



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

JOÃO PEDRO DE ALMEIDA PORTO

**SARCOMA DE EWING
TERAPÊUTICA ATUAL E NOVA
ABORDAGEM TERAPÊUTICA:
TRABECTEDINA**

**ARTIGO DE REVISÃO
ÁREA CIENTÍFICA DE ORTOPEDIA**

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROFESSOR DOUTOR JOSÉ CASANOVA**

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Mestrado Integrado em Medicina

**SARCOMA DE EWING
TERAPÊUTICA ATUAL E NOVA ABORDAGEM
TERAPÊUTICA: TRABECTEDINA**



Artigo de Revisão

João Pedro de Almeida Porto

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Portugal

Azinhaga de Santa Comba, Celas

3000-548 Coimbra, Portugal

E-mail do autor: joaoporto87@gmail.com

Índice

| | |
|---|----|
| Resumo..... | 4 |
| Abstract | 5 |
| Introdução..... | 6 |
| Lista de Acrónimos | 9 |
| Métodos..... | 10 |
| Resultados | 11 |
| Quimioterapia | 12 |
| Controlo Loco regional..... | 13 |
| Cirurgia..... | 14 |
| Amputação do membro..... | 14 |
| “Limb Salvage”..... | 15 |
| Reconstrução..... | 15 |
| Radioterapia..... | 15 |
| Trabectedina | 16 |
| Mecanismo..... | 16 |
| Vantagens e Interações | 18 |
| Efeitos secundários e reações adversas..... | 21 |
| Conclusão..... | 24 |
| Agradecimentos..... | 26 |
| Bibliografia..... | 27 |

Resumo

O Sarcoma de Ewing é um tumor maligno indiferenciado que faz parte da família dos tumores de Ewing e que inclui várias neoplasias de células neuroectodérmicas primitivas. O Sarcoma atinge principalmente os tecidos ósseos e tem o seu pico de incidência durante a adolescência. A abordagem terapêutica ao tumor varia consoante a sua localização, dimensão, presença de metastização (aquando o diagnóstico) e a presença de outras patologias de base. No entanto, apesar da evolução das terapêuticas, em especial após o surgimento da quimioterapia, a sobrevida atual ronda os 60% aos 5 anos e o prognóstico é bastante variável, dependendo dos fatores que afetam a escolha terapêutica.

A Trabectedina é uma droga derivada de uma ascídia das Caraíbas, a *Ecteinascidia Turbinata* que parece ser bastante ativa nas linhas celulares do Sarcoma de Ewing. De forma a esquematizar o conhecimento mais recente sobre esta temática realizei uma pesquisa na base de dados *MEDLINE* onde identifiquei os estudos de maior relevo dos últimos 10 anos. Das referências destes, recolhi também, trabalhos importantes para esta revisão.

Apesar de nos últimos anos terem sido alcançados enormes progressos na evolução da terapêutica do Sarcoma de Ewing são ainda necessários mais estudos de forma a estabelecer inequivocamente os benefícios quanto à utilização da Trabectedina são superiores aos seus efeitos adversos e aos efeitos das outras drogas existentes. De igual forma é importante tentar formar um algoritmo para abordagem terapêutica deste tipo de neoplasias.

Palavras-chave: “Sarcoma de Ewing Ósseo”, “ET-743”, “Abordagem terapêutica”, “Trabectedina” e “Yondelis”.

Abstract

The Ewing's Sarcoma is an undifferentiated malignant tumor that is part of the family of Ewing tumors and includes several neoplasms from the primitive neuroectodermal cells. Sarcoma primarily affects bone tissue and has its peak incidence during adolescence. The therapeutic approach varies according to the location of the tumor, its size, the presence of metastases on the occasion of diagnosis and the presence of other previously identified pathologies. Despite current therapies have evolved, in particular due to the emergence of chemotherapy, the current survival rate is around 60% after 5 years and the prognosis is quite variable, depending on the factors affecting the therapeutic choice.

Trabectedin is derived from a Caribbean sea squirt drug, *Ecteinascidia turbinata* which appears to be very active in the cell lines of Ewing's sarcoma.

In order to lay out the latest knowledge on this subject, I did a survey in *MEDLINE* database where I identified the most prominent studies of the past 10 years. From the references used in those studies I also collected important studies.

Although in recent years enormous progress has been made in the development of the Ewing Sarcoma therapy more studies are still needed in order to clearly establish whether the benefits on the use of Trabectedin are superior to its adverse effects and the effects of other existing drugs. Similarly it is important to try to form an algorithm for treatment of this type of cancer.

Key-words: “Sarcoma de Ewing Ósseo”, “ET-743”, “Abordagem terapêutica”, “Trabectedina” e “Yondelis”.

Introdução

O presente trabalho está integrado no plano de estudos do 6º ano médico, com vista à atribuição do grau de Mestre no âmbito do ciclo de estudos do Mestrado integrado em Medicina da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, na área de Ortopedia.

Neste trabalho elaborei uma pesquisa bibliográfica com base numa revisão de vários artigos, com o intuito de abordar em traços gerais a terapêutica do Sarcoma de Ewing, e tendo como base esta primeira análise, abordar mais pormenorizadamente novas terapêuticas, em especial a Trabectedina (Ecteinascidin 743, ET-743, NSC 684776 ou Yondelis). Posto isto, o objetivo deste trabalho é dar enfoque às terapêuticas usadas atualmente para o tratamento do Sarcoma de Ewing e dar ênfase à Trabectedina, explicando a sua origem, a sua forma de atuar, os seus benefícios e os seus efeitos adversos.

O Sarcoma de Ewing é agrupado na família dos tumores de Ewing (ESFT), caracterizada por células redondas semelhantes entre si. Após sucessivas abordagens, este tipo de lesões foi definido como PNET (Tumores Primitivos com origem Neuroectodermica), ou seja, células embrionárias que migram da crista neural e que apresenta o seu pico de incidência durante a adolescência.

A definição deste tipo de lesões é controversa e por isso foi sujeita a várias alterações ao longo dos tempos. Em 1918, Stout reportou um caso de células redondas indiferenciadas que formavam rosetas. Estas lesões foram consideradas mais tarde como PNET de tecidos moles. Em 1921, Ewing propôs a possibilidade de um tumor semelhante com células redondas numa criança de 14 anos ao qual chamou de endotelioma difuso do osso, e que teria origem numa derivação endotelial. Em 1975, Angervall et al reportaram o aparecimento de Sarcoma de Ewing em tecidos moles. Em 1979, Askin identificou um tumor maligno de pequenas células da região tóraco-pulmonar, que mais tarde passou a ser conhecido como

tumor de Askin, e que continha características histológicas semelhantes aos PNET. Em 1984, Jaffe descreveu um tumor ósseo neuroectodérmico, ao qual chamou PNET ósseo.

Tendo em conta as semelhanças a nível imuno-histológico, citogenético, uniformidade molecular e à sua similar resposta à quimioterapia determinou-se que estes sarcomas se encontram relacionados e que são originários de uma única “stem cell” mesenquimal capaz de promover a diferenciação multicelular.

Importa salientar que entre 80% a 95% dos casos de Sarcoma de Ewing, PNET e tumores de Askin têm presentes uma translocação cromossómica representada pela fusão entre EWS-ETS, o que significa, entre o gene EWS do cromossoma 22 e um gene do tipo ETS normalmente o gene FLT1 que se encontra presente no cromossoma 11¹²³. Estas variações e lesões foram agrupadas numa só expressão ESFT⁴.

A sobrevida dos doentes com Sarcoma de Ewing nas últimas duas décadas evoluiu estando atualmente entre 60 a 70% aos 5 anos nas formas localizadas e 25 a 30% para as formas metastáticas¹. Este dado coincide com a introdução da quimioterapia no tratamento destes doentes, assim como a evolução das próprias drogas e posologias. No entanto, apesar desta nova abordagem terapêutica e da evolução das técnicas de controlo local, a cirurgia e a radioterapia, a taxa de recidivas e de doentes que possuem tumores metastáticos aquando do diagnóstico manteve-se elevada.

Posto isto, com base neste prognóstico sombrio é impreterível a descoberta e o estudo de novas drogas que possam melhorar a sobrevida dos doentes.

A Trabectedina é uma droga derivada de uma ascídia das Caraíbas, a *Ecteinascidia Turbinata*, que foi isolada pela Universidade de Ilinóis e registada por uma companhia farmacêutica espanhola, a Pharma Mar. Atualmente, esta está autorizada no tratamento de sarcomas dos tecidos moles.

Esta revisão literária tem como finalidade sistematizar e organizar a informação existente sobre a abordagem terapêutica atual para os doentes com Sarcoma de Ewing e da possível utilização da Trabectedina como nova abordagem terapêutica, a sua origem, mecanismo, vantagens e efeitos adversos.

Lista de Acrónimos

CCL2: Citocina pró inflamatória

DNA: Ácido desoxirribonucleico

ESFT: Família dos tumores de Ewing

ET-743: Trabectedina

E.W.I.N.G.: “European Ewing tumour working initiative of national groups”

EWS: Gene localizado ao cromossoma 22 característico do Sarcoma Ewing

EWS-FLI: Proteína oncogénica de fusão

IL-6: Interleucina-6

LDH: Lactato desidrogenase

MDR-1: “Multidrug-resistant 1”

PNET: Tumores Primitivos com origem Neuroectodermica

VAC: Vincristina, Actimicina-D e Ciclofosfamida

VAI: Vincristina, Actimicina-D e Ifosfamida

VIDE: Vincristina, Ifosfamida, Doxorrubicina e Ectoposido

Métodos

Para a elaboração deste estudo, dividi a recolha de dados em duas etapas. Realizei uma pesquisa numa base de dados pública (*MEDLINE*) através do motor de busca *online* (PubMed), onde identifiquei os artigos de maior importância sobre este tema nos últimos cinco anos. Após a leitura destes artigos alarguei a pesquisa às suas referências bibliográficas.

A pesquisa efetuada na base de dados *MEDLINE* teve com termos chave: “Sarcoma de Ewing Ósseo”, “ET-743”, “Abordagem terapêutica”, “Trabectedina” e “Yondelis”.

Resultados

Antes de analisar a terapêutica a utilizar é fundamental referir quais os fatores de prognóstico mais importantes que podem vir a influenciar as atitudes terapêuticas (Tabela 1). O fator de prognóstico mais importante é a presença de metástases aquando do diagnóstico. A localização do tumor primitivo também influencia o prognóstico, visto que tumores localizados aos membros têm melhor prognóstico do que os tumores localizados ao esqueleto axial. Os tumores de pior prognóstico são os que se encontram localizados a nível do esqueleto axial, particularmente da bacia⁵.

TABELA 1: Fatores de prognóstico no Sarcoma de Ewing (adaptada de ⁶)

| Fator | Prognóstico |
|------------------------------------|--|
| <i><u>Peso do tumor</u></i> | |
| Volume tumor | <200 ml origina um melhor prognóstico |
| Padrão das metástases distantes | Metástases pulmonares oferecem melhor prognóstico que as ósseas / medula óssea |
| Nível de LDH sérico | Pior prognóstico para os doentes com LDH elevado |
| <i><u>Biologia do tumor</u></i> | |
| Resposta à quimioterapia | Taxa de resposta elevada conduz a um melhor prognóstico |
| Células tumorais que expressem p53 | Se <20% das células é fator de bom prognóstico |
| Tempo de recidiva | Se >24 meses tem melhor prognóstico. |

Quimioterapia

Os tumores ESFT, são tumores extremamente quimiossensíveis e como tal a quimioterapia é uma peça fundamental no seu tratamento. A utilização da quimioterapia e o acompanhamento dos progressos alcançados a este nível, combinados com uma abordagem multidisciplinar, possibilitaram o aumento da sobrevida de sensivelmente menos de 10% para 60% aos 5 anos em tumores localizados⁵⁷⁸⁹. Alguns estudos atingem inclusive os 70% de sobrevida aos 5 anos em doentes de baixo risco.

A quimioterapia é usada antes e depois das terapêuticas de controlo local. A maioria dos doentes, independentemente do estado de avanço tumoral, faz 3 a 6 ciclos de quimioterapia de indução¹⁰.

Nos últimos anos optou-se, primariamente, por realizar alterações no modo de utilização da quimioterapia, alterando a duração dos ciclos, aumentando as doses e adicionando o fator estimulador das colónias de granulócitos¹¹. Isto deve-se ao facto de existir uma carência de novas terapêuticas comprovadas para aumentar a sobrevida dos doentes¹¹.

Atualmente, a quimioterapia pode ser composta por diferentes protocolos, como por exemplo nos Estados Unidos onde um dos tipos de esquema mais usado é composto pela Vincristina, Doxorrubicina e a Ciclofosfamida alternando depois com Ifosfamida e Ectoposido como tratamento “standard”, com benefício em tumores localizados. É de salientar que o modo de administração e dosagem dependem essencialmente dos protocolos usados. A duração da quimioterapia pode variar de 6 meses a 1 ano.

Importa ressaltar o protocolo utilizado pelo Euro-E.w.i.n.g. 99 (European Ewing tumour working initiative of national groups) que na versão de Fevereiro de 2006 usa, como quimioterapia de indução, o protocolo VIDE x 6 (Vincristina, Ifosfamida, Doxorrubicina, Ectoposido durante seis dias), isto em todos os doentes independentemente se são de baixo ou de alto risco¹²¹³.

Como quimioterapia de manutenção, o Euro-E.w.i.n.g. 99 varia o protocolo consoante a resposta do doente às terapêuticas locais e dependendo da apresentação inicial do tumor, que tem em consideração a dimensão tumoral (inferior a 200 ml ou superior ou igual a 200ml), a localização e se o doente não tem metastização aquando o diagnóstico, se tem apenas metastização pulmonar aquando o diagnóstico ou se existe outro tipo de metastização seja ela óssea, medular ou multifocal. Posto isto, após a radioterapia e /ou cirurgia de controlo local usa-se VAI x 1 (Vincristina, Actimicina-D e Ifosfamida), em seguida a quimioterapia a utilizar pode variar em VAC x 7 (Vincristina, Actimicina-D e Ciclofosfamida), ou VAI x 7 ou tentando terapêuticas mais experimentais, se já existir tumor metastático ao diagnóstico¹⁴¹⁵.

Após a análise de um estudo onde se avaliou o benefício da introdução da Ifosfamida e do Ectoposido à Vincristina, Doxorrubicina, Ciclofosfamida e Actinomicina-D, verificou-se uma melhoria da resposta em doentes sem metástases ao diagnóstico, o que não aconteceu em doentes já com metástases presentes aquando o diagnóstico¹¹.

Controlo Loco regional

Na atualidade, o controlo local ganhou outro papel na abordagem terapêutica, visto que já não funciona como uma terapêutica isolada, mas fazendo parte integrante de uma abordagem multidisciplinar, abordagem esta que compreende a quimioterapia de indução, as terapêuticas de controlo local e a quimioterapia de manutenção.

A escolha entre o tipo de terapêutica de controlo local a realizar depende da dimensão do tumor.

Cirurgia

É necessária uma avaliação criteriosa dos doentes, para definir qual a terapêutica de controlo local a utilizar, pois uma boa escolha dos doentes permite uma redução em 10% de fracassos terapêuticos.

A escolha é feita entre o uso de cirurgia e de radioterapia e para além dos fatores referidos anteriormente é importante ter em conta outros dois fatores: 1- o risco de neoplasias secundárias e 2- possibilidade de crescimento tumoral.

A cirurgia permite um controlo local e pode prevenir a recorrência tardia das células quimioresistentes.

Aquando da cirurgia é possível verificar a quantidade de necrose presente na massa tumoral ressecada¹⁶. Este fator é relevante porque pode-se afirmar que doentes em que a massa tumoral está totalmente necrosada têm melhor prognóstico que os doentes onde a necrose não é completa.

Quando se opta pela cirurgia é importante salientar que isso implica a remoção completa da massa tumoral. Uma margem positiva é um local onde a probabilidade de recorrência é maior. No entanto se forem encontradas margens positivas, então, se possível, deve-se realizar uma segunda cirurgia. Se as margens positivas forem microscópicas então pode-se optar pelo uso da radioterapia.

Dentro do tratamento cirúrgico é importante distinguir duas modalidades distintas: a amputação de membro ou a “limb salvage”.

Amputação do membro

Hoje em dia a amputação é realizada apenas em situações em que é difícil a salvação do membro. Em tumores muito grandes que envolvam estruturas vitais, quando exista fratura patológica de difícil manuseamento ou com deslocamento e em lesões localizadas ao

calcanhar ou ao pé¹⁶. De salientar que apenas 5% dos casos de Sarcoma de Ewing têm este tipo de localização.

“Limb Salvage”

Devido às novas técnicas cirúrgicas, este tipo de modalidade cirúrgica é atualmente possível e deve ser realizado sempre que se prevê que a sobrevida seja similar com a modalidade anterior e que a função e as complicações recorrentes deste tipo de abordagem sejam aceitáveis.

No entanto é importante esclarecer que em resultados recentes podemos referir que no que toca à sobrevida dos doentes que efetuam amputação de membros e a salvação de membro são semelhantes. A grande diferença situa-se a nível funcional, o que torna também salvação do membro a preferida pelos doentes.

As complicações no entanto são mais comuns nesta técnica do que na amputação.

Reconstrução

Atualmente existem muitas técnicas de reconstrução e muitos estudos a decorrer para testar a sua eficácia¹⁷. É importante então salientar as técnicas mais usadas que se encontram disponíveis: 1- Autoplastia (vascularizada ou não vascularizada), 2- Autoplastia de reconstrução, 3- Autoplastia com componentes protéticos; 4- Reconstrução endoprostética onde se incluem, as próteses extensíveis, plastia de rotação e amputação¹⁸.

Radioterapia

Em muitos tipos de neoplasias a radioterapia é usada para controlo local do Sarcoma de Ewing podendo ser usada como exclusiva, pós operatória ou pré operatória. Atualmente,

devido à nova abordagem de cariz multidisciplinar na terapêutica do Sarcoma de Ewing, a radioterapia faz parte integrante de praticamente todos os esquemas terapêuticos⁶¹⁹.

As doses recomendadas de radioterapia variam consoante o protocolo utilizado, no entanto, com radioterapia exclusiva a dose habitualmente recomendada é de 45 Gy sobre o volume inicial, adicionando de pois um dose extra de 10 a 15 Gy após a quimioterapia. Em tumores onde haja apenas metastização pulmonar está em estudo o uso de 18 Gys¹⁴²⁰.

Trabectedina

A Trabectedina (Figura 1), Ecteinascidin 743, ET 743, NSC 684766 ou Yondelis é um derivado de uma ascídia das Caraíbas, a *Ecteinascidia turbinata* (Figura 2).

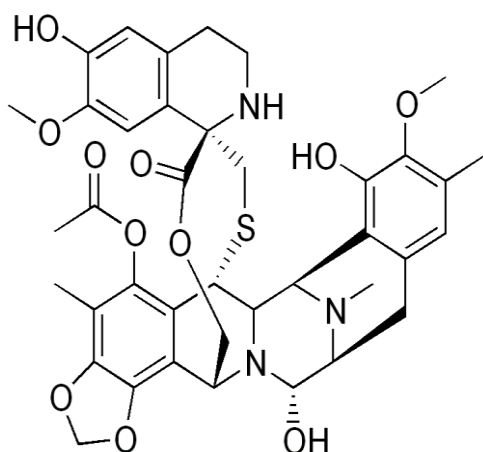


Figura 1: Molécula da Trabectedina



Figura 2: *Ecteinascidia turbinata*

Mecanismo

A Trabectedina, é uma tetrahidroisoquinolina alcaloide que foi inicialmente isolada da *Ecteinascidia turbinata*²¹²²²³²⁴. Atualmente, já é produzida em laboratório.

A Trabectedina é composta por três subunidades A, B e C, em que a A e B se ligam ao DNA e a C interage com os fatores de transcrição. Considera-se que o seu principal modo de ação é como agente alquilante contra o ácido desoxirribonucleico, mais precisamente ligando-se à Guanina localizada na posição N₂ da cadeia curta do DNA. Apesar do amplo

desconhecimento das funções da Trabectedina, com base nas características apresentadas, coloca-se a hipótese de que ela possa inibir alterações aos fatores de transcrição envolvidos na proliferação celular.

Em altas concentrações a Trabectedina é capaz de alterar a rede microtubular, no entanto parece que não atua diretamente na tubulina²⁵.

Assim como outras drogas utilizadas em terapêuticas anti tumorais, também a Trabectedina tem como um dos seus alvos principais uma das DNA topoisomerases, neste caso a topoisomerase I, convertendo a enzima num veneno celular, devido à estabilização do seu complexo processo de clivagem²⁶²⁷.

A Trabectedina, essencialmente através do bloqueio das células na fase G2 da proliferação, provoca alterações importantes no ciclo celular. Apesar disso, o mesmo estudo apresenta um resultado contraditório, pois mostra que as células que apresentam maior afinidade para a Trabectedina são as que se encontram em G1²².

A Trabectedina tem também como ação a inibição da hiper expressão do gene “multidrug-resistant 1” (MDR-1), que tem a capacidade para codificar a glicoproteína-P. Esta glicoproteína é um dos fatores principais no desenvolvimento de resistências às terapêuticas anti tumorais por parte das linhas celulares neoplásicas.

A Trabectedina consegue inibir a produção de IL-6 e CCL2 dos macrófagos que se encontram associados ao tumor. No caso concreto do Sarcoma de Ewing, a Trabectedina é capaz de inibir a fusão de proteínas como EWS-FLI²⁸²⁹.

Em estudos onde é avaliado o efeito da Trabectedina em diferentes linhas celulares, pode-se verificar que as células com p53 apresentam menor sensibilidade à Trabectedina que as células com a p53 mutada²².

A Trabectedina parece ter um efeito sinérgico ou aditivo com a Doxorubicina em vários sarcomas, ficando sem se saber se estes efeitos são comuns a todas as linhas celulares incluindo a de Ewing.

A Trabectedina passou por vários estudos de fase 1, sendo testada a sua atividade em diferentes tipos de tumores, entre os quais o sarcoma Ewing.

A Trabectedina mostrou quer *in vitro* quer *in vivo* que tem capacidade para intervir em várias neoplasias humanas: entre as quais, e com um maior número de estudos realizados, temos os sarcomas de tecidos moles (STS), o cancro da mama, o cancro do ovário, entre outras neoplasias malignas como o Osteossarcoma e o Sarcoma de Ewing.

Em cada estudo, diversos protocolos foram utilizados, tendo sido utilizadas diferentes posologias consoante o objetivo de cada um. Tendo-se iniciado, com os estudos que avaliam a atividade da Trabectedina em diferentes linhas celulares e de seguida com o estudo farmacocinético da droga, bem como os seus efeitos secundários, e por fim a sua interação com as outras drogas utilizadas na prática clínica (nem todas pertencendo ao tratamento do Sarcoma de Ewing).

Vantagens e Interações

Foram realizados estudos onde se utilizaram linhas celulares de Osteossarcoma e de Sarcoma de Ewing³⁰, com diferentes objetivos. Um desses, foi o de avaliar a atividade da Trabectedina nestas linhas celulares, assim como, a sua comparação com outras drogas, geralmente usadas no tratamento quimioterápico destes doentes. As drogas usadas na terapêutica do Sarcoma de Ewing em comparação com a Trabectedina foram Doxorubicina, a Vincristina e a Actinomicina-D, enquanto que no Osteossarcoma não se observou nenhuma correlação entre as diferentes drogas usadas no seu tratamento específico e o Osteossarcoma, assim como não existiu entre a Trabectedina e as mesmas linhas celulares³⁰.

Em contra partida no Sarcoma de Ewing encontrou-se uma heterogeneidade de respostas entre as oito diferentes linhas celulares testadas com a Actinomicina-D e a Vincristina, ao passo que houve uma aparente sensibilidade de todas as linhas celulares perante Doxorrubicina e a Trabectedina.

As linhas celulares de Sarcoma de Ewing mostraram-se particularmente sensíveis à Trabectedina apresentando uma inibição de crescimento celular superior a 70% em concentrações bastante baixas, a 400pM³⁰.

No mesmo estudo, foram pesquisados os efeitos da Trabectedina no ciclo celular, a capacidade para induzir apoptose celular e a diferenciação, podendo-se verificar que a Trabectedina induziu um atraso na progressão desde a fase G1 para a G2-M, não sendo por isso bloqueada completamente a multiplicação celular. Os efeitos foram similares nas linhas celulares de ambos os tumores analisados neste estudo.

Com o intuito de testar ativação da via apoptótica, analisou-se a morfologia das células após exposição a uma dose IC₅₀ de Trabectedina, durante 24 a 72 horas, observando-se alterações nas linhas celulares do Sarcoma de Ewing, o que não se verificou nas linhas celulares de Osteossarcoma³⁰.

Posto isto, ainda se testou a capacidade da Trabectedina de atuar em linhas celulares previamente resistentes a outras drogas, onde se verificou que a Trabectedina era bastante ativa contra células resistentes ao Cisplatino enquanto tinha uma atividade semelhante ao Metotrexato quando em contacto com células resistentes a este³⁰.

Em estudos *in vitro*, realizados com o objetivo de testar a associação da Trabectedina com outras drogas citotóxicas já usadas na prática clínica, observou-se que a associação entre a Trabectedina, a Doxorrubicina e o Cisplatino origina um efeito sinérgico ou aditivo no Sarcoma de Ewing e em sarcomas com linhas celulares osteogénicas³⁰, no entanto usando

ambas as drogas na máxima dose tolerada. Em contra partida, pareceu existir um efeito antagonista quando se associava a Trabectedina com o Metotrexato ou com a Vincristina.

Através de estudos farmacológicos já se tinha conhecimento que o Cisplatino e a Trabectedina tinham mecanismos de ação diferentes, assim com a sua interação com os mecanismos de reparação do DNA, ou seja, ao contrário da Trabectedina o Cisplatino liga-se em posição N₇ da Guanina na cadeia major de DNA. Em estudos *in vivo* conseguiu-se provar que a associação entre Trabectedina e o Cisplatino em xenotransplantes humanos, é efetiva em linhas celulares que previamente, seriam resistentes a cada uma das drogas isoladamente³¹.

Num estudo de fase I realizado em 12 doente com idades inferiores a 18 anos e portadores de tumores sólidos extracranianos confirmados histologicamente e refratários à terapêutica convencional, foi testado o potencial da Trabectedina a nível da sua resposta e toxicidade através de um esquema terapêutico de 3h de infusão com a dose recomendada de 1,100 mg/m² a cada 3 semanas da pré-medicação com Dexametasona. Com este estudo, verificou-se que um dos doentes com Sarcoma de Ewing metastático teve remissão completa das metástases pulmonares. Esta resposta manteve-se durante 10 meses, no entanto surgiu novo foco neoplásico 3 meses após o cessar da terapêutica. Posto isto, surgiram diferentes efeitos secundário que impossibilitaram a continuação do tratamento de vários doentes e que fosse realizada uma correta análise da resposta à terapêutica. Apesar de tudo é de salientar que um dos doentes que abandonou o estudo devido à toxicidade pulmonar induzida pela radiação, também com Sarcoma de Ewing metastizado para o pulmão, até ao momento do abandono teve a sua doença estabilizada evoluindo 2 meses após o término da terapêutica.

Através de um estudo Europeu concluiu-se que a trabectedina pode ser segura se administrada durante 1 ou 3 horas intra venosa à máxima dose tolerada e esta pode ser aumentada, prolongando a duração da infusão sem afetar o perfil de segurança da droga. No

entanto, houve efeitos secundários de cariz constante: como fadiga, neutropenia e trombocitopenia. E efeitos secundários dependentes da dose: como toxicidade hepática e hematológica. Posto isto importa é fundamental salientar que este estudo foi realizado em 72 adultos e numa variedade de tumores, ou seja não sendo específico para a população tipicamente afetada pelos Sarcomas de Ewing, que como já foi referido, tem o seu pico na adolescência ou seja, é mais prevalentes em crianças e adultos jovens²⁴.

Efeitos secundários e reações adversas

Vários ensaios clínicos efetuados permitiram avaliar os efeitos secundários e as reações adversas da Trabectedina apesar de não serem estudos realizados apenas em doentes com Sarcoma de Ewing.

Nos ensaios de Fase I realizados, na tentativa de evitar a concentração máxima e de encontrar a dose e posologia ideal para a utilização da Trabectedina, sempre que os efeitos adversos eram aparentes participantes tinham que ser analisado, para determinar a sua continuidade ou terminus.

Em estudos em que se comparou a Trabectedina com o Cisplatino, droga usada na terapêutica oncológica de outras neoplasias como tumores pulmonares (local para onde o Sarcoma de Ewing mais comumente metastiza) verificou-se que estas duas drogas tinham diferentes padrões de toxicidade, pois ao contrário da Trabectedina o Cisplatino apresentava nefrotoxicidade e neurotoxicidade periférica³¹.

Nos estudos em que foi utilizada a Trabectedina com o objetivo de analisar a segurança de doentes em ensaios clínicos de fase II, analisando no total 1132 doentes, observou-se que as alterações mais comuns eram as náuseas, a fadiga e os vómitos. Muito frequente era também encontrada neutropenia e um aumento reversível das transaminases³².

De notar que estes estudos apenas tiveram uma percentagem de 1,7% de mortes e que houve apenas 10,2% de abandonos relacionados com a toxicidade da Trabectedina.

É de salientar, que diferentes posologias originavam efeitos secundários diferentes. Os esquemas mais usados foram:

- q3wk 24h de infusão a cada 3 semanas;
- q3wk 3h de infusão cada 3 semanas;
- q3wk 3h de infusão durante 3 semanas seguidas a cada 4 semanas.

Os sintomas comuns relacionados com pelo menos 20 % de doentes incluídos em 19 estudos de fase II foram náuseas em 64,7%, fadiga em 58,3% e vômitos em 40,1%. Outros sintomas surgiram nestes estudos, entre os quais: alopecia, neuropatia sensorial periférica, toxicidade renal e alterações cardíacas. A nível analítico é de salientar as alterações sugestivas de mielossupressão que era comum, associada a neutropenia em 69,2% casos e trombocitopenia em 36,3% casos³². A neutropenia ocorreu de maneira transversal e reversível em todos os 3 esquemas analisados pelos vários estudos analisados. Esta neutropenia só se encontrava associada a febre em 1,9% dos casos, ao passo que às infeções associava-se em 1,8% dos casos. Importa salientar que a trombocitopenia apenas atinge o grau 3/4 em 8,2% ou 1,9% dos casos dependendo dos estudos. Os eventos hemorrágicos são raros.

A nível analítico tal como já foi mencionado anteriormente, uma das alterações mais comuns era o aumento dos valores das transaminases. Este aumento tinha um pico entre o quinto e o sétimo dia, baixando de novo para valores séricos inferiores a 1 por volta do décimo quinto dia.

Com o objetivo de aumentar a tolerância hepática à toxicidade foi introduzido nos ensaios a Dexametasona. Devido às alterações recorrentes a nível hepático tornou-se necessário reduzir as doses de Trabectedina quando existiam alterações a nível hepático e a nível biliar durante os ciclos terapêuticos.

Após o ajuste das doses de Trabectedina, não se voltou a registrar alterações hepáticas e biliares entre os ciclos. No entanto no esquema mais longo, ou seja, q3wk 24-h, ocorriam alterações mais severas da função hepática com maior frequência.

Um dos efeitos secundários apontados aquando o aparecimento da Trabectedina seria a rabdomiólise, nestes estudos apenas em 9 doentes de 1132, o que corresponde a 0,8% dos casos, apareceu 3/4 rabdomiólise. Unicamente durante os 2 primeiros ciclos de tratamento surgiram mortes por rabdomiólise em apenas 6 doentes, ou seja 0,5% do total. Estas mortes por rabdomiólise sucederam nos estudos que ocorreram entre 1999 e 2000 ainda sem o ajuste da posologia para doses menos tóxicas.

Por último, é importante referir que 9 doentes sofreram de insuficiência renal aguda, destes morreram os 6 doentes que não foram sujeitos a diálise. Reações diretas à administração central da Trabectedina só surgiram em 6 dos 1132 doentes, ou seja 0,5% onde apenas 3 dos doentes tiveram reações graves, de grau 4.

É importante referir que ao contrário dos citotóxicos tradicionais usados na terapêutica de tumores sólidos, a Trabectedina não induziu diarreia, neurotoxicidade, mucosite, toxicidade cardíaca e alopecia³³.

Com base em análises pré clínicas de toxicologia, a toxicidade da Trabectedina tem com principais alvos o fígado e a medula óssea, assim como uma preferência pelos ratos fêmeas³³. Outros dados em relação à sua toxicidade em testes pré-clínicos mostraram-se mais ambíguos como a hepatotoxicidade irreversível identificada em ensaios com roedores ao invés da reversibilidade da toxicidade hepatobiliar encontrada em ensaios com macacos³³.

Conclusão

Considerando a raridade da patologia é fundamental que os protocolos a nível internacional, como o Euro E.w.i.n.g. 99 sejam reforçados, assim como os resultados dos ensaios clínicos a eles associados.

A baixa sobrevida associada ao Sarcoma de Ewing principalmente no metastático, obriga a um maior empenho na pesquisa e análise da utilidade de todos os tipos de terapêuticas existentes nesta área com todas as terapêuticas de cariz experimental e a junção entre ambas.

Atualmente, percebeu-se que o caminho ideal seria usar os pontos fortes de cada tipo de abordagem em conjunto implementando um tipo de tratamento multidisciplinar.

Em doentes com Sarcoma de Ewing localizado, iniciar o tratamento recorrendo ao uso de quimioterapia, em seguida, consoante o risco do doente optar pelos métodos de controlo local necessários e por fim, se necessário associar o método quimioterápico ideal.

No entanto, o método ideal de tratamento não existe e por isso é necessário um forte investimento na pesquisa de novas terapêuticas para aumentar a sobrevida dos doentes portadores de Sarcoma de Ewing. A Trabectedina é uma das hipóteses de futuro que parece ter grande atividade neste tipo de sarcomas e é capaz de inibir a fusão de proteínas como EWS-FLI.

Com base nos dados recolhidos, posso afirmar que a Trabectedina liga-se à cadeia minor do DNA e através desta ligação é capaz de alterar o normal funcionamento dos mecanismos de reparação e transcrição, o que origina o fim da proliferação e diferenciação celular, culminando na morte celular. Ela parece representar uma mais valia quando a sua atividade é comparada com drogas, pois a sua atividade mantém-se mesmo quando existem linhas celulares previamente resistentes a outras drogas em especial devido à sua capacidade

para inibir a expressão do gene MDR-1. No entanto, a sua ação parece ser prejudicada pela presença da proteína p53.

Os efeitos secundários e reações adversas não parecem ser o problema major da droga pois com a posologia ideal eles poderiam ser toleráveis. É de salientar que é importante que haja sempre um apertado controlo analítico, essencialmente para o controlo da neutropenia e aumento das transaminases.

Apesar de tudo é difícil concluir a eficácia da Trabectedina em doentes exclusivamente com Sarcoma de Ewing porque não se realizaram estudos exclusivamente para o efeito. Deixando no entanto, a esperança de ter uma droga com baixa toxicidade e atividade reconhecida neste tipo de linhas celulares, embora ainda sem a devida exploração neste tipo de sarcomas.

Este trabalho foi o culminar de toda a pesquisa efetuada nesta área de investigação e fez-me perceber o quanto é importante serem alcançados novos avanços para o tratamento de doentes portadores de Sarcoma de Ewing por forma a melhorar a sua sobrevida. É nosso dever, enquanto profissionais, estar alerta em relação aos progressos na Medicina.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Professor Doutor José Casanova, pelo seu interesse e sugestões fundamentais para a elaboração deste trabalho.

Aos meus Pais e Avós por todo o incentivo, ânimo e confiança incessantes, transmitidos ao longo destes anos.

À minha namorada, pela paciência, dedicação e apoio incondicionais.

Um sincero obrigado.

Bibliografia

1. Eurotext JL. Synthèse Tumeurs PNET / Ewing : PNET / Ewing tumours : current treatments and future perspectives. *Bull Cancer*. 2010;97(6):707–713.
2. Cells S, Grohar PJ, Griffin LB, et al. Ecteinascidin 743 Interferes with the Activity of EWS-FLI1 in Ewing. 2011;13(2):145–153. doi:10.1593/neo.101202.
3. Bailly R, Bosselut R, Zucman J, et al. DNA-Binding and Transcriptional Activation Properties of the EWS-FLI-1 Fusion Protein Resulting from the t (11; 22) Translocation in Ewing Sarcoma FLI-1 BsaHI-to-BamHI BglIII-bor- HindIII HindIII Ets-1 (C) EcoRI Ets-1 (C) EcoRI polyII . Gal4-FLI-1 (. *Mol Cell Biol*. 1994;14(5):3230–3241.
4. Le Deley M-C, Delattre O, Schaefer K-L, et al. Impact of EWS-ETS fusion type on disease progression in Ewing's sarcoma/peripheral primitive neuroectodermal tumor: prospective results from the cooperative Euro-E.W.I.N.G. 99 trial. *J Clin Oncol*. 2010;28(12):1982–1988. doi:10.1200/JCO.2009.23.3585.
5. Craft BA, Cotterill S, Malcolm A, et al. Ifosfamide-Containing Chemotherapy in Ewing's Sarcoma : The Second United Kingdom Children ' s Cancer Study Group and the Medical Research Council Ewing ' s Tumor Study. *J Clin Oncol*. 1998;16(11):3628–3633.
6. Thacker MM, Temple HT, Scully SP. Current treatment for Ewing's sarcoma. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2005;5(2):319–31. doi:10.1586/14737140.5.2.319.
7. Craft AW, Cotterill SJ, Bullimore JA, et al. Long-term Results from the First UKCCSG Ewing ' s Tumour Study (ET-1). *Eur J Cancer*. 1997;33(7):1061–1069.
8. Saeter G. ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up of Ewing's sarcoma of bone. *Ann Oncol*. 2003;14(8):1167–1168.

9. Saeter G. Ewing's sarcoma of bone: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2007;18(Supplement 2):ii79–80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17491059>. Accessed March 6, 2014.
10. Maheshwari A V, Cheng EY. Ewing sarcoma family of tumors. *J Am Acad Orthop Surg.*2010;18(2):94–107.
Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20118326>.
11. Miser JS, Goldsby RE, Chen Z, et al. Treatment of Metastatic Ewing Sarcoma / Primitive Neuroectodermal Tumor of Bone : Evaluation of Increasing the Dose Intensity of Chemotherapy — A Report From the Children ' s Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer.* 2007;(49):894–900. doi:10.1002/pbc.
12. Lay JB, Herriot HE, Inserm U, Bérard CL. La chimiothérapie adjuvante des sarcomes. 2006;93(3):257–261.
13. Haeusler J, Ranft A, Boelling T, et al. The value of local treatment in patients with primary, disseminated, multifocal Ewing sarcoma (PDMES). *Cancer.* 2010;116(2):443–50. doi:10.1002/cncr.24740.
14. Judson I, Whelan J. *EURO-E.W.I.N.G.* 99.; 2006:1–122.
15. Bölling T, Dirksen U, Ranft A, Ernst I, Jürgens H, Willich N. Radiation toxicity following busulfan/melphalan high-dose chemotherapy in the EURO-EWING-99-trial: review of GPOH data. *Strahlentherapie und Onkol.* 2009;185 Supple:21–2. doi:10.1007/s00066-009-1009-9.
16. San-Julian M, Duart J, Rada PD de, Sierrasesumaga L. Limb Salvage in Ewing s distal lower extremity. *Foot Ankle Int.* 2008;1:22–28.
17. Brosjö O, Bauer HCF. Diagnostic procedures and surgical tratment of bone sarcomas. *Acta Orthop Scand.* 2004;(75):57–61.

18. Heare T, Hensley M a, Dell'Orfano S. Bone tumors: osteosarcoma and Ewing's sarcoma. *Curr Opin Pediatr.* 2009; 21(3): 365–72. doi: 10.1097/MOP.0b013e32832b1111.
19. Carvajal R, Meyers P. Ewing's Sarcoma and Primitive Neuroectodermal Family of Tumors. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2005;(19):501–525.
20. Parida L, Fernandez-Pineda I, Uffman J, et al. Clinical management of Ewing sarcoma of the bones of the hands and feet: a retrospective single-institution review. *J Pediatr Surg.* 2012;47(10):1806–10. doi:10.1016/j.jpedsurg.2012.05.022.
21. Dubois E a, Cohen AF. Trabectedin. *Br J Clin Pharmacol.* 2009;68(3):320–321. doi:10.1111/j.1365-2125.2009.03490.x.
22. Erba E, Bergamaschi D, Bassano L, et al. Ecteinascidin-743 (ET-743), a natural marine compound, with a unique mechanism of action. *Eur J Cancer.* 2001;37(1):97–105.
23. D'Incalci M, Galmarini CM. A review of trabectedin (ET-743): a unique mechanism of action. *Mol Cancer Ther.* 2010;9(8):2157–63. doi:10.1158/1535-7163.MCT-10-0263.
24. Gajdos C, Elias A. Trabectedin: safety and efficacy in the treatment of advanced sarcoma. *Clin Med Insights Oncol.* 2011;5:35–43.
25. García-Rocha M, García-Gravalos MD, Avila J. Characterisation of antimetabolic products from marine organisms that disorganise the microtubule network: ecteinascidin 743, isohomohalichondrin-B and LL-15. *Br J Cancer.* 1996;73(8):875–83.
26. Takebayashi Y, Pourquier P, Yoshida a, Kohlhagen G, Pommier Y. Poisoning of human DNA topoisomerase I by ecteinascidin 743, an anticancer drug that selectively alkylates DNA in the minor groove. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(13):7196–201.
27. Unyach MS, Lay JB. Nouveautés dans les sarcomes en 2005. 2006;93(1):83–89.

28. Le Cesne A, Cresta S, Maki RG, et al. A retrospective analysis of antitumour activity with trabectedin in translocation-related sarcomas. *Eur J Cancer*. 2012;48(16):3036–44.
29. Le Cesne A. 13 years of trabectedin, 5 years of Yondelis®: what have we learnt? *Expert Rev Anticancer Ther*. 2013;13(6 Suppl 1):11–9.
30. Scotlandi K, Perdichizzi S, Manara MC, et al. Effectiveness of Ecteinascidin-743 against Drug-sensitive and - resistant Bone Tumor Cells. *Clin Cancer Res*. 2002;(8):3893–3903.
31. D’Incalci M, Colombo T, Ubezio P, et al. The combination of yondelis and cisplatin is synergistic against human tumor xenografts. *Eur J Cancer*. 2003;39(13):1920–1926. doi:10.1016/S0959-8049(03)00490-8.
32. Le Cesne A, Yovine A, Blay J-Y, et al. A retrospective pooled analysis of trabectedin safety in 1,132 patients with solid tumors treated in phase II clinical trials. *Invest New Drugs*. 2012;30(3):1193–202. doi:10.1007/s10637-011-9662-0.
33. Jimeno J, Maki RG, Casali P, et al. Therapeutic impact of ET-743 (Yondelis; trabectedin), a new marine-derived compound, in sarcoma. *Curr Opin Orthop*. 2003;14(6):419–428. doi:10.1097/00001433-200312000-00011.