,78,79,80,81).

Estão sendo conduzidos estudos randomizados (17,24) que comparam novas combinações contendo derivados de platina com cisplatino isoladamente ou esquemas de combinações com platino já conhecidos. Embora estudos de Fase III tenham sugerido vantagens com as novas combinações contendo complexo de platina, os ganhos em sobrevida global dos pacientes têm sido inferiores aos inicialmente estimados com base nos estudos de Fase II. Além disso, nem uma combinação em particular parece ser superior às demais (82,83).

O SWOG 9509 é o primeiro estudo randomizado que compara dois regimes com drogas novas associadas a derivados de platina, demonstrando eficácia e ganhos em qualidade de vida semelhantes para pacientes que recebem esquemas com vinorelbina e cisplatino ou taxol e carboplatino (84,85,86,87,88,89).

Salvo resultados contrários de estudos em andamento, como o estudo 1594 do ECOG, espera-se que os novos agentes disponíveis possam produzir resultados superponíveis aos atualmente obtidos com combinações, incluindo complexos de platina, ou seja, um impacto semelhante na sobrevida dos pacientes.

Entretanto, mesmo com resultados superponíveis, esses estudos possibilitam-nos várias opções de escolha quanto ao regime de tratamento quimioterápico a ser utilizado em cada paciente individualmente. Nesse sentido, a toxicidade, a tolerabilidade, o custo e o impacto estimado de cada regime na qualidade de vida do paciente deve ser considerações importantes na decisão terapêutica. Questões como a forma ideal de combinação desses agentes, doses, esquemas de administração e tipo de complexo de platina a ser escolhido para o uso em pacientes individualmente permanecem ainda sem resposta.

1.3.3 Novos derivados de platina

O desenvolvimento de resistência ao cisplatino é um dos maiores problemas no tratamento de pacientes com CPNPC (90,91,92). A neoplasia é, em geral, intrinsecamente resistente aos derivados de platina utilizados atualmente; por isso, a reversão de formas de resistência a esse grupo de agentes é de fundamental importância (Tabela 9).

Existem evidências de que o cisplatino exerce seus efeitos através da produção de danos e recombinações anormais no DNA, bloqueando a sua replicação e/ou afetando o processo de transcrição (25). Duas formas de resistência ao cisplatino têm sido observadas em estudos experimentais: a falha da droga em atingir e ligar-se a seu alvo intracelular, e a falha na ocorrência de apoptose após a interação da platina com o DNA (93,94).

Os dois principais mecanismos que antecedem a ligação da platina com o DNA e que fazem com que tal interação não ocorra de forma adequada são a captação reduzida da droga pela célula tumoral e o aumento de sua inativação intracelular pelos tióis, em particular o glutatião (GSH) e as metalotioneínas (90,91,93).

Os principais mecanismos causadores de resistência após a ligação da platina com o DNA são o aumento no reparo dos danos produzidos no DNA por excisão de nucleotídeos e/ou a disfunção em um outro mecanismo de reparo no DNA dependente de modificações em sequências de nucleotídeos, os quais resultam em uma maior habilidade da célula para tolerar maior quantidade de danos no DNA e em alterações no processo apoptótico. Na maioria dos modelos pré-clínicos de resistência ao cisplatino, múltiplos

Tabela 9 Principais mecanismos de resistência aos complexos de platina

Prévios	à	ligação	ao	DNA
Menor	captação	da droga	pela célula	tumoral
Maior	inativação	da droga	por	tióis
Posteriores	à	ligação	ao	DNA
Maior	ação	de	reparo	ao
Menor	capacidade de indução	de	apoptose	pós-injúria
		enzimas	dano	no
				DNA

Dados adaptados de Kelland e cols., 1999

mecanismos parecem implicados, mas sua contribuição individual ainda é pouco clara (90,92,94).

Vários complexos de platina tem sido estudados com o objetivo de reverter a resistência ao cisplatino. Uma estratégia envolve o delineamento de drogas focadas em alguns desses mecanismos específicos de resistência. O JM335, um complexo transplatina, induz diferentes tipos de ligantes de platina no DNA do que o cisplatino. No entanto, sua atividade antitumoral *in vivo* tem sido pouco importante (92).

O BBR3464, um composto bi/trinuclear, parece reverter a resistência ao cisplatino associada a problemas de acumulação e também apresenta uma forma peculiar de interação com DNA quando comparado a cisplatino. O perfil de sensibilidade de tumores *in vitro* a esse agente é distinto das demais análogos de platina. Além disso, o BBR3464 é ativo em vários carcinomas humanos mantidos em modelos de camundongos atímicos, vários deles resistentes ao cisplatino. Estudos clínicos de Fase I com BBR3464 estão sendo desenvolvidos, evidenciando diarreia e

mielossupressão como toxicidades limitantes da dose. Atividade antitumoral pode ser observada em paciente com câncer de pâncreas (91,92,93).

Um outro exemplo de derivado de platina delineado com o objetivo de reverter os mecanismos de resistência é o ZD0473, desenvolvido com o objetivo de reverter a resistência mediada por tióis. Estudos *in vitro* revelaram que o ZD0473 é menos suscetível à ligação por tióis do que o cisplatino, tendo demonstrado atividade *in vitro* promissora em linhas tumorais resistentes ao cisplatino, nas quais os níveis de tióis são mais elevados. O ZD0473 também é ativo em células com resistência adquirida ao cisplatino devido à redução no transporte da droga ou ao aumento no reparo ao dano produzido no DNA (91,92).

O ZD0473 mostrou atividade antitumoral em modelos *in vivo* de carcinoma de ovário humano, alguns deles resistentes ao cisplatino. Esse agente também está presente em estudos de Fase I, sendo que a trombocitopenia parece ser a sua toxicidade clínica mais importante. Evidência de atividade antitumoral foi observada em pacientes com câncer de ovário e CPNPC. Estão sendo iniciados estudos de Fase I com a combinação de ZD0473 e taxol, bem como estudos de Fase II como agente único em CPNPC, câncer de pulmão de pequenas células e mesotelioma (91,92,94).

1.3.4 Direções futuras

São direções importantes a serem seguidas na pesquisa de novas opções terapêuticas para pacientes com CPNPC avançado a otimização das formas de tratamento disponíveis, a individualização do tratamento com base em fatores preditivos clínico-laboratoriais (em especial características moleculares) e o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Nesse sentido, são procurados esquemas com a inclusão de novos agentes, os quais apresentem atividade antitumoral significativa, perfil de toxicidade distinta e, principalmente, mecanismo de ação diferente daqueles utilizados pelas drogas disponíveis (37,39,71,74).

Três aspectos também são de grande interesse: 1) o desenvolvimento de novos análogos de complexos de platina, sobretudo aqueles que melhorem a qualidade de formação de adultos no DNA, ou que tenham um melhor índice terapêutico; 2) os complexos de platina para utilização por via oral, principalmente pela sua mais fácil administração em nível ambulatorial; 3) a identificação de novos moduladores de seus mecanismos de resistência. Nesta tese, a decitabina é estudada dentro desse contexto (43,74,95).

Esquemas quimioterápicos que incorporem uma terceira droga à combinação de um complexo de platina com outro agente quimioterápico podem ser igualmente promissores, bem como o estudo de regimes de combinações de drogas que não incluam derivados de platina. Esses regimes podem ser relevantes no futuro no sentido de se promover a avaliação de regimes alternados de drogas, visando-se a evitar o desenvolvimento de resistência a drogas (43,71,74).

É interessante ainda considerar, dentro de uma perspectiva de tratamento mais individualizado dos pacientes com CPNPC avançado, a possibilidade de que pacientes

Tabela 10 Novas estratégias potenciais no tratamento do CPNPC avançado

Agentes que interferem na angiogênese tumoral
Indutores da diferenciação celular
Promotores do processo de apoptose
Agentes reversores da resistência a drogas
Agentes antimetástases
Anticorpos monoclonais
Vacinas antitumorais
Agentes inibidores da transdução de sinais intracelulares
Inibidores seletivos de cinases
Antagonistas de fatores de crescimento tumoral
Oligonucleotídeos anti-senso

Dados adaptados de Schields, *Annals of Oncology*, 10 (Suppl. 5): S7-S11, 1999; Boral e cols., *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 42 (Suppl): S3-S21, 1998.

idosos e com pior desempenho clínico recebam esquemas menos tóxicos e, preferencialmente, por via oral (43,65). Do mesmo modo, indivíduos que apresentem mutação em genes que codificam a beta-tubulina podem ser selecionados para esquemas que não incluam taxanos, por exemplo (96).

Por fim, progressos recentes no desenvolvimento de novos agente antitumorais, atuando através de mecanismos distintos dos classicamente utilizados, vêm sendo introduzidos em programas de investigação clínica. Um novo desafio diz respeito à incorporação desses mecanismos baseados em novos alvos moleculares (Tabela 10) (97,98,99,100,101,102,103).

Nesta tese, enfocam-se estudos iniciais com a combinação de cisplatino e o novo agente hipometilador do DNA – a decitabina – cuja associação produziu efeitos sinérgicos em modelos tumorais *in vitro* (26,27).

1.4 A decitabina: um novo agente experimental

1.4.1 Aspectos gerais

A decitabina (5-aza-2'-deoxycytidine; 5-AZA-2'-CdR, DAC), um novo agente hipometilador do DNA, tem demonstrado um significativo efeito antileucêmico em estudos pré-clínicos e clínicos iniciais (104,105,106). Estudos comparativos com a citarabina (Ara-C) em modelos pré-clínicos sugerem que a decitabina tenha atividade comparável ou superior à citarabina em linhagens celulares de leucemia mieloide aguda humana (LMA) (107,108,109). Além disso, possui efeito indutor de diferenciação celular em modelos de leucemia humana *in vitro* (110,111,112,113).

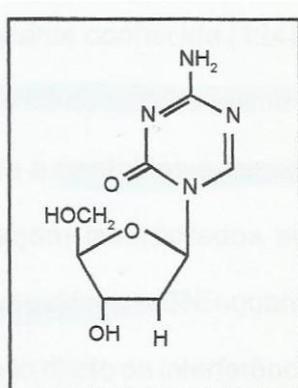
Hoje, a decitabina começa a fazer parte do armamentário terapêutico das síndromes mielodisplásicas em vários países, estando também em fase adiantada de avaliação nos EUA e na Europa em estudos multicêntricos prospectivos e randomizados como substituta de citarabina em regimes de primeira linha no tratamento de pacientes com LMA (114,115,116).

1.4.2 Características químicas e mecanismo de ação

A decitabina é um análogo de deoxicidina em que o C-5 no anel pirimidínico é substituído por uma molécula de nitrogênio (117,118).

Em células de ratos, quase 5% de deoxicidina remanescente no DNA apresenta-se como decitabina. A metilação ocorre imediatamente após a replicação do DNA e envolve a transferência de um grupo metílico do S-adenosil- metionina para a posição 5 da deoxicidina em uma reação catalisada pela DNA-metilase. A função biológica da 5-metildeoxicidina no DNA era desconhecida até que recentes investigações indicassem

FIGURA 1



que a metilação do DNA pode ter uma importante função na expressão genética. Em geral, a metilação do DNA reprime a expressão genética, ao passo que a demetilação produz ativação do gene (119,120).

Os análogos pirimidínicos da deoxicidina – a 5-Aza-citidina e a decitabina – inibem a metilação do DNA em células de rato. A decitabina difere da deoxicidina pela presença do nitrogênio na posição 5 do anel heterocíclico. A inibição é devida à incorporação desses análogos ao DNA que, aparentemente, produz uma inativação da DNA-metilase. Tem sido proposto que a inibição da metilação do DNA por esses análogos da deoxicidina seja responsável pela geneativação e pela indução da diferenciação celular (121,122).

A fosforilação da decitabina é catalisada pela deoxicitidina-cinase, sendo requerida para a expressão dos efeitos citotóxicos e configurando o mesmo mecanismo da citosina arabinoside (citarabina). Assim, é improvável que a leucemia refratária à citarabina seja sensível à decitabina, a menos que outro mecanismo de resistência à citarabina esteja presente (119,121,123).

1.4.3 Atividade pré-clínica

A decitabina é um ativo agente antileucêmico no animal e no homem. Há uma boa correlação entre a extensão da inibição da metilação do DNA e a atividade antileucêmica da decitabina em ratos. Todavia, o mecanismo de ação não é claro. Ao contrário da hipometilação, a citosina arabinoside induz a hipermetilação do DNA e também exibe sua atividade antileucêmica bastante conhecida (124,125).

A comparação da atividade da decitabina com a da citarabina em alguns modelos de leucemia animal mostrou que a decitabina é um agente antileucêmico mais potente. Embora ambos os agentes sejam incorporados ao DNA, os mecanismos de sua citotoxicidade são completamente diferentes. Enquanto se aceita que a citarabina induza a citotoxicidade como resultado direto da interferência na síntese de DNA, a decitabina induz a hipometilação do DNA que, por sua vez, associa-se a fatores como alterada expressão genética, indução da diferenciação e, provavelmente, morte celular (119,120,121,122).

Covey e colaboradores (126) estudaram o efeito da decitabina no crescimento e o potencial clonogênico de células leucêmicas L1210 *in vitro*. Células foram expostas a 0,001-100 mg/ml de decitabina por períodos de 1-120 h. A dose relacionada ao efeito foi vista entre 0,01 e 0,5 mg/ml. A sobrevivência diminuiu com o tempo de exposição aumentado até 24 h. De qualquer maneira, o aumento da exposição além das 24 h não diminuiu a sobrevivência de uma maneira consistente.

Pinto e colaboradores (110) mostraram uma diferenciação radical das células blásticas leucêmicas humanas depois de incubação *in vitro* com doses não-tóxicas de decitabina. Mais ainda, eles mostraram que, em um sistema líquido HLA-DR negativo, os blastos leucêmicos expressavam antígenos DR depois da incubação com citarabina ou decitabina.

Walker e colaboradores (121) demonstraram que células murine TG84-15 altamente tumorigênicas tratadas com decitabina formaram colônias que eram miosina-positivo e continham microtubos, ao passo que o potencial tumorigênico das células tratadas foi suprimido.

1.4.4 Estudos toxicológicos em animais

Estudos de toxicologia animal foram realizados por diferentes investigadores. Vesely e Cihak (129) administraram decitabina na dose de 1,5, 3,0 e 6,0 mg/kg i.p. em ratos (machos DBA/2) em 5 dias consecutivos. Os animais que receberam a dose maior morreram entre os dias 8 e 17 após a injeção. Momparler e Gonzales (87) administraram decitabina em infusão contínua por 8 h em ratos (macho CD2F2, Balb/c x DBA/2). A LD50 e a LD10 foram 54 e 25 mg/kg, respectivamente (127,128,129).

Em outro estudo, Momparler e Frith (127) administraram decitabina como infusão contínua de 12 h, e a LD50 foi 22,2 e 29,5 mg/kg para ratos fêmeas e machos, respectivamente. Leuco e plaquetopenia foram observadas. A histopatologia realizada nesses animais que receberam LD50

mostrou hipoplasia de medula óssea e dano da mucosa intestinal no dia 7 e recuperação no dia 28 após a infusão (128,129).

Chabot e Momparler (108) mostraram uma atividade antitumoral da decitabina contra leucemia em ratos, com várias doses, notando um leve efeito, mas não total, no bloqueio da progressão do ciclo celular para a fase S. Covey e Zaharko (126) relataram em seus experimentos que o tempo de sobrevida elevou-se quatro vezes em relação ao tempo de sobrevida esperado nos animais leucêmicos controles. Richel e colaboradores (106), utilizando um modelo de ratos portadores de LMA (BNML), demonstraram um aumento de sobrevida depois do tratamento com decitabina comparado ao Ara-C, com uma efetividade antileucêmica maior e um efeito tóxico comparável.

1.4.5 Estudos clínicos

Rivarde e colaboradores (130) realizaram um estudo de Fase I com decitabina em crianças com leucemia aguda, nas doses de 0,75-30 mg/kg administradas por 12-30 h de infusão contínua ou 10 mg/kg como aplicação em bolo, e o efeito antileucêmico foi somente mínimo. Um efeito muito melhor foi observado com doses maiores de 36-80 mg/kg ministradas em 36-44 h de infusão contínua.

Efeitos colaterais consistiram em supressão da medula óssea, náusea e vômitos, diarreia e alopecia. O efeito antitumoral da decitabina foi muito limitado, mas foram observadas leucopenia e trombocitopenia marcadas com o nadir 9 a 12 dias depois do tratamento. A recuperação iniciou 28 dias depois para as plaquetas e 42 dias para os leucócitos. A concentração plasmática média para uma infusão de 1mg/kg/h foi estimada em 0,5 (g/ml).

Um estudo farmacológico de Fase I em adultos com tumores sólidos realizado por Groeningen e colaboradores (131) mostrou que a decitabina é eliminada rápida e amplamente por meio de processos metabólicos. Os pacientes receberam 75 mg/m² a 100 mg/m², em 1 h de infusão, e os picos plasmáticos médios foram 0,93 a 2,01, respectivamente. A determinação da decitabina na urina coletada 8 horas após o início da infusão, para todas as doses, foi de <1% da dose infundida.

Debusscher e colaboradores (132) relataram para o EORTC Leukemia Group sua experiência com decitabina em 26 pacientes na sua maioria refratária ao Ara-C (20 LMA, 2 LLA, 1 bifenotípica e 3 crises blásticas de LMC). Trinta e quatro cursos foram dados por infusão contínua ou por 12 h em 2, 3, 4 e 5 dias. A toxicidade encontrada foi náusea e vômito (22/34 cursos), mucosite (7/34), alopecia e alteração moderada da função hepática. Registrou-se um caso de insuficiência respiratória aguda, um episódio de taquiarritmia e um caso de insuficiência cardíaca congestiva. A pancitopenia foi profunda e prolongada. Um paciente chegou à completa remissão. Vinte e três dos 26 pacientes experimentaram um efeito antileucêmico.

Willemze e colaboradores (133) trataram 5 pacientes com leucemia refratária e 11 pacientes com leucemia recidivada com decitabina 125-500mg/m² em uma infusão de 6 h, 2 vezes ao dia, por 6 dias, e AMSA 120 mg/m²/dia nos dias 6 e 7. Esse esquema provocou mielossupressão prolongada e outras toxicidades sem provocar grande impacto na atividade antileucêmica. Nenhuma resposta e nenhuma toxicidade foram vistas nos pacientes refratários,

mas 8 de 11 pacientes com doença recidivada alcançaram uma RC estável. Dois pacientes obtiveram uma RP. Verificou-se uma toxicidade de moderada a severa (gastrintestinal, neurológica) em 5 pacientes recidivados. A granulocitopenia foi aparente por mais ou menos 3 semanas. A remissão durou de 2 a 14 meses.

Em 1993, Zagonel e colaboradores (125) relataram o efeito da decitabina em 10 pacientes com mielodisplasia. Eles utilizaram a dose de 45 mg/m² em infusão de 4 h por 3 dias ou 50 mg/m² em infusão contínua por 3 dias. Em 4 pacientes, houve completa normalização do sangue periférico e da medula óssea (resposta hematológica completa).

Em 1993, Silverman e colaboradores (134) apresentaram os resultados do uso da decitabina em pacientes com mielodisplasia na dose de 75 mg/m²/dia durante 7 dias. A resposta foi vista em 49% dos 49 pacientes avaliáveis, 5 (12%) em RC.

Petti e colaboradores (135) apresentaram os resultados preliminares do uso de decitabina no tratamento de pacientes com LMA com prognóstico reservado. De um total de 10 de 12 pacientes avaliáveis com decitabina em uma dose de 90-120 mg/m² em uma infusão de 4 h, 3 vezes ao dia, por 3 dias consecutivos, 6 pacientes apresentaram mielodisplasia prévia, 1 apresentou LMA secundária e 5 foram novamente considerados portadores de leucemia. Somente 3 pacientes chegaram a uma RC e 1 RP.

Uma verdadeira fase aplástica foi documentada em 5 pacientes; nos demais verificou-se uma moderada ou mesmo uma medula óssea normocelular seguindo a administração da decitabina. A toxicidade mais proeminente foi a neutropenia, com média de recuperação de 30 dias (15-53 dias). A trombocitopenia grau 3-4 (WHO) ocorreu em 13 de 16 cursos da droga e recuperou em média de 25 dias (20-45 dias). A Toxicidade não-hematológica foi geralmente moderada, mas 2 pacientes morreram devido a eventos cerebrais trombóticos durante o período de aplasia e 1 paciente devido à insuficiência cardíaca aguda.

Em 1993, Gattei e colaboradores (124) relataram os efeitos da decitabina *in vitro* e *in vivo* nas células clonogênicas em 9 pacientes com LMA. A dose usada foi de 90-120 mg/m² em infusão de 4h, 3 vezes ao dia, por 3 dias a cada 4-6semanas. Dois pacientes chegaram à RC, 2 à RP, 2 morreram na indução e 3 não responderam ao tratamento. Os estudos *in vitro* mostraram forte sugestão de indução da diferenciação celular e/ou uma desorganização genética das células neoplásicas, seguidas de perda do potencial clonogênico e, em última análise, de uma morte celular na ausência de destruição celular aguda como o principal mecanismo de ação da droga.

Wilenze e colaboradores (136), também em 1993, relataram a ação da decitabina (125mg/m², 6h de infusão, cada 12h, por 6 dias) em 20 pacientes com LMA recidivada (uma ou mais recidivas), com uso combinado com as drogas m-ansacrine (120mg/m² dias 6 e 7) e/ou idarubicina (12 mg/m², dias 5,6 e 7). Treze pacientes (59%) chegaram a uma RC, 12 tratados com decitabina+m-ansacrine e 1 com decitabina+idarubicina. Dois pacientes chegaram a uma RP e falharam em responder ao tratamento ou morreram durante o período de indução da remissão. A neutropenia durou em média 25 dias, e a plaquetopenia que necessitasse de transfusão, 18 dias. A toxicidade não-hematológica consistiu em náusea e vômito em alguns pacientes. Verificou-se toxicidade cerebral ou cerebelar em 2, sangramento gastrintestinal em 3 e toxicidade hepática em 2 pacientes. A duração da remissão teve uma média de 4 meses (1-30 meses).

Mais recentemente, a decitabina também tem sido estudada, *in vitro* e *in vivo*, em outras neoplasias, como tumor de próstata e de mama, em regime de condicionamento para transplante de medula, e como agente potencializador de outras drogas como o cisplatino em linhas tumorais humanas (137,138, 139, 140).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Identificar um nível de dose seguro do agente experimental decitabina para uso em combinação com o agente cisplatino em pacientes portadores de tumores sólidos avançados, incluindo o CPNPC.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Determinar o perfil de toxicidade da combinação cisplatino/decitabina em diferentes níveis de doses nessa população de pacientes.
- b) Determinar a dose máxima tolerável (DMT) da combinação nessa população de pacientes.
- c) Documentar eventuais respostas tumorais objetivas com tal combinação nessa população de pacientes.
- d) Recomendar um nível de dose seguro dessa combinação para testes subsequentes em estudos de Fase II com pacientes portadores de tumores sólidos avançados.
- e) Estimar os índices de respostas objetivas e a toxicidade dessa combinação na dose recomendada em um estudo-piloto em pacientes com CPNPC estádios IIIB e IV.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schwartzmann G, Winograd B, Pinedo HM. The main steps in the development of new anticancer agents. *Radiotherapy and Oncology*, 12:301-313, 1988.
2. Workman P, Kaye SB, Schwartzmann G. Laboratory and phase I studies of new cancer drugs. *Curr. Opin Oncol.*, 4:1065-1072, 1992.
3. Mans DRA, Rocha AB, Schwartzmann G. Anticancer drug discovery and development in Brazil: Targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anti-cancer compounds. *The Oncologist*, 5:185-198, 2000.
4. Schwartzmann G, Wanders J, Koier IJ, Franklin HR, Dalesio O, Hornstra HW et al. EORTC New Drug Development Office coordinating and monitoring program for phase I and II trials with new anticancer agents. *Eur. J. Cancer*, 27:1162-1168, 1991.
5. Bisset D, Graham MA, Setanoians A, Chadwick GA, Wilson P, Koier I, Henrar R, Schwartzmann G, Cassidy J, Kaye SB, Kerr D. Phase I and pharmacokinetic study of Rhizoxin. *Cancer Res.*, 1992.
6. Arrigo C, Koier IJ, McVie GJ, Marsoni S, Newlands E, Schwartzmann G. Minimal guidelines for the monitoring of early clinical trials (Phase I-II) in Europe under the CRC/EORTC/NCI Joint Agreement. *Eur. J. Cancer*, 1289-1292, 1992.
7. Workman P, D' Incalci, Berdel WE, Egorin MJ, Helene C, Hickman J, Jarman M, Schwartzmann G, Sikora K. New approaches in cancer pharmacology; drug design and development. *Eur. J. Cancer*, 28:1190-1200, 1992.
8. Schwartzmann G. EORTC strategies for anticancer drug discovery. *Forum Trends in Experimental and Clinical Medicine*, 2:520-528, 1992.
9. Schwartzmann G, Workman P. Anticancer Drug Screening and Discovery in the 1990s: A European Perspective. *Eur. J. Cancer*, 29:3-14, 1993.
10. Begent RHJ, Chester KAA, Connors T, Crowther D, Fox B, Griffiths E, Hince TA, Ledermann JA, McVie JG, Minor P, Secher DS, Schwartzmann G, Thorpe R, Wilbin C, Zwierzina H. Cancer Research Campaign. Operation manual for control recommendations for products derived from recombinant DNA technology prepared for investigational administration to patients with cancer in phase I trials. *Eur. J. Cancer*, 29:1907-1910, 1993.
11. Schwartzmann G, Koier IJ, Wanders J, Hendrics HR, Henrar REC, Kalakun L, Pinedo HM. An overview of phase I trials with new anticancer agents under the coordination and monitoring of the EORTC New Drug Development Office. *J. Drug Development*, 4(1): 47-55, 1991.

12. Schwartzmann G, Workman P. Anticancer drug screening and discovery in the 1990s: a European perspective. *Eur. J. Cancer*, 29:3-14, 1993.
13. Feld F, Abratt R, Graziano S et al. Pretreatment minimal staging and prognostic factors for non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 18: Suppl 2:141, 1997.
14. *Cancer Facts & Figures – 1998*. Atlanta, GA: American Cancer Society, 1998.
15. Ginsberg RJ, Vokes EE, Raben A. Non-small cell lung cancer. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 5th ed. Philadelphia, PA Lippincott-Raven Publishers, 858-911, 1997.
16. Mather D, Sullivan SD, Parasuraman TV. Beyond survival: economic analyses of chemotherapy in advanced, inoperable NSCLC. *Oncology*, 12:199-209, 1998.
17. Dados do Brasil, fornecidos pelo Instituto Nacional do Câncer, RJ.
18. Mountain CF. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest*, 111:1710-1717, 1997.
19. Franceschi S, Bidoli E. The epidemiology of lung cancer. *Annals of Oncology* 10 (Suppl. 5):S3 – S6, 1999.
20. Non-small cell Lung Cancer Collaborative Group. Chemotherapy in non-small cell lung: cancer a meta-analysis using updated data on individual patients from 5 randomised clinical trials. *BMJ*, 311:899-909, 1995.
21. Albain KS, Crowley JJ, LeBlanc M, Livingston RB. Survival determinants in extensive stage non-small cell lung cancer: the Southwest Oncology Group experience. *J. Clin. Oncol.*, 19:1618-1626, 1991.
22. Gandara DR, Crowley L, Livingston RB et al. Evaluation of cisplatin intensity in metastatic non-small cell lung cancer: A phase III study of the Southwest Oncology Group. *J. Clin. Oncol.*, 11:873-878, 1993.
23. Klastersky J, Sculier JP, Lacroix H et al. A randomized study comparing cisplatin or carboplatin with etoposide in patients with advanced non-small cell lung cancer: European Organization for Research and treatment of Cancer Protocol 07861. *J. Clin. Oncol.*, 8:1556-1562, 1990.
24. Woods RL, Williams CJ, Levi J et al. A randomized trial of cisplatin and vindesine versus supportive care only in advanced non-small cell lung cancer. *Br. J. Cancer*, 61:608, 1990.
25. Reed E, Yuspa SH, Zwelling LA et al. Quantitation of cis-diamminedichloroplatinum (II) (cisplatin)-DNA-intrastrands adducts in testicular and ovarian cancer patients receiving cisplatin chemotherapy. *J. Clin. Invest.*, 77:545-550, 1986.
26. Lenzi R, Abbruzzese J, Hunt B, Jackson D, Frost P. Reversal of cisplatin resistance by 5-aza-2'-aza-deoxycytidine (DAC) in human ovarian cell lines. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 33:497, 1992 (abstr #2865).
27. Frost P, Abbruzzese J, Hunt B, Lee D, Ellis M. Synergist effect of cisplatin in murine tumor cells pretreated with 2'-deoxy-5-azacytidine. In: 5-aza-2'-deoxycytidine: preclinical and clinical

- studies. Momparler RL & deVos D (eds), 29-34, PCH Publications, Haarlem, The Netherlands, 1990.
28. Kolata G. Fitting methylation into development. *Science*, 228:1183-1184, 1985.
 30. Jones PA, Taylor SM. Cellular differentiation, cytidine analogs and DNA methylation. *Cell*, 20:85-93, 1980.
 31. Pinto A, Attadia V, Fusco A, Ferrara F, Spada OA, DiFiore PP. 5-Aza-2'-deoxycytidine induces terminal differentiation of leukemic blasts from patients with acute myeloid Leukemias. *Blood*, 64:922-929, 1984.
 32. Christman JK, Price P, Pedrinan L, Acs G. Correlation between hypomethylation of DNA and expression of globin genes in Friend erythroleukemia cells. *Eur. J. Biochem.*, 81:53-61, 1977.
 33. Schwartzmann G, Pinedo HM, Ieyva A. Resistance of HL-60 promyelocytic leukemia cells to induction of differentiation and its reversal by combination treatment. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 23:739-743, 1987.
 34. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M et al. Reporting results of cancer treatment. *Cancer*, 47:207-214, 1981.
 35. Gehan LA. The determination of the number of patients required in preliminary and follow-up trial of a new chemotherapeutic agent. *J. Chronic Dis.*, 13: 346-349, 1961.
 36. Green S, Weiss GR. Southwest Oncology Group standard response criteria, endpoint definitions and toxicity criteria. *Invest News Drugs*, 10:239-253, 1992.
 37. Ruckdeschel JC. Chemotherapy for Lung Cancer: New Agents with Significant Benefit. *Primary Care Cancer*, 18:26-32, 1998.
 38. Rapp E, Pater JL, Willan A et al. Chemotherapy can prolong survival in patients, with advanced non-small cell lung cancer: Report of a Canadian Multicenter Randomized Trial. *J. Clin. Oncol.*, 6:633-641, 1988.
 39. Lilenbaum RC, Green MR. Novel chemotherapeutic agents in the treatment of non-small cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.*, 11:1391-1402, 1993.
 40. Edelman MJ, Gandara DR. Promising new agents in the treatment of non-small cell lung cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 37:385-393, 1996.
 41. Hainsworth JD. Treatment of non-small cell lung cancer. *Federal Practitioner Supplement*. Oct:15-21.
 42. Feld R, Ginsberg RJ, Paine DG, Shepherd FA. In: Lung A, Martin D, Armitage JO, Lichter AS, Niederhuber JE. *Clinical Oncology*, 2nd Edition. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000.
 44. Comier Y, Bergeron D, La Forge J et al. Benefits of polychemotherapy in advanced non-small cell bronchogenic carcinoma. *Cancer*, 50:845, 1982.
 45. Rajewsky MF, Schwartzmann G et al. Towards improved cancer diagnosis and treatment founded on current developments in the basic sciences: Options from intensified European efforts. *Eur. J. Cancer*, 27(7), 936-939, 1991.

46. Kassa S, Lund E, Thorud E et al. Symptomatic treatment versus combination chemotherapy for patients with extensive non-small cell lung cancer. *Cancer*, 67:2443, 1991.
47. Quoix E, Dietemann A, Charbonneau J et al. La chimiothérapie comportant du cisplatine est-elle utile dans le cancer bronchique non microcellulaire au stade IV? Resultats d'une étude randomisée. *Bull. Cancer*, 78:341, 1991.
48. Manegold C, Bergman B, Chemaissani A et al. Single-agent gemcitabine versus cisplatin-etoposide: early results of a randomized phase II study in locally advanced or metastatic non-small cell lung cancer. *Ann. Oncol.* (in press).
49. Perng RP, Chen Y, Ming-Liu J et al. Gemcitabine versus the combination of cisplatin and etoposide in patients with inoperable non-small cell lung cancer in a phase II randomized study. *J. Clin. Oncol.*, 15:2097, 1997.
50. Bonomi PD, Finkelstein DM, Ruckdeschel JC et al. Combination chemotherapy versus single agents followed by combination chemotherapy in stage IV non-small cell lung cancer: a study of the Eastern Cooperative Oncology Group. *J. Clin. Oncol.*, 7:1602-1613, 1989.
51. Dillman RO, Seagren SL, Propert KJ et al. A randomized trial of induction chemotherapy plus high-dose radiation versus radiation alone in Stage III non-small cell lung cancer. *N. Eng. J. Med.*, 323:904-905, 1990.
52. Sause WT, Scott C, Taylor S, Johnson D et al. Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) 88-08 and Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 4588: Preliminary results of a Phase III trial in regionally advanced, unresectable non-small cell lung cancer. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 87:198-205, 1995.
53. Rosell R, Gomez-Codina J, Camps C, Maestre J et al. A randomized trial comparing preoperative chemotherapy plus surgery with surgery alone in patients with non-small cell lung cancer. *N. Eng. J. Med.*, 330:153-158, 1994.
54. Edelman MJ, Gandara DR, Roach M, Jr., Benfired LR. Multimodality therapy in Stage III non-small cell lung cancer. *Ann. Thor. Surg.*, 61:1564-1572, 1996.
55. Gianone G, Splinter T, Postmus P et al. Paclitaxel-cisplatin versus teniposide-cisplatin in advanced non-small lung cancer (abstract #1109). *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 15:373, 1996.
56. Roth JA, Fosella F, Komaki R, Ryan MB et al. A randomized trial comparing perioperative chemotherapy and surgery with surgery alone in resectable Stage IIIA non-small cell lung cancer. *J. Natl. Cancer*, 86(9):673-680, 1994.
57. Carney DN. Chemotherapy in the management of patients with inoperable non-small cell lung cancer. *Semin Oncol.*, (suppl 16):71-75, 1996.
58. Fernandez C, Rosell R, Abad-Esteve A et al. Quality of life during chemotherapy in non-small cell lung cancer patients. *Acta Oncol.*, 28:29-33, 1989.
59. Ginsberg RJ, Vokes EE, Raben A. Non-small cell lung cancer, In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 5th ed. Philadelphia, PA Lippincott-Raven Publishers, 858-911, 1997.

60. Schields, PG. Molecular epidemiology of lung cancer. *Annals of Oncology*, 10 (Suppl. 5):S7-S11, 1999.
61. Huang SN, Harari PM. Epidermal growth factor inhibition in cancer therapy: biology, rationale, and preliminary clinical results. *Invest New Drugs*, 17:259-269, 1999.
62. Wozniak AJ, Crowley JJ, Balcerzak SP et al. Randomized Trial Comparing Cisplatin with Cisplatin plus Vinorelbine in the Treatment of Advanced Non-small Cell Lung Cancer: A Southwest Oncology Group Study. *J. Clin. Oncol.*, 16:2459-2465, 1998.
63. Sandler A, Nemunaitis J, Dehnam C et al. Phase III study of cisplatin (C) with or without gemcitabine (G) in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol* (abstr#1747), 17:454a, 1998.
64. Von Pawel J, Von Roemeling R. Survival benefit from Tirazone (tirapazamine) and cisplatin in advanced non small cell lung cancer (NSCLC) patients: final results from the phase III CATAPULT trial. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 17:1749, 1998.
65. Gatzemeier U, von Pawel J et al. Phase III Comparative Study of High-Dose Cisplatin (HD-CIS) Versus a Combination of Paclitaxel (TAX) and Cisplatin (CIS) in Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). *Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol.*, 17:1748, 1998.
66. Le Chevalier T, Brisingand D, Douillard J-Y et al. Randomized study of vinorelbine and cisplatin versus vindesine and cisplatin versus vinorelbine alone in advanced non-small cell lung cancer: Results of a European multicenter trial including 612 patients. *J. Clin. Oncol.*, 12:360-367, 1994.
67. Bonomi P, Kim K, Chang A et al. Phase III trial comparing etoposide cisplatin versus taxol with cisplatin G-CSF versus taxol-cisplatin in advanced non-small cell lung cancer. *Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol.*, (abstr #1145) 15:382, 1996.
68. Crino L, Conte P, De Marinis F et al. A randomized trial of gemcitabine cisplatin (GP) versus mitomycin, ifosfamide and cisplatin (MIC) in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). A multicenter phase III study. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, (abstr #1750) 17:455a, 1998.
69. Belani CP, Natale RB, Lee JS et al. Randomized Phase III Trial Comparing Cisplatin/Etoposide versus Carboplatin/Paclitaxel in Advanced and Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). *Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol.*, 17:455a, (abstr#1751), 1998.
70. Ardizzoni, A et al. The combination of etoposide and cisplatin in non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Annals of Oncology* 10 (Suppl.5): S13-S17, 1999.
71. Edelman MJ, Gandara DR. Promising new agents in the treatment of non-small cell lung cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 37:385-393, 1996.
72. Bengston E, Rigas JR. A brief historical review of the development of chemotherapy for the treatment of advanced non-small cell lung cancer: Why we should look beyond platinum. *Semin. Oncol.*, 26 (suppl 16): 1-6, 1999.
73. Ellis PA, Smith IE, Hardy JR et al. Symptom relief with MVP (mitomycin C, vinblastine and cisplatin) chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer. *Br. J. Cancer*, 71:366-370, 1995.

74. Dragnev KH, Rigas JR. The future beyond platinum for the treatment of advanced non-small cell lung cancer. *Semin. Oncol.*, 26 (suppl. 16): 73-76, 1999.
75. Rosell R, Martin C, Balána C. Ifosfamide in non-small -cel lung cancer. *Annals of Oncology* 10 (Suppl.5): S25-S28, 1999.
76. Martoni A, Guaraldi M, Piana E. Anthracyclines in non-small lung cancer: Do they have a therapeutic role? *Annals of Oncology* 10 (Suppl. 5): S19-S23, 1999.
77. Dombrowsky P, Giaccone G, Sandler A, Schwartzmann G. Gemcitabine and Paclitaxel Combinations in Non-Small Cell Lung Cancer. *Sem. Oncol.*, 25:44-50, 1998.
78. Fossella, FV. Docetaxel in the treatmeent of non-small-cell lung cancer: Review of single-agent trials. *Semin. Oncol.*, 26 (suppl 16): 17-23, 1999.
79. Perez-Soler, R. Topotecan in the treatment of non-small-lung cancer. *Semin. Oncol.*, 24 (suppl. 20): S20-34-S20-41, 1997.
80. Rowinsky EK, Kaufmann H. Topotecan in combination chemotherapy. *Semin. Oncol.*, 24 (suppl. 20): S20-11- S20-26, 1997.
81. Krug LM, Miller VA. Phase II trials of vinorelbine and docetaxel in the treatment of advenced non-small cell lung cancer. *Semin. Oncol.*, 26 (suppl. 16): 24-26, 1999.
82. Greco FA, Hainsworth, JD. Paclitaxel-based therapy in non-small-cell lung cancer: improved third generation chemotherapy. *Annals of Oncology*, 10 (suppl. 5): S63-S67, 1999.
83. Cartei G et al. Cisplatin and gemcitabine in non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology*, 10 (suppl. 5) :S57-S62, 1999.
84. Herbs RS, Lilenbaum R. Gemcitabine and vinorelbine combinations in the treatment of non-small cell lung cancer. *Semin. Oncol.*, 26 (suppl. 16): 67-70, 1999.
85. Wozniak AJ. Single-agent vinorelbine in the treatment of non-small cell lung cancer. *Semin. Oncol.*, 26 (suppl. 16): 62-66, 1999.
86. Socinski MA, Langer CJ. Single-agent paclitaxel and paclitaxel-non-platinun combination therapy in advanced non-small lung cancer. *Semin. Oncol.*, 26 (suppl. 16): 51-61, 1999.
87. Lima CMR et al. Single-agent gemcitabine and gemcitabine-irinotecan combination in non-small cell lung cancer. *Semin. Oncol.*, 26 (suppl. 16): 43-50, 1999.
88. **Rizvi** et al. Docetaxel and gemcitabine combinations in non-small cell lung cancer. *Semin. Oncol.*, 26 (suppl. 16): 27-31, 1999.
89. Adjei A, Argiris A, Murren JR. Docetaxel and irinotecan alone and in combination in the treatment of non-small cell lung cancer. *Semin. Oncol.*, 26 (suppl. 16): 32- 40, 1999.
90. Johnson SW et al. *Drug Resistance Updates*, 1: 243-254, 1998.
91. Manzotti C et al. BBR 3464: a novel triplatinun complex, exhibiting a preclinical profile of antitumor efficacy different from cisplatinun. *Clin. Cancer Res.*, 6:2626-2634, 2000.

92. Kelland LR et al. Mini-Review: discovery and development of cisplatin complexes designed to circumvent cisplatin resistance. *J. Inorganic Biochem.*, 77:111-115, 1999.
94. Calvert PM et al. Phase I Clinical and Pharmacokinetic Study of Bbr 3464, a novel Platinum analogue in patients with advanced solid tumour. *Proceedings of ASCO*, 19:236a (abstract#921), 2000.
93. Raynaud F et al. *Clin. Cancer Res.*, 3:2063-2074, 1997.
95. Schwartzmann G, Schunemann H, Gorini CNF, Ferreira-Filho AF, Garbino C, Sabini G, Muse I, DiLeone L, Mans DRA. A phase I trial of cisplatin plus decitabine, a new DNA-hypomethylating agent, in patients with advanced solid tumors and a follow-up early phase II evaluation with inoperable non-small cell lung cancer. *Invest. New Drugs*, 18:83-91, 2000.
96. Monzo M, Rosell R, Sanchez JJ, Lee JS, O'Brate A, Gonzalez-Larriba JL, Alberola V, Lorenzo JC, Nunez L, Ro JY, Martin C. Paclitaxel Resistance in Non-Small Cell Lung Cancer Associated With Beta-Tubulin Gene Mutations. *J. Clin. Oncol.*, 17(6):1786-1793, 1999.
97. Boral AL, Dessain S, Chabner BA. Clinical Evaluation of Biologically Targeted Drugs: Obstacles and Opportunities. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 42 (Suppl): S3-S21, 1998.
98. Nelson AR, Fingelton B, Rothenberg ML, et al: Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. *J. Clin. Oncol.*, 18:1135-1149, 2000.
99. Levitt ML, Coty PP. Tyrosine Kinase: inhibitors in preclinical development. *Invest. New Drugs.*, 17: 213-226, 1999.
100. Rowinsky EK, Windle JJ, Von Hoff DD. Ras protein, farnesyl transferase: a strategic target for anti-cancer therapeutic development. *J. Clin. Oncol.*, 17:3631-3652, 1999.
101. Reed JC. Dysregulation of apoptosis in cancer. *J. Clin. Oncol.*, 17: 2941-2953, 1999.
102. Jarvis WD, Grant S. Protein kinase C targeting anti-neoplastic treatment strategies. *Invest. New Drugs*, 17:227-240, 1999.
103. Swisher S, Roth JA, Nemunaitis A et al. Adenovirus-mediated p53 gene transfer in advanced non-small cell lung cancer. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 91:763-771, 1999.
104. Momparler RL. Combinational chemotherapy of L1210 and L1210/Ara-C leukemia with 5-Aza-2'-deoxycytidine and B-2'-deoxythioguanosine. *Int. J. Cancer*, 30: 361-364, 1982.
105. Richel DJ, Colli LP, Kluin-Nelemans JC, Willemse R. The antileukemic activity of 5-Aza-2'-deoxycytidine (aza-dC) in patients with relapsed and resistant leukemia. *Br. J. Cancer.*, 64:144-148, 1991.
106. Richel DJ, Colly LP, Lurvink E, Willemze R. Comparison of the antileukemic activity of 5-Aza-2'-deoxycytidine and arabinofuranosyl-cytosine in rats with myelocytic leukemia. *Br. J. Cancer*, 58:730-731, 1988.
107. Momparler RL, Momparler LF, Sanson J. Comparison of the antileukemic activity of 5-aza-2'-deoxycytidine, 1-(-arabinofuranosyl)cytosine and 5-aza-2'-deoxycytidineazacytidine against L1210 leukemia. *Leuk. Res.*, 8:1043-1049, 1984.

108. Chabot GG, Momparler RL. Effects of 5-Aza-2'-deoxycytidine on survival and cell cycle progression of L1210 leukemia cells. *Leuk. Res.*, 10:533-537, 1986.
109. Onetto N, Momparler RL, Momparler LF, Gyger M. In vitro biochemical tests to evaluate the response to therapy of acute leukemia with cytosine arabinoside or 5-aza-2'-deoxycytidine. *Sem. Oncol.*, 14 Suppl 1:231-237, 1987.
110. Pinto A, Attadia V, Fusco A, Ferrara F, Spada OA, Di Fiore PP. 5-Aza-2'-deoxycytidine induces terminal differentiation of leukemic blasts from patients with acute myeloid leukemias. *Blood*, 64:922-929, 1984.
111. Leyva A, Schwartzmann G, Boieje LMC, Pinedo HM, DeWaal FC. Growth-inhibitory effects of 5-aza-2'-deoxycytidine in HL-60 promyelocytic leukemia cells resistant to differentiation induction. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 141(2):629-635, 1986.
112. Schwartzmann G, Pinedo HM, Leyva L. Resistance of HL-60 promyelocytic leukemia cells to induction of differentiation and its reversal by combination treatment. *Eur. J. Cancer*, 23:739-743, 1987.
113. Jones PA, Taylor SM. Cellular differentiation, cytidine analogs and DNA methylation. *Cell*, 20: 85-93, 1980.
114. Schwartzmann G, Fernandes MS, Schaan MD, Moschen M, Gerhardt LM, Di Leone L, Loitzembauer B, Kalakun L. Decitabine plus daunorubicin as a first line treatment in patients with acute myeloid leukemia: Preliminary observations. *Leukemia*, 11: 232-241, 1997.
115. Kantarjian HM, O'Brien SM, Keating M, Beran M, Estey E, Giralt S et al. Results of decitabine therapy in the accelerated and blastic phases of chronic myelogenous leukemia. *Leukemia*, 11:1617-1620, 1997.
116. Wijermans P, Lubbert M, Verhoef G, Bosly A, Ravoet C, Andre M et al. Low dose 5-aza-2'-deoxycytidine, a DNA hypomethylating agent, for the treatment of high-risk myelodysplastic syndrome: a multicenter phase II study in elderly patients. *J. Clin. Oncol.*, 18:956-962, 2000.
117. DeSimone J, Heller P, Molokie RE, Hall L, Zwiers D. Tetrahydrouridine, cytidine analogues, and hemoglobin F. *Am. J. Hematol.*, 18:283-288, 1985.
118. Cedar H. DNA methylation and gene activity. *Cell*, 53:3-4, 1988.
119. Covey JM, D'Incalci M, Tilchen EJ, Zaharko DS, Kohn KW. Differences in DNA damage produced by incorporation of 5-Aza-2'-deoxycytidine or 5,6-Dihydro-5-azacytidine into DNA of mammalian cells. *Cancer Res.*, 46: 5511-5517, 1986.
120. Boehm TL, Drahovsky D. DNA hypermethylation and changes in gene expression may be related to the chemotherapeutic action of cytarabine. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 20:1561-1563, 1984.
121. Walker C, Ranney DF, Shay JW. 5-Azacytidine-induced uncoupling of differentiation and tumorigenicity in a murine cell line. *JNC*, 73:877-883, 1984.

122. Ferguson AT, Vetino PM, Davidson NE. Effects of 5-aza-2'-deoxycytidine on human cancer cell lines with variable DNA methyltransferase activity. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 37:537 (abstr # 3675), 1996.
123. Sikora K, Advani S, Koroltschouk V, Magrath I, Levy L, Pinedo HM, Schwartzmann G, Tattersall M, Yan S. Essential drugs for cancer therapy. *Annals Oncol.*, 1999.
124. Gattei V, Aldinucci D, Petti MC, Ponte A, Zagonel V, Pinto A. In vitro e in vivo effects of 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) on clonogenic cells from acute myelogenous leukemia patients. *Leukemia*, 7 (Suppl 1): 42-8, 1993.
125. Zagonel V, Re GL, Marotta G, Babare R, Sardeo G, Gattei V et al. 5-Aza-2'-deoxycytidine induces trilineage response in unfavourable myelodysplastic syndromes. *Leukemia*, 7 (Suppl 1):30-35, 1993.
126. Covey JM, Zaharko DS. Effects of dose and duration on 5-Aza-2'-deoxycytidine cytotoxicity for L1210 leukemia in vitro. *Cancer Treat. Rep.*, 68:1475-1481, 1984.
127. Momparler RL, Frith CH. Toxicology in mice of the antileukemic agent 5-Aza-2'-deoxycytidine. *Drug Chem. Toxicol.*, 4:373-381, 1981.
128. Momparler RL, Gonzalez FA. Effect of intravenous infusion of 5-Aza-2'-deoxycytidine on survival time of mice with L1210 leukemia. *Cancer Res.*, 38: 2673-2678, 1978.
129. Vesely J, Cihak A. 5-Aza-2'-deoxycytidine: preclinical studies in mice. *Neoplasia*, 27:113-119, 1980.
130. Rivard GE, Momparler RL, Demers J, Benoit P, Raymond R, Lin K et al. Phase I study on 5-Aza-2'-deoxycytidine in children with acute leukemia. *Leuk. Res.*, 5:453-462, 1981.
131. Groeningen CJ, Leyva A, O'Brien AM, Boeije L, Gall HE, Pinedo HM. Phase I and pharmacokinetic study of 5-Aza-2'-deoxycytidine in cancer patients. *Cancer Res.*, 46:4831-4836, 1986.
132. Debusscher L, Maria JP, Dodion P, Blanc GM, Arrigo C, Zittoun R et al. Phase I, II trial of 5-Aza-2'-deoxycytidine (NSC-127.716) in adult patients with acute leukemia. In: Momparler RL, Vos D, eds. 5-Aza-2'-deoxycytidine, Preclinical and Clinical Studies, PCH Publications, 131-143, 1990.
133. Willemze R, Richel DJ, Arentsen-Honders W, Colly LP. Preliminary results of 5-Aza-2'-deoxycytidine in patients with the Ara-C resistant and sensitive acute leukemia. In: Momparler RL, Vos D, eds. 5-Aza-2'-deoxycytidine, Preclinical and Clinical Studies, PCH Publications, 183-191, 1990.
134. Silverman LR, Holland JF, Weinberg RS, Alter BP, Davis B. Effects of 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) on clonogenic cells from acute myelogenous leukemia patients. *Leukemia*, 7(Suppl1):42-48, 1993.
135. Petti MC, Mandelli F, Zagonel V, Gregoris C, Merola MC, Latagliata R et al. Pilot study of 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) in the treatment of poor prognosis acute myelogenous leukemia: preliminary results. *Leukemia*, 7 (Suppl 1): 36-41, 1993.

136. Willemze R, Archimbaud E, Muus P. Preliminary results with 5-Aza-2'-deoxycytidine (DAC)-containing chemotherapy in patients with relapsed or refractory acute leukemia. For the EORTC Leukemia Cooperative Group. *Leukemia*, 7 (Suppl 1): 49-50, 1993.
137. Thibault A, Figg WD, Bergan RC, Lush RM, Myers CE, Tompkins A et al. A phase II study of 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine) in hormone independent metastatic (D2) prostate cancer. *Tumori*, 84:87-89, 1998.
138. Giral S, Davis M, O'Brien SM, van Besien K, Champlin R, de Vos D et al. Studies de decitabine with allogeneic progenitor cell transplatation. *Leukemia*, 11 (Suppl 1): S32-4, 1997.
139. Sacchi S, Kantarjian HM, O'Brien S, Cortes J, Rios MB, Giles FJ et al. Chronic myelogenous leukemia in nonlymphoid blastic phase: analysis of the results of first salvage therapy with three different treatment approaches for 162 patients. *Cancer*, 86:2632-2641, 1999.
140. Gonzalez-Zulueta M, Bender CM, Pao MM, Zingg J-M, Tsai YC, Arap W. Activation of a silent p16/CDKN2 tumor suppressor gene by 5-aza-2'-deoxycytidine restores growth control to human cancer cells. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 37: 420 (abstr# 2868), 1996.

**ESTUDO DE FASE I COM CISPLATINO E DECITABINA – UM NOVO AGENTE
HIPOMETILANTE – EM PACIENTES COM TUMORES SÓLIDOS AVANÇADOS E AVALIAÇÃO
PRELIMINAR DE FASE II EM PACIENTES COM CÂNCER PULMONAR NÃO DE PEQUENAS
CÉLULAS INOPERÁVEL**

RESUMO

Os autores descrevem um estudo Fase I de cisplatina com decitabina, um novo agente hipometilante de DNA, em pacientes com tumores sólidos avançados, seguido de uma avaliação do início da Fase II da combinação em pacientes com câncer pulmonar não de pequenas células inoperável (CPNPC). No teste da Fase I, a cisplatina foi estudada a uma dose fixa de 33 mg/m², enquanto a decitabina foi graduada em quatro (I-IV) níveis de escala de dosagem (45, 67, 90 para 120 mg/m², respectivamente) em grupos consecutivos de, no mínimo, 3 pacientes por nível de dosagem. A decitabina foi administrada a pacientes na forma de infusão intravenosa por 2 horas, ao passo que a cisplatina foi administrada de forma intravenosa imediatamente após o fim da infusão de decitabina. Ambos os agentes foram administrados nos dias 1-3, a cada 21 dias. Vinte e um pacientes foram incluídos no teste da Fase I. O nível IV de dosagem (20 mg/m² de decitabina) foi considerado a dose máxima tolerada (DMT), e as toxicidades limitantes de dosagem foram neutropenia, trombocitopenia e mucosite. As doses recomendadas para os testes da Fase II em pacientes com risco significativo e não significativo foram 90 (nível III) e 67 mg/m² (nível II), respectivamente. Uma resposta parcial de curta duração foi observada em um paciente com câncer cervical, enquanto duas regressões secundárias foram documentadas em pacientes com CPNPC e câncer cervical, respectivamente. A dosagem no nível II foi escolhida para o teste da Fase II em pacientes com CPNPC. Quatorze pacientes consecutivos foram incluídos nessa parte do estudo. Sua média de idade era de 57 anos (faixa de 39-75), com proporção homens/mulheres de 11/3 e um desempenho médio OMS de 1 (0-2). O estágio da doença era IIIB (5) e IV (9). Em um caso, foi administrada irradiação no tórax. Avaliou-se um total de 30 séries de tratamento para toxicidade e resposta, com uma média de duas séries por paciente (1-4). Observaram-se neutropenia e trombocitopenia em graus (3-4) em cerca de metade dos casos. Também foram observadas mucosites, diarreia, náuseas, vômitos e erupções na pele em alguns pacientes (Tabelas 3 e 4). Três respostas secundárias foram documentadas, as quais perduraram por 4,16 e 36 semanas. A média de sobrevida dos pacientes foi de 15 semanas (4-38). Como conclusão, a combinação de cisplatina com decitabina não exibiu atividade antitumor significativa em pacientes com CPNPC, conforme dosagem e programa aplicados neste teste, que justificasse sua avaliação posterior nessa população de pacientes.

INTRODUÇÃO

O câncer pulmonar é a causa mais frequente de morte por câncer na população adulta da Região Sul do Brasil (1). Como na maioria das séries em outros países, os subtipos de câncer de pulmão não de pequenas células (CPNPC) compreendem cerca de 80% dos casos (2). Infelizmente, a maioria dos pacientes com CPNPC apresenta-se ou com a doença localizada avançada, ou com metástase, não sendo candidatos adequados para a ressecção cirúrgica curativa (3).

A terapia citotóxica tem sido frequentemente utilizada como parte do manejo paliativo dos pacientes com CPNPC. Entretanto, as taxas de resposta objetiva à quimioterapia como agente único em pacientes com a doença já avançada variam de 5-20%, sendo em geral parciais e de curta duração (4). Em combinação, os agentes citotóxicos produzem respostas objetivas em cerca de 20-40% dos casos, mas a média de sobrevida dos pacientes, na maior parte das séries com um único agente, é raramente maior do que 6 meses (5,6).

A cisplatina foi vista como produtora de respostas objetivas do tumor em cerca de 15% dos pacientes com CPNPC e é parte da maioria dos regimes de combinações quimioterápicas usualmente aplicados a essa doença (7). A cisplatina causa efeitos citotóxicos principalmente devido à geração de espécies reativas que levam a quebras simples e/ou duplas de filamento do

DNA (8). A resistência do tumor à cisplatina deve-se a vários mecanismos, e o caso de restauração intensificada do DNA pós-dano tem sido um dos mais estudados em laboratório (9).

A decitabina (5aza-2'-deoxicitidina) é um análogo da deoxicitidina, em que o C-5 no anel de pirimidina foi substituído por um nitrogênio. Esse agente causa hipometilação do DNA, mudanças na expressão genética e efeitos indutores de diferenciação *in vitro*. Foi provada como sendo, no mínimo, tão potente quanto a citarabina em modelos de leucemia em laboratório (10). A decitabina também demonstrou reverter parcialmente a resistência da cisplatina em células cancerosas ovarianas *in vitro* (11). Além disso, em uma experiência com formação de colônia utilizando-se uma linha CBA-SP1 de células de carcinoma mamário de um murídeo, a presença de sinergismo *in vitro* entre a decitabina e a cisplatina foi sugerida pelo uso de análise de drogas de múltiplo efeito (12). No modelo humano HL-60 de leucemia promielocítica, a decitabina pode induzir diferenciação celular e efeitos inibidores de crescimento, bem como reverter a resistência a análogos de retinóides e vitamina D em concentrações não-citotóxicas de drogas (13,14,15).

Dados complementares também demonstraram que os efeitos hipometilantes do DNA causados pela decitabina podem afetar a expressão (onco)gênica em tumores sólidos, como foi ilustrado pela presença de um efeito modulador desse agente na expressão da proteína p16 em células de melanoma maligno (16).

Os testes da Fase I da decitabina foram inicialmente realizados em pacientes leucêmicos adultos e pediátricos. Esse agente demonstrou ser ativo em humanos e capaz de induzir remissão completa na leucemia aguda, tanto mielóide como linfóide (17). Em estudos clínicos farmacocinéticos, a decitabina atingiu concentrações plasmáticas na faixa necessária para uma atividade *in vitro* (0,5-1,0 µg/ml para 12-24 h) (18). Nos testes da Fase I em pacientes com tumores sólidos, em que a droga foi administrada na forma de três infusões intravenosas de uma hora a cada 8 horas, a toxicidade limitante de dosagem consistiu em leucopenia, que foi a máxima possível 3-5 semanas após o tratamento (19). A trombocitopenia foi menos pronunciada. Não houve resposta objetiva em um paciente com carcinoma de cabeça e pescoço. A dose recomendada para os testes na Fase II foi de 75 mg/m² a cada 8 horas, com séries repetidas a cada 5 semanas.

Infelizmente, em uma doença orientada à avaliação da Fase II da decitabina como agente único, incluindo pacientes com câncer CPNPC, de cabeça e pescoço, colorretal, melanoma, rins, ovário e testículos, nenhuma atividade antitumor significativa foi relatada, exceto uma resposta parcial de curta duração no teste com melanoma maligno (20). Notadamente, testes recentes mostraram atividades antitumor promissoras, com a decitabina como agente único em pacientes com leucemia mielóide aguda refratária e síndromes mielodisplásicas (21). Em nossa instituição, foi realizado um teste-piloto em que tratamos com decitabina e daunorubicina um grupo de pacientes de quimioterapia simples portadores de leucemia mielóide aguda, tendo sido documentadas remissões completas na maioria dos casos (22).

Como não houve evidência da presença de sinergismo entre a cisplatina e a decitabina em laboratório, decidimos avaliar o valor potencial dessa combinação em pacientes com tumores sólidos refratários. Posteriormente, os pacientes com CPNPC inoperável, bem como com câncer cervical, foram avaliados como parte de dois estudos do início da Fase II, uma vez que a cisplatina foi incluída na maioria dos regimes de tratamento de rotina para essas enfermidades em nossa instituição. A dose de cisplatina utilizada em nossa unidade, combinada com etoposide para o tratamento de pacientes com CPNPC (100 mg/m², administrada em dose intravenosa única a cada 3 semanas), foi dividida em três doses diárias (33 mg/m²) e precedida de decitabina. A dose inicial desse agente (45 mg/m², administrado como infusão intravenosa de 2 horas) foi decidida com base em dados compilados de vários testes clínicos, tendo sido considerado pelos investigadores mais seguro iniciar um teste de combinação com a cisplatina.

PACIENTES E MÉTODOS

a) Estudos de Fase I

Elegibilidade

Para o teste da Fase I, foram incluídos sequencialmente 3-5 pacientes com tumores sólidos avançados refratários, incluindo CPNPC (Tabela 2), com um intervalo mínimo de uma semana os mesmos, a cada nível da escala de dosagem, sem levar em conta alguma exposição anterior à terapia citotóxica. Os pacientes com 18 anos ou mais que tiveram diagnóstico histopatológico confirmado de malignidade, doença progressiva, níveis adequados de ANC hematopoiético > 1.500/ul, contagem de plaquetas >100.000/ul, creatina sérica <1,5 mg/dl e função hepática (bilirrubina sérica) <1,5 mg/dl e que haviam autorizado verbalmente o tratamento na presença de testemunhas. As evidências de condições médicas coexistentes que pudessem comprometer a concordância com o estudo, tais como infecção ativa, disfunção orgânica grave, doença mental ou gravidez, foram consideradas critérios de exclusão. A presença de lesão bidimensionalmente mensurável não foi requisito para inclusão no estudo. Pacientes com risco significativo eram aqueles que possuíam o status de desempenho OMS de 0-1, mínimo ou nenhum envolvimento de metástase óssea, irradiação anterior em menos de 30% do esqueleto, bem como mínima ou nenhuma terapia citotóxica mielossupressora anterior.

Avaliação pré-tratamento e acompanhamento

Antes do início de cada série de tratamento (não-superior a 7 dias), os pacientes tiveram de se submeter a um exame histórico e físico completo, avaliação do status de desempenho, avaliação das lesões mensuráveis (quando possível), bioquímica, creatinina sérica, testes das funções renais e eletrocardiograma, tomografia computadorizada do tórax e do abdômen e/ou ultra-som abdominal. As contagens sanguíneas completas foram obtidas semanalmente ou com maior frequência em casos de mielossupressão severa. Estudos de imagem incluíram raio X de tórax, ultra-som abdominal e tomografia computadorizada, quando necessário. Testes complementares foram feitos com base em julgamento clínico. Os testes foram repetidos antes de cada série de tratamento, exceto para testes com imagem, os quais eram repetidos a cada duas séries de tratamento. O tratamento continuou à medida que não foram observados progressos da doença.

Escala de doses e administração de drogas

O estudo seguiu uma estrutura-padrão para a Fase I, em que a dose de decitabina foi em escalas, ao passo que a cisplatina foi mantida com dose fixa até atingir o máximo tolerado (DMT) (23). Os níveis da escala de dosagem são mostrados na Tabela 1. A cisplatina foi fornecida em frascos comerciais pequenos, para IV administração, por Bristol Myers Squibb, São Paulo, Brasil, e a decitabina foi fornecida pela Pharmachemie BV, Haarlem, Holanda, na forma de preparado desidratado por congelamento. Cada frasco de 20 ml de decitabina continha 50 g do agente. Quando reconstituído com 5 ml de água estéril para injeção USP, cada ml passou a conter 10 mg de decitabina. Devido ao risco de rápida decomposição, os frascos reconstituídos eram imediatamente diluídos em solução salina a 0,9% e administrados

aos pacientes em infusões intravenosas de 2 horas diariamente, por 3 dias consecutivos. A cisplatina foi diluída em 250 ml de solução salina a 0,9%, seguindo um esquema-padrão de pré-hidratação para

manter a produção de urina acima de 100 ml/hora, antes e imediatamente depois da administração da droga. A droga foi administrada na dose de 33 mg/m² na forma de IV infusão de 30 minutos, imediatamente depois da decitabina, nos dias 1-3 (como infusão intravenosa de 2 horas). As séries eram repetidas a cada 3 semanas até a resposta máxima, progressão na doença ou toxicidade não-aceitável.

Toxicidade

Os objetivos do estudo eram definir o modelo de toxicidade, a toxicidade limitante de dosagem (TLD), a dose máxima tolerada (DMT) e a dose recomendada para testes da Fase II com a combinação acima mencionada. As toxicidades foram classificadas de acordo com o Critério Comum de Toxicidade NCI (NCI-CTC). A TLD foi definida como, no mínimo, um dos eventos seguintes: a) neutrófilos < 500/ul para mais de 7 dias ou associada com febre excedendo 38°C; b) contagem de plaquetas < 25.000/ul; c) mucosite de grau 3-4, náusea e vômitos e/ou diarreia. A DMT foi definida como o nível de dosagem em que, no mínimo, um terço dos pacientes tivesse TLD. A dose sugerida para os testes da Fase II foi definida como uma dose abaixo da DMT e, além disso, a dosagem que mostrasse toxicidade reversível e fosse considerada pelos investigadores tolerável aos pacientes em séries repetidas.

b) Estudo de Fase II

Critérios de inclusão e exclusão

No teste da Fase II, foram acrescentados pacientes consecutivos com CPNPC progressivo, sem tratamento clínico prévio. Os pacientes tiveram de preencher todos os seguintes critérios para serem adequados ao estudo da Fase II: 1) idade entre 18-70 anos; 2) CPNPC em estágios IIIB E IV; 3) doença bidimensionalmente mensurável (somente para os testes da Fase II); 4) status de desempenho OMS de 0-3; 5) expectativa de vida de 12 semanas ou mais; 6) neutrófilos > 1.500/ml e trombócito > 100.000/ml; 7) creatina sérica < 1,4 mg/dl (se terminal, foi feito um ajuste de creatina, que tinha de ser igual ou acima de 60 ml/min); 8) bilirrubina serica total igual ou abaixo de 1,25 x acima do limite normal; 9) SGOT igual ou inferior a 2 x o limite máximo normal, exceto em casos de metástase de fígado comprovada; 10) ausência de exposição anterior à terapia citotóxica; 11) permitida terapia prévia de radiação que não tivesse sido aplicada em local utilizado para a avaliação da resposta, a menos que tivesse surgido uma nova lesão no local; 12) um mínimo de 4 semanas (8 semanas em caso de radioterapia extensiva prévia) deve ter transcorrido entre o final da radioterapia anterior e a entrada no protocolo e 13) assinatura de autorização antes da entrada no protocolo.

Um paciente com uma ou mais das seguintes características não era considerado adequado para o estudo: 1) presença de metástase cerebrais ou leptomeníngicas; 2) malignidade anterior ou atual em outros locais, com exceção de carcinoma adequadamente tratado *in situ* no colo do útero e carcinoma basal ou localizado de células escamosas da pele; 3) gestantes ou lactantes; 4) ausência de doença mensurável; 5) presença de condições

médicas ativas, sérias e concomitantes, como doença cardíaca instável, passível de tratamento, história de distúrbios psiquiátricos ou neurológicos, infecção não-controlada e/ou 6) tratamento simultâneo com outras drogas experimentais ou com qualquer outra terapia anticâncer.

Objetivos, plano de estudo, pré-tratamento e estudos de acompanhamento

Os objetivos foram definir a porcentagem das respostas objetivas, o perfil de toxicidade e a sobrevida global de pacientes tratados com essa quimioterapia combinada. Aplicou-se no estudo com o método Gehan de dois estágios, em que uma série de 14 pacientes consecutivos era acrescentada no primeiro estágio, sendo os adicionais introduzidos de acordo com o número de respostas objetivas observadas na primeira etapa (24). Se nenhuma respostas (completa ou parcial) fosse observada em 14 pacientes consecutivos recebendo no mínimo duas séries de tratamento, o estudo era interrompido no primeiro estágio. Isto assegura uma chance igual de menos de 0,044 de rejeição errônea da droga com 20% ou mais der respostas objetivas. Em contraste, se uma ou mais respostas objetivas eram observadas nos primeiros 14 pacientes, outros eram acrescentados até um máximo de 11 pacientes (número total de 25). Os pacientes foram tratados novamente com o mesmo nível de dosagem. Se fossem observados neutrófilos $< 1,55/\text{mm}^3$ e/ou plaquetas $< 100.000/\text{mm}^3$ no 21º dia, e/ou se fosse observada toxicidade não-hematológica de grau 3-4, era concedida uma semana a mais para a recuperação clínica do paciente, e a contagem do sangue era repetida no 28º dia. Os pacientes que não recuperavam as contagens adequadas de granulócitos e trombócitos nesse período eram novamente tratados com um programa de dosagem reduzida (redução de 25% na dose de decitabina). O pré-tratamento e os estudos de acompanhamento foram realizados como descrito anteriormente para os pacientes incluídos nos testes da Fase I, com medições repetidas das lesões palpáveis antes de cada série de tratamento, enquanto os exames de imagens das lesões importantes eram repetidos a cada duas séries, ou antes, no caso de suspeita de um aumento do tumor.

Toxicidade e avaliação das respostas

Os pacientes foram avaliados pela toxicidade e resposta após cada ciclo de tratamento, utilizando-se o Critério Comum de Toxicidade NCI e o critério-padrão OMS de resposta do tumor (25), respectivamente. Os pacientes com doença progressiva que eram eliminados do teste nas duas séries iniciais da terapia eram considerados em progressão precoce. Aqueles com respostas parciais ou completas nesse período permaneceram no estudo até o avanço da doença ou até atingir a toxicidade excessiva. No caso de nenhuma alteração após duas séries de terapia, o tratamento prosseguia até se obter respostas, ocorrer progressão no tumor ou um a toxicidade grave.

Foram consideradas as seguintes lesões para a avaliação da resposta do tumor: lesões bidimensionalmente mensuráveis, tais como nódulos na pele, nódulos linfáticos superficiais, lesões pulmonares cercadas de pulmão aerado ou depósitos malignos em locais viscerais medidos por tomografia computadorizada ou ultra-som. O aumento do fígado ou do baço percebido pelo exame físico não era aceito como lesão importante pela resposta, a menos que a observação fosse confirmada objetivamente através de imagens, como tomografia computadorizada ou ultra-som.

Uma resposta completa (RC) era definida como o desaparecimento de todas as evidências da doença, comprovado através de duas observações com intervalo de não

menos que 4 semanas. Uma resposta parcial (RP) foi definida como o decréscimo de, no mínimo, 50% da soma dos produtos dos maiores diâmetros perpendiculares de todas as lesões mensuráveis, determinada através de duas observações com intervalo de não menos que 4 semanas. Não era necessário que todas as lesões regredissem para servirem de resposta parcial, mas nenhuma lesão deveria ter progredido e nenhuma nova lesão deveria surgir durante o período de observação. Nenhuma mudança foi definida como redução inferior a 50%, ou como aumento inferior a 25% na soma dos produtos dos maiores diâmetros perpendiculares de todas as lesões mensuráveis. Nenhuma nova lesão podia ser detectada durante o período de observação. Doença progressiva foi definida como o aumento de 25% ou mais no tamanho de pelo menos uma lesão bidimensional ou unidimensionalmente mensurável, ou como o aparecimento de uma nova lesão.

A ocorrência de efusão pleural ou ascite também foi considerada doença progressiva, se confirmada por citologia positiva. Fratura patológica ou danos ósseos não foram, necessariamente, evidências de avanço da doença. O desenvolvimento de metástase cerebral foi considerado sinal de progressão da doença, mesmo se o paciente estivesse respondendo externamente ao cérebro. A duração das respostas era calculada a partir da data de seu registro objetivo da progressão do tumor. A duração da sobrevida era calculada a partir da data do diagnóstico até o óbito do paciente.

Aspectos éticos e reguladores

O médico responsável tinha de informar o paciente sobre o conhecimento anterior e atual das drogas em estudo, com especial referência à atividade e à toxicidade conhecidas. Salientou-se que o paciente poderia recusar-se ao tratamento em qualquer etapa da pesquisa. Antes de ele ser introduzido no estudo, foi obtido um consentimento por escrito, de acordo com recomendações da Boa Prática Clínica (BPC). O coordenador da investigação deveria assegurar que o estudo estava sendo conduzido de acordo com a declaração de Helsinki e que havia sido aprovado pelo Comitê Ético local e pelas autoridades governamentais reguladoras.

RESULTADOS

a) Estudo da Fase I

Inicialmente, realizamos o teste de Fase I em pacientes com tumores sólidos avançados nos quais eram definidos o perfil de toxicidade, a TLD, a DMT e as dosagens recomendadas para os testes de Fase II com a combinação de cisplatina com decitabina. As características dos pacientes que fizeram parte do estudo estão na Tabela 2. Vinte e um pacientes foram incluídos, representativos do espectro de tumores sólidos refratários geralmente encontrados nas instituições participantes (Tabela 2). Havia 15 homens e 6 mulheres, com uma média de idade de 59 anos (36-70). O *status* de desempenho médio OMS foi de 1 (1-2). Oito pacientes tiveram diagnóstico de CPNPC, enquanto outros tinham câncer colorretal, renal, cervical, esofágico, pancreático e adenocarcinoma de sítio primário desconhecido. O *status* de desempenho médio OMS era 1 (escala de 1-2). A maioria dos pacientes havia feito terapia citotóxica (1-3 regimes anteriores em 14 pacientes) e irradiação paliativa no tumor primário e/ou em sítios metastásicos em 13 casos. O interferon alfa foi inicialmente administrado a dois pacientes com carcinoma

avançado de células renais, ao passo que o interferon alfa com interleucina 2 foram administrados a outro paciente com o mesmo diagnóstico.

As principais toxicidades foram neutropenia, trombocitopenia, mucosite, náusea e vômitos, mal-estar, alopecia e erupções na pele (Tabela 3 e 4). Dessas, a TLD foi a neutropenia. A dose máxima tolerada (DMT) de decitabina na combinação foi de 120 mg/m² (nível IV de dosagem). A duração média da sobrevida nessa população de pacientes foi de 12 semanas (faixa de 6-25). O nível III de dosagem foi considerado seguro para pacientes com risco significativo (*status* de desempenho adequado, ausência de exposição anterior à quimioterapia ou terapia de radiação extensiva e nenhum ou mínimo envolvimento de ossos pelo tumor), enquanto que 67 mg/m² (nível II de dosagem) foi recomendado para os testes da Fase II com pacientes de risco pouco significativo. Entretanto, por motivos de segurança, o nível II de dosagem foi selecionado para iniciar os testes da Fase II, com instruções para uma escala de doses até o nível III, não havendo toxicidade clínica significativa na primeira série do tratamento. Uma resposta parcial foi observada em um paciente com câncer cervical avançado, o qual continuou seguindo a terapia de radiação e carboplatina como agente único. A resposta perdurou 14 semanas. Duas respostas secundárias foram documentadas em um paciente com câncer cervical e um outro com CPNPC, perdurando 13 e 11 semanas, respectivamente. Os demais pacientes apresentaram doença clínica progressiva após 1-2 séries de tratamento.

b) Estudos de Fase II

Um total de 14 pacientes consecutivos com CPNPC inoperável foi acrescentado ao estudo (Tabela 5). A média de idade era de 57 anos (entre 39-75), a proporção homens/mulheres era de 11/3, o *status* de desempenho médio OMS era de 1 (faixa de 0-2), o estágio da doença era IIIB (5) e IV (9); os subtipos histopatológicos eram célula escamosa (6), adenocarcinoma (6), célula extensa (1) e bronquíolo-alveolar (1). Um paciente havia se submetido anteriormente à irradiação no tórax, e outro, a uma ressecção cirúrgica inicial. Todos os outros pacientes não haviam se submetido a uma terapia anterior.

Um total de 30 séries de tratamento foi avaliável para toxicidade e resposta. Observou-se granulocitopenia em 83% dos casos, com grau 3 e 4 de toxicidade em 37% e 23% dos pacientes, respectivamente (Tabela 6). Todavia, ocorreu total recuperação da contagem sanguínea no 21º dia, com exceção de um caso de recuperação no 31º dia. Foi observada neutropenia febril em 3 pacientes, controlada com antibióticos intravenosos. Nenhuma morte por intoxicação foi registrada. Ocorreu trombocitopenia em 93% dos casos, mas esta foi severa em somente um terço dos casos (grau de toxicidade de 3 e 4, em 27% e 13%, respectivamente). Foi observado grau 1-2 de náusea e vômito em 70% dos pacientes, enquanto se observou grau 3 de toxicidade em somente 20% dos casos. Nenhuma náusea ou vômito de grau 4 foi observada. Diarreia e mucosite também foram registradas em cerca de um terço dos casos, sendo na sua maioria de graus 1-2. Alopecia em grau 1-2 ocorreu em 33% dos casos (Tabela 7)

Nenhuma escala de dosagem foi aplicada, na medida em que os pacientes apresentaram mielossupressão significativa com o tratamento com dose de nível II. Apesar de ter sido atingida uma intensidade adequada na dosagem da combinação de drogas, como demonstrado pela ocorrência de toxicidade hematológica e não hematológica, nenhuma resposta objetiva foi registrada no teste da Fase II. Porém, três respostas secundárias foram observadas, as quais perduraram 4, 16 e 36 semanas, respectivamente. As três respostas secundárias foram documentadas em dois pacientes no estágio IIIB da doença (envolvimento

pleural e do mediastino), e em um paciente no estágio IV da doença apresentando metástase pulmonar, efusão pleural maligna, bem como comprometimento do fígado. Esses pacientes receberam 5,4 e 2 séries de tratamento, respectivamente, exibindo, a partir de então, sinais de progressão do tumor. A média de sobrevida dos pacientes foi de 15 semanas (faixa de 4-38), e não houve pacientes com sobrevida por mais de 1 ano nesse pequeno grupo de 14 pacientes incluídos no início dos testes da Fase II.

DISCUSSÃO

Um grande número de agentes citotóxicos foi investigado em pacientes com CPNPC, mas somente poucos deles produziram uma taxa de 15% ou mais (3,4) de respostas objetivas consistentes. A cisplatina foi estudada como agente único em vários testes da Fase II, incluindo um total de mais de 300 pacientes (2,3,4,5). Infelizmente, a taxa de respostas objetivas à cisplatina como agente único é geralmente entre 10-20%, com uma média de respostas de 16% (2,3,7). No entanto, os regimes de combinação que incluem cisplatina são capazes de produzir taxas de resposta em torno de 30% e são largamente utilizados no manejo de rotina paliativa de pacientes com CPNPC inoperável. Todavia, esses regimes conseguem apenas uma curta média total de sobrevida de 3-8 semanas, com um modesto benefício de sobrevida quando comparados com melhores cuidados aos pacientes com CPNPC em testes prospectivos casuais (3,4,5,6,7).

Portanto, parece válido testar novos agentes que apresentem efeitos sinérgicos com a cisplatina. A administração combinada desta com um novo agente como a decitabina, que tem um mecanismo único de ação (por exemplo, a hipometilação do DNA), parece justificar a exploração do uso potencial desse agente em pacientes com CPNPC (10).

Devido à sua potencial dependência de programas para efeitos antitumor e à rápida degradação espontânea através da administração prolongada, a decitabina foi aplicada aos pacientes na forma de infusão de 2 horas diárias, por 3 dias antes da administração da cisplatina (19). Na Fase I do estudo, a DMT da combinação foi definida, para a decitabina, de 67mg/m², mais a dose de cisplatina de 33mg/m², ambas com administração intravenosa por 3 dias consecutivos a cada 21 dias. A TLD da combinação foi mielossupressão, enquanto outras toxicidades – como mucosite, diarreia, náusea e vômitos – eram controláveis e não exigiam o adiamento do tratamento ou sua descontinuidade. Em 15% dos casos, ocorreu granulocitopenia severa, que exigiu hospitalização para o tratamento da neutropenia febril. Foi observada trombocitopenia severa em 17% dos casos, tendo recuperação espontânea. Nenhuma morte por intoxicação foi registrada no teste da Fase I.

Os testes da Fase II confirmaram o espectro de efeitos tóxicos acima mencionados. Notadamente, a ocorrência de neutropenia significativa em metade dos pacientes não estimulou os investigadores a aplicarem a escala programada de dosagem da decitabina depois da primeira série do tratamento. Portanto, todos os 14 pacientes foram tratados com decitabina a um nível II de dosagem (67mg/m²). De fato, também foi observada trombocitopenia severa em outros pacientes com séries adicionais de tratamento. Contudo, a

toxicidade ainda foi controlável, permitindo ao paciente um re-tratamento com as doses integrais no intervalo planejado de 3 semanas, na maioria dos pacientes incluídos no teste.

Considerando que cerca de um terço dos pacientes incluídos nos testes da Fase II estava no estágio IIIB da doença – uma população que tende a responder mais favoravelmente à quimioterapia, se comparada a pacientes no estágio IV – e considerando que unicamente a cisplatina poderia produzir uma taxa de resposta objetiva em torno de 15%, a ocorrência de somente três regressões secundárias de curta duração foi desanimadora (2,3,5). A ausência de respostas objetivas do tumor em 14 pacientes consecutivos incluídos no estudo nos daria uma probabilidade inferior a 5% de ocorrerem 20% de respostas objetivas (24). Além disso, a ausência de sobreviventes por 1 ano foi pouco comparável com os resultados de outras combinação com cisplatina recentemente relatados na literatura (26,29,30). A inclusão de somente um número limitado de pacientes e a predominância da doença no estágio IV podem explicar, em parte, esses resultados negativos. A existência de um efeito antagônico das decitabina sobre os efeitos antitumor da cisplatina parece-nos menos provável, na medida em que não há confirmação através de estudos pré-clínicos (10,11,12).

Como ainda se encontram em estudo outras combinações interessantes com cisplatina e combinações não contendo drogas, incluindo agentes como vinorelbina, taxol, taxotere, gemcitabina e outros – que produzem altas taxas de resposta objetiva (30-40%) e média maior de sobrevida (5-13 meses) e sobrevida de 1 ano (10-50%) – decidiu-se encerrar o estudo e considerar a combinação cisplatina-decitabina de baixa prioridade para posterior avaliação clínica das dosagens e programas acima descritos para pacientes com CPNPC inoperável (26,27,28,29,30).

Tabela 1 Níveis de escala de dosagem no teste da Fase I

Nível	Cisplatina D1-3 (mg/m ²)	Decitabina D1-3 (mg/m ²)
I	33	45
II	33	67
III	33	90
IV	33	120

Tabela 2 Características dos pacientes incluídos no teste da Fase I

Tipo	Nº de pacientes
Homem/mulher	15/6
Idade média	59 (36-70)
Status de desempenho médio OMS	1 (1-2)
Tipos de tumores	
Colorretal	3
CPNPC	8
Renal	3
Cervical	3
Esofageano	2
Pâncreas	1
Adenocarcinoma de sítio	
Primário desconhecido	1
Tratamento prévio	

Cirurgia	11
Radioterapia	13
Quimioterapia	14
Imunoterapia	3

Tabela 3 Graus de toxicidade hematológica Fase I

Nível de dose	Pacientes/ciclo	Tipo	
		Granulocitopenia	Plaquetopenia
I	3/8	1/2	1/2
II	3/6	1/2	1/3
III*	9/21	4/14	3/7
IV	6/11	5/11	4/9

* Cinco pacientes foram inicialmente incluídos; posteriormente, 4 pacientes entraram no nível III para definir dose recomendada para a Fase II.

Tabela 4 Toxicidade não-hematológica no estudo de Fase I

Nível de dose	Pacientes/ciclo	Tipos de toxicidade		
		Mucosite	Diarréia	Náusea/vômito
I	3/8	1/2	1/1	-
II	3/6	1/1	½	-
III*				

Tabela 5 Características dos pacientes incluídos no teste de Fase II

Tipo	Nº de pacientes
Homens/mulheres	11/3
Idade média (anos)	57 (39-75)
Status de desempenho médio/OMS	1 (0-2)
Terapia prévia	
Radioterapia	1
Cirurgia	1
Sem terapia	12
Tipo histológico	
Adenocarcinoma	6
Carcinoma epidermóide	6

Carcinoma de grandes células	1
Carcinoma bronquíolo-alveolar	1
Estadiamento (TNM)	
IIIB	5
IV	9

Tabela 6 Toxicidade hematológica cisplatino/decitabina

Tipo	Eventos/ciclos	Grau			
		1	2	3	4
Anemia	17/30	9	7	1	-
Granulocitopenia	25/30	4	3	11	7
Trombocitopenia	28/30	7	9	8	4

Tabela 7 Toxicidade não-hematológica de cisplatina/decitabina

Tipo	Eventos/ciclos	Gradação NCI / CTC			
		1	2	3	4
Náusea/vômito	27/30	13	8	6	-
Diarréia	10/30	6	3	1	-
Mucosite	14/30	9	2	3	-
Alopecia	10/30	5	5	-	-

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Health Statistics: Mortality figures in 1994; City of Porto Alegre, State of Rio Grande do Sul, Secretariat for Health and Environment, Ministry of Health of Brazil, Vol. 20, 1996.
2. Hansen HH, Roth M. Lung Cancer. In Cancer Chemotherapy and Biological Response Modifiers Annual 12. Pinedo HM, Longo DL, Chabner BA (Eds). Elsevier Science Publishers B.V. 449-459, 1991.
3. Thatcher N, Ranson M, Lee SM et al. Chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Annals of Oncology*, 6:83-95, 1995.
4. Comis RL, Friedland DM. New chemotherapy agents in the treatment of advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 12:63-69, 1995.
5. Non-small Cell Lung Cancer Collaborative Group: Chemotherapy in non-small cell lung cancer: A meta-analysis using updated data in individual patients from 52 randomized clinical trials. *Br. Med. J.*, 311:899-909, 1995.
6. Souquet PJ, Chauvin F, Boissel JP et al. Polychemotherapy in advanced non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Lancet*, 342:19-21, 1993.
7. Grill R, Oxman AD, Julian JÁ. Chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer: how much is enough? *J. Clin. Oncol.*, 11:1866-1872, 1993.
8. Fichtinger-Schepman AMJ, van der Veer JL, den Hartog JHL, Lohman PHM, Reedijk J. Adducts of the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum (II) with DNA. Formation, identification and quantitation. *Biochem.*, 24:707-711, 1985.
9. Reed E, Yuspa SH, Zwelling LA et al. Quantitation of cis-diamminedichloroplatinum (II) (cisplatin)-DNA-intrastrands adducts in testicular and ovarian cancer patients receiving cisplatin chemotherapy. *J. Clin. Invest.*, 77:545-550, 1986.
10. Momparler RL, Goodman J. In vitro cytotoxic and biochemical effects of 5-Aza-2'-deoxycytidine. *Cancer Res.*, 37:163-166, 1977.
11. Lenzi R, Abbruzzese J, Hunt B, Jackson D, Frost P. Reversal of cisplatin resistance by 5-aza-2'-deoxy-5-azacytidine (DAC) in human ovarian cell lines. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 33:497, 1992 (abstr#2865).
12. Frost P, Abbruzzese J, Hunt B, Lee D, Ellis M. Synergistic effect of cisplatin in murine tumor cells pretreated with 2'-deoxy-5-azacytidine. In: 5-Aza-2'-deoxycytidine: preclinical and clinical studies. Momparler RL, de Vos D (Eds.), p 29-34, PCH Publications, Harleem, The Netherlands, 1990.
13. Leyva A, Scharfmann G, Boieje LMC et al. Growth-inhibitory effects of 5-aza-2'-deoxycytidine in HL-60 promyelocytic leukemia cells resistant to differentiation induction. *Biochem. Biophys. Res.*, 23:595-597, 1987.

14. Schwartzmann G, Pinedo H, Leyva A. Resistance of HL-60 promyelocytic leukemia cells to induction of differentiation and its reversal by combination treatment. *Eur. J. Cancer*, 23:739-743, 1987.
15. Pinto A, Attadia V, Fusco A, Ferrara F, Spada OA, Di Fiore PP. 5-aza-2'-deoxycytidine induces terminal differentiation of leukemia blasts from patients with acute myeloid leukemias. *Blood*, 64:922-929, 1984.
16. Gonzalez-Zulueta M, Bender CM, Pao MM, Zingg JM, Tsai YC, Arap W. Activation of a silent p16/CDKN2 tumor suppressor gene by 5-aza-2'-deoxycytidine restores growth control to human cancer cells. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 37: 420, 1996 (abstr.# 2868).
17. Willemze R, Richel DJ, Arentsen-Honders MW, Colly LP. Preliminary results of 5-aza-2'-deoxycytidine (DAC) in patients with resistant and relapsed acute leukemia. In: 5-aza-2'-deoxycytidine: preclinical and clinical studies. Momparler RL & deVos D(eds). PCH Publications, Haarlem, The Netherlands, p. 183-190, 1990.
18. Chabot GG, Momparlet RL. Pharmacokinetics of 5-aza-2'-deoxycytidine in animals and man: relevance to clinical trials. In: 5-aza-2'- deoxycytidine: preclinical and clinical trials. PCH Publications, Haarlem, The Netherlands, p. 105-116, 1990.
19. Van Groeningen CJ, Leyva A, O'Brien A, Boeije L, Gall HE and Pinedo HM. Phase I and pharmacokinetic study of 5-aza-2'- deoxycytidine in cancer patients. *Cancer Res.*, 46:4831-4826, 1986.
20. Dodion PF, Clavel M, Ten Bokkel Huinink W, Robinson E, Renard J, Cavalli F. Phase I-II trials with 5-aza-2'-deoxycytidine conducted by the Early Clinical Trials Group of the EORTC. In: 5-aza-2'-deoxycytidine. Preclinical and clinical trials. PCH Publications, Haarlem, The Netherlands, p. 117-124, 1990.
21. Willemze R, Richel DJ, Arentsen-Honders W, Colly LP. Preliminary results of 5-aza-2'-deoxycytidine in patients with the Ara-C resistant and sensitive acute leukemia. In: 5-aza-2'-deoxycytidine. Preclinical and clinical trials. Editors: Momparler RL, de Vos D. PCH Publications, Haarlem, The Netherlands, p.183-191, 1990.
22. Schwartzmann G, Fernandes MS, Schaan MD et al. Decytidine plus daunorubicin as first line treatment in patients with acute myeloid leukemia: Preliminary observations. *Leukemia*, 8 (suppl. 1) 11:28-31, 1997.
23. Schwartzmann G, Wanders J, Koier IJ et al. EORTC New Drug Development Office coordinating and monitoring program for phase I and II trials with new anticancer agents. *Eur. J. Cancer*, 27: 1162-1168, 1991.
24. Gehan EA. The determination of the number of patients required in a preliminary and follow-up trial of a new chemotherapy agent. *J. Chronic Dis.*, 13: 346-349, 1961.
25. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M et al. Reporting results of cancer therapy treatment. *Cancer*, 47: 207-214, 1981.

26. Lilenbaum RC, Green MR. Novel chemotherapeutic agents in the treatment of non-small cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.*, 11:1391-1402, 1993.
27. Rapp E, Pater JK, Wellan A et al. Chemotherapy can prolong survival in patients with advanced non-small cell lung cancer. Report of a Canadian multicenter randomized trial. *J. Clin. Oncol.*, 6:633-641, 1988.
28. Crino L, Scagliotti G, Marangolo M et al. Cisplatin-gemcitabine combination in advanced non-small cell lung cancer. A phase II study. *J. Clin. Oncol.*, 15:297-303, 1997.
29. Johnson DH, Paul DM, Hande KR et al. Paclitaxel plus carboplatin in the treatment of advanced non-small cell cancer. A phase II trial. *J. Clin. Oncol.*, 14:2054-2060, 1996.
30. Zalcberg J, Millward M, Bishop J et al. Phase II study of docetaxel and cisplatin in advanced non-small cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.*, 16:1948-1953, 1998.

CONCLUSÃO

A avaliação clínica de um novo agente citotóxico experimental exige uma série de cuidados em relação à sua segurança para uso em seres humanos. Uma vez que a grande maioria desses agentes possui um baixo índice terapêutico, espera-se que ocorra significativa toxicidade em suas doses clínicas recomendáveis.

Em decorrência disso, os estudos com novos agentes anticâncer passam sempre por etapas iniciais em que a sua segurança é estimada. Nos estudos de Fase I, determina-se o seu perfil de toxicidade, a dose máxima tolerável (DMT) e faz-se uma recomendação, quando possível, de uma dose segura para futuros estudos clínicos de Fase II. Ainda que não seja o seu objetivo principal, a ocorrência de respostas tumorais em estudos de Fase I deve ser documentada de forma objetiva.

O interesse da comunidade científica pela utilização clínica da decitabina é relativamente recente. Esse agente chamou a atenção de pesquisadores básicos há cerca de duas décadas, quando foi observado que esse análogo de citarabina possuía, à parte de seu efeito antimetabólito clássico, um efeito indutor da diferenciação celular. Este último foi mais tarde explicado pela capacidade de decitabina de produzir hipometilação do DNA, alterando a expressão de genes específicos.

Pesquisadores da Fundação SOAD de Pesquisa do Câncer tiveram o privilégio de terem tido uma parte ativo no processo de introdução da decitabina em estudos clínicos. O primeiro estudo explorando o seu uso associando à daunorubicina como tratamento de primeira linha em pacientes com leucemia mielóide aguda foi realizado por nosso grupo e publicado na renomada revista *Leukemia*. Hoje, a decitabina obteve a aprovação para uso na rotina no tratamento de pacientes com síndromes mielodisplásicas em vários países, e os estudos que levarão à aprovação em leucemia mielóide aguda encontram-se em fase final de análise de dados nos EUA.

A decitabina também nos pareceu de interesse como um agente potencializador do efeito de outros agentes citotóxicos, em especial com ação direta sobre o DNA. O cisplatino é um deles. Estudos pré-clínicos realizados em modelos com células tumorais humanas evidenciaram um efeito sinérgico com tal combinação. Uma vez que a segurança e as doses recomendáveis da decitabina como droga única já estavam disponíveis na literatura, e o cisplatino é seguramente um dos agentes mais utilizados na rotina de tratamento de tumores sólidos avançados, consideramos o estudo dessa combinação como algo de potencial relevância terapêutica no futuro.

Estas foram as motivações que nos levaram a desenvolver um estudo de Fase I com a combinação cisplatino/decitabina em pacientes com tumores sólidos avançados, bem como a realizar um estudo-piloto de Fase II em pacientes com CPNPC avançado. Na realidade, o papel da decitabina no tratamento de rotina de pacientes com tumores sólidos avançados deverá ser elucidado no futuro por meio de estudos mais detalhados de fases II e III em diferentes tipos de tumores.

Nesse sentido, completamos recentemente um estudo de Fase II em pacientes portadoras de carcinoma de cérvix uterina avançado, com 35% de respostas objetivas, o que parece de potencial interesse clínico, o que será tema de outra tese de doutorado nesta Universidade e que está sendo submetido à publicação.

O presente estudo, objeto desta tese submetida ao Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica: Pneumologia, é outro exemplo de nosso esforço em contribuir com o armamentário terapêutico em Oncologia, unindo-nos a outros centros internacionais comprometidos com o desenvolvimento de novas drogas anticâncer.

ANEXO I

A PHASE I TRIAL OF CISPLATIN PLUS DECITABINE, A NEW DNA HYPOMETHYLATING AGENT, IN PATIENTS WITH ADVANCED SOLID TUMORS AND A FOLLOW-UP EARLY PHASE II EVALUATION IN PATIENTS WITH INOPERABLE NON-SMALL CELL LUNG CANCER

ABSTRACT

The authors describe a phase I trial of cisplatin plus decytabine, a novel DNA-hypomethylating agent, in patients with advanced solid tumors, which was followed by an early phase II evaluation of the combination in patients with inoperable non-small cell lung cancer (NSCLC). In the phase I trial, cisplatin was studied at a fixed dose of 33 mg/m², while decytabine was escalated in four (I-IV) dose escalation levels (45,67,90 to 120 mg/m², respectively) in consecutive groups of at least 3 patients per dose level. Decytabine was diluted in 0.9% saline solution and administered to the patients as a two-hour intravenous infusion. Cisplatin was diluted in 250 ml of 0.9% saline solution, following a standard pre-hydration scheme administered intravenously immediately after the end of decytabine infusion. Both agents were given on days 1-3 every 21 days. Twenty-one patients were included in the phase I trial. Dose level IV (120 mg/m² decytabine) was considered the maximum tolerated dose (MTD), while the dose-limiting toxicities were neutropenia, thrombocytopenia and mucositis. The recommended doses for phase II trials in good- and poor-risk patients were 90 (level III) and 67 mg/m² (level II), respectively. One short-lasting partial response was observed in a patient with cervical cancer, while two minor regressions in patients with NSCLC and cervical cancer, respectively. The median survival of the entire population was 12 weeks (6-25). Dose level II was selected for the phase II trial in patients with inoperable non-small cell lung cancer (NSCLC), with the possibility of dose escalation to dose level III in case no significant toxicity was observed following the first treatment course. Fourteen consecutive patients were included in this part of the study. The median age of the patients was 57 years (range, 39-75), male/female ratio of 11/3 and a median WHO performance status 1 (0-2). The stage of disease were IIIB (5) and IV (9), the histopathological subtypes were squamous cell (6), adenocarcinoma (6), large-cell (1) and bronchiolar-alveolar (1), while prior irradiation to the chest was given in one case. A total of 30 treatment courses were considered evaluable for toxicity and response, with a median of 2 courses per patient (1-4). The toxicity profile was similar to that observed during the phase I trial, with grade 3-4 neutropenia and thrombocytopenia were observed in about half of the cases. Mucositis, diarrhea, nausea and vomiting, and skin rash were also observed in some patients. No dose escalation to level III was applied. Three minor responses were documented, which lasted for 4, 16 and 36 weeks. Median survival of patients was 15 weeks (4-38). In conclusion, the cisplatin plus decytabine combination did not exhibit significant antitumor activity in patients with NSCLC at the dose and schedule applied in this trial to justify its further evaluation in this patient population.

INTRODUCTION

Lung cancer is the most frequent cause of cancer-related death in the adult population of the Southern region of Brazil (1). As in most series from other countries, non-small cell lung cancer (NSCLC) subtypes comprise about 80% of the cases (2). Unfortunately, the majority of patients with NSCLC present with either locally-advanced or metastatic disease, being unsuitable candidates for curative surgical resection (3).

Cytotoxic therapy has been frequently used as part of the palliative management of patients with NSCLC. However, the objective response rates to single agent chemotherapy in patients with advanced disease range between 5-20%, and are usually partial and of short duration (4). In combination, cytotoxic agents produce objective responses in about 20-40% of cases, but the median survival of patients in most series is less than 6 months (5,6).

Cisplatin has been reported to produce objective tumor responses in about 15% of patients with NSCLC, being part of most combination chemotherapy regimens currently applied in this disease (7). Cisplatin causes cytotoxic effects mainly due to the generation of reactive species which lead to single and/or double-strand DNA breaks (8). Tumor resistance to cisplatin are due to various mechanisms, and post-damage enhanced DNA repair being one of the most studied in the laboratory (9).

Decytabine (5-aza-2'-deoxycytidine) is a deoxycytidine analog in which the C-5 in the pyrimidine ring has been replaced by a nitrogen. This agent causes DNA-hypomethylation, changes in gene expression, and differentiation-inducing effects in vitro. It has been shown to be at least as potent as cytarabine in leukemia models in the laboratory (10). It was also shown to partially reverse cisplatin resistance in human ovarian cancer cells in vitro (11).

In the HL-60 human promyelocytic leukemia model, decytabine can induce cell differentiation and growth-inhibitory effects, as well as reverse resistance to retinoids and vitamin D analogs at non-cytotoxic drug concentrations (12,13,14). Although leukemia models may not necessarily reflect the biology of solid tumors, recent data have demonstrated that the DNA-hypomethylating effects of decytabine can affect (onco)gene expression in solid tumors. Preliminary studies in human melanoma cell lines have shown a modulating effect by decytabine on the expression of the p16 protein in malignant melanoma cells (15).

Phase II evaluation of decytabine as a single agent failed to disclose significant antitumor activity in patients with advanced solid tumors, including NSCLC. However, recent trials revealed promising antitumor activity in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes (16,17). Therefore, the rationale for testing decytabine in combination with a DNA-damaging agent such as cisplatin may still be compelling in the clinic. In this paper, we describe a Phase I study of the above mentioned combination in patients with advanced solid tumors, and a follow-up phase II trial in patients with inoperable NSCLC.

PATIENTS AND METHODS

a) Phase I trial

Eligibility

For the phase I trial, 3-5 patients with advanced refractory solid tumors, including NSCLC were accrued sequentially, with a minimum interval of one week between patients, at each dose escalation level, regardless of prior exposure to cytotoxic therapy. Patients had histopathologically confirmed diagnosis of malignancy, progressive disease, adequate hematopoietic ANC of $> 1500/\mu\text{l}$, platelet count of $> 100,000/\mu\text{l}$, renal (serum creatinine of $< 1.5 \text{ mg/dl}$) and hepatic function (serum bilirubin of $< 1.5 \text{ mg/dl}$), who had given an oral witnessed informed consent. The evidence of coexisting medical conditions that might compromise compliance with the study, such as active infection, severe organ dysfunction, mental illness or pregnancy were considered as exclusion criteria. The presence of a bidimensionally measurable lesion was not a requirement of entering the study.

Pretreatment and follow-up studies

Prior to the start of each treatment course (not longer than 7 days), patients had to undergo a complete history and physical examination, performance status evaluation, assessment of measurable lesions (when available), biochemistry, serum creatine, liver function tests and electrocardiogram, computerized tomography of the chest and abdomen and/or abdominal ultrasound. Complete blood counts were obtained weekly or more frequently in case of severe myelosuppression. Imaging studies included a chest X-ray, abdominal ultrasound and computerized tomography, when necessary. Additional tests were done on the basis of clinical judgement. Tests were repeated prior to each treatment course, except for imaging tests which were repeated every two courses of treatment. Treatment was continued in the absence of evidence of disease progression.

Dosage, dose escalation, and drug administration

The study was designed to escalate the dose of decytabine while cisplatin was maintained in fixed dose until the maximum tolerated dose (MTD) was reached (18). Dose escalation levels are shown in Table 1. Cisplatin was supplied in standard commercial vials for IV administration by Bristol Myers Squibb, Sao Paulo, Brazil, while decytabine was provided by Pharmachemie BV, Haarlem, The Netherlands, as a freeze-dried preparation. Each 20 ml vial of decytabine contained 50 mg of the agent. When reconstituted with 5 ml of sterile water for injection USP, each ml contained 10 mg of decytabine. Due to the risk of rapid decomposition, reconstituted vials were immediately diluted in 0,9% saline solution and administered to the patients as a two-hour intravenous infusion daily for 3 consecutive days. Cisplatin was diluted in 250 ml 0,9% saline solution, following a standard pre-hydration scheme to maintain an urinary output above 100 ml/hour prior and immediately after drug administration. The drug was administered at the dose of 33 mg/sqm as a 30-minute IV infusion immediately after decytabine administration on days 1-3. Courses were to be repeated every 3 weeks until maximum response, disease progression or unacceptable toxicity.

Aims, toxicity and tumor response evaluation

The aims of the study were to define the pattern of toxicity, dose-limiting toxicities (TLT), maximum tolerated dose (MTD) and a recommended dose for Phase II trials with the above mentioned combination. Toxicities were scored according to the NCI Common Toxicity Criteria (NCI-CTC). DLT was defined as at least one of the following events: a) ANC $< 500/\mu\text{L}$ for > 7 days or associated with fever exceeding 38°C ; b) platelet count of $< 25.000/\mu\text{L}$; c) grade 3-4 non-hematological toxicity, such as mucositis or diarrhea. The MTD was defined as the presence of NCI-CTC grade 4 myelosuppression with sepsis, grade 4 thrombocytopenia and/or grade 3-4 non-hematological toxicity in at least 2 out of 5 patients at that dose level. Once the MTD was determined, further patients were accrued at the immediate lower dose level to define a safe dose to be recommended for the phase II trial.

b) Phase II trial

Eligibility

In the Phase II trial, consecutive patients with clinically progressive non-pretreated NSCLC were accrued. Patients had to fulfil all the following criteria to be eligible in the Phase II study: 1) age between 18-70 years old; 2) stages IIIB and IV NSCLC; 3) bidimensionally measurable disease (only for the Phase II trial); 4) WHO performance status 0-3; 5) ANC > 1500/mL and thrombocyte > 100,000/mL; 6) serum creatine < 1.4 mg/dl, if borderline, a creatine clearance was performed and had to be equal or above 60 ml/min; 7) total serum bilirubin equal or below 1.25 x upper normal limit; 8) SGOT equal or below 2x the upper normal limit unless in the case of proven liver metastases; 9) no prior exposure to cytotoxic therapy; 10) previous radiation therapy was allowed if not given to a site used to assess response, unless there had been the appearance of a new lesion at that site; 11) a minimum of 4 weeks (8 weeks in case of extensive prior radiotherapy) must have elapsed between the end of the prior radiotherapy and entry into the protocol; and 12) signed informed consent prior to entry in the protocol.

Patient having one of more of the following criteria were not eligible in the study: 1) the presence of brain or leptomeningeal metastases; 2) previous or current malignancies at other sites, with exception of adequately treated in situ carcinoma of the cervix uteri and basal or squamous cell carcinoma of the skin; 3) pregnant or lactating women; 4) absence of measurable disease; 5) presence of serious active concomitant medical conditions, such as unstable cardiac disease requiring treatment, history of significant neurologic or psychiatric disorders, uncontrolled infection, and/or 6) concurrent treatment with other experimental drugs or with any other anticancer therapy.

Aims, study design, pretreatment and follow-up studies

The aims were to define the percentage of objective responses, toxicity profile and overall survival of patients treated with this combination chemotherapy. A two-stage Gehan method was applied in the study, in which a series of 14 consecutive patients are accrued in the first stage, additional patients being entered according to the number of objective responses observed in the first stage (19). If no response (complete or partial) is observed in 14 consecutive patients receiving at least 2 complete treatment courses, the study is stopped in the first stage. That ensures a 0.044 chance of erroneously rejecting a drug having 20% or more objective response. In contrast, if one or more objective responses are observed in the first 14 patients, additional patients were added accordingly, up to a maximum of 11 patients (total number equal to 25). Patients were retreated at the same dose level. If ANC of < 1.500/mm³ and/or thrombocytes of < 100.000/mm³ at day 21, and/or grade 3-4 non-hematological toxicity was observed, one week rest was provided for clinical recovery and blood counts were repeated at day 28. Patients who did not recover adequate granulocyte and thrombocyte counts by that time were retreated at a dose-reduced schedule (25% decrease on decytabine dose). Pre-treatment and follow-up studies were performed as previously described for patients included in the phase I trial, with repeated measurements of palpable lesions before each treatment course, while imaging tests of marker lesions were repeated every two courses, or earlier in case tumor progression was suspected.

Toxicity and response evaluation

Patients were evaluated for toxicity and response after each treatment cycle using the NCI Common Toxicity Criteria and the standard WHO tumor response criteria (20), respectively. Patients with progressive disease who were removed from the trial within 2 courses from starting therapy were considered as early progression. Patients with partial or complete responses at that time remained on study until disease progression or excessive toxicity. In case of no change after 2 courses of therapy, treatment was continued until response, tumor progression or severe toxicity.

The following lesions were considered for the evaluation of tumor response: 1) bidimensionally measurable lesions, such as skin nodules, superficial lymph nodes, lung lesions surrounded by aerated lung or malignant deposits at visceral sites measured by computerized tomography or ultrasound. The presence of liver or spleen enlargement by physical examination were not accepted as marker lesions for response, unless the observation was confirmed objectively by imaging tools, such as computerized tomography or ultrasound.

A complete response (CR) was defined as the disappearance of all evidences of the disease, determined by 2 observations not less than 4 weeks apart. A partial response (PR) was defined as a decrease by at least 50% of the sum of the products of the largest perpendicular diameters of all measurable lesions as determined by 2 observations not less than 4 weeks apart. It was not necessary for all lesions to have regressed to qualify for partial response, but no lesion should have progressed and no lesion should appear during that period of observation. No change was defined as a less than 50% decrease or less than 25% increase in the sum of the products of the largest perpendicular diameters of all measurable lesions. No new lesions should be detected during that period of observation. Progressive disease was defined as a 25% increase or more in the size of at least one bidimensionally or unidimensionally measurable lesion or the appearance of a new lesion.

The occurrence of pleural effusion or ascites was also considered as progressive disease if this was confirmed by positive cytology. Pathological fracture or collapse of bone were not necessarily evidence of disease progression. The development of brain metastases was considered as a sign of disease progression, even if the patient was responding outside the brain. The duration of responses were calculated from the date it was objectively documented until the objective documentation of tumor progression. The duration of survival was calculated from the date of diagnosis until patient death.

Ethical and regulatory aspects

The responsible physician had to inform the patient about the background and present knowledge of the drugs under study with special reference to known activity and toxicity. It was emphasized that the patient was allowed to refuse the treatment at any time during the study. Before the patient was entered into the study, a written informed consent was obtained according to Good Clinical Practice (GCP) recommendations. The principal investigator had to ensure that the study was being carried out in agreement with the declaration of Helsinki and it had obtained the approval by the local Ethical Committee and the governmental regulatory authorities.

RESULTS

a) Phase I trial

We initially performed a phase I trial in patients with advanced solid tumors, in which the toxicity profile, DLT, MTD and the recommended doses for phase II trials of the combination of cisplatin plus decytabine were defined. The characteristic of patients entered on the study are listed in Table 2. Twenty-one patients were included, representing the spectrum of refractory solid tumors usually seen in the participating institutions. There were fifteen males and six females, with a median age of 59 years (36-70). The median WHO performance status was 1 (1-2). Eight patients had a diagnosis of advanced NSCLC, while the other patients had colorectal, renal, cervical, esophageal, pancreatic cancer and adenocarcinoma of unknown origin. The median WHO performance status was 1 (range, 1-2). Fourteen patients had prior chemotherapy, while prior surgery and/or radiotherapy were given to about half of the cases. A total of 42 treatment courses were administered, with a median of 2 (range, 1-4) courses per patient.

Decytabine was administered to consecutive groups of patients as a one-hour intravenous infusion at four different dose levels (45, 67, 90 and 120 mg/m², meaning levels I, II, III and IV, respectively), while cisplatin was maintained at a fixed dose of 33 mg/m², with both agents given daily for 3 consecutive days. Courses were repeated every 3 weeks.

The main toxicities were neutropenia, thrombocytopenia, mucositis, nausea and vomiting, malaise, alopecia and skin rash (Tables 3 and 4). Of those, the DLT were neutropenia, thrombocytopenia and mucositis. The maximum tolerated doses (MTD) of decytabine in the combination was 120 mg/m² (dose level IV). The median duration of survival in this patient population was 12 weeks (range, 6-25).

Dose level III was considered safe to be recommended for patients with good-risk (adequate performance status, no prior exposure to chemotherapy or extensive radiation therapy, and no or minimum bone involvement by tumor), while 67 mg/m² (dose level II) was the recommended dose for phase II trials patients with poor risk. However, for safety purposes, dose level II was selected to initiate phase II trials, with instructions for a dose escalation to level III in the case of absence or minimal clinical toxicity at the first treatment course.

One partial response was observed in a patient with advanced cervical cancer, who progressed following radiation therapy and single-agent carboplatin. The response lasted for 14 weeks. Two minor responses were documented in another patient with cervical cancer and in one patient with NSCLC, lasting for 13 and 11 weeks, respectively.

b) Phase II trial

The aims of the study were to determine the toxicity profile, objective antitumor effects of the and overall survival of patients with inoperable NSCLC following treatment with the above mentioned cisplatin/decytabine combination. A total of 14 patients were accrued for the study

(Table 5). The median age was 57 years (range, 39-75), male/female ratio was 11/3, median WHO performance status was 1 (range, 0-2), stage of disease were IIIB (5) and IV (9) patients; histopathological subtypes were squamous cell (6), adenocarcinoma (6), large-cell (1) and bronchiolar-alveolar (1), One patient had prior chest irradiation, while other one had undergone initial surgical resection.

Fourteen consecutive patients were included in the study and a total of 30 treatment courses were considered evaluable for toxicity and response. Grade 3 and 4 granulocytopenia were observed in 14/30 courses. However, full recovery of blood counts occurred at day 21 and no life-threatening infectious complication were documented, except in one case. Grades 3 and 4 thrombocytopenia occurred in 10/30 patients, while nausea and vomiting, diarrhea and mucositis were also documented. Mild to moderate alopecia was observed in 10/14 patients (Tables 6 and 7).

Notably, no dose escalation was applied, as patients presented significant myelosuppression following treatment at dose level II. In spite of the fact that an adequate dose-intensity of the drug combination was achieved, as demonstrated by the occurrence of significant hematologic and non-hematologic toxicity, no objective response was documented in the phase II trial. Three minor responses were documented, however, which lasted for 4, 16 and 36 weeks, respectively. The median survival of patients included in the study was 15 weeks (range, 4-38).

DISCUSSION

A large number of cytotoxic agents has been investigated in patients with NSCLC but only a few of them have produced a consistent objective response rate of 15% or more (x). Cisplatin was studied as a single agent in various phase II trials including a total of over 300 patients (2,3,4,5). Unfortunately, the objective response rates to single-agent cisplatin are usually between 10-20%, with a median response rate of 16% (2,3,7). Cisplatin-containing combination regimens, however, are capable of producing objective response rates of about 30% and are widely used in the routine palliative management of patients with inoperable NSCLC (2,4). Unfortunately, these regimens have shown an overall median survival of 3-8 months, with only a modest survival benefit versus best supportive care in patients with NSCLC in prospective randomised trials (3,4,5,6,7).

Therefore, it seems worthwhile testing new agents which display synergistic effects with cisplatin. The combined administration of cisplatin with a novel agent such as decytabine, which has a unique mechanism of action, i.e., DNA hypomethylation, seemed justified to us as a means to further exploit the potential use of this agent in patients with NSCLC (26).

Due to its potential schedule-dependence for antitumor effects and the rapid spontaneous degradation following prolonged administration, decytabine was given to patients as a two-hour intravenous infusion daily for three days prior to the administration of cisplatin (21). In the phase I part of the study, the MTD of the combination was defined at the decytabine dose of 67 mg/m² plus the cisplatin dose of 33 mg/m², both given intravenously daily for three consecutive days every 21 days. The DLT of the combination were myelosuppression and mucositis, while other toxicities such as diarrhea and nausea and vomiting were also observed. Severe side-effects resulting in hospital admissions occurred in some patients due to infectious episodes but with no

life-threatening complications. Grade 4 thrombocytopenia occurred in some cases, showing a rapid recovery.

The phase II trial confirmed the above mentioned spectrum of toxic effects. Notably, the occurrence of significant toxicity in most patients did not encourage the investigators to apply the planned decytabine dose escalation after the first treatment course in patients exhibiting initially no major toxicity. Therefore, all 14 patients were treated with decytabine at dose level II (67 mg/m²). In fact, severe myelosuppression was seen in most patients with additional treatment courses.

Toxicity, however, was still manageable, allowing patient re-treatment at full doses at the planned 3-weekly interval in all but two patients included in the trial.

Considering that about one third of the patients included in the phase II trial had stage IIIB disease, a patient population who tends to respond more favourably to chemotherapy as compared to patients with stage IV disease, and that cisplatin alone could produce an objective response of about 15%, the occurrence of only three short-lasting minor regressions was disappointing (2,3,5). The absence of objective tumor responses in 14 consecutive patients included in the study would give us a less than 5% probability of a 20% objective response rate (19). For the above mentioned reasons, it was decided to close the study and to consider the cisplatin/decytabine combination of low priority for further clinical evaluation at the above mentioned dose and schedule in patients with inoperable NSCLC.

REFERENCES

1. Health Statistics: Mortality figures in 1994; City of Porto Alegre, State of Rio Grande do Sul, Secretariat for Health and Environment, Ministry of Health of Brazil, Vol. 20, 1996.
2. Hansen HH, Roth M. Lung Cancer. In Cancer Chemotherapy and Biological Response Modifiers Annual 12. Pinedo HM, Longo DL, Chabner BA (Eds). Elsevier Science Publishers B.V. 449-459, 1991.
3. Thatcher N, Ranson M, Lee SM et al. Chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Annals of Oncology*, 6:83-95, 1995.
4. Comis RL, Friedland DM. New chemotherapy agents in the treatment of advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 12:63-69, 1995.
5. Non-small Cell Lung Cancer Collaborative Group: Chemotherapy in non-small cell lung cancer: A meta-analysis using updated data in individual patients from 52 randomized clinical trials. *Br. Med. J.*, 311:899-909, 1995.
6. Souquet PJ, Chauvin F, Boissel JP et al. Polychemotherapy in advanced non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Lancet*, 342:19-21, 1993.
7. Grill R, Oxman AD, Julian JÁ. Chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer: how much is enough? *J. Clin. Oncol.*, 11:1866-1872, 1993.
8. Fichtinger-Schepman AMJ, van der Veer JL, den Hartog JHL, Lohman PHM, Reedijk J. Adducts of the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum (II) with DNA. Formation, identification and quantitation. *Biochem.*, 24:707-711, 1985.
9. Reed E, Yuspa SH, Zwelling LA et al. Quantitation of cis-diamminedichloroplatinum (II) (cisplatin)-DNA-intrastrands adducts in testicular and ovarian cancer patients receiving cisplatin chemotherapy. *J. Clin. Invest.*, 77:545-550, 1986.
10. Momparler RL, Goodman J. In vitro cytotoxic and biochemical effects of 5-Aza-2'-deoxycytidine. *Cancer Res.*, 37:163-166, 1977.
11. Lenzi R, Abbruzzese J, Hunt B, Jackson D, Frost P Reversal of cisplatin resistance by 5-aza-2'-aza-deocycytine (DAC) in human ovarian cel lines. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 33:497, 1992 (abstr#2865).
12. Frost P, Abbruzzese J, Hunt B, Lee D, Ellis M. Synergistic effect of cisplatin in murine tumor cells pretreated with 2'-deoxy-5-azacytidine. In: 5-Aza-2'-deocycytine: preclinical and clinical studies. Momparler RL, de Vos D (Eds.), p 29-34, PCH Publications, Harleem, The Netherlands, 1990.

13. Leyva A, Scharfsmann G, Boeije LMC et al. Growth-inhibitory effects of 5-aza-2'-deoxycytidine in HL-60 promyelocytic leukemia cells resistant to differentiation induction. *Biochem. Biophys. Res.*, 23:595-597, 1987.
14. Schwartzmann G, Pinedo H, Leyva A. Resistance of HL-60 promyelocytic leukemia cells to induction of differentiation and its reversal by combination treatment. *Eur. J. Cancer*, 23:739-743, 1987.
15. Pinto A, Attadia V, Fusco A, Ferrara F, Spada OA, Di Fiore PP. 5-aza-2'-deoxycytidine induces terminal differentiation of leukemia blasts from patients with acute myeloid leukemias. *Blood*, 64:922-929, 1984.
16. Gonzalez-Zulueta M, Bender CM, Pao MM, Zingg JM, Tsai YC, Arap W. Activation of a silent p16/CDKN2 tumor suppressor gene by 5-aza-2'-deoxycytidine restores growth control to human cancer cells. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 37: 420, 1996 (abstr.# 2868).
17. Willemze R, Richel DJ, Arentsen-Honders MW, Colly LP. Preliminary results of 5-aza-2'-deoxycytidine (DAC) in patients with resistant and relapsed acute leukemia. In: 5-aza-2'-deoxycytidine: preclinical and clinical studies. Momparler RL & deVos D(eds). PCH Publications, Haarlem, The Netherlands, p. 183-190, 1990.
18. Chabot GG, Monparlet RL. Pharmacokinetics of 5-aza-2'-deoxycytidine in animals and man: relevance to clinical trials. In: 5-aza-2'- deoxycytidine: preclinical and clinical trials. PCH Publications, Haarlem, The Netherlands, p. 105-116, 1990.
19. Van Groeningen CJ, Leyva A, O'Brien A, Boeije L, Gall HE and Pinedo HM. Phase I and pharmacokinetic study of 5-aza-2'- deoxycytidine in cancer patients. *Cancer Res.*, 46:4831-4826, 1986.
20. Dodion PF, Clavel M, Ten Bokkel Huinink W, Robinson E, Renard J, Cavalli F. Phase I-II trials with 5-aza-2'-deoxycytidine conducted by the Early Clinical Trials Group of the EORTC. In: 5-aza-2'-deoxycytidine. Preclinical and clinical trials. PCH Publications, Haarlem, The Netherlands, p. 117-124, 1990.
21. Willemze R, Richel DJ, Arentsen-Honders W, Colly LP. Preliminary results of 5-aza-2'-deoxycytidine in patients with the Ara-C resistant and sensitive acute leukemia. In: 5-aza-2'-deoxycytidine. Preclinical and clinical trials.Editors:. Momparler RL, de Vos D. PCH Publications, Haarlem, The Netherlands, p.183-191, 1990.
22. Schwartzmann G, Fernandes MS, Schaan MD et al. Decytidine plus daunorubicin as first line treatment in patients with acute myeloid leukemia: Preliminary observations. *Leukemia*, 8 (suppl. 1) 11:28-31, 1997.
23. Schwartzmann G, Wanders J, Koier IJ et al. EORTC New Drug Development Office coordinating and monitoring program for phase I and II trials with new anticancer agents. *Eur. J. Cancer*, 27: 1162-1168, 1991.
24. Gehan EA. The determination of the number of patients required in a preliminary and follow-up trial of a new chemotherapy agent. *J. Chronic Dis.*, 13: 346-349, 1961.

25. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M et al. Reporting results of cancer therapy treatment. *Cancer*, 47: 207-214, 1981.
26. Lilenbaum RC, Green MR. Novel chemotherapeutic agents in the treatment of non-small cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.*, 11:1391-1402, 1993.
27. Rapp E, Pater JK, Wellan A et al. Chemotherapy can prolong survival in patients with advanced non-small cell lung cancer. Report of a Canadian multicenter randomized trial. *J. Clin. Oncol.*, 6:633-641, 1988.
28. Crino L, Scagliotti G, Marangolo M et al. Cisplatin-gemcitabine combination in advanced non-small cell lung cancer. A phase II study. *J. Clin. Oncol.*, 15:297-303, 1997.
29. Johnson DH, Paul DM, Hande KR et al. Paclitaxel plus carboplatin in the treatment of advanced non-small cell cancer. A phase II trial. *J. Clin. Oncol.*, 14:2054-2060, 1996.
30. Zalcberg J, Millward M, Bishop J et al. Phase II study of docetaxel and cisplatin in advanced non-small cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.*, 16:1948-1953, 1998.

Tabela 1 Dose escalation levels in the Phase I trial

Dose level	Cisplatin d1-3 (mg/m ²)	Decytabine d1-3 (mg/m ²)
I	33	45
II	33	67
III	33	90
IV	33	120

Tabela 2 Characteristics of patients included in the Phase I trial

Type	N of patients
Male/female	15/6
Median age	59 (36-70)
Median WHO Performance status	1 (1-2)
Tumor Types	
NSCLC	8
Colorectal	3
Renal	3
Cervical	3
Esophageal	2
Pancreas	1
Adenocarcinoma of unknow primary	1
Prior therapy	
Surgery	11
Radiotherapy	13
Chemotherapy	14
Immunotherapy	3

Tabela 3 Worse hematological toxicities (NCI-CTC grade 3-4)

Dose level	Patients/courses	Types	
		Granulocytopenia	Thrombocytopenia
I	3/8	1/2	1/2
II	3/6	1/2	1/3
III*	9/21	4/14	3/7
IV	6/11	5/11	4/9

*Five patients initially accrued; and 4 additional patients were later on entered at level III to define recommended dose for Phase II.

Table 4 Worse non-hematological toxicities in the Phase I trial (NCI-CTC grades 3-4)

Dose levels	Patients/courses	Type of toxicity		
		Mucositis	Diarrhea	Nausea/vomiting
I	3/8	1/2	1/1	-
II	3/6	1/1	1/2	-
III*				

Table 5 Characteristics of patient included in the Phase II trial

Type	N of patients
Male/female ratio	11/3
Median age (years)	57 (39-75)
Median WHO performance status	1 (0-2)
Prior therapy	
Radiotherapy	1
Surgery	1
No therapy	12
Histopathological subtype	
Adenocarcinoma	6
Squamous cell carcinoma	6
Large-cell carcinoma	1
Bronchiolar-alveolar	1
TNM stage	
IIIB	5
IV	9

Table 6 Hematological toxicities of cisplatin/decytabine (NCI-CTC grade)

Type	Events/total cycles	Grade			
		1	2	3	4
Anemia	17/30	9	7	1	-
Granulocytopenia	25/30	4	3	11	7
Thrombocytopenia	28/30	7	9	8	4

Table 7 Non-hematological toxicities of cisplatin/decytabine (NCI-CTC grade)

Type	Events/total cycles	NCI / CTC grade			
		1	2	3	4
Nausea/vomiting	27/30	13	8	6	-
Diarrhea	10/30	6	3	1	-
Mucositis	14/30	9	2	3	-
Alopecia	10/30	5	5	-	-

ANEXO II

CRITÉRIO COMUM DE TOXICIDADE

TOXICIDADES	GRAU					
	0	1	2	3	4	
Leucócitos	≥ 4,0	3,0-3,9	2,0-2,9	1,0-1,9	< 1	
Plaquetas	normal	75,0 – normal	50,0-74,9	25,0-49,9	< 25,0 g/100ml	
Hb	g/100ml	normal	10,0 – normal	8,0-10,0	6,5-7,9	< 6,5 g/l
	g/L	normal	100 – normal	80-100	65-79	< 65 mmol/lnormal
	mmol/l	normal	6,2 – normal	4,95-6,2	4,0-4,9	< 4,0
Granulócitos	≥ 2,0	1,5-1,9	1,0-1,4	0,5-0,9	< 0,5	
Linfócitos	≥ 2,0	1,5-1,9	1,0-1,4	0,5-0,9	< 0,5	
Hemorragia	nenhuma	leve, s/transusão	importante 1-2U, de transfus. por episódio	importante, 3-4U de transf. de transfus. por episódio	massiva, > 4U (clínica) de transf. por episódio	
Infecção	nenhuma	leve	moderada	severa	em risco de vida	
Náusea	nenhuma	capaz de comer razoável quantidade	ingesta significativa reduzida	nenhuma ingesta significativa	—	
Vômitos	nenhum	1 episódio em 24 h	2-5 episódios em 2 h	6-10 episódios em 24 h	> 10 episódios em 24 h ou suporte parenteral	
Diarréia	nenhuma	↑ de 2-3 evacuação/dia	↑ de 4-6 evac./dia ou noturnas, ou cólica moderada	↑ de 7-9 evac./dia ou incontinência ou cólica severa	↑ de ≥ 10 evac./dia ou melena, ou necessidade de suport. parenter	
Estomatite	nenhuma	úlceras indolores, eritema ou sensibilidade	eritema doloroso, edema ou úlceras, mas pode comer	eritema doloroso, edema ou úlceras e não pode comer	requer suporte ou alimentação parenteral	
Bilirrubina	normal	idem	< 1,5 x normal	1,5-3,0 x normal	> 3,0 x normal	
Transaminases (SGOT, SGPT)	normal	≤ 2,5 x normal	2,6-5,0 x normal	5,1-20,0 x normal	> 20,0 x normal	
Fosfatase Alcalina ou 5' nucleotidase	normal	≤ 2,5 x normal	2,6-5,0 x normal	5,1-20,0 x normal	> 20,0 x normal	
Hepático clínico	s/ alteração dos exames iniciais	—	—	pré-coma	coma hepático	
Creatinina	normal	< 1,5 x normal	1,5-3,0 x N	3,1-6,0 x N	> 6,0 x N	
Proteinúria	nenhuma alteração	1+ ou < 0,3 g% ou < 3 g/l	2-3+ ou 0,3-1,0 g% ou 3-10 g/l	4+ ou > 1,0 g% ou > 10 g/l	síndrome nefrótica	
Hematúria	negativo	microsc. somente	macroscóp. s/coágulos	macroscóp. c/ coágulos	exige transfusão	
Alopécia	s/ perda	leve perda do cabelo	pronunciada ou perda total	—	—	

TOXICIDADES	GRAU				
	0	1	2	3	4
Pulmonar	s/ alterações	assintomático, c/ anormal. em PFP	dispnéia em esforço importante	dispnéia em atividade normal	dispnéia em repouso
Cardíaca Arritmias	s/ alterações	assintomático, transitório, s/ trat.	recorrente ou persistente, s/ trat.	requer tratamento	requer monitorização ou hipotensão, taquic, vent. ou fibrilação
Cardíaca Função	s/ alterações	assintomático, declínio 20% do FEVE em repouso	sintomático, declínio 20% do FEVE em repouso	leve ICC, s/ tratamento	ICC severa ou refratária
Cardíaca Isquemia	s/ alterações	alt. não sepecific. da onda T T	assintomático, alt. ST e sugerem isquemia	angina, sem evidências de IAM	IAM
Cardíaca Pericárdio	s/ alterações	derrame assintomático não requer intervenção	pericardite	derrame sintomático requer drenagem	tamponamento, drenagem urgente
Hipertensão	s/ alterações	assintomático, ↑ transitória > 20 mmHg ou PA > 150/100 com PA prévia normal	recorrente ou persistente ↑ de > 20 mmHg ou PA > 150/100 com PA prévia normal	requer tratamento	crise hipertensiva
Hipotensão	s/ alterações	anormalidades não requerem trat.	exigência de reposição hídrica ou outras, sem hospitalização	exigência de trat. ou hospitaliz. < 48 h após interrupção do agente	exigência de hospitaliz. > 48 h após interrupção do agente
Neuro-sensório	s/ alterações	parestesia leve ou perda dos reflexos tendinosos profundos	parestesia moderada perda objetiva leve ou moderada	parestesia que interfere, com função ou perda sensorial objetiva	---
Neuro-motor	s/ alterações	fraqueza subjetiva s/ achados objetivos	fraqueza objetiva leve sem perda de função significativa	fraqueza objetiva, com perda de função	paralisia
Neuro-cortical	s/ alterações	leve sonolência ou agitação	sonolência moderada ou agitação	sonolência severa, agitação, confusão desorientação, alucinações	coma, convulsões, psicose tóxica
Neuro-cerebelar	s/ alterações	descordenação leve disdiadococinese	tremor de intenção, dismetria, fala alterada, nistagmo	ataxia motora	necrose cerebelar
Neuro-humor	s/ alterações	ansiedade leve ou depressão	ansiedade moderada ou depressão	ansiedade severa ou depressão	ideação suicida
Neuro-cefaléia	nenhuma	leve	moderada ou severa, mas transitória	severa e persistente	---
Neuro-constipação	s/ alterações	leve	moderada	severa	íleo > 96 h
Neuro-audição	normal	assintomático, perda da audição audiométrica somente	tíinitus	perda da audição com interferência da função mas corrigível com aparelhos	surdez não corrigível

TOXICIDADES	GRAU				
	0	1	2	3	4
Neurovisão	s/alterações	—	—	perda parcial da sintomática da visão	cegueira
Pele	s/alterações	erupções maculares ou papulares esparsas ou eritema assintomático	erupções maculares ou papulares ou eritema com prurido	erupções maculares ou papulares ou eritema ou vesiculares generalizadas, sintomáticas	dermatite esfoliativa ou ulcerada
Alergia	nenhuma	rash transitório febre < 38°C	urticária, febre = 38°C, broncoespasmo leve	doença sérica, broncoespasmo, req meds parenteral	choque anafilático
Febre na ausência de infecção	nenhuma	37,1-38,0°C	38,1-40,0°C < 24 h	> 40,0°C	> 40,0°C > 24 h

TOXICIDADES	GRAU				
	0	1	2	3	4
Local	Nenhum	dor	dor e edema com inflamação ou flebite	ulceração	cirurgia plástica indicada
Peso ganho/perda	<5,0%	5,0-9,9%	10,0-19,9%	≥ 20,0%	—
Hiperglicemia	<116 mg/dl	116-160 mg/dl	161-250 mg/dl	251-500 mg/dl	>500 mg/dl ou cetoacidose
Hipoglicemia	>64 mg/dl	55-64 mg/dl	40-54 mg/dl	30-39 mg/dl	<30 mg/dl
Amilase	normal	<1,5 x normal	1,5-2,0 x normal	2,1-5,0 x normal	>5,1 x Normal
Hipercalemia	<10,6 mg/dl	10,6-11,5 mg/dl	11,6-12,5 mg/dl	12,6-13,5 mg/dl	≥ 13,5 mg/dl
Hipocalcemia	>8,4 mg/dl	8,4-7,8 mg/dl	7,7-7,0 mg/dl	6,9-6,1 mg/dl	≤ 6,0 mg/dl
Hipomagnesemia	>1,4 mmol/l	1,4-1,2 mmol/l	1,1-0,9 mmol/l	0,8-0,6 mmol/l	≤ 0,5 mmol/l
Fibrinogênio	normal	0,99-0,75 x normal	0,74-0,50 x normal	0,49-0,25 x normal	≤ 0,24 x normal
Tempo de Protrombina	normal	1,01-1,25 x normal	1,26-1,50 x normal	1,51-2,00 x normal	>2,00 x normal
Tempo de Tromboplastina parcial	normal	1,01-1,66 x normal	1,67-2,33 x normal	2,34-3,00 x normal	>3,00 x normal

ANEXO III

AVALIAÇÃO DE RESPOSTA TUMORAL

Tipo de resposta	Descrição
Completa	Desaparecimento das lesões por pelo menos 4 semanas, com comprovação histopatológica da ausência do tumor
Parcial	Redução de pelo menos 50% do tamanho de todas as lesões mensuráveis por, pelo menos, 4 semanas
Menor	Redução das lesões em mais de 25%, porém menor que 50%, sem que haja evidência de progressão da doença
Doença estável	Ausência de crescimento de mais de 25% do tamanho das lesões, sem evidência de aparecimento de novas lesões
Progressão	Crescimento maior do que 25% das lesões ou o surgimento de novas lesões durante o tratamento

ANEXO IV

SERVIÇO DE ONCOLOGIA

TERMO DE CONSENTIMENTO DO PACIENTE

Droga em Estudo: DAC e CISPLATINA

Título do Estudo: Estudo de fase II com DAC e Cisplatina em pacientes com neoplasia de Não-Pequenas Células de Pulmão.

Número do Protocolo: SOAD # 09210

Eu, _____

declaro que fui informado a respeito da natureza, do objetivo e dos efeitos do estudo acima descrito, incluindo o fato de que minha participação é voluntária.

Data: _____

Assinatura do paciente: _____

Assinatura do investigador: _____

INFORMAÇÃO AO PACIENTE SOBRE O ESTUDO DE "FASE II COM DAC E CISPLATINA EM PACIENTES COM NEOPLASIA NÃO DE PEQUENAS CÉLULAS DE PULMÃO".

SOAD #09210

O tumor Não de Pequenas Células de Pulmão é uma doença que pode comprometer várias partes do organismo, iniciando pelo pulmão e progredindo para órgãos como o fígado, os linfonodos, os ossos e o cérebro. As queixas iniciais são tosse, falta de ar, escarro com sangue, dor no peito, falta de apetite e perda de peso. Podem ocorrer também outros sintomas decorrentes dos órgãos que forem atingidos pela doença.

A escolha do tratamento e a forma de evolução dessa doença dependem do estágio de desenvolvimento em que a mesma se encontra no momento do seu diagnóstico. Em estágios

iniciais, o tratamento de escolha é a cirurgia e/ou a radioterapia. Quando a doença não se encontra mais no pulmão, a quimioterapia pode ser utilizada.

Em vista de sua doença não se apresentar mais restrita ao pulmão, o Serviço de Oncologia deste Hospital gostaria de lhe oferecer um tratamento com dois medicamentos quimioterápicos. Um deles é chamado **Cisplatina**, o qual já vem sendo utilizado há vários anos. Recentemente, foi descoberto um medicamento quimioterápico chamado **Decitabina ou DAC**, mas que ainda não se encontra amplamente disponível por ser um medicamento que ainda está sendo analisado quanto à sua eficácia. Em razão de vários estudos que já foram realizados com esse novo medicamento, ele parece ter uma atividade que, quando associada à Cisplatina, possa reduzir a sua doença.

O esquema de administração será feita da seguinte forma:

- Um soro será administrado previamente para manter uma boa hidratação.
- Após, o DAC será adicionado a um soro durante 2 horas.
- Por último, a Cisplatina será administrada também em soro, por 30 minutos.

Este esquema será feito durante 3 dias e repetido após 21 dias, caso todos os exames sejam satisfatórios.

A quimioterapia é um tratamento sistêmico, ou seja, os medicamentos usados atingem o tumor através da corrente sanguínea. Por isso, algumas células normais sofrem a ação dos quimioterápicos, causando efeitos colaterais como náuseas (enjôo), vômitos, sangramentos, febre, calafrios, pequenas feridas ou pontos brancos na boca, queda do cabelo, diarreia, dormência nas extremidades dos dedos e problemas urinários. Esses efeitos colaterais podem ou não surgir, pois dependem da sensibilidade de cada paciente. No entanto, existem medicamentos que podem amenizá-los e que, para a grande maioria dos pacientes, tornam tais sintomas contornáveis, proporcionando um alívio importante durante o tratamento.

A sua cooperação é muito importante na detecção desses sinais e sintomas para que nós possamos lhe ajudar da melhor forma possível, caso eles surjam.

Caso você não aceitar receber esse tratamento, você receberá outras formas de tratamento, que poderá ser indicada pelo seu médico. E, se desejar suspender o tratamento, você estará livre para fazê-lo a qualquer momento, desde que tenha o cuidado de notificar a equipe previamente.