

**Quimioterapia Metronômica – novos usos para drogas antigas.**

A gama de opções de drogas quimioterápicas disponíveis para uso veterinário continua a se expandir bem como o aprendizado com a oncologia humana para tratarmos nossos pacientes. Novas drogas como a gemcitabina, Ifosfamida e Vinorelbina, são apenas alguns exemplos. Em adição a isso existem diferentes meios alternativos de se utilizar os quimioterápicos. A exemplo disto temos: a aplicação intracavitária de quimioterápicos que ajudam em efusões de origem malignas, controlando através da pleurodese; a eletroquimioterapia que utiliza corrente elétrica e a quimioterapia intralesional. Outro meio de quimioterapia que vem aparecendo na era de novos tratamentos direcionados ao câncer é chamado de quimioterapia metronômica. Esse termo foi criado pelo Dr. Doug Hanahan e seus colegas em um editorial relacionado a dois estudos pré-clínicos utilizando-se roedores, no qual foi utilizada uma maneira de se administrar os quimioterápicos em baixas doses e continuamente, mesmo se o tumor já havia feito resistência ao quimioterápico quando utilizado de uma forma diferente. Outros nomes populares para este tipo de tratamento incluem: quimioterapia contínua em baixas doses, ou quimioterapia antiangiogênica. Não importando a nomenclatura a ser utilizada, esta forma de tratamento vem recebendo uma atenção especial de pesquisadores na oncologia humana e veterinária. O uso de drogas que já estamos bem familiarizados, custo baixo, fácil administração, e geralmente de natureza não tóxica tanto na dosagem como a maneira de fornecer o quimioterápico, fazem deste tipo de tratamento uma forma atrativa para a aplicação na prática da oncologia veterinária. O objetivo deste artigo é de descrever a origem e argumentar sobre a utilização da quimioterapia metronômica, mostrar o que se sabe sobre os mecanismos responsáveis para este possível benefício em potencial, e comentar sobre alguns testes clínicos que estão sendo avaliados.

Dosando quimioterapêuticos – Hora de saber algo novo ?

Para entender como a quimioterapia metronômica é a partida de estratégias atuais, requer uma breve revisão da evolução da utilização dos quimioterápicos. A maioria das administrações quimioterápicas, especialmente para os tumores sólidos, é baseada em um conceito de se administrar a “Dose Máxima Tolerada” (DMT). A explicação para isso é baseada, em grande parte, em trabalhos realizados por Skipper e colegas, no começo dos anos 70. No qual demonstrou um logaritmo que demonstrava que a morte celular cancerígena aumenta com a concentração do quimioterápico utilizada. Então, em teoria, quanto mais se administrar esta droga, maior será a chance de se erradicar o tumor totalmente, aumentando assim o potencial de cura. O limite para a dose a ser administrada é a toxicidade em tecidos normais não-cancerígenos, visto que, as células que são mais afetadas são células que estão se dividindo continuamente, como células localizadas na medula óssea e as do trato intestinal. Devido à teoria, e o que foi confirmado na prática, a maneira de se fornecer o máximo de droga que pode ser tolerada pelo paciente (DMT), seguida de um inevitável período de descanso que possa permitir o organismo a reparar o dano ao tecido normal é a forma mais comum de administração quimioterápica. Por anos, a estratégia que utiliza a DMT vem se intensificando devido também a um aumento na quantidade de medicações de suporte, tais como protetores gastrointestinais, medicações anti-eméticas, fatores de crescimento

hematopoiéticos e o transplante de medula. O resultado da aplicação da quimioterapia por DMT, especialmente em combinações de quimioterápicos (o qual utiliza múltiplas drogas com diferentes mecanismos de ação), vem sendo um grande extensor de sobrevivência em muitos tipos de câncer, e a cura em alguns outros. Embora, em relação à cura de tumores sólidos este tipo de tratamento (DMT) não demonstrem bons resultados, mesmo quando utilizadas estratégias de transplante de medula óssea.

Qual é a razão para esse patamar de sucesso? Embora, existindo muitas teorias, as limitações para aplicação da DMT são de particular relevância. A original dose-resposta de estudos feitos por Skipper e colegas foi realizada *in vitro* com células não mutagênicas em fase log *in vitro* utilizando crescimento em cultura. Mesmo que este tipo de metodologia ainda seja utilizado pelos laboratórios para se avaliar os resultados de quimiosensibilidade para os novos compostos, este método artificial pode não se relacionar com um complexo microambiente tumoral que existe no corpo. Células cancerígenas que crescem no paciente não irão se comportar de uma mesma forma de crescimento do que numa placa de Petri. A sobrevivência e o crescimento dos tumores são influenciados pela contribuição de muitas moléculas e outros tipos de células (células inflamatórias, vasos linfáticos), pela alteração na oxigenação do tecido e a pressão de fluido intersticial (Fig. 1). Um direcionamento mais específico na pesquisa no que diz respeito à interação entre células tumorais e este microambiente no qual elas estão, vêm sendo o maior foco de pesquisadores, com a tentativa de se obter melhores resultados dos que já obtidos com as tradicionais terapias para o tratamento do câncer como cirurgia, radioterapia, e a quimioterapia citotóxica. Os conceitos de quimioterapia metronômica vêm crescendo levando-se em consideração de que os quimioterápicos também podem alterar o microambiente do tumor, em adição aos efeitos que eles podem ter sobre as próprias células cancerígenas.

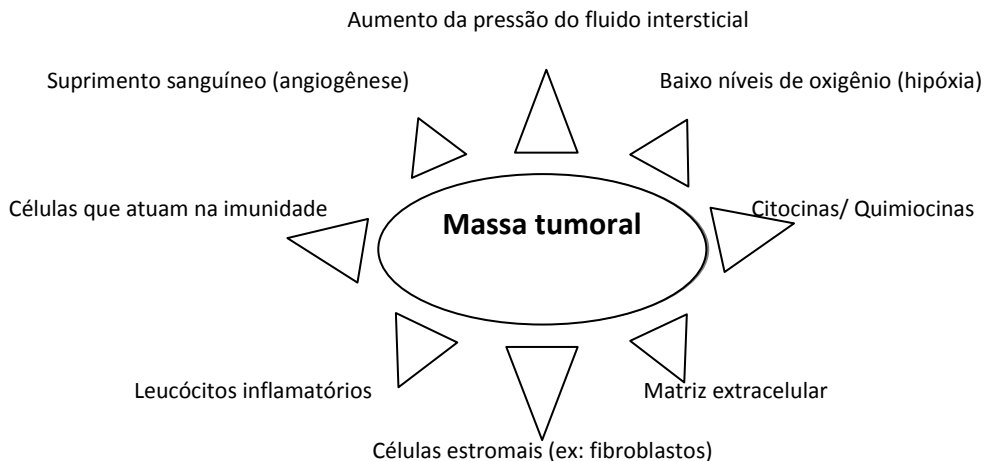


Fig1. *In vivo* células tumorais são influenciadas por inúmeros fatores microambientais. Com a alteração destes componentes poderá se potencializar a morte de células tumorais obtidos usando métodos convencionais quimioterápicos. A utilização da quimioterapia metronômica inibe a angiogênese, que nada mais é que o crescimento do suporte sanguíneo tumoral.

É esperado que através de um entendimento da natureza dos efeitos quimioterapêuticos no microambiente tumoral, poderá ser possível melhorar o entendimento num contexto geral sobre os efeitos antitumorais dessas drogas. Como já é sabido, estes

efeitos parecem estar relacionados, pelo menos em parte, na supressão do suprimento sanguíneo tumoral, o qual fornece o oxigênio e os nutrientes e remove os produtos excretados pelo crescimento tumoral, um processo conhecido com angiogênese tumoral.

Farmacologia da quimioterapia “metronômica”

A farmacocinética da dosificação dos quimioterápicos é geralmente representada pelo gráfico da concentração da droga por unidade de tempo, com a expressão desejada da dose recebida representada pela área abaixo da curva (AAC). Ainda que o método de DMT procure fornecer o quimioterápico na possível dose máxima tolerada, o método da quimioterapia metronômica pode ser visto como não fornecer mais do que o mínimo, o mais freqüentemente possível e por um longo período (fig. 2). Numericamente, este conceito poderia ser ilustrado como na possibilidade de se dar a média de concentração efetiva da droga (CE_{50}) por 30 dias poderá ser muito mais eficiente do que se administrar um montante que seja 30 vezes maior (ex: CE_{1500}) por um dia e fazendo-se mensalmente, visto que o cálculo de exposição á droga iria ser equivalente nos dois tipos de tratamento.

O uso da quimioterapia utilizando a DMT envolve um período de descanso o qual permite a recuperação de tecidos normais pelos efeitos citotóxicos. O objetivo de se metronomicamente fornecer o quimioterápico é a eliminação de períodos longos entre doses, porque é durante esse período que podem ocorrer alterações oportunistas nas células microambiente tumorais. Estas mudanças incluem: repopulação de células tumorais, hipóxia, e reparo de danos que é muito familiar aos que trabalham com a radioterapia, se mostrando um dos motivos pelos quais a utilização da radioterapia seja muito utilizada em baixas e freqüentes doses “metronômicas”. Embora esse apelido (Metronômica) seja relativamente novo, o conceito em si não, isto porque doses reduzidas, e por períodos longos (quimioterapia de manutenção) são parte importante de terapias padrão para certos tipos de câncer, como os casos das Leucemias linfoblásticas em crianças, que poderia ser também considerada um tipo de quimioterapia metronômica. A redução do período de descanso usado na quimioterapia metronômica tem o mesmo conceito utilizado na radioterapia quando se fraciona a dose desejada no maior número de vezes possível.

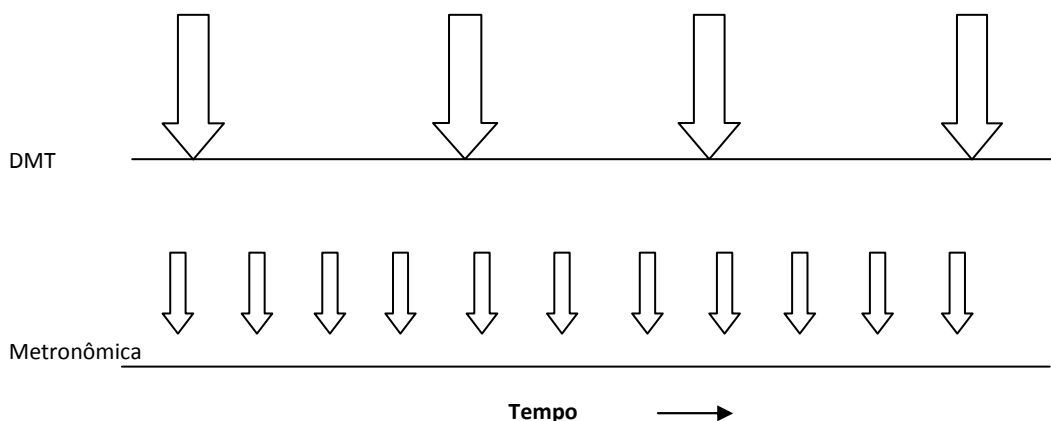


Fig 2. A diferença de conceito entre a quimioterapia com DMT (acima) e a quimioterapia metronômica (abaixo). As setas representam cada dose de quimioterápico administrada, e o tamanho da seta indica o montante total administrado. A quimioterapia baseada em DMT envolve um período de pausa permitindo que haja um restabelecimento dos tecidos normais frente a toxicidade, enquanto que na quimioterapia metronômica procura eliminar períodos de pausa com menores e mais freqüentes doses



Quimioterapia Metronômica como uma estratégia antiangiogênica

Os aspectos da biologia e microambiente tumoral vêm sendo estudados exaustivamente no que diz respeito ao processo de angiogênese tumoral. Com certeza existem muitos mecanismos que exercem um papel contribuinte para a angiogênese, porém, os aspectos antiangiogênicos deste tipo de terapia são baseados no resultado de três fatores importantes: (1) a quimioterapia afeta as células endoteliais de uma maneira muito mais direta e seletiva quando comparada com outros tipos de células e tecidos, (2) as células endoteliais progenitoras derivadas da medula óssea parecem ser diretamente um alvo devido ao modo de ser dada a quimioterapia metronômica, e (3) a quimioterapia metronômica modula os níveis de fatores de crescimento angiogênico, e os seus inibidores, em favor de uma diminuição da angiogênese, e então indiretamente influenciando o balanço angiogênico. Um aumento na quantidade de receptores do inibidor trombospodina-1 (TSP-1) que é uma glicoproteína formada por plaquetas, parece ser uma molécula que desempenha um papel importante neste processo, entretanto uma diminuição de receptores para importantes fatores estimulantes, como o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), pode estar também envolvido.

Citotoxicidade seletiva de células endoteliais

Os efeitos da quimioterapia podem ser considerados relativamente não-seletivos neste aspecto, este dano causado é mais preferencialmente imposto em células que se dividem rapidamente. Como resultado disto, não é muito difícil de se encontrar muitas drogas quimioterápicas tradicionais que têm ação antiangiogênica, simplesmente pelo fato, de que células endoteliais que compõem o suprimento sanguíneo de crescimento tumoral são altamente proliferativas, enquanto que na maioria das células endoteliais da vasculatura normal adulta demonstram estar em fase estática. Graças à boa tolerância demonstrada em testes clínicos da quimioterapia metronômica em tecidos que são normalmente sensíveis quando utilizada a dose máxima tolerada, a questão aparece como, porque a população de células que se dividem muito rápido normalmente, como precursores da medula óssea, células epiteliais intestinais, não são similarmente afetadas durante um tratamento com a quimioterapia metronômica. Em experimentos desenvolvidos para se comparar in vitro a atividade citotóxica de drogas quimioterápicas contra uma variedade de tipos celulares demonstraram claramente uma inibição da proliferação e na migração de células endoteliais durante o pico de concentração da droga. A concentração de drogas como a ciclofosfamida, metotrexato, vimblastina e paclitaxel que são requeridos para produzir efeitos similares em linhagens de células não endoteliais, como células tumorais, células epiteliais, linfócitos, fibroblastos, são de 100 – 100.000 vezes maior. Estes efeitos demonstram uma aparente sensibilidade intrínseca de células endoteliais a uma dose muito baixa de quimioterápico, o que ajuda a explicar o porquê tecidos normais, mesmo sendo aqueles com alta de proliferação celular, podem ser relativamente “poupados” durante a utilização da quimioterapia metronômica, enquanto que os novos vasos sanguíneos tumorais são seletivamente inibidos. Os efeitos diferenciais observados no laboratório parecem ser mais pronunciados com inibidores do microtúbulo.



Circulação de células endoteliais progenitoras

Até recentemente, era pensado que células endoteliais novas eram derivadas do local de divisão de células endoteliais diferenciadas em vasos preexistentes. Hoje em dia a biologia, a proporção e a contribuição de células progenitoras endoteliais circulantes derivadas da medula óssea para com o processo de angiogênese tumoral são assunto de muita investigação e discussões. Estas células podem ser mobilizadas a partir da medula óssea, entram na circulação periférica, e migram então para lugares onde está havendo a angiogênese, se incorporam no lúmen do crescimento germinativo deste novo vaso, e diferenciam-se em células endoteliais. Devido ao fato destas células também poderem ser mobilizadas fora da medula óssea em resposta a várias moléculas pro-angiogênicas (VEGF), elas também são consideradas como alvo em estratégias de terapias antiangiogênicas objetivando se neutralizar estes fatores de crescimento. Estas células também parecem ser alvos diretos da quimioterapia, independente do método utilizado, quimioterapia metronômica ou DMT. Especificamente, os níveis de células endoteliais progenitoras circulantes (CEP) diminuem marcadamente e abruptamente quando uma DMT é administrada, voltando a se proliferar rapidamente durante os períodos de pausa durante as administrações dos quimioterápicos. Esta repopulação compensatória das CEPs, e a sua conseqüente contribuição para angiogênese, foram neutralizadas pela utilização da quimioterapia metronômica quando foi utilizada a ciclofosfamida em modelo de linfoma humano e em animais de laboratório, na qual era administrada por via oral semanalmente ou continuamente fornecida diluída através da água de consumo. Entretanto, ainda existe muito a se aprender em relação as CEPs derivadas da medula óssea, se eles participam significativamente para a angiogênese, e se a contínua supressão destas células poderia representar um componente importante aos mecanismos antiangiogênicos da quimioterapia metronômica.

Um fato importante é que as CEPs podem ser mensuradas e quantificadas na corrente circulatória. Esta ferramenta tem permitido investigar como uma forma não invasiva um marcador de angiogênese. Um significativo desafio na aplicação da quimioterapia metronômica é a determinação da dose ideal, porque a dosagem escolhida não é direcionada por toxicidades previsíveis, como a mielossupressão. Havendo uma monitoração das CEPs poderá se diminuir esse empirismo associado com a dosificação na quimioterapia metronômica. Outro fato importante é que ensaios com CEPs utilizando-se citometria de fluxo vêm sendo desenvolvidos para cães e poderia ser potencialmente incorporado com um biomarcador em futuros testes clínico em medicina veterinária, na quimioterapia metronômica ou em outras estratégias antiangiogênicas.

Crescimento/ Sobrevivência - Fatores de Modulação

A angiogênese é um processo fortemente regulado, envolvendo um balanço entre numerosos fatores endógenos pró-angiogênicos e antiangiogênicos. Já é amplamente aceito que para tumores sólidos desenvolverem seu suprimento sanguíneo, o balanço tenderá em favor a uma estimulação angiogênica. Este processo refere-se como “mudança angiogênica”, a qual geralmente é associada com mudanças mutacionais as quais ocorrem no processo de progressão do câncer. Por causa deste balanço, estratégias de tratamentos antiangiogênicos



geralmente se direcionam para estes estimuladores ou inibidores da angiogênese com a finalidade de suprimir os fatores estimuladores e aumentar os fatores inibidores. Como um exemplo disso, a primeira droga com ação antiangiogênica aprovada pela FDA em oncologia foi o Bevacizumab (Avastin), o qual é um anticorpo monoclonal contra VEGF humano, o qual é considerado um dos mais potentes fatores de crescimento angiogênico.

Dois estudos independentes demonstraram que houve uma elevação de inibidores de angiogênese endógeno TSP-1, quando utilizada a quimioterapia de forma metronômica, e este aumento pode ser associado com a utilização da mesma. Esta molécula (TSP-1) interage com um receptor nas células endoteliais (CD36) o qual não é encontrado em outros tipos de células, como as células pluripotentes. Um aumento de TSP-1 foi demonstrado em células endoteliais cultivadas expostas a baixas doses de 4-hidroxi-ciclofosfamida. Foi também observado um efeito de sinergismo quando associado à quimioterapia metronômica o AB510, um peptídeo derivado da TSP-1, em um modelo de carcinoma em ratos. Estes resultados sugerem que a quimioterapia metronômica, independentemente se aumenta ou não os níveis de TSP-1, poderá complementar os efeitos antiangiogênicos deste fator inibidor. Os resultados de um recente teste clínico em humanos onde foi utilizado de uma forma metronômica a ciclofosfamida e o etoposido em pacientes pediátricos de câncer, demonstrou-se esta mesma elevação nos níveis de TSP-1 correlacionados também com uma resposta mais prolongada. Porém ainda não se sabe se esses níveis foram induzidos pela terapia ou porque os pacientes tiveram níveis endógenos aumentados sem ter nenhum relacionamento com a terapia. Em qualquer caso, uma possível implicação suportada por estudos pré-clínicos é que a quimioterapia metronômica potencializa os efeitos benéficos da TSP-1. Tratamentos com peptídeos derivados de TSP-1 (ABT510 ou ABT 526) vêm sendo utilizados em fase II de testes clínicos em humanos, e vêm sendo extensivamente testados em cães com câncer de aparecimento natural, incluindo estes derivados de TSP-1 com o uso da lomustina em um teste clínico placebo-controlado randomizado em linfomas caninos com recidiva.

Abordagem de combinações de terapias

Dentro do campo da oncologia a abordagem da forma de tratamento do câncer que possui um maior sucesso geralmente envolve múltiplas formas de terapia (cirurgia, radioterapia, quimioterapia), o uso da combinação de múltiplas drogas possui em muitas vezes um efeito superior quando comparadas a um agente único de terapia. Isto também parece não ser diferente na nova era das abordagens terapêuticas mais direcionadas como a inibição da angiogênese tumoral. Mesmo em estudos mais precoces sobre a utilização da quimioterapia metronômica associada a uma droga antiangiogênica demonstrou-se uma resposta otimista. Klement e colegas ressaltaram a utilidade de uma abordagem combinada que tenham como objetivo de alvo o VEGF, o qual não é só um importante fator de crescimento pró-angiogênico, mas um fator importante que influencia diretamente a sobrevivência de células endoteliais durante condições de estresse (ex: exposição a quimioterápicos). A estratégia de se administrar baixas doses continuamente faz com que a quimioterapia metronômica seja uma opção atrativa para combinações de testes clínicos com agentes como o Bevacizumab.

Como têm sido demonstrados em muitos anos de terapias convencionais para o tratamento do câncer, as abordagens combinadas podem oferecer a melhor forma de se

maximizar a resposta antiangiogênica e em adiar a recidiva ou tratar resistência. Muitos dos testes clínicos realizados usam a quimioterapia metronômica em combinação com agentes antiangiogênicos, porém estes agentes só se tornaram comercialmente disponíveis recentemente. Muitos testes preliminares incorporaram drogas que são mais facilmente disponíveis e alguns supostos agentes antiangiogênicos tais como antiinflamatórios não esteroidais, a doxiciclina e a talidomida. As administrações da quimioterapia de forma metronômicas são ultimamente associações de múltiplas drogas quimioterápicas com agentes que possuem propriedades anticancerígenas. Porém as melhores combinações ou as melhores drogas a serem utilizadas ainda são desconhecidas.

Testes clínicos

O teste clínico realizado com maior interesse em futuras avaliações de combinações de quimioterapia metronômica foi um teste onde se avaliou o efeito da utilização diária e em baixa dose da ciclofosfamida e da utilização do metrotrexato 2 vezes por semana, em 64 mulheres com tumores de mama refratários ao tratamento, em tumores avançados e em doenças progressivas. A taxa de resposta geral a este teste foi de 32 %, incluindo 2 que responderam completamente, 10 que responderam parcialmente, e 12 pacientes que obtiveram doença estável por no mínimo 6 meses ou mais. Além deste, resultados favoráveis vêm sendo publicados envolvendo certos tipos de câncer que são de particular relevância para o meio veterinário, incluindo linfoma não-Hodgkin, hemangiossarcoma, melanoma, sarcoma de tecidos moles, e o câncer prostático. Atualmente, vários testes clínicos em fase II estão sendo investigados com combinações metronômicas contra gliomas malignos, câncer de pulmão de células não pequenas, carcinomas ovarianos, carcinomas de células escamosas de pescoço e cabeça, carcinomas de células renais, carcinomas hepatocelulares e carcinomas pancreáticos, e esta lista continua a crescer. A maioria destes testes combina doses diárias de ciclofosfamida com drogas antiangiogênicas comercialmente disponíveis (ex: Bevacizumab) ou com um antiinflamatório não esteroidal, como o celecoxib (Celebra). Outros agentes alquilantes, como a trifosfamida ou temozolamida, também vem sendo utilizados em testes clínicos que estão sendo realizados, e outras drogas que ainda têm aparentemente ações antiangiogênicas são a talidomida e um agente hipoglicêmico oral chamado pioglitazona.

Os únicos testes clínicos publicados envolvendo a quimioterapia metronômica foram dois abstracts da conferência anual da Veterinary Cancer Society e um artigo publicado na revista do American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM). O primeiro estudo envolve o tratamento de vários tipos de tumores mensuráveis (pacientes geralmente com tumores grandes) com ciclofosfamida a 25 mg/m² em dias alternados em combinação com doses diárias de piroxican a 0.3 mg/kg. A melhor resposta obtida foi em cães com sarcoma de tecido mole, com 2 cães com resposta positiva com 1 mês de tratamento. Outro teste clínico foi realizado em cães com sarcoma de tecido mole removido incompletamente. As drogas utilizadas foram às mesmas, porém a dosagem utilizada da ciclofosfamida foi de 10 mg/m² a cada 24 a 48 horas. Os resultados foram mais positivos em sarcomas de tecido mole incompletamente removidos de baixa a intermediário grau. O teste publicado na revista da ACVIM avaliou a ciclofosfamida e o etoposido administrados oralmente em terapia adjuvante para cães com hemangiossarcoma, e demonstrou-se que o tempo de sobrevivência foi similar em cães tratados convencionalmente com a doxorubicina.



Finalmente , quando comparadas com protocolos humanos de MDT, muitos podem considerar a dosificação de quimioterapia em veterinária e a frequência, de ser algo de natureza “metronômica”. As doses são geralmente escolhidas para se minimizar a toxicidade em tecidos normais e em protocolos que utilizam mais de uma droga (ciclofosfamida+vincristina+doxorubicina e prednisona para linfoma) são administradas em doses relativamente bem toleradas e de uma maneira regular (geralmente por 6 meses ou mais), ainda que a manutenção da quimioterapia a longo prazo, parece não oferecer uma vantagem no tempo de sobrevivência sobre a terapia de indução sozinha. Um estudo utilizando doxorubicina a 10 mg/m^2 foi menos efetivo do que a utilização de 30 mg/m^2 a cada 3 semanas, entretanto, quando foi utilizada cisplatina em baixas doses (20 mg/m^2) como radiosensibilizador resultou em uma inesperada mielossupressão. Estes resultados demonstram os desafios em face ao melhor método de utilizar os quimioterápicos, sendo importante ter em mente que a administração da quimioterapia metronômica por si só não parecerá substituir aplicações citorrredutivas mais intensas. Podendo sim ser utilizadas concomitantemente.

Como muitas terapias que tem como alvo a vasculatura tumoral em crescimento, resultados objetivos com a quimioterapia metronômica podem levar um tempo considerável para ser elucidado, podendo somente apenas manifestar um prolongamento de uma doença estável. Além disso, como muitas aplicações da quimioterapia, os benefícios da forma metronômica poderão ser maximizados em tumores de tamanhos menores (ex: terapia adjuvante).

Conclusão

Utilizando-se certas drogas quimioterápicas como agentes antiangiogênicos irão ser uma nova utilização para algo que já era disponível por um tempo. O perfil de toxicidade e o custo reduzido fazem com que a quimioterapia contínua em baixas doses (quimioterapia metronômica) seja uma forma interessante de se desenvolver testes clínicos, porém ainda há muito a se aprender. Os desafios que poderão existir incluem a determinação dos tipos de tumores apropriados, as drogas a serem utilizadas, as dosagens a serem administradas, o tempo e a frequência de administração bem como a resposta ao tratamento. Tendo como base a relativa diminuição da toxicidade em tecidos normais, o desenvolvimento de testes clínicos representa o ponto de partida para a tradicional Fase I de testes clínicos onde se observa as doses toleradas, em então requerendo biomarcadores efetivos para se maximizar a dosagem. Futuramente, a diminuição da resposta objetiva do tumor em relação ao tratamento antiangiogênico pode interferir no desenvolvimento e na avaliação de Fase II de testes clínicos, necessitando o uso de biomarcadores de resposta tumoral. A dimensão de fatores de crescimento angiogênico e inibidores bem como dos CEPs e seus precursores representam uma estratégia promissora nestas áreas.