

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA**  
**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA**

**ESTUDO DA FARMACOCINÉTICA DA TALIDOMIDA EM**  
**PACIENTES COM TUMORES SÓLIDOS REFRATÁRIOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Ciências em Gastroenterologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina: Gastroenterologia.  
Orientador: Prof. Gilberto Schwartzmann

**EDISON CARLOS PAGANOTTO FILHO**

Porto Alegre  
2002

*À minha esposa Anna Isabel*  
*Aos meus pais Edison e Marisa*

*Nada em si é bom ou mau;  
tudo depende daquilo que pensamos.  
(Hamlet, Ato 2, cena 2)*

*William Shakespeare*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Gilberto Schwartzmann, por ter aceitado ser meu orientador e por ter me propiciado excelentes oportunidades de amadurecimento na atividade de pesquisa clínica em Oncologia.

Aos colegas de equipe, Ana Cristina Rodrigues, Keyla Tempel Jung, Luciane Pons Di Leone, Márcia Wink, Rosana Therezinha Rodrigues e Sabrina Fernandes, que me ensinaram que o trabalho multidisciplinar é essencial no atendimento dos pacientes.

Ao amigo Prof. Marc Richter, pelas contribuições e pelo companheirismo nos momentos finais deste trabalho.

Aos colegas de mestrado Lissandra Dal Lago e André Borba Reiriz pelo auxílio e encaminhamento dos pacientes para realização desta pesquisa.

A Profa. Teresa Dalla Costa, da Faculdade de Farmácia da UFRGS, pelas valiosas contribuições no estudo farmacocinético.

Ao Curso de Pós-graduação em Gastroenterologia da UFRGS, representado pelos Profs. João Carlos Prolla e Sérgio Gabriel da Silva Barros, pela excelente oportunidade e pelo incentivo à atividade de pesquisa e pós-graduação.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>X</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>XI</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>XIII</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
1.1 HISTÓRICO DA TALIDOMIDA.....	14
1.2 ESTRUTURA QUÍMICA .....	17
1.3 MECANISMO DE AÇÃO .....	18
1.4 EFEITOS ADVERSOS E PERFIL DE SEGURANÇA.....	22
1.5 METODOLOGIA DE ESTUDOS DE NOVAS DROGAS EM ONCOLOGIA .....	25
1.6 USOS DA TALIDOMIDA EM ONCOLOGIA.....	28
1.6.1 Estudos pré-clínicos.....	30
1.6.2 Estudos clínicos de fase I .....	35
1.6.3 Estudos clínicos de fase II .....	37
1.7 FARMACOCINÉTICA DA TALIDOMIDA .....	47
1.7.1 Estudos <i>in vitro</i> e em animais.....	49
1.7.2 Estudos em humanos .....	50
1.8 JUSTIFICATIVA .....	56
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>57</b>
2.1 GERAL.....	57
2.2 ESPECÍFICOS.....	57
<b>3 PACIENTES E MÉTODOS.....</b>	<b>58</b>
3.1 SELEÇÃO DE PACIENTES .....	58

3.1.1 Critérios de elegibilidade.....	58
3.1.2 Critérios de inelegibilidade.....	59
3.2 DESENHO DO ESTUDO .....	60
3.2.1 Plano de tratamento .....	60
3.2.2 Avaliação de resposta ao tratamento .....	61
3.2.3 Avaliação das toxicidades .....	61
3.2.4 Medicamento em estudo.....	62
3.2.5 Duração do tratamento .....	62
3.2.6 Tratamentos concomitantes .....	63
3.3 ESTUDO DE FARMACOCINÉTICA.....	63
3.4 ASPECTOS ÉTICOS .....	66
4.1 CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES .....	67
4.2 TOXICIDADES APRESENTADAS .....	71
4.3 ATIVIDADE ANTITUMORAL.....	73
4.4 ANÁLISE DOS PARÂMETROS DE FARMACOCINÉTICA .....	73
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>78</b>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>83</b>
6.1 GERAL.....	83
6.2 ESPECÍFICAS.....	83
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>85</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ABST</b>	<b>Associação Brasileira dos Portadores da Síndrome da Talidomida</b>
<b>ASC</b>	<b>Área sob a curva</b>
<b>ASMCO</b>	<b>Área sob o primeiro momento da curve</b>
<b>BCNU</b>	<b>Carmustina</b>
<b>b-FGF</b>	<b>Fator de crescimento básico do fibroblasto</b>
<b>CD</b>	<b>Cluster differentiation</b>
<b>CE</b>	<b>Célula endotelial</b>
<b>CL/f,</b>	<b>Depuração corporal total sobre a biodisponibilidade</b>
<b>C<sub>max</sub></b>	<b>Concentração plasmática máxima</b>
<b>CPT-11</b>	<b>Irinotecano</b>
<b>CRF</b>	<b>Formulário de relato de caso</b>
<b>CTC</b>	<b>Critérios de Toxicidade Comum</b>
<b>CYP</b>	<b>Citocromo P450</b>
<b>d</b>	<b>Dextrógiro</b>
<b>DE</b>	<b>Doença estável</b>
<b>DMXAA</b>	<b>5,6-dimetilxantenona-4-ácido acético</b>
<b>ECOG</b>	<b>Grupo Oncológico Cooperativo do Leste</b>
<b>EUA</b>	<b>Estados Unidos da América</b>
<b>FDA</b>	<b>Agência Norte Americana Reguladora de Drogas e Alimentos</b>
<b>GCS-F</b>	<b>Fator estimulante de crescimento de granulócitos</b>
<b>GCP</b>	<b>Boa prática clínica</b>

<b>HCPA</b>	<b>Hospital de Clínicas de Porto Alegre</b>
<b>HIV</b>	<b>Vírus da Imunodeficiência Humana</b>
<b>HPLC</b>	<b>Cromatografia Líquida de Alta Performance</b>
<b>IL</b>	<b>Interleucina</b>
<b>IFN</b>	<b>Interferon</b>
<b>ka</b>	<b>Constante de absorção</b>
<b>k<sub>e</sub></b>	<b>Constante de eliminação</b>
<b>l</b>	<b>Levógiro</b>
<b>MBV</b>	<b>Membrana basal vascular</b>
<b>MHC</b>	<b>Complexo de histocompatibilidade principal</b>
<b>MRT</b>	<b>Tempo de permanência média</b>
<b>OMS</b>	<b>Organização Mundial da Saúde</b>
<b>PD</b>	<b>Progressão de doença</b>
<b>PGG2</b>	<b>Prostaglandina G2</b>
<b>PGHS</b>	<b>Prostaglandina endoperoxido sintase</b>
<b>pH</b>	<b>Potencial de hidrogênio</b>
<b>PSA</b>	<b>Antígeno prostático específico</b>
<b>R</b>	<b>Rectus</b>
<b>RC</b>	<b>Resposta completa</b>
<b>Rm</b>	<b>Resposta mínima</b>
<b>RNA<sub>m</sub></b>	<b>Ácido ribonucléico mensageiro</b>
<b>RP</b>	<b>Resposta parcial</b>
<b>S</b>	<b>Sinister</b>
<b>SIDA</b>	<b>Síndrome da Imunodeficiência Adquirida</b>

<b>SNC</b>	<b>Sistema Nervoso Central</b>
<b><math>t_{1/2}</math></b>	<b>Meia-vida</b>
<b><math>t_{max}</math></b>	<b>Tempo para a concentração máxima</b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>Fator de necrose tumoral alfa</b>
<b>UFRGS</b>	<b>Universidade Federal do Rio Grande do Sul</b>
<b>UV</b>	<b>Ultravioleta</b>
<b><math>V_d/f</math></b>	<b>Volume de distribuição aparente sobre a biodisponibilidade</b>
<b>VEGF</b>	<b>Fator de crescimento vascular endotelial</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura Molecular da Talidomida .....	17
Figura 2 – Principais Etapas no Desenvolvimento de Novas Drogas em Oncologia.....	28
Figura 3 – Angiogênese Tumoral .....	29
Figura 4 – Estratégias da Terapia Antiangiogênica.....	31
Figura 5 – Gráfico da Média da Concentração Máxima da Talidomida em 24 horas em Pacientes Incluídos no Estudo .....	75
Figura 6 – Concentração Plasmática da Talidomida <i>versus</i> Tempo em Escala Linear.....	77

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos Pré-clínicos com Talidomida .....	34
Tabela 2 –Estudos Clínicos de Fase I com Talidomida.....	37
Tabela 3 –Estudos Clínicos de Fase II com Talidomida .....	46
Tabela 4 –Estudos Clínicos de Farmacocinética com Talidomida .....	55
Tabela 5 – Características Gerais dos Pacientes.....	68
Tabela 6 - Características Específicas dos Pacientes .....	70
Tabela 7 – Efeitos Colaterais Relacionados à Talidomida .....	71
Tabela 8 – Nível de dose e Duração em Semanas/Pacientes.....	72
Tabela 9 – Sobrevida Global dos Pacientes Incluídos no Estudo.....	73
Tabela 10 – Concentração Plasmática de Talidomida em $\mu\text{g}/\text{mL}$ por Paciente com Tempo de Coleta.....	74
Tabela 11 - Principais Parâmetros Farmacocinéticos da Talidomida em Pacientes Incluídos no Estudo .....	75
Tabela 12 - Análise Compartmental – Modelo Monocompartimental com Absorção de 1 <sup>a</sup> Ordem (oral).....	76

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros farmacocinéticos da talidomida em pacientes com tumores sólidos refratários incluídos em estudo de fase II em nossa Instituição. Foram incluídos 14 pacientes, sendo 5 com diagnóstico de adenocarcinoma de reto, 4 com adenocarcinoma de cólon, 4 com melanoma e 1 com adenocarcinoma de pâncreas. Todos os pacientes foram previamente tratados, 14 com cirurgia, 11 com quimioterapia, 5 com radioterapia e 1 com imunoterapia. Os pacientes foram inicialmente tratados com talidomida 200 mg/dia, com um aumento de dose de 200mg a cada duas semanas, até atingir a dose máxima de 800 mg/dia. Treze pacientes atingiram o nível de 400mg/dia, 9 pacientes os níveis de 600mg/dia e apenas 5 pacientes atingiram 800mg/dia. A farmacocinética foi caracterizada em oito pacientes no nível de dose de 200 mg/dia. Todos os 14 pacientes incluídos foram avaliados quanto ao perfil de toxicidade e resposta antitumoral. A talidomida foi bem tolerada, sendo os principais efeitos colaterais a sonolência, a tontura, a xerostomia e a constipação. Não foram observadas respostas tumorais objetivas. Para avaliar os parâmetros farmacocinéticos da talidomida foram coletadas amostras de sangue imediatamente antes da administração da droga, 1h, 2h, 2,5h, 3h, 3,5h, 4h, 5h, 7h e 24h após a administração da primeira dose de talidomida de 200mg. A determinação das concentrações e parâmetros farmacocinéticos da talidomida nestas amostras foi realizada por cromatografia líquida de alta performance. A curva de decaimento das concentrações plasmáticas obedeceu a um modelo farmacocinético monocompartimental. A média dos principais parâmetros farmacocinéticos estudados foi:  $C_{\max}$   $1,48 \pm 0,56\mu\text{g/ml}$ ,  $T_{\max}$   $4,4 \pm 0,5\text{h}$ ,  $\text{ASC}$   $17,7 \pm 8,4\mu\text{g} \times \text{h/mL}$  e  $t_{1/2}$   $6,5 \pm 3,0$  hs. O autor pode concluir que os parâmetros farmacocinéticos da talidomida estudados nestes pacientes foram semelhantes àqueles descritos anteriormente em voluntários saudáveis, pacientes com HIV, hanseníase ou adenocarcinoma de próstata.

## SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the pharmacokinetic parameters of thalidomide in patients with refractory solid tumors included in phase study II in our institution. Fourteen patients were included of whom 5 were diagnosed with rectum adenocarcinoma, 4 with colon adenocarcinoma, 4 with melanoma and 1 with pancreas adenocarcinoma. All the patients had been treated previously, 14 with surgery, 11 with chemotherapy, 5 with radiotherapy and 1 with immunotherapy. The patients were treated initially with 200mg/day thalidomide, with a dosage increase of 200mg every two weeks, reaching the maximum dose of 800mg/day. Thirteen patients reached the level of 400mg/day, 9 patients the level of 600mg/day and 5 patients reached 800mg/day. Pharmacokinetics took place in eight patients at the dosage level of 200 mg/day. All 14 patients were evaluated on the toxicities profile and antitumor activity. Thalidomide was well tolerated, the main collateral effects being the drowsiness, dizziness, mouth dryness and constipation. No objective responses were observed. To evaluate the pharmacokinetic parameters of thalidomide samples of blood were collected, 1:00, 2:00, 2.5, 3:00, 3.5, 4:00, 5:00, 7:00 and 24:00 hours after the administration of the first dose of 200mg thalidomide. The determination of the concentrations and pharmacokinetic parameters of thalidomide in these samples were achieved by high-performance liquid chromatography. A one-compartment pharmacokinetic model best fit the concentrations of thalidomide in plasma. The mean of the main studied pharmacokinetic parameters was:  $C_{\max}$   $1.48 \pm 0.56$ mg/ml,  $T_{\max}$   $4.4 \pm 0.5$ h,  $ASC$   $17.7 \pm 8.4$ mg x h/ml,  $t_{1/2}$   $6.5 \pm 3.0$  hs. The pharmacokinetic parameters of thalidomide studied in these patients were similar to those described in healthy patients, those with HIV, Hansen's disease or prostate adenocarcinoma.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 HISTÓRICO DA TALIDOMIDA

A talidomida foi descoberta e relatada por Wilhelm Kunz em 1953, cujo objetivo era sintetizar pequenos peptídeos úteis na produção de antibióticos. Durante a síntese, Kunz isolou um produto secundário, racêmico e não peptídico (1), reconhecido pelo farmacologista Herbert Keller como um análogo estrutural da glutetimida (2). Sua síntese foi realizada pela indústria farmacêutica alemã Chemie Grünenthal na Alemanha Ocidental em 1954. Posteriormente seu perfil sedativo e hipnótico ficou bem caracterizado (1-3).

A partir de 1956 já era amplamente utilizada na Europa com o nome de Contergan®, época em que foi indicado como medicamento antiemético, hipnótico e sedativo não-barbitúrico, aliviando as náuseas e tonturas durante a gestação (4). Em 1957 já era comercializada em países asiáticos, Canadá e América do Sul, e tornou-se rapidamente o medicamento mais vendido na Alemanha Ocidental para o tratamento de insônia (1-7).

No início da década de sessenta começaram os relatos de neuropatia periférica associadas ao uso crônico da talidomida. Logo surgiram as primeiras evidências de malformações fetais, como a focomelia, alterações nos membros tornando-os atrofiados e encurtados junto ao tronco semelhantes aos da foca, além de outras alterações em órgãos internos que serão abordadas posteriormente, relacionadas com o uso materno da droga (8).

Diante de tais evidências a talidomida foi retirada do mercado europeu em 1961. Processos para indenizar as vítimas da talidomida tiveram início neste mesmo período, quando aproximadamente 12.000 crianças apresentaram as conseqüências do uso materno durante a gestação (9). No Brasil a talidomida continuou a ser utilizada, mesmo após a sua proibição em 1965, devido principalmente a falta de informações e do hábito da automedicação (10).

Apesar da talidomida ter sua ampla comercialização na Europa e Ásia, em diferentes marcas como Karvodon®, Sedalis®, Softenon®, Distaral®, Contergan®, entre outros, não obteve licença pela agência norte-americana que regulamenta e controla drogas e alimentos (FDA), para uso nos Estados Unidos da América (EUA). Este fato rendeu para a oficial médica americana Francis Kelsey, responsável pelas decisões frente ao FDA, a medalha e título de guardião da Saúde Pública, concedida pelo, então, presidente John Kennedy, em reconhecimento aos serviços prestados (11,12).

No ano de 1965 foi descrito o benefício da talidomida para o tratamento da hanseníase pelo médico israelense Jacob Sheskin, que observou redução da dor e dos processos inflamatórios relacionados ao leproma, identificando desta forma as propriedades antiinflamatórias da talidomida (13,14). Com este fato a talidomida voltou a ser comercializada na Europa, porém sem qualquer procedimento para evitar seu uso indevido durante a gestação. Surgem com isso as vítimas da “segunda geração“, ou seja crianças que nasceram malformadas após 1966, a grande maioria filhos de mães que possuíam hanseníase (10).

No ano de 1976 iniciaram-se os processos judiciais brasileiros contra os laboratórios farmacêuticos e o Governo (10). Em 1982 foi sancionada a Lei 7.070, de 20 de dezembro de 1982, concedendo pensão alimentícia vitalícia para as vítimas e, em 1992 surgiu a Associação Brasileira dos Portadores da Síndrome da Talidomida (ABPST), criada para defender os direitos das vítimas deste fármaco (10). Somente em 1994 foi publicada uma portaria proibindo o uso da talidomida em mulheres férteis e, em 1996, uma outra portaria regulamentou a nova embalagem da droga contendo as devidas informações (10).

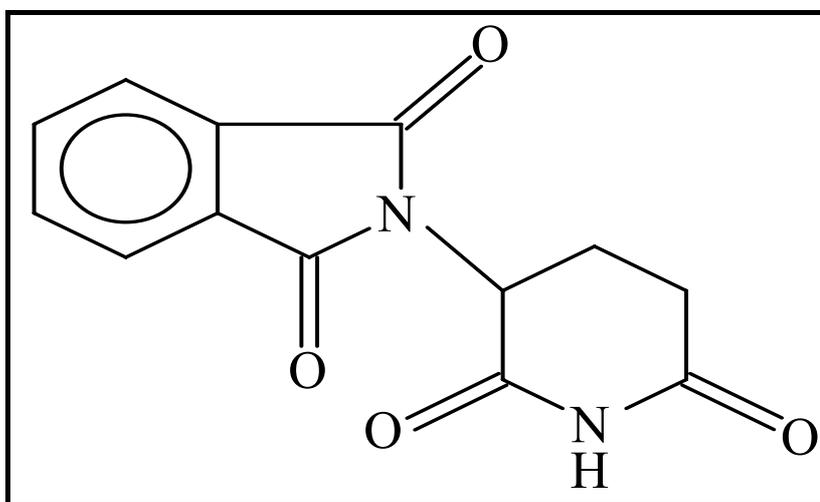
O interesse científico pela droga renasceu na última década, pois o intrigante efeito antiinflamatório inicialmente descrito por Sheskin incentivou diversos grupos de pesquisa ao estudo do mecanismo de ação da talidomida e de seus possíveis benefícios. Em 1991, a Dra. Gillia Kaplan e colaboradores, da Universidade de Rockefeller, demonstraram que pacientes com hanseníase apresentavam níveis séricos elevados de fator de necrose tumoral alfa ( $TNF\alpha$ ); estes pesquisadores constataram que a talidomida participava seletivamente da inibição desta citocina, descobrindo com isto seu potencial imunorregulador (15).

Evidências científicas mostraram que além do tratamento da hanseníase poderia ser útil, no tratamento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) em pacientes com estomatite aftosa e caquexia induzida pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) (16,17), do lúpus eritematoso cutâneo (18), do eritema multiforme recorrente (19), da doença enxerto-hospedeiro após transplantes (20-22). Também em doenças que apresentam aumento do  $TNF\alpha$  como a artrite reumatóide, doença de Crohn (23-25) e em neoplasias. Em 1994, quando D'Amato demonstrou a ação antiangiogênica da talidomida em experimento realizado através da avaliação da córnea de coelhos, despertou o interesse da Oncologia (26-28).

Após estes estudos, a indústria norte-americana Celgene Corporation adquiriu o direito de comercializar e estudar a talidomida, solicitando logo após a aprovação pelo FDA. Em julho 1998 a droga foi aprovada apenas para o tratamento e controle do eritema nodoso da hanseníase. Seu uso em neoplasias está restrito a protocolos de pesquisa (29). No Brasil a talidomida continua sendo utilizada, fazendo parte do programa oficial contra a SIDA do Ministério da Saúde, sendo um dos poucos países a fabricá-la. No momento a talidomida é liberada para tratamentos da SIDA, mieloma múltiplo e hanseníase (10).

## 1.2 ESTRUTURA QUÍMICA

A talidomida, ou 2-ftalimidoglutarimida, é um derivado do ácido glutâmico que está quimicamente relacionado a bemegrada e glutetimida. Ela possui uma estrutura com dois anéis: a ftalimida do lado esquerdo e a glutarimida do lado direito, com um carbono assimétrico (figura 1). A talidomida existe sob a forma de isômeros ativos levógiros (l) e destrógiros (d) e sob a forma inativa racêmica, sendo esta uma mistura dos dois isômeros na proporção de 1:1, a qual é usada clinicamente (30).



**Figura 1: Estrutura molecular da talidomida**

A talidomida é uma mistura igual dos isômeros ópticos ou também chamados enantiômeros sinister (S) e rectus (R). Tommy Eriksson, mostrou que a forma R seria responsável pelos efeitos sedativos em humanos e que seus efeitos teratogênicos e imunomoduladores possivelmente residisse na forma S. No entanto, a tragédia da década de 60 não poderia ter sido evitada se fosse usada apenas a forma R, uma vez que este mesmo estudo mostrou que ocorre uma rápida inversão quirállica entre os enantiômeros em humanos em pH fisiológico (31).

A talidomida é insolúvel em éter e benzeno e pouco solúvel em água, metanol, etanol, acetona, ácido acético glacial, dioxano, dimetil formamida, piridina e clorofórmio. É suscetível à quebra hidrolítica das amidas em pH menor que 6 (30). Baseado em estudos da sua estrutura química, a constatação dos efeitos teratogênicos da talidomida representou um marco na conscientização do risco da administração de fármacos em sua forma racêmica, quando a razão eudísmica entre os dois enantiômeros é desconhecida (30).

### 1.3 MECANISMO DE AÇÃO

O mecanismo de ação da talidomida é complexo e ainda não está completamente esclarecido. Estudos, *ex vivo*, sobre o destino metabólico da talidomida evidenciaram a sua instabilidade em solução aquosa em diversos valores de pH. Schumacher e colaboradores, já em 1965, observaram que em pH=6, evidenciava-se hidrólise espontânea do anel glutarimídico, originando os metabólitos  $\alpha$ -(orto-carboxi-benzamido) glutarimida. Em padrões fisiológicos, com pH =7,4 a talidomida sofre 28% de metabolização na primeira hora, sendo estes os principais metabólitos formados pela hidrólise do anel ftalimídico e glutarimídico (32).

Em pH=8 sua metabolização é aumentada, 66% na primeira hora, evidenciando que o metabolismo *in vivo* é estritamente dependente do pH da biofase (32). Há evidência de que a talidomida *in vivo* rapidamente se converte em seus isômeros, responsáveis pelas ações decorrentes de seu uso (30). A hidrólise das ligações amido ou a hidrólise do anel pode resultar em mais de 100 metabólitos diferentes, sendo que destes pelo menos 20 já foram identificados *in vivo* (31).

Quando o anel da piperidina é hidrolisado, um derivado da glutamina ou do ácido glutâmico é formado. A descarboxilação do ácido ftalil-glutâmico resulta em um ácido monocarboxílico, o metabólito mais abundante *in vivo* (32). A dificuldade em caracterizar os mecanismos de ação da talidomida é atribuída em parte a esses numerosos metabólitos *in vivo* que resultam da sua combinação de enantiômeros ópticos, hidrólises e hidroxilação. Baseado em estudos da década de 60, descobriu-se que o primeiro local de ação da talidomida é o cérebro, assim quando administrada como medicação indutora de sono notou-se que seu efeito era mais rápido e “saudável” quando comparado com outros sedativos da época (8,9).

Seu pronto efeito sedativo parece ser devido ao anel glutamirida, estruturalmente similar aos anéis contidos em outros sedativos e hipnóticos, tais como a glutetimida. A ação da talidomida no centro do sono, na região anterior do cérebro, é diferente da ação dos barbitúricos, com uma baixa toxicidade aguda no sistema nervoso central (SNC), como sonolência e letargia, e sem causar incoordenações ou depressões respiratórias quando usada em grandes doses (8,9).

Uma de suas formas de ação mais estudada é a imunomodulação, vista principalmente a partir da inibição seletiva da produção do TNF- $\alpha$  em culturas de monócitos humanos, agindo na degradação do RNAm desestabilizando a molécula, sem contudo afetar a produção de interleucina-6 (IL-6), interleucina-1 (IL-1) e do fator de crescimento de granulócitos (GCS-F). Quando os níveis de TNF- $\alpha$  estão elevados, ocorre sua associação a várias alterações metabólicas que levam ao aumento da lipólise, proteólise e a anorexia em pacientes, principalmente com neoplasias malignas avançadas (33-37).

A talidomida, ainda na sua função imunomoduladora, age alterando a expressão de citocinas e induzindo respostas proliferativas nas células T CD8, diminuindo a proporção de células T *helper* em relação às células T supressoras. Também no sistema imunológico, a talidomida age inibindo o interferon alfa (INF- $\alpha$ ); aumentando os níveis de interleucina-4 (IL-4), de interleucina-5 (IL-5), de interleucina -2 (IL-2) e do interferon gama (INF- $\gamma$ ), além de diminuir a fagocitose por monócitos. Atua também modulando a quimiotaxia e a migração dos leucócitos (38).

Segundo estudos preliminares *in vitro*, há indícios de que os efeitos imunomoduladores da talidomida variem consideravelmente sob diferentes condições, indicando que estes efeitos sejam espécie-específicos (39). O efeito antiinflamatório da talidomida é notado através da repressão da atividade da cicloxigenase-2, resultando da redução da produção de prostaglandinas (40). Os efeitos imunomoduladores e antiinflamatório diferem de outros agentes imunossupressores, tais como corticosteróides, ciclosporinas, macrolídeos, entre outros (41).

Referente aos estudos da Celgene Corporation, datados de fevereiro de 1999, a talidomida não demonstrou atividade antibacteriana contra o *Mycobacterium leprae* e não foram evidenciadas interferências com os mecanismos antimicrobianos, sendo o benefício no tratamento da hanseníase caracterizado pelo efeito antiinflamatório. Outras evidências deste mesmo estudo demonstraram que a talidomida não possui efeito inibitório sobre a proliferação de linfócitos, não impede reações de hipersensibilidade nem tampouco a formação de granulomas (41).

Como demonstrou D'Amato em 1994, a talidomida inibe a angiogênese, o que sugeriu que seus efeitos teratogênicos fossem pela inibição do crescimento dos vasos sanguíneos nos fetos. A ação antiangiogênica é caracterizada através da inibição do fator de crescimento de fibroblastos (b-FGF) e do fator de crescimento endotelial (VEGF), bloqueando a neovascularização, inibindo a angiogênese através da interferência no crescimento das células endoteliais, na sua migração e formação de túbulos. Estes efeitos foram demonstrados em vários modelos animais, evidenciando-se que esta ação também é espécie-específica e está relacionada com ativação de metabólitos (27,28).

Outra atividade da talidomida é caracterizada pela modulação da expressão das moléculas de adesão envolvidas nos processos neoplásicos metastáticos, onde diminui a expressão das beta-integrinas da superfície celular, mais notavelmente beta-2 e beta-3 produzidas pelos leucócitos. Desde que as integrinas são cruciais para a interação matriz-celular e as integrinas beta-2 mediam a adesão ao endotélio, é razoável postular que a talidomida inibe a migração celular, perfazendo o seu efeito antiinflamatório, antiangiogênico e teratogênico (42,43).

#### 1.4 EFEITOS ADVERSOS E PERFIL DE SEGURANÇA

O principal efeito adverso da talidomida é a teratogenicidade. Geralmente ocorre entre 34 a 50 dias após a concepção, mesmo com uma única dose de 100mg. Os principais danos são alterações do desenvolvimento neural, focomelia, hipoplasia ou aplasia óssea, paralisia facial, pavilhão auricular pequeno ou ausente, malformação ocular, cardíaca, gastrintestinal e renal (33). Diante de tais riscos, recomenda-se que, quando mulheres férteis estiverem usando talidomida que façam uso de dois métodos contraceptivos eficazes (44).

A presença da droga no sêmen ainda é pouco estudada, porém níveis da droga foram detectados em pacientes portadores do vírus HIV que estavam fazendo uso de 100 mg de talidomida por dia durante 8 semanas. Portanto, para os homens que estiverem usando a droga recomenda-se o uso de métodos de barreira (44). Estas recomendações são feitas durante o tratamento e devem ser prosseguidas até 4 semanas após o seu término (44,45). Não existem registros se ocorre ou não a excreção da droga pelo leite materno (45,46).

Embora várias hipóteses tenham sido postuladas para explicar a teratogenicidade da talidomida, o mecanismo bioquímico responsável por sua ação embriotóxica em seres humanos e cobaias permanece obscuro. A dificuldade de obtenção de dados conclusivos a este respeito, tanto *in vitro* como *in vivo*, se dá pela baixa solubilidade e instabilidade da talidomida na biofase (32). As distinções interespecies quanto aos processos farmacocinéticos de absorção, metabolização, bioativação e eliminação, dependente do modelo animal empregado, dificultam a extrapolação destes processos para humanos, explicando as diferenças de sensibilidade para os efeitos teratogênicos (32).

Dentre os primeiros experimentos realizados por Fabro e colaboradores, datados de 1966, verificou-se que os metabólitos da talidomida eram incapazes de atravessar a barreira placentária quando injetados em coelhas prenhes no início da gestação (48). No entanto, Matsubara e colaboradores, em 1985, observaram, ao contrário do estudo acima descrito, diversos efeitos teratogênicos na prole de coelhas que receberam uma única dose de talidomida oral (500 mg/kg) em vários estágios da organogênese, do sétimo ao décimo-quinto dia (49).

Pesquisadores alemães, em 1977, utilizando camundongos prenhes, observaram que a administração intraperitoneal no nono dia de gestação do isômero ótico do ácido N-phthaloyl-L-aspártico, estruturalmente relacionado à talidomida, exerceu efeito embriotóxico com uma alta incidência de mal-formações, porém o uso do D-isômero não mostrou nenhum efeito teratogênico, sugerindo que a presença do L-isômero na preparação final da talidomida seja o responsável pelo efeito teratogênico (50).

Dentre as diversas hipóteses para explicar o mecanismo da teratogenicidade da talidomida, Arlen e Wells sugerem o envolvimento da enzima prostaglandina endoperóxido sintase (PGHS) na bioativação do grupamento toxicofórico (51). A PGHS é uma enzima bifuncional com atividades cicloxigenase e hidroperoxidase, catalisando a formação do hidroperóxido da prostaglandina G<sub>2</sub> (PGG<sub>2</sub>). Esta hipótese fundamenta-se na atividade da PGHS, amparada em observações experienciais, evidenciando que o tratamento de cobaias com ácido acetilsalisílico, um inibidor pseudo-irreversível da PGHS, é capaz de prevenir, *in vivo*, as manifestações teratogênicas da talidomida (51).

Além da teratogenicidade, os efeitos adversos mais comuns são sonolência, constipação e tontura, que são dose-dependentes e se desenvolvem gradativamente (20,46). Para minimizar os efeitos da sonolência recomenda-se o uso da droga antes de dormir, em uma dose única. Os pacientes devem evitar dirigir automóveis ou manipular máquinas. Devem ser orientados a passar vagarosamente de uma posição de decúbito dorsal para posição sentada em virtude dos riscos de hipotensão postural. A tolerância a seus princípios sedativos se dá gradativamente (46).

A constipação acomete cerca de 30% dos pacientes e é responsiva a laxativos, sempre recomendados quando é utilizada uma dose acima de 400 mg ao dia (46). A talidomida pode ocasionar farmacodermias, tais como *rash* cutâneo macular eritematoso e pruriginoso, geralmente atingindo o tronco, 2 a 13 dias após o início da administração das doses, o qual é resolvido com a suspensão da droga ou com uso de anti-histamínicos. Ocasionalmente poderá ocorrer reação exfoliativa (46). Alterações endócrinas também podem ocorrer como diminuição leve da atividade do hormônio estimulante da tireóide, estimulação do hormônio estimulante da adrenal e da produção de prolactina, além de aumento de apetite e irregularidades no ciclo menstrual (20,29,46).

Quando usada cronicamente poderá ocorrer o surgimento de neuropatia periférica sensitivo-motora, resultante da degeneração axonal, sem desmielinização das fibras sensitivas, principalmente em membros inferiores. Os sintomas iniciam com dose cumulativa de 40-50g, numa incidência de 25% dos casos, entretanto pode ser severa e irreversível. Na grande maioria esses efeitos desaparecem com a suspensão da droga (46). Outros efeitos descritos são, alterações do humor, xerostomia, unhas quebradiças, hiperemia palmar, perda da libido, neutropenia, edema facial e membros, náuseas, e galactorréia; ocasionalmente púrpura trombocitopênica e relatos de reações de hipersensibilidade em pacientes com SIDA (20).

A principal contra-indicação para o uso da talidomida é a gravidez. Ao menos que as mulheres estejam há mais de 12 meses amenorrêicas ou hysterectomizadas, todas que estiverem férteis e utilizarem talidomida devem usar dois métodos contraceptivos eficazes (46). A talidomida pode apresentar interação medicamentosa com algumas drogas como o aumento da atividade de barbitúricos, álcool, clorpromazina e reserpina, também antagoniza a ação da histamina, serotonina, acetilcolina e prostaglandinas (20).

### 1.5 METODOLOGIA DE ESTUDOS DE NOVAS DROGAS EM ONCOLOGIA

As drogas anticâncer são, via de regra, desenvolvidas em várias etapas, as quais iniciam com a identificação de um composto de interesse (aquisição) e a realização de estudos *in vitro* e em animais que possam estimar o seu potencial efeito antitumoral. Uma vez confirmado o interesse no novo composto, é iniciado o processo de elaboração de uma formulação farmacêutica adequada para o 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 (52,53).

Uma vez definida a segurança do novo composto em modelos animais na etapa pré-clínica, e estabelecido o interesse em prosseguir as pesquisas, é estabelecido uma dose recomendável para o início de estudos em seres humanos, caracterizando a fase de estudos clínicos. O desenvolvimento de estudos com novos compostos anticâncer, envolve várias etapas, denominadas estudos de fases I, II, III e IV, que devem obedecer a uma metodologia própria para sua aplicação (54-56).

Na fase I, estima-se principalmente o perfil de toxicidade do novo composto e é determinado um nível de dose seguro para estudos clínicos subseqüentes (57). Sempre que possível, são obtidas informações quanto ao comportamento farmacocinético do novo agente no homem e a ocorrência de efeitos antitumorais. Nesta fase, pacientes com câncer recebem a droga experimental pela primeira vez ou uma nova maneira de administração ou combinação 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 (54-56).

O desenho 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 escalonada em grupos subseqüentes de pacientes para doses mais elevadas, até que sejam definidas a dose máxima tolerável (DMT) e as toxicidades limitantes da dose (TLD) (55,58-61). A partir deste processo, identifica-se a dose recomendada para os estudos 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 desta fase de estudo.

Os estudos de fase II, são desenvolvidos em grupos de pacientes com tumores específicos e que possuam lesões mensuráveis. Dessa maneira, podem-se avaliar os índices de respostas objetivas do novo composto. As informações sobre a toxicidade também são um componente importante desses estudos. Os estudos de fase II são, via de regra, não-randomizados e com a inclusão de pacientes de forma consecutiva, utilizando-se regras estatísticas de modo a estimar o potencial do novo composto ou combinação de produzirem respostas tumorais objetivas com o menor número de pacientes possível (55,62).

É fundamental que não seja incluído um número excessivo de pacientes em estudos com drogas ineficazes. Por este motivo, são utilizados métodos estatísticos para definir o número mínimo de pacientes necessários nestes estudos. Ao observar-se uma atividade antitumoral significativa e/ou um perfil de toxicidade de interesse, será decidido por manter o desenvolvimento clínico deste composto ou combinação, estendendo a um número maior de pacientes baseados nos testes estatísticos realizados e, após, prosseguir com estudos de fase III (62-65).

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 tal, utiliza-se um desenho 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 contendo o novo composto em adição ou substituição a uma das drogas utilizadas no esquema convencional (53,59,60). Uma vez demonstradas as vantagens em eficácia e/ou toxicidade com o braço experimental, esta experiência é estendida a um número maior de pacientes através de estudos de fase IV.

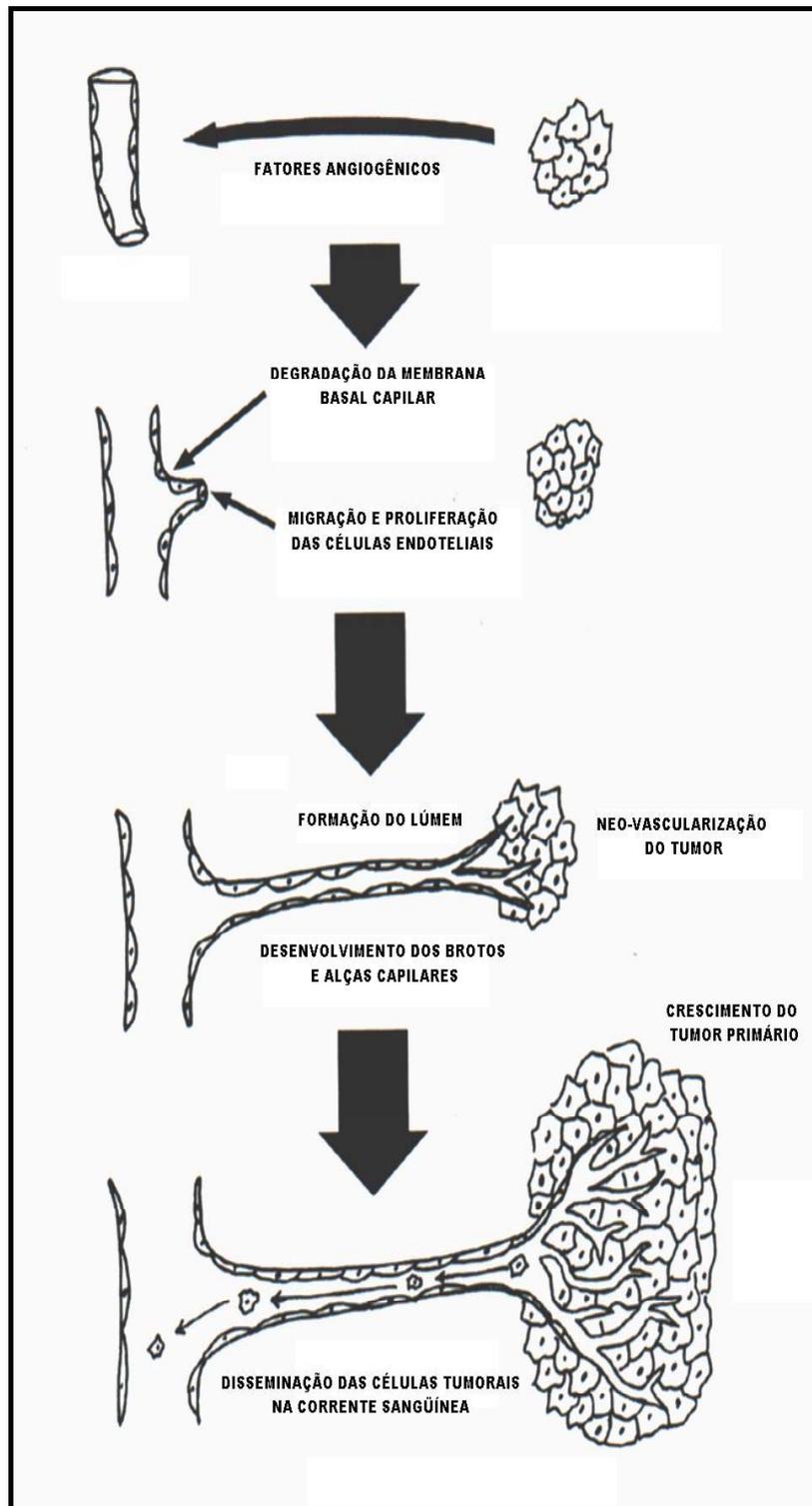
Nesta etapa, a eficácia do novo composto é avaliada em um número elevado de pacientes e com seguimento de longo tempo, geralmente já durante a fase de comercialização e uso em larga escala. Com isto, pode-se estimar com maior precisão o real valor do novo composto no contexto geral de tratamento, sobretudo em relação aos seus efeitos colaterais menos comuns ou dependentes de uma exposição prolongada (53,56). Na figura 2 são apresentadas de forma esquemática as etapas da metodologia de estudo de novas drogas em Oncologia.

<b>Etapas pré-clínicas</b>	<b>Aquisição</b>  <b>Testes de atividade (triagem)</b>  - <i>In vitro</i>  - <i>In vivo</i>  <b>Produção em maior escala</b>  <b>Formulação</b>  <b>Estudos toxicológicos/farmacológicos em animais</b>
<b>Etapas clínicas</b>	<b>Estudos de fase I/ farmacocinética</b>  <b>Estudos de fase II</b>  <b>Estudos de fase III</b>  <b>Estudos de fase IV</b>

**Figura 2: Principais Etapas no Desenvolvimento de Novas Drogas Anticâncer**

## 1.6 USOS DA TALIDOMIDA EM ONCOLOGIA

Embora o modelo de angiogênese tumoral tenha sido proposto em 1971 por Folkman e colaboradores, que concluíram que a neoformação de capilares é essencial no crescimento tumoral e disseminação metastática (figura 3), a primeira vez que talidomida foi utilizada em pacientes com câncer foi em 1961 com o objetivo clínico de palição de sintomas atribuído a seus efeitos sedativos. A talidomida foi administrada em 21 pacientes com 14 tipos de neoplasias, com doses que variaram de 600 a 2500 mg/dia. Não foi observada nenhuma regressão tumoral, mas a palição subjetiva foi evidenciada em 7 pacientes, porém dois pacientes, um com sarcoma e outro com mieloma múltiplo, apresentaram uma lentificação da progressão tumoral (66).



**Figura 3: Angiogênese Tumoral**

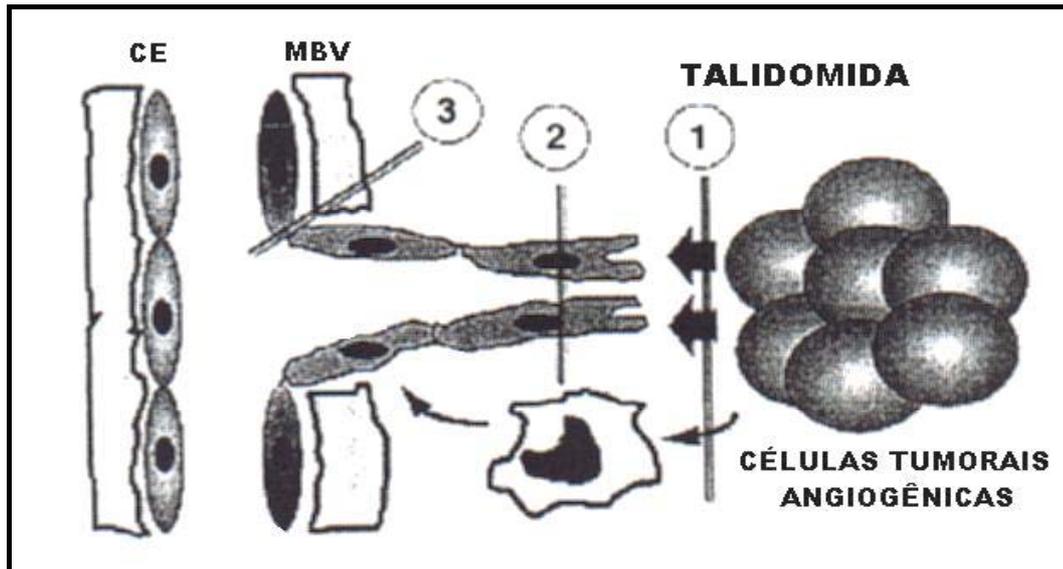
Fonte: Adaptado de Abeloff et al., p.244

Em 1965, através de uma análise retrospectiva feita por Grabstald,, foram revisados 71 prontuários de pacientes com diversos tipos de neoplasias metastáticas que foram tratados com talidomida em dosagens que variavam entre 300 a 2000 mg/dia. Como resultado deste estudo, verificou-se uma resposta objetiva em um paciente com câncer renal, o qual apresentou resposta completa nas lesões pulmonares metastáticas após nefrectomia e 3 meses de uso diário da talidomida oral (67).

### 1.6.1 Estudos pré-clínicos

Em 1983 demonstrou-se que a terapia antiangiogênica trazia involuções nos vasos sanguíneos e regressão tumoral em animais. Teoricamente as células endoteliais e as tumorais formam um ecossistema integrado, sendo que as células endoteliais possuem o potencial de troca de um estado de repouso para uma fase de crescimento rápido, chamado de fenótipo angiogênico, feito através do estímulo químico das células tumorais (68). No início da década de 90 ressurgiram as pesquisas utilizando talidomida em Oncologia, principalmente após D'Amato e colaboradores e Kruse e colaboradores publicarem estudos sobre a capacidade da talidomida em inibir a angiogênese (27,28).

Ambos estudos utilizaram um modelo experimental em córnea de coelho com hipervascularização induzida pelos fatores b-FGF e VEGF. Como resultado verificou-se que o uso da talidomida reduziu a área de vascularização que havia sido previamente induzida (27,28). A conclusão para estes estudos foi que a neoformação de capilares sanguíneos foi impedida pela talidomida. Assim, a angiogênese tornou-se novo alvo para a terapia anticâncer (figura 4).



**Figura 4: Estratégias de Terapia Antiangiogênica**

Fonte: Adaptado de Abeloff et al., p.246 (1) Bloqueio dos fatores angiogênicos; 2) Inibição de crescimento e migração da célula endotelial (CE); 3) Supressão da síntese e degradação da membrana basal vascular (MBV) e da matriz extracelular.

A neovascularização permite o rápido crescimento tumoral através de trocas de nutrientes e oxigênio; uma vez o tumor vascularizado ele receberá estímulos parácrinos das células endoteliais (fatores de crescimento) formando um ciclo. Vários fatores estimuladores e inibidores da angiogênese foram identificados. O VEGF é um estimulante mitótico das células endoteliais, já a talidomida é um inibidor da angiogênese, interferindo no crescimento, migração e formação dos túbulos das células endoteliais (68).

Devido ao fato da talidomida ter demonstrado uma significativa promessa no tratamento de alguns cânceres, seja como droga única ou em combinação com agentes citotóxicos, Ding e colaboradores em 2002 realizaram um estudo que avaliava a potencialização do efeito antitumoral da ciclofosfamida pela talidomida em camundongos. Neste estudo foi utilizado um modelo de tumor murino (côlon) em 38 camundongos (C57B1/6) implantado sub-cutaneamente (69).

As cobaias foram divididas em 2 grupos: um recebeu ciclofosfamida intraperitoneal e ao outro grupo foi acrescentada talidomida em dose única, também intraperitoneal. Foram dosados a concentração de ciclofosfamida, 4-hidróxi-ciclofosfamida, 4-ketociclofosfamida e 2-decloroetilciclofosfamida determinados no plasma, fígado e tumor. Os resultados mostraram que a ciclofosfamida sozinha (220 mg/kg) induziu retardo no crescimento tumoral por 11-13 dias mas não houve curas. Já no grupo que recebeu ciclofosfamida e talidomida (100mg/kg) observaram curas. O grupo que recebeu talidomida em baixas doses (1-20 mg/kg) mostrou potencialização do efeito antitumoral da ciclofosfamida (69).

Ainda no estudo acima citado, foi observado que a co-administração da talidomida na dosagem de 100mg/kg diminuiu de forma acentuada a depuração da ciclofosfamida e de seus metabólitos tanto no plasma quanto nos tecidos analisados. Desta forma foi relatado o aumento da área sob a curva (ASC) e o tempo máximo de concentração ( $T_{max}$ ) da droga. Frente aos resultados obtidos, a magnitude deste efeito foi relacionada como dose dependente do uso da talidomida (69).

A monoterapia com talidomida falhou em suprimir o crescimento tumoral em um modelo de câncer de cólon em ratos (26), no entanto em uma descoberta recente sobre a ativação antiangiogênica pelo metabolismo hepático percebeu-se que este metabólito ativo pode ser formado em seres humanos e coelhos, porém não em roedores. Neste estudo foi utilizado um modelo de aorta de ratos e outro de células endoteliais de aorta humana, nos quais foram adicionados microsomas humanos e de ratos. No modelo em que microsomas humanos ou de coelhos estavam presentes houve inibição da angiogênese porém o mesmo não foi visto com os microsomas de ratos (70).

O desenvolvimento de uma nova droga anticâncer 5,6-dimetilxantenona-4-ácido acético, (DMXAA) feita por pesquisadores neozelandeses, que demonstrou vários efeitos biológicos em diversas neoplasias, como a indução da síntese de TNF- $\alpha$ . Estudos *in vitro* avaliaram as interações deste novo agente com a talidomida. Foram utilizados microsossomos hepáticos de camundongos e humanos nos quais estudaram-se os metabolismos *in vitro*, tendo o diclofenaco como controle positivo. Foram examinados os efeitos do L-talidomida e diclofenaco nas ligações com as proteínas do plasma da DMXAA *in vitro*; extrapolando o resultado para prever as mudanças no DMXAA (71).

Estes dados foram comparados com os resultados dos estudos de farmacocinética em camundongos vivos. Tanto o diclofenaco quanto a talidomida aumentaram a ASC do DMXAA em camundongos, porém o efeito da talidomida não pode ser predito por este estudo *in vitro* (71). A co-administração do DMXAA com outros agentes tem mostrado aumento de sua atividade antitumoral e alterações na sua farmacocinética em modelos de camundongos. Quando administrada junto com talidomida notou-se um aumento significativo da ASC do plasma em camundongos, porém o mesmo não se observou em ratos (72-74).

Minchinton, em 1996 utilizou talidomida intraperitoneal em tumores murinos (SCCVII tumor pulmonar de Lewis), observando que não houve retardo no crescimento, entretanto houve uma redução da radiosensibilidade do tumor de Lewis e um aumento da sensibilidade ao tratamento combinado de radioterapia e tirapazamina, sugerindo uma hipóxia tumoral por mecanismos antiangiogênicos, além de redução de metástases pulmonares (75). Relacionada a câncer de próstata, em 1997, demonstrou-se que a talidomida aumenta a secreção de Antígeno Prostático Específico (PSA) em cultura de células humanas (76).

Desde a demonstração de Folkman e colaboradores, em 1971, que o crescimento tumoral é angiogênese-dependente a partir do isolamento do *tumor angiogenesis factor*, o papel da angiogênese no crescimento do tumoral e sua associação com metástases hematogênicas e sobrevida tem sido extensamente pesquisados. A angiogênese tornou-se um importante fator prognóstico independente em tumores sólidos (77), tais como nas neoplasias de mama (78-80), pulmão (81), trato genito-urinário (82,83), melanomas (84) e também nas neoplasias gastrintestinais, correlacionando-se com um pior prognóstico (85-90). Na tabela 1 encontra-se um resumo dos estudos descritos acima e seus respectivos resultados.

**Tabela 1 - Estudos Pré-clínicos com Talidomida**

Autor	Estudo	Resultados
Kruse e cols. (28). D'Amato (27)	Inibição da angiogênese em um modelo de córnea de coelho	Ação antiangiogênica da talidomida
Gutman e cols. (26)	Inibição da angiogênese em tumores de cólon em ratos	Falha como monoterapia
Ding e cols. (69).	Talidomida e ciclofosfamida em tumores murinos em camundongos	Aumento da ação tumoricida da ciclofosfamida pela talidomida
Bauer e cols. (70).	A inibição da angiogênese é espécie dependente	Descoberta de um metabólito hepático em humanos e coelhos responsável pela ação antiangiogênica
Zhou e cols. (72)	Uso de talidomida e DMXAA em ratos e camundongos	Potencialização da ação da DMXAA
Michinton e cols. (75)	Talidomida intraperitoneal em tumores murinos em camundongos	Aumento da sensibilidade ao quimioterápico e diminuição da radiosensibilidade por hipóxia tumoral.

Os resultados das pesquisas pré-clínicas *in vitro* e *in vivo* proporcionaram a realização de vários estudos clínicos de fase I e II utilizando potenciais inibidores da angiogênese tumoral em diversas neoplasias malignas refratárias. A talidomida, pela sua facilidade de administração por ser via oral, baixa toxicidade nos estudos até então realizados, e reconhecida ação antiangiogênica surgiu como uma droga promissora a ser utilizada em estudos clínicos.

### 1.6.2 Estudos clínicos de fase I

Em 1997 foram publicados os primeiros resultados de estudos de fase I envolvendo a talidomida. Nguyen e colaboradores apresentaram seus dados de 7 pacientes com neoplasia de mama metastática que se submeteram a tratamento combinado de quimioterapia (ciclofosfamida, methotrexate e 5-fluorouracil) e talidomida (100 a 300 mg/dia durante 4 semanas). Neste estudo a droga foi bem tolerada, obtendo-se 3 respostas parciais, 1 doença estável, 2 progressões e 1 perda de seguimento. As taxas de resposta não puderam ser adequadamente avaliadas devido a seu curto tempo de seguimento (1-6 meses) e ao número limitado de pacientes (91).

Politti e colaboradores, em 1998, desenvolveram um estudo com 12 pacientes com sarcoma de Kaposi, estes foram divididos em 4 grupos, recebendo 200, 300, 400 e 600 mg/dia de talidomida. Detectou-se 2 respostas parciais (grupos de 200 e 400) e 7 doenças estáveis (2 nos 3 primeiros grupos e 1 do último), o tempo médio de progressão foi de 4 meses e a sobrevivida variou de 4 a 18 meses. Neste estudo a toxicidade mais comum foi a sonolência, vista em 2 de 3 pacientes do grupo que utilizou 600mg (92).

Em 1999 a talidomida foi utilizada em um estudo envolvendo 24 pacientes idosos com câncer de próstata refratários a hormonioterapia. Estes pacientes foram divididos em 2 grupos, um recebendo 200 mg/dia e outro alcançando 1200 mg/dia em doses escalonadas com incrementos de 200mg. Os pacientes apresentaram boa tolerância, sendo que foi observada toxicidade grau 3 em 2 pacientes (neuromotora e constipação). Dois pacientes de cada grupo tiveram de 20-37% de declínio do PSA e 6 apresentaram doença progressiva (93).

Devido aos resultados pouco significativos no tratamento de melanoma, câncer de rim, ovário e mama com baixas doses de talidomida em um estudo de fase II realizado no *Royal Marsden Hospital* - Inglaterra (94), um recente estudo de fase I foi desenhado para utilizar a combinação de talidomida e temozolamida, demonstrando atividade desta combinação no tratamento de melanomas estádios clínicos III e IV refratários. Neste estudo utilizou-se 4 níveis de doses de temozolamida associado com escalonamento de dose de talidomida de 200 mg até 400 mg (95).

No estudo acima citado, foram incluídos 12 pacientes, sendo que 3 para cada nível de dose de temozolamida. Destes, 9 foram avaliados para parâmetros de resposta tumoral, sendo que um paciente apresentou resposta parcial (RP), 3 respostas mínimas (Rm), 1 resposta mista, 2 permaneceram com a doença estável (DE) e 2 tiveram progressão de doença (PD). A combinação foi bem tolerada pelos pacientes. Os eventos adversos mais comuns foram constipação e neuropatia graus 2 ou 3, atribuídos ao uso da talidomida (95). Na tabela 2 encontra-se um resumo dos estudos descritos acima, com seus respectivos resultados.

**Tabela 2 - Estudos Clínicos de Fase I com Talidomida**

Autor	N	Sítio	Tratamento	Resposta	Toxicidade
Nguyen e cols. (91)	7	Mama	Talidomida (100 a 300 mg) e CMF	3 RP , 1DE, 2PD	
Politi e cols.(92)	12	Sarcoma de Kaposi	Talidomida 4 grupos: 200, 300, 400, 600 mg	2 RP e 7 DE	Sonolência
Figg e cols. (93)	24	Próstata	Talidomida 2 grupos: 200 mg 200mg escalonando até 1200 mg	4 RP e 6 DE	Toxicidade neuromotora grau 3 e constipação
Hwu e cols. (95)	12	Melanoma	Talidomida e doses escalonadas de temozolamida	1 RP, 2 DE, 2 PD, 3 Rm	

RP = resposta parcial; DE = doença estável; PD = progressão de doença; RC = resposta completa; Rm = resposta mínima

### 1.6.3 Estudos clínicos de fase II

Baidas e colaboradores, em 2000, utilizaram a talidomida como droga única em pacientes com câncer de mama metastáticos tratados previamente com quimioterápicos. Neste estudo 28 pacientes foram randomizadas em 2 grupos para receber 200 mg/dia ou 800 a 1200 mg/dia. Não houve taxas de resposta em nenhum dos grupos, apenas doença estável por 8 semanas em 2 pacientes do grupo que usou 200 mg (96). Costa e colaboradores descreveram em 1998 que a talidomida exerce um efeito cardioprotetor em pacientes que façam uso de antraciclínicos (97).

Existem dois estudos envolvendo o sarcoma de Kaposi. Em um destes, Bower e colaboradores incluíram 17 homens que foram tratados com 200 mg/dia de talidomida durante 2 meses. Para avaliação geral das toxicidades houve boa tolerância, porém 5 pacientes interromperam o tratamento logo no início devido a efeitos colaterais como *rash* cutâneo e Síndrome de Raynaud e 2 pacientes abandonaram o tratamento. Em relação à resposta ao tratamento apenas 09 foram avaliados sendo que 2 pacientes progrediram e, dos 7 restantes, 5 apresentaram RP e 2 permaneceram com a DE (98).

No outro estudo publicado em 2000, de Little e colaboradores (99), incluíram 20 pacientes com sarcoma de Kaposi os quais usaram de 200 a 1000 mg/dia de talidomida por até um ano. As toxicidades mais frequentes apresentadas foram sonolência e depressão. Para avaliação de resposta da doença foi observado 8 RP e 2 DE, com uma duração média de 6,3 meses de tratamento, em uma dose média de 500 mg/dia e sendo que a média da PD foi observada em 7,3 meses.

A talidomida também já foi testada em pacientes com câncer de rim metastático, demonstrando baixas taxas de respostas objetivas, porém sugerindo que possa haver um efeito de dose-dependência na estabilização da doença (100,101). Minor e colaboradores (102), em 2000, trataram 15 pacientes com câncer renal metastático com doses crescentes de 200 a 1200 mg/dia. Para avaliação de resposta e toxicidade foram considerados 12 pacientes, 1 teve resposta parcial, 1 resposta mínima, 3 doenças estáveis e 7 progressões. As toxicidades mais comuns neste estudo foram a sonolência e a constipação.

Outro estudo em câncer renal, realizado por Vuky e colaboradores, utilizou doses de 200 a 800 mg/dia, onde não foram observadas respostas nos 25 pacientes avaliados, embora 3 destes pacientes apresentavam DE no momento da publicação dos resultados. Como principais toxicidades observou-se a neuropatia periférica e dispnéia (103). Novik avaliou 27 pacientes refratários a imunoterapia, utilizando uma dose máxima de 1000 mg/dia de talidomida, nenhuma resposta objetiva foi observada, sendo que houveram 3 interrupções devido a toxicidades graus 2-3 (*rash*, constipação e sonolência) e 2 casos de trombose venosa profunda. Entretanto 7 pacientes tiveram DE por pelo menos 4,5 meses (104).

Ainda em pacientes com câncer renal, que progrediram após o uso de IL-2, foram avaliados 34 pacientes que utilizaram doses de talidomida entre 200 a 1200 mg/dia. Dentre as toxicidades apresentadas observou-se parestesia, sedação, anemia, fadiga e constipação. Durante a avaliação de resposta 2 pacientes apresentaram RP e 10 DE (105). Resultados semelhantes foram vistos em outro estudo onde se avaliou a resposta em 33 pacientes que receberam entre 400 mg e 1200 mg, no qual 11 pacientes permaneceram com DE e 22 tiveram PD. Neste estudo as toxicidades mais comuns foram constipação, letargia e fadiga, sendo que a neuropatia periférica foi vista em 6 pacientes e a trombose venosa profunda em 9 (106).

Nathan e colaboradores propuseram a combinação de IFN- $\alpha$  e talidomida para tratar câncer renal. No desenho do estudo foi estabelecida uma dosagem escalonada de 100 até 400 mg/dia de talidomida com início após duas semanas de uso de IFN- $\alpha$ . Este estudo foi fechado após a inclusão de 13 pacientes em virtude da alta toxicidade apresentada, como neuropatias, distúrbio visuais e sintomas epileptiformes relacionados à combinação destas duas drogas. Para o mesmo não foram evidenciadas respostas objetivas (107).

O uso de talidomida em altas doses foi estudado em um grupo de 25 pacientes com adenocarcinoma renal avançado que haviam progredido após terapia inicial ou que não eram aptos para imunoterapia. A dose de talidomida foi fornecida de forma escalonada até alcançar o objetivo de 600 mg/dia. Destes, 22 pacientes foram avaliados quanto à resposta, dos quais 2 tiveram RP, 7 DE por 6 meses e 5 PD entre 3 e 6 meses. As toxicidades mais comuns foram letargia, constipação e neuropatia (100).

No estudo acima descrito foram mensurados os níveis de TNF- $\alpha$ , b-FGF, VEGF, IL-6 e IL-12 antes e durante o tratamento. Nos pacientes com DE por mais de 3 meses ou naqueles com resposta objetiva houve uma significativa diminuição nas dosagens séricas do TNF- $\alpha$ , com um  $P=0.05$ , demonstrando a ação antiangiogênica da talidomida em tumores sólidos e demonstrando que as neoplasias renais podem vir a ser alvos de terapias antiangiogênicas (100).

Respostas também foram analisadas em tumores do SNC por Fine e colaboradores, em 2 estudos. Em 2000, 36 pacientes com glioma multiformes recorrentes pós-tratamento utilizaram doses de talidomida entre 800 e 1200 mg/dia. Houve 2 RP, 2 Rm e 12 DE. Destes pacientes, 5 receberam menos de 3 semanas de tratamento devido a efeitos colaterais e não foram avaliados. Após a talidomida, 8 pacientes tiveram mais de 1 ano de sobrevida, embora com progressão tumoral. Avaliaram os fatores angiogênicos, fazendo-os em 16 pacientes. Nestes, os níveis de bFGF correlacionaram-se com a resposta clínica, ao contrário do verificado com os níveis de VEGF (108).

As principais toxicidades foram novamente constipação e sedação; neuropatia moderada foi observada em um dos pacientes que realizou o tratamento por mais de 1 ano. Este mesmo grupo publicou os resultados de um estudo fase II no qual utilizavam a combinação da talidomida com carmustina (BCNU) em gliomas recorrentes de alto grau. A dose inicial da talidomida foi de 800 mg/dia durante 2 semanas, seguida da administração de 200 mg/m<sup>2</sup> de BCNU a cada 6 semanas, quando então a dose de talidomida era aumentada para 1200 mg/dia (109).

Na combinação feita por Fine e colaboradores o tratamento foi bem tolerado e 38 dos 40 pacientes incluídos no estudo foram avaliados para resposta. Observou-se 1 resposta completa (RC), 4 RP, 1 Rm 16 DE. A combinação foi considerada segura e bem tolerada, com taxas de resposta e sobrevida superiores aos dos agentes usados de forma isolada, demonstrando que os pacientes com glioblastomas recorrentes podem beneficiar-se do uso da talidomida (109).

Em 2 estudos clínicos a talidomida teve resultados negativos. Tseng e colaboradores avaliaram o uso de talidomida em carcinoma epidermóide metastático ou recorrente de cabeça e pescoço, porém os resultados não foram animadores. Em 17 pacientes que receberam de 200 a 1000 mg/dia, 16 progrediram e um teve morte precoce. Apesar da ausência de respostas a talidomida foi bem tolerada (110). Os efeitos da talidomida como agente único em baixas doses (100 mg/dia) e altas doses (600 mg/dia) no tratamento de melanomas foi investigada em dois estudos do *Royal Marsden Hospital* onde não se demonstrou nenhuma atividade significativa (94).

Encontra-se em andamento um estudo de fase II coordenado por Patt e colaboradores, em pacientes com hepatocarcinoma irresssecável utilizando doses de 400 a 1000 mg/dia. Até o momento foram incluídos 21 pacientes, sendo que destes já se contabiliza 5% com RP, 5% com Rm e 48% de DE. As respostas foram relacionadas ao decréscimo da alfa-feto-proteína em até 25% e a tolerância dos pacientes tem sido boa, com as principais toxicidades sendo sonolência e *rash* cutâneo (111).

A mesma doença está sendo avaliada por Kong em um estudo em que já incluiu 23 pacientes que receberam talidomida em doses escalonadas chegando a uma média de 300 mg/dia. As toxicidades mais comuns foram fadiga, sonolência, prurido, *rash* cutâneo e constipação. Onze pacientes foram avaliados, sendo observado 1 RP, 4 DE e 6 PD. A resposta parcial foi mantida por 24 meses, associada com queda da alfa-feto-proteína (112). Os dois estudos mencionados em pacientes com hepatocarcinoma demonstram que a patologia pode responder ao manejo antiangiogênico.

Um estudo de fase II, demonstrou a efetividade da talidomida em vários tumores sólidos avançados. No estudo de fase II, utilizou-se baixas doses de talidomida (100 mg/dia) em 66 pacientes até a progressão ou toxicidade inaceitável. O grupo era formado por 19 pacientes com tumores de ovário, 18 com câncer de rim, 17 com melanoma e 12 com câncer de mama. Três pacientes com tumor de rim mostraram RP e 3 tiveram DE durante 6 meses. Embora não se tenha obtido respostas objetivas, houve uma melhora considerável no sono e apetite dos pacientes. Neste estudo, observou-se que os níveis mais elevados de bFGF, VEGF e TNF $\alpha$  foram associados com progressão de doença (113).

Já em um estudo de fase I/II, testou-se a talidomida em tumores avançados em SNC, melanoma, cólon, mesotelioma e rim. A talidomida foi iniciada com doses de 100 mg/dia, aumentando-se gradativamente até alcançar 500 mg/dia. Publicaram-se respostas para 33 pacientes e dados de toxicidade para 45. Houve 2 RP em glioblastomas e 10 dos demais casos tiveram a DE, porém a duração não foi referida. A talidomida foi bem tolerada e seus efeitos colaterais mais comuns foram a sonolência e a fadiga (114).

Existe um estudo piloto em andamento o qual associa talidomida com quimioterápicos (paclitaxel e carboplatina) em pacientes com câncer de pulmão não-pequenas células avançado. Até o presente momento foram incluídos 9 pacientes. As toxicidades mais comuns têm sido fadiga, constipação, mialgia e neuropatia, nenhuma delas grau 4. A dose máxima tolerada foi de 700 mg/dia e os 9 pacientes apresentam doença estável, com uma progressão após o terceiro ciclo (115).

As melhores respostas da talidomida na área oncológica estão entre os pacientes com mieloma múltiplo refratário de alto risco. Resultados encorajadores têm sido obtidos com o uso da droga como monoterapia, obtendo reduções da proteína de Bence-Jones na urina em menos de 6 semanas em 30% dos pacientes e melhora clínica em pelo menos 60% de pacientes com mielodisplasia (116-118). Singhal e colaboradores, em um estudo com 89 pacientes utilizaram doses escalonadas de 200 a 400 mg/dia de talidomida. Destes pacientes, 80% receberam talidomida por pelo menos 4 semanas. Dez tiveram resposta maior que 75%, 8 tiveram entre 51-75% e 12 entre 21-50% (118).

No citado estudo de Singhal e colaboradores, em 30 pacientes que responderam, a taxa de citorredução média foi de 61% e o tempo médio de resposta variou entre 20-35 dias. Com relação aos efeitos colaterais apresentados, 67 pacientes tiveram problemas neurológicos tais como sonolência e tonturas, e 59 pacientes apresentaram problemas constitucionais como astenia e febre. Oito pacientes tiveram que interromper a droga devido à toxicidade neurológica acentuada (118).

Frente aos resultados obtidos, Barlogie e colaboradores estão desenvolvendo um outro estudo que avalia a combinação da talidomida com quimioterapia (dexametasona, cisplatina, etoposide, doxorubicina e ciclofosfamida) em pacientes com mieloma e leucemia de células plasmáticas. Dados preliminares de 10 pacientes já foram publicados, sendo que 5 já foram avaliados. Houve 3 RC após um único ciclo de 21 dias (um paciente com leucemia refratária e dois com recidivas pós-transplante autólogo); o quarto paciente teve redução de lesões e o quinto teve resolução da plasmocitose medular. Todos os 5 pacientes tinham anormalidades do cromossomo 13 (119).

Moeler e colaboradores estudaram esta mesma combinação, resultando em uma taxa de 68% de respostas em 50 pacientes com mieloma múltiplo de pobre prognóstico (120). O uso de talidomida em mieloma múltiplo sem tratamento prévio ou de evolução lenta ou ainda recidivado, foi publicado como um estudo fase II por Rajkumar e colaboradores, com 84 pacientes incluídos, sendo destes, 42 sem tratamento prévio, 26 com doença ativa e 16 de evolução lenta. Os pacientes sem tratamento prévio foram tratados com uma combinação de dexametasona e 200 mg/dia de talidomida, enquanto que os demais recebiam doses escalonadas de 200 a 800 mg/dia (121).

No estudo de Rajkumar e colaboradores foi considerada resposta um decréscimo da proteína monoclonal urinária e sérica de pelo menos 50%. Os resultados demonstraram 76% de resposta nos pacientes não tratados, 38% naqueles que possuíam evolução lenta e 33% nos que eram recidivados. As toxicidades comumente apresentadas foram do *rash* cutâneo, sedação, neuropatia, sonolência, síncope e neutropenia. Este estudo comprova a alta responsividade do mieloma múltiplo à terapia com a talidomida (121).

Existem muitos estudos em andamento abordando o tratamento de tumores sólidos, combinando talidomida a quimioterápicos e imunoterápicos, como com docetaxel em pacientes com câncer de próstata, e irinotecano em pacientes com neoplasias de cólon e reto refratárias (122-124). Já o estudo do Grupo Oncológico Cooperativo do Leste (ECOG), que combina a talidomida com interleucina-2 ou interferon-alfa para pacientes com câncer de rim alerta que o número de acidentes tromboembólicos aumenta consideravelmente com as combinações de drogas, fato corroborado por Singhal em seus estudos com mieloma múltiplo (118,125).

Um estudo de fase II, recentemente concluído, utilizou talidomida em doses escalonadas, iniciando com 200 mg/dia até atingir 800 mg/dia, incrementando 200 mg a cada 15 dias, como monoterapia em pacientes com adenocarcinoma de cólon e de reto metastáticos e refratários a quimioterapia. Neste estudo não foram observadas respostas e as toxicidades mais evidenciadas foram constipação, sonolência e parestesia. Houve um paciente que foi retirado do estudo por dermatite grau 3 secundária à talidomida (126). Um resumo dos estudos de fase II encontra-se descrito na tabela 3.

**Tabela 3 - Estudos de Fase II com Talidomida**

Autor	n	Sítio	Tratamento	RP	DE	PD	RC
Baidas e cols. (96)	28	Mama	Talidomida	-	2	25	-
Fine e cols. (108)	36	SNC	Talidomida	4	12	20	-
Fine e cols. (109)	38	SNC	Talidomida e BCNU	5	16	16	1
Bower e cols. (98)	11	Kaposi	Talidomida	5	2	4	-
Little e cols. (99)	16	Kaposi	Talidomida	8	2	6	-
Tseng e cols. (110)	17	Cabeça e pescoço	Talidomida	-	-	16	-
Minor e cols. (102)	15	Rim	Talidomida	2	3	7	-
Vuky e cols. (103)	26	Rim	Talidomida	-	3	22	-
Novik e cols. (104)	27	Rim	Talidomida	-	7	17	-
Li e cols. (105)	34	Rim	Talidomida	2	10	22	-
Escudier e cols. (106)	33	Rim	Talidomida	-	11	22	-
Nathan e cols. (107)	13	Rim	Talidomida e IF-alfa	-	-	13	-
Patt e cols. (111)	21	Fígado	Talidomida	2	10	9	-
Kong e cols. (112)	11	Fígado	Talidomida	1	4	6	-
Eisen e cols. (113)	66	Tumores sólidos	Talidomida	3	3	60	-
Marx e cols. (114)	33	Tumores sólidos	Talidomida	2	11	20	-
Merchant e cols. (115)	9	Pulmão	Talidomida, paclitaxel e carboplatina	-	8	1	-
Singhal e cols. (118)	89	Mieloma múltiplo	Talidomida	30	-	-	-
Barlogie e cols. (119)	10	Leucemia e mieloma	Talidomida e quimioterapia	2	3	-	-
Rajkumar, e cols. (121)	84	Mieloma	Talidomida	33 a 76%	-	-	-

RP = resposta parcial; DE = doença estável; PD = progressão de doença; RC = resposta completa.

## 1.7 FARMACOCINÉTICA DA TALIDOMIDA

O uso racional da talidomida ainda é discutido devido à necessidade de um esclarecimento mais detalhado de seu mecanismo de ação, dos efeitos da separação de seus enantiômeros e da dose, metabólitos e efeitos da concentração entre eles. Os resultados de diversos estudos sobre a farmacocinética já publicados podem ser questionados pela pobre metodologia e pelo uso de análise não-estéreo-específicas. Alguns estudos sugerem que a biodisponibilidade, pico e a ASC de concentração plasmática, da talidomida oral na sua forma racêmica seja alta, porém outros afirmam que esta ainda não foi claramente esclarecida.

A dificuldade em determiná-la ocorre em parte pela sua baixa solubilidade aquosa em sua forma racêmica. Esta baixa solubilidade não parece ser pela sua estrutura lipofílica, uma vez que esta droga possui uma distribuição relativa entre fases aquosas e lipídicas a cerca de 2:1. Entretanto seus 4 grupos carboxila interagem através de ligações de Hidrogênio resultando em uma relativa insolubilidade aquosa (31,46,127). Sua absorção pelo trato gastrointestinal é lenta, com um  $t_{max}$  no plasma de pelo menos 2 horas, e pode ser dose dependente; entretanto a separação de seus enantiômeros pode aumentar esta concentração devido à alta solubilidade aquosa, cerca de 3-5 vezes mais solúveis e logo, mais absorvíveis (31,93,129).

Estima-se que a dificuldade em determinar o volume de distribuição da talidomida seja pela provável hidrólise e inversão quirállica feita em compartimentos periféricos, acredita-se que um valor em torno de 1L/kg seja possível. A ligação a proteínas do plasma é baixa com poucas diferenças entre seus enantiômeros (31). A eliminação da talidomida é particularmente pH-dependente por hidrólise espontânea em todos os fluidos do corpo com uma aparente depuração média de 10 L/h para o enantiômero (R)- e 21 L/h para o enantiômero (S)- em adultos (31).

As concentrações sanguíneas da forma (R) - são conseqüentemente mais altas que a forma (S)- em um pseudoequilíbrio. A média da meia-vida de eliminação das duas formas é de 5 hs. *In vivo* a inversão quirállica ocorre principalmente na circulação e em locais ricos em albumina (31). Um metabólito hidroxilado foi encontrado em baixas concentrações no sangue. Uma vez que o metabolismo enzimático e a excreção renal possuem um papel menor na excreção da talidomida o risco de interação com outras drogas é considerado baixo (31).

A talidomida não induz ou inibe o seu metabolismo; quando a droga é administrada em homens sadios em dosagem de 200 mg por dia por 18 dias parâmetros farmacocinéticos similares são observadas do primeiro ao último dia (46). Quando administrada em doses que vão aumentando, em indivíduos sadios, a extensão da absorção, medida pela ASC, aumenta proporcionalmente com a dose. Entretanto o pico de concentração plasmática ( $C_{max}$ ) do aumento de dose é menor proporcionalmente àquele atingido pelas doses mais baixas, indicando que a baixa solubilidade da talidomida afeta a sua taxa de absorção oral. A mediana da concentração do pico plasmático geralmente fica em 2,5-6 horas após a dose (129).

As mudanças na farmacocinética relacionadas com a idade não foram observadas em indivíduos saudáveis (46), pacientes com hanseníase com idades entre 29-69 anos (46) ou com câncer de próstata com idades entre 55-80 anos (93). A farmacocinética da talidomida não foi estudada em indivíduos com idade abaixo de 18 anos (46). Estudos limitados indicaram que não existem diferenças na farmacocinética da talidomida em mulheres e homens (46). Pesquisas específicas não foram feitas para determinar se existem diferenças relatadas entre diferentes grupos étnicos (46). A farmacocinética da talidomida também não foi determinada em pacientes com insuficiência hepática ou renal (46).

Baseada nos estudos em indivíduos adultos saudáveis (130) e em pacientes infectados pelo HIV (131), a farmacocinética da talidomida pode ser descrita por um modelo compartimental único com absorção de primeira ordem e eliminação (130,132 ). Os resultados de estudos em voluntários sadios indicaram que o acúmulo da talidomida no organismo não ocorre e que parâmetros farmacocinéticos são similares em doses únicas ou múltiplas (130).

#### 1.7.1 Estudos *in vitro* e em animais

Quando testada em modelo de roedores este medicamento mostrou uma baixa toxicidade, sendo que os níveis de DL50 não puderam ser determinados (45). Estudos prévios *in vitro* utilizando microsomas de ratos sugeriram que a talidomida seja metabolizada pelo sistema de citocromos P450 (CYP). No estudo feito por Teo SK e colaboradores, examinou-se a extensão do metabolismo da talidomida em preparações contendo microsomas contendo isoenzimas CYP clonadas de humanos, microsomas humanos e em pacientes com hanseníase (133).

Os resultados indicaram que a talidomida era um pobre substrato para as isoenzimas CYP, além de não inibir o metabolismo CYP-específico nos substratos, sendo portanto improvável sua interação com outras drogas que metabolizadas por este sistema de enzimas. Os pacientes com hanseníase que participaram do estudo tiveram coletados o sangue e a urina após 72 hs da ingestão de 400 mg de talidomida. Embora a droga estivesse presente no plasma e na urina nenhum metabólito foi encontrado no sangue e uma baixa dose do metabólito 5-OH talidomida foi encontrado na urina. Estes resultados sugeriram que a talidomida não possui um metabolismo significativo pelo CYP e que a droga não interage com outras que utilizem este sistema (133).

Embora não haja metabólitos plasmáticos ou urinários (93,39), o metabólito hepático da talidomida parece ser responsável pelas atividades antiangiogênicas em coelhos e humanos, no entanto o mesmo não foi demonstrado em roedores, o que demonstra mais uma vez a natureza espécie-específica da talidomida (39). A principal rota de eliminação da talidomida parece ser a hidrólise não enzimática, pois somente 0,7% da droga hidroxilada foi detectada na urina, significando que para eliminação da droga a insuficiência renal não implicaria em danos (32).

### 1.7.2 Estudos em humanos

A farmacocinética no plasma e a excreção urinária da talidomida foram estudadas por Chen TL e colaboradores, utilizando para isto 8 voluntários sadios, que receberam uma única dose de 200 mg. A média da  $C_{max}$  foi de  $1,15 \pm 0,2 \mu\text{g/ml}$ , atingida em  $4,39 \pm 1,27 \text{ h}$ ; a meia-vida ( $t_{1/2}$ ) de absorção e eliminação foram respectivamente  $1,70 \pm 1,05 \text{ h}$  e  $8,70 \pm 4,11 \text{ hs}$  respectivamente, com um atraso de  $0,41 \pm 0,17 \text{ hs}$  observado em 6 voluntários. O volume de distribuição aparente ( $V_d/f$ ) e a taxa de depuração corporal total ( $CL/f$ ), baseado em uma completa bioavaliabilidade, foi de  $120,69 \pm 45,36 \text{ litros}$  e  $10,41 \pm 2,04 \text{ L/h}$  (130).

No estudo acima a excreção urinária da talidomida foi de apenas  $0,6 \pm 0,22\%$  da dose total administrada em 24 horas, com uma depuração renal de  $0,08 \pm 0,03 \text{ L/h}$ , sugerindo que a rota de eliminação da talidomida seja não-renal (130). Já em um estudo com mulheres saudáveis adultas de 21-45 anos que receberam dose única de 200 mg de talidomida em cápsulas apresentaram uma  $C_{max}$  de  $2,3\text{-}3,2 \mu\text{g/ml}$ , atingidos em 6 horas (134,135). Em voluntários adultos saudáveis que receberam doses únicas de 50, 200 ou 400 mg a mediana da  $C_{max}$  foi de 0,62, 1,76 e 2,82  $\mu\text{g/ml}$ , atingidos em 2,9, 3,5 e 4,3 horas respectivamente após a ingestão da droga (129).

Em pacientes com hanseníase e voluntários sadios que receberam a droga na dosagem de 400 mg/dia, o  $t_{max}$  variou de 2,9 a 5,7 horas, com um pico plasmático de 3,44  $\mu\text{g/ml}$  (29). Figg e colaboradores observaram uma variedade similar aos estudos citados em 24 pacientes idosos com câncer de próstata refratários à hormonioterapia, onde uma variabilidade da  $C_{max}$  se deu entre 2 a 7,1 horas. Trata-se do único estudo em que são avaliados os parâmetros farmacocinéticos em pacientes com neoplasias (93).

Estes pacientes foram randomizados em dois grupos, sendo que em um deles foram administradas doses de 200 mg de talidomida (grupo de dose baixa, 13 pacientes); no outro grupo iniciou-se com 800 mg no primeiro dia, sendo que no segundo dia utilizaram-se doses de 200 mg, porém com escalonamento de dose (200 mg a cada duas semanas) até os valores de 1200 mg (alta dose, 11 pacientes). Foram estipulados pontos de coleta no dia 1 (0,5 – 1 – 1,5 – 2 – 3 – 4 – 5 – 7 horas após a ingestão da primeira cápsula) e no dia 2 (24 – 27 e 31 horas após a ingestão) (93).

A depuração oral e o volume de distribuição para o grupo da baixa dose foi respectivamente de  $7,41 \pm 2,05$  L/h e  $66,93 \pm 34,27$  L, enquanto que o grupo que recebeu doses mais elevadas apresentou valores de  $7,21 \pm 2,89$  L/h e  $165,81 \pm 84,18$  L, respectivamente. A meia-vida de eliminação para os grupos de baixa e alta dosagem foi de  $6,52 \pm 3,81$  e  $18,25 \pm 14,08$  hs respectivamente. Após a dosagem múltipla a depuração e o volume aparente de distribuição para o grupo de baixa dosagem foi de  $6,35 \pm 1,64$  L/h e  $64,63 \pm 23,20$  L, respectivamente; enquanto que o grupo que recebeu doses mais elevadas apresentou valores de  $7,73 \pm 2,27$  L/h e  $167,85 \pm 82,08$  L, respectivamente (93).

A  $t_{1/2}$  de eliminação para os grupos de baixa e de alta dose foram  $7,08 \pm 1,87$  e  $16,19 \pm 9,57$  h, respectivamente. Para ambos grupos o  $Vd/f$  e a  $t_{1/2}$  foram mais altos no grupo que recebeu doses mais elevadas. A  $t_{1/2}$  de eliminação apresentou variações de acordo com da dose usada (93), sendo que em pacientes com hanseníase que utilizaram 400 mg/dia foi de 5 a 7 horas (45,32), enquanto aqueles que usaram em câncer de próstata e receberam 1200 mg/dia apresentaram 19,25 a 14,08 horas (93).

No estudo de Figg e colaboradores, a taxa de depuração total nos pacientes com câncer de próstata foi de  $10,41 \pm 2,04$  L/h. A excreção urinária foi considerada baixa ( $0,6 \pm 0,22\%$  da dose total de 24h) indicando uma rota predominantemente não renal de excreção (93,39). A disfunção renal, conforme citou Chen, não parece interferir no metabolismo da droga (33), porém a insuficiência hepática interferiria, não na sua eliminação, mas na produção de seu metabólito antiangiogênico. A talidomida pode ser detectada no plasma a partir de 24h após a dose oral de 200mg (45).

Piscitelli e colaboradores estudaram a farmacocinética da talidomida em pacientes portadores de HIV, com doses de 100 e 300 mg/dia, com pontos de coleta semelhantes. No grupo que utilizou 100 mg a  $C_{max}$  foi de  $1,17 \pm 0,21$   $\mu\text{g/ml}$ , o  $t_{max}$  foi de  $3,4 \pm 1,8$  hora, com uma depuração oral de  $9,2 \pm 1,2$  L/h, um  $Vd/f$  de  $87,8 \pm 12,9$  L,  $t_{1/2}$  de eliminação de  $6,5 \pm 3,4$  h e ASC de  $11,05 \pm 1,51$   $\mu\text{g h/ml}$ . Já o grupo que utilizou 300 mg apresentou uma  $C_{max}$  de  $3,47 \pm 1,14$   $\mu\text{g/ml}$ , atingindo uma  $t_{max}$  em  $3,4 \pm 1,5$  hora, com uma depuração oral de  $7,8 \pm 1,8$  L/h, com um  $Vd/f$  de  $78,2 \pm 22,4$  L e uma  $t_{1/2}$  de eliminação de  $5,7 \pm 0,6$  hora (129).

A avaliação da segurança, tolerabilidade e farmacocinética da talidomida em pacientes infectados com HIV foi conduzida no *AIDS Clinical Trials Group*. O objetivo era melhorar a bioavaliabilidade da talidomida nestes pacientes em um estudo controlado com placebo, junto com um escalonamento de dose de um estudo fase I. Pacientes com contagens celulares de CD4 entre 200 e 500 células/mm<sup>3</sup> foram randomizados em 3 grupos de 12 pacientes: 50, 100 ou 150 mg de talidomida ou recebendo placebo. A  $C_{max}$  da talidomida aumentou com o escalonamento da dose, mas o  $t_{max}$  e a depuração não diferiram entre os grupos (136).

Em outro estudo, também do *AIDS Clinical Trials Group* pesquisou-se a farmacocinética e a farmacodinâmica da talidomida em pacientes com HIV e úlceras aftosas orais. Cada paciente recebeu uma dose diária de 200 mg de talidomida por um período de 4 semanas. Os estudos de farmacocinética foram realizados em 7 pacientes nos quais foram coletadas amostras seriadas durante a primeira e a quarta semana. Os parâmetros foram determinados usando análise de farmacocinética não-compartimental. A média da depuração da talidomida foi de 0.14 +/- 0.08 e 0.12 +/- 0.05 l/h/kg nas semanas 1 e 4 (P=0.72), enquanto que a média da  $t_{1/2}$  foi de 5.7 +/- 1.5 e 7.3 +/- 1.7 horas (P=0.12) (137).

Um outro estudo randomizado, também com pacientes HIV positivos pesquisou a farmacocinética da talidomida em pacientes assintomáticos nas dosagens de 100 e 200 mg. Observou-se neste estudo que a talidomida é absorvida, com uma  $t_{1/2}$  de absorção de 0.95 hs para 100 mg e 1.19 hr para 200 mg (medianas). A  $C_{max}$  foi de 1,15±0.24 µg/ml para 100 mg e 1,92±0,47µg/ml para 200 mg, com  $t_{max}$  de 2,5±1,5 hr e 3.3±1.4 hr para 100 e 200 mg respectivamente. A  $C_{max}$  diminuiu posteriormente, apresentando uma  $t_{1/2}$  de eliminação de 4.6+-1.2hr (100mg) e 5.3+-2.2hr (200mg) (138).

O efeito da alimentação na farmacocinética da talidomida e sua relativa biodisponibilidade nas duas formulações orais foi pesquisado em um estudo randomizado em voluntários sadios conduzidos por Teo SK e colaboradores. Participaram do estudo 5 homens e 8 mulheres que receberam 200 mg de talidomida cápsulas (sob condições de jejum e sem jejum), e 200 mg de talidomida comprimidos (em condições de jejum). Uma refeição de alto teor de gordura resultou em um atraso de 0,5-1,5h na absorção, resultando em um aumento na mediana da  $C_{max}$  e um a diminuição da mediana da ASC além de um retardo na mediana da  $t_{max}$  (139).

A apresentação em comprimidos resultou em uma redução da  $C_{max}$ , além de uma lentificação do declínio das concentrações de talidomida no plasma quando comparadas com as das cápsulas. A mediana da  $C_{max}$  foi  $1.99 \pm 0.41 \mu\text{g/ml}$  com a forma encapsulada obtendo  $4.00 \pm 1.13 \mu\text{g/ml}$  naqueles em jejum,  $2.17 \pm 0.51 \mu\text{g/ml}$  com  $6.08 \pm 2.33 \text{ h}$  para a formulação encapsulada dada com alimento, e  $1.05 \pm 0.31 \mu\text{g/ml}$  com  $6.23 \pm 1.88 \text{ h}$  para a formulação em comprimidos dada em jejum (139).

A mediana da  $t_{1/2}$  foi  $13.50 \pm 6.77$  para o produto em comprimidos, comparado com  $5.80 \pm 1.72 \text{ h}$  e  $5.09 \pm 1.03 \text{ h}$  do produto encapsulado dado em jejum e com alimento, respectivamente. A forma encapsulada exibiu uma ligeiramente uma melhor bioavaliabilidade, a mediana da  $C_{max}$  foi aproximadamente 2 vezes melhor que a forma de comprimidos. O alimento atrasa o início da absorção em 0,5-1,5h, mas possui um pequeno efeito na absorção da forma encapsulada (139).

Enquanto evidências que a biodisponibilidade oral (pico de concentração plasmática e ASC) da talidomida pode ser maior em pacientes com hanseníase que em indivíduos saudáveis (41), resultados de estudos de dose única indicaram que pacientes com HIV possuem bioavaliabilidade similar aos indivíduos saudáveis (41). Na tabela 4 são apresentados, em uma forma esquemática, os estudos clínicos da farmacocinética da talidomida discutidos acima.

**Tabela 4 – Estudos Clínicos de Farmacocinética da Talidomida**

Autor	Estudo	Resultado
Chen e cols.(130)	Talidomida 200 mg em voluntários sadios	Média de $C_{max}$ : $1,15 \pm 0,2 \mu\text{g/ml}$ em $4,39 \pm 1,17\text{hs}$ $t_{1/2}$ de absorção: $1,70 \pm 1,05\text{h}$ $t_{1/2}$ de eliminação: $8,70 \pm 4,11$ Rota de eliminação não-renal
Crawford e cols.(29)	Talidomida 200mg em pacientes com hanseníase	Taxa de $C_{max}$ 2,9-5,7 hs Baixa excreção renal
Figg e cols.(93)	Talidomida 200mg em pacientes com câncer de próstata	A $t_{1/2}$ de eliminação varia com a dose
Piscitelli e cols.(129)	Talidomida 100 e 300mg em pacientes com HIV+	Lenta absorção da droga
Wohl e cols (136)	Talidomida em 3 grupos: 50,100 e 150 mg Pacientes HIV+ assintomáticos	A concentração sérica aumentou com o escalonamento de dose, mas o $t_{max}$ e a $CL/f$ não modificaram.
Aweka e cols.(137)	Talidomida 200mg Pacientes HIV+ com úlceras aftosas	Poucos efeitos na $CL/f$ da droga
Youlke e cols.(138)	Talidomida 100 e 200 mg Pacientes HIV+ assintomáticos	$C_{max}$ $1,15 \mu\text{g/mL}$ em 100mg e $1,92 \mu\text{g/mL}$ em 300mg
Teo e cols (133)	Dieta rica em gorduras agindo na bioavaliabilidade da talidomida em pacientes sadios	O alimento atrasa a absorção em 0,5-1,5h, mas seu efeito é pequeno

## 1.8 JUSTIFICATIVA

Após a revisão da literatura, verificou-se que não existem estudos em um número suficiente que descrevam a farmacocinética da talidomida como droga única em pacientes com tumores sólidos. Estes estudos foram apenas realizados em indivíduos sadios, com doenças benignas e em pacientes com câncer de próstata.

Devido ao crescente interesse quanto à atividade antitumoral da talidomida, como agente antiangiogênico, é altamente desejável que se conheça o seu comportamento farmacocinético em um número significativo de pacientes, os quais representem a multiplicidade de tipos de tumores malignos observados na clínica.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

O objetivo geral deste trabalho é caracterizar a segurança, atividade antitumoral e os principais parâmetros farmacocinéticos da talidomida em pacientes com tumores sólidos refratários em estudo de fase II em nossa instituição.

### 2.2 ESPECÍFICOS

Identificar um modelo farmacocinético compartimental que melhor se aplique ao uso oral da talidomida nesta população de pacientes.

Determinar os principais parâmetros farmacocinéticos da talidomida no plasma dos pacientes incluídos no estudo, quais sejam:

- a) Área sob a curva (ASC);
- b) Área sob o primeiro momento da curva (ASMCO);
- c) Depuração corporal total sobre a biodisponibilidade ( $CL/f$ );
- d) Concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ );
- e) Constante de eliminação ( $k_e$ );
- f) Tempo de permanência média (TPM);
- g) Meia-vida ( $t_{1/2}$ );
- h) Tempo para atingir a concentração máxima ( $t_{max}$ );
- i) Volume de distribuição aparente sobre a biodisponibilidade ( $V_d/f$ )

### 3 PACIENTES E MÉTODOS

Para este estudo foram incluídos pacientes que preencheram os critérios de inclusão para os estudos de fase II com talidomida para adenocarcinoma de cólon e reto, adenocarcinoma de pâncreas e melanoma.

#### 3.1 SELEÇÃO DE PACIENTES

##### 3.1.1 Critérios de elegibilidade

###### *3.1.1.1 Característica dos pacientes*

- a) Idade: entre 18 e 80 anos;
- b) Desempenho clínico (ECOG-WHO) 0-2 (Anexo II);
- c) Expectativa de vida de pelo menos 8 semanas;
- d) Valores Hematopoiéticos dentro dos limites da normalidade;
- e) Bilirrubinas até 1,5 x o limite superior da normalidade;
- f) Transaminases até 2,5x o limite superior da normalidade;
- g) Fosfatase alcalina e gama-GT até 2,5x o limite superior da normalidade;
- h) Avaliar particularmente nos casos de presença de metástases hepáticas e/ou ósseas;
- i) Creatinina sérica menor ou igual a 1,4;
- j) Assinatura do termo de consentimento livre esclarecido de acordo com o estudo proposto (Anexo III).

### *3.1.1.2 Características da doença*

- a) Diagnóstico de neoplasia sólida refratária confirmada histologicamente;
- b) Doença recorrente ou progressiva, que tenha falhado a pelo menos um protocolo de tratamento;
- c) Doença mensurável bidimensionalmente ou doença avaliável (Anexo I);
- d) Ausência de metástases no SNC.

### *3.1.1.3 Tratamento prévio ou concomitante*

- a) No caso de doença recidivada pós-tratamento com quimioterapia adjuvante, faz-se necessário intervalo de no mínimo 4 semanas do término deste;
- b) É permitida quimioterapia paliativa prévia, faz-se necessário intervalo de no mínimo quatro semanas após o término deste;
- c) É permitida radioterapia prévia caso haja doença mensurável ou avaliável fora do campo previamente irradiado;
- d) Lesões localizadas em áreas previamente irradiadas não são válidas como parâmetro de avaliação do tratamento;
- e) Pelo menos duas semanas pós-cirurgia ou recuperação pós-cirúrgica.

### *3.1.2 Critérios de inelegibilidade*

- a) Pacientes com comprometimento neoplásico do SNC;
- b) Enfermidade severa, física ou psiquiátrica concomitante, que possa interferir no estudo ou na tolerância do paciente ao tratamento;
- c) Doença neurológica grave;

- d) Mulheres férteis;
- e) Presença de condição psicológica, familiar, sociológica ou geográfica que impeça o andamento ou seguimento do estudo;
- f) Infecção ativa e/ou descontrolada;
- g) Doença mental ou doença crônica ativa de risco;
- h) Neoplasia maligna nos últimos 5 anos (exceto tumor de pele não-melanoma ou carcinoma de colo uterino in situ);
- i) Pacientes com aumento concomitante dos valores de creatinina sérica ( $>1,2$  mg/dl) e enzimas hepáticas devem ser avaliados individualmente;

## 3.2 DESENHO DO ESTUDO

### 3.2.1 Plano de tratamento

A talidomida foi administrada, por via oral, inicialmente uma dose de 200mg diária nos primeiros 14 dias de tratamento seguido de incrementos de 200mg a cada 14 dias até atingir a dose máxima de 800 mg/dia, dose esta mantida até o término do estudo. Este incremento de doses foi feito conforme a avaliação clínica do médico investigador para os pacientes com relação aos efeitos colaterais e tolerância à medicação.

O esquema de administração descrito acima visa diminuir o impacto dos efeitos colaterais como sonolência, tontura e constipação, comumente relatados e relacionados pelo uso da talidomida. Caso algum paciente atingisse a dose total de 40 gramas, este deveria ser criteriosamente avaliado quanto às toxicidades, e então seria decidida a sua continuação ou não no protocolo.

### 3.2.2 Avaliação de resposta ao tratamento

Os pacientes incluídos no estudo foram avaliados inicialmente antes do início do uso de talidomida para que sejam documentados e estabelecidos parâmetros referentes à extensão de sua doença. Após o início do tratamento estes pacientes foram reavaliados a cada 2 meses para resposta tumoral ao tratamento, para este propósito foram observados os critérios de avaliação conforme anexo IV. Nos casos onde houvesse progressão clara antes da primeira avaliação de resposta ao tratamento este seria descontinuado do estudo e interpretado como PD.

Nas situações onde ocorresse RC ou RP ou DE o paciente seria mantido recebendo a medicação até que se documentasse PD seguindo o mesmo padrão de avaliações a cada 2 meses. Após a progressão, a decisão sobre o tratamento a ser realizado ficou a cargo do médico assistente. Mesmo após a saída do estudo os pacientes deveriam permanecer em acompanhamento através de consultas médicas previamente agendadas a cada 2 meses para avaliação de sobrevida.

### 3.2.3 Avaliação das toxicidades

Todos os eventos adversos foram registrados conforme as normas da boa prática clínica (GCP) nos formulários de relato de caso (CRF's). Foi determinado pelo investigador se os eventos relacionavam-se ou não à droga em estudo. Os eventos adversos não relacionados à droga não foram considerados para as análises deste trabalho porém foram mantidos seus registros separadamente.

As toxicidades foram graduadas segundo os Critérios Comuns de Toxicidade (CTC) (140), versão 2.0, para avaliação de toxicidades e eventos adversos. De acordo com o protocolo a dose da talidomida foi reduzida a cada 200mg para os pacientes que apresentaram toxicidades graus 3-4. Após uma redução inicial do nível de dose, o paciente deveria permanecer nesta dose ou ainda, haveria a possibilidade da mesma ser reduzida até resolução deste grau de toxicidade.

#### 3.2.4 Medicamento em estudo

O uso da talidomida neste estudo foi autorizado pelo Ministério da Saúde. Foi utilizada a formulação chamada Tortuga com um índice de 97,1% de pureza proveniente do Laboratório Champion. Sua apresentação farmacêutica foi em cápsulas gelatinosas de 200mg e 400mg. As quais foram encapsuladas também pelo laboratório de origem, Champion, de Goiás.

#### 3.2.5 Duração do tratamento

Antes do início da pesquisa foram estabelecidos critérios para duração do tratamento que foram utilizados para todos os pacientes incluídos no estudo, os quais são descritos a seguir. Na ausência de toxicidade, o tratamento foi realizado de acordo com avaliação clínica criteriosa até progressão de doença. A avaliação de resposta tumoral foi considerada após um número mínimo de 2 ciclos do tratamento, exceto em caso de progressão, quando o paciente é excluído do estudo.

O paciente poderia ser desligado do estudo sempre que assim o desejasse independente da resposta e a qualquer momento. Também poderia ser desligada em caso de toxicidade excessiva, esta a ser julgada pelo médico pesquisador. Quando uma dose cumulativa de 40g de talidomida fosse atingida, o paciente seria reavaliado quanto ao grau de toxicidade neurológica e o benefício do seguimento da terapia.

### 3.2.6 Tratamentos concomitantes

Foram permitidos tratamentos antieméticos, analgésicos e antialérgicos, assim como antibióticos via oral ou parenteral. Todos os tratamentos clínicos auxiliares quando clinicamente indicados foram especificados na ficha clínica de cada paciente. Casos particulares foram avaliados pelo investigador. Não foi permitido o uso de drogas neurotóxicas, assim como de outros medicamentos em fase de pesquisa ou tratamento antitumoral concomitante enquanto estiveram no estudo.

### 3.3 ESTUDO DE FARMACOCINÉTICA

Para avaliar os parâmetros farmacocinéticos da talidomida foram coletadas amostras de sangue imediatamente antes da administração da droga e 1h, 2h, 2,5h, 3h, 3,5h, 4h, 5h, 7h e 24h após a administração da primeira dose de talidomida de 200mg. Estes intervalos de coleta e a técnica utilizada foram determinados de acordo com o referencial teórico (93,142-145). A coleta de sangue foi feita com seringas com capacidade para 10 ml. O soro foi obtido por centrifugação (centrífuga GLC-4, General Laboratory Centrifuge da Sorval Instruments – utilizada para tubos Vacuettes de até 4 ml) a 3.500 rpm durante 10 min e transferido em alíquotas de 1ml para tubos Eppendorf com capacidade de 1,5 ml.

Estes foram novamente centrifugados em outra centrífuga (Eppendorf Centrifuge 5415 C – usada para volumes de até 1,5 ml) por 1 min a 14.000 rpm à temperatura ambiente, para melhor separação da fase líquida do sangue. Para inibir a hidrólise espontânea da talidomida ou uma possível degradação durante o processo de extração, foi adicionado um volume equivalente à metade da quantidade de volume do soro de um tampão citrato de sódio, pH 1,5, até atingir uma concentração final de 0,0015 M e baixar o pH do soro de pH 7,0 para abaixo de 5,0, conforme registros de Eriksson e colaboradores (142). Após o processamento inicial, as amostras foram estocadas a – 20°C para posterior análise.

Para início das análises, adiciona-se 50µl de uma solução de 100 µg/ml de fenacetina em acetonitrila, utilizada como padrão interno, e 3 ml de éter di-etílico. A amostra, depois de misturada, foi novamente centrifugada a 1.200 x g por 5 min, separando a fase orgânica da aquosa. A fase orgânica foi transferida para outro tubo e a aquosa extraída mais uma vez com mais 3 ml de éter di-etílico. Após a evaporação do éter, a amostra foi reconstituída com 0,1 ml de um tampão de eluição utilizado nas análises cromatográficas.

A determinação das concentrações da talidomida nestas amostras foi realizada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC), constituída de uma bomba L-6000, de um integrador cromatográfico D-2500, de um detector L-4000 UV (Hitachi, Japão) e de uma coluna de fase reversa (Nova-Pack C18, Waters, São Paulo). Para detecção da talidomida e da fenacetina foi utilizado um comprimento de onda de 220nm com um detector de luz ultravioleta (UV). Torano e colaboradores, em 1999, validaram uma outra técnica de determinação quantitativa de talidomida no soro com HPLC, usando precipitação de proteínas com ácido tricloracético e detecção por UV (146).

Os parâmetros farmacocinéticos para este estudo foram obtidos a partir de cálculos específicos para cada variável conforme as concentrações obtidas dos testes realizados. Inicialmente foi construído um gráfico de concentração versus tempo para cada paciente, a seguir foi obtido o gráfico da média da concentração máxima da talidomida no período total de 24 horas em pacientes incluídos no estudo. A partir deste gráfico através de visualização direta foram obtidos o  $C_{\max}$  e  $t_{\max}$ .

A  $k_e$  é obtida a partir do valor da inclinação da curva do gráfico em escala logarítmica da média da concentração, multiplicado por uma constante pré-determinada igual a 2,303. A  $t_{1/2}$  de eliminação é obtida a partir a divisão da constante 0,693 pelo valor da  $K_e$ . Assim a  $t_{1/2}$  de eliminação representa a meia-vida da droga no soro após ter sido atingido o equilíbrio de distribuição. A ASC descreve a concentração da droga na circulação sistêmica em função do tempo (zero a infinito) e é calculada pelo método trapezoidal, sendo acrescida da extrapolação pois temos valores definidos até o último ponto de coleta (24hs).

A depuração é a medida da habilidade do corpo em eliminar a droga. Este parâmetro é calculado através da divisão entre a dose utilizada e a ASC. O TPM da droga é calculado dividindo-se a ASMC pela ASC. O  $V_d/f$  prevê a estimativa de distribuição através dos compartimentos líquidos do corpo e sua captação pelos tecidos, é calculado multiplicando-se a depuração pelo TPM.

### 3.4 ASPECTOS ÉTICOS

Antes da inclusão dos pacientes no estudo, estes foram informados a respeito da natureza do medicamento (talidomida) e foram fornecidas informações pertinentes ao objetivo pretendido, possíveis benefícios e possíveis eventos adversos. O estudo foi explicado individualmente e esclarecidas todas as dúvidas dos pacientes, ficando claro o caráter experimental e a existência de tratamento alternativo paliativo no caso deste não aceitar participar do protocolo.

Um documento de consentimento livre e esclarecido (Anexo III), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), foi lido e assinado pelo paciente, pelo pesquisador e, quando necessário, por uma testemunha. Uma cópia deste documento foi entregue ao paciente. O paciente poderia desistir do estudo a qualquer momento, sem prejudicar seu tratamento médico futuro. Este estudo foi realizado em conformidade com a Declaração de Helsinki (141) .

## 4 RESULTADOS

### 4.1 CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES

No período compreendido entre outubro de 2000 e dezembro de 2001 foram incluídos 14 pacientes que aceitaram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do estudo da farmacocinética da talidomida. Destes, 8 eram homens e 6 mulheres. Todos os pacientes eram provenientes do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e possuíam diagnóstico histopatológico confirmado: 5 com adenocarcinoma de reto, 4 com adenocarcinoma de cólon, 4 com melanoma e 1 com adenocarcinoma de pâncreas. A idade variou entre 31 e 79 anos, destes

A escala de desempenho clínico de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde variou entre 0 e 2. Todos os pacientes foram previamente tratados sendo, 14 com cirurgia, 11 com quimioterapia, 5 com radioterapia e 1 com imunoterapia. A paciente com adenocarcinoma de pâncreas apresentava uma lesão irrisecável e negou-se submeter a tratamentos quimioterápicos ou radioterápicos.

Os pacientes com adenocarcinoma de cólon e de reto foram submetidos a um ou dois regimes de quimioterapia. Sete destes 9 pacientes receberam como primeiro esquema de quimioterapia 5-fluorouracil e ácido folínico, um recebeu 5-fluorouracil e levamisole e outro a combinação de 5-fluorouracil, ácido folínico e oxaliplatino. O protocolo de quimioterapia empregado em segunda linha foi capecitabina em quatro pacientes e irinotecano em um paciente.

Os cinco pacientes portadores de adenocarcinoma de reto foram submetidos à amputação abdomino-perineal e tratamento radioterápico complementar. Os pacientes com adenocarcinoma de cólon foram submetidos a hemi-colectomia com linfadenectomia, sendo que um destes pacientes foi submetido a uma cirurgia de Hartmann.

No momento da os pacientes com adenocarcinoma de reto e de cólon apresentavam como sítios metastáticos: pulmão (2 pacientes), fígado (5 pacientes) e períneo (2 pacientes). Entre os pacientes com adenocarcinoma de cólon apenas um teve estadiamento III, sendo os demais estágio clínico IV; entre os pacientes com adenocarcinoma de reto quatro eram estágio clínico III e apenas um estágio IV.

Os quatro pacientes com diagnóstico de melanoma todos eram estágio clínico IV, sendo que todos foram tratados com um ou mais regimes de quimioterapia, imunoterapia ou bioquimioterapia. Dois destes pacientes foram tratados inicialmente com dacarbazina e após interferon; um paciente foi tratado com a combinação de interleucina-2, interferon, carboplatina, vinblastina e dacarbazina como esquema de primeira escolha.

Outro paciente foi submetido à quimioterapia com dacarbazina e carboplatina, após a falha deste esquema utilizou-se interferon combinado com interleucina-2 e por último fotemustine como droga única. No momento da inclusão no protocolo todos os pacientes possuíam metástases hepáticas e dois destes, metástases pulmonares.

Os 14 pacientes incluídos no estudo iniciaram com o nível de dose de 200mg/dia, 13 pacientes atingiram o nível de 400mg/dia, 9 pacientes o nível de 600mg/dia e apenas 5 pacientes atingiram 800mg/dia. O resumo destas características gerais está apresentado na tabela 5. Já as características específicas de cada um destes pacientes podem ser vistas na tabela 6.

**Tabela 5 – Características Gerais dos Pacientes**

Característica	No. de Pacientes
Nº total de pacientes	14
Sexo	
Masculino	8
Feminino	6
Tipo Histológico	
Adenocarcinoma de cólon e reto	9
Melanoma	4
Adenocarcinoma de pâncreas	1
Idade, anos	
30-40	2
41-50	3
51-60	3
61-70	3
71-85	3
Desempenho clínico	
0	6
1	7
2	1
Tratamentos anteriores	
Cirurgia	14
Quimioterapia	11
Imunoterapia	1
Radioterapia	5
Nível de dose atingido	
200mg	14
400mg	13
600mg	9
800mg	5

**Tabela 6 – Características Específicas dos Pacientes**

Pct.	Tumor Primário	Estádio Clínico	Tratamento Prévio					Presença de metástase no início do estudo
			Quimioterapia 1ª linha	Quimioterapia 2ª linha	Radioterapia	Cirurgia	Imunoterapia	
1	Cólon	III	5-FU** e Levamisole	Não	Não	Hemicolectomia	Não	Pulmão e ossos
2	Cólon	IV	5-FU e Ác. folínico	Capecitabina	Não	Hemicolectomia	Não	Fígado e linfonodos
3	Cólon	IV	5-FU e Ác. folínico	Não	Não	Hartmann	Não	Fígado
4	Cólon	IV	5-FU, Ác. Folínico e Oxaliplatino	Não	Não	Hemicolectomia	Não	Fígado
5	Reto	III	5-FU e Ác. folínico	Capecitabina	Sim	Amputação abdomino-perineal	Não	Fígado
6	Reto	IV	5-FU, Ác. Folínico e Oxaliplatino	Irinotecan	Sim	Amputação abdomino-perineal	Não	Fígado e períneo
7	Reto	III	5-FU e Ác. folínico	Capecitabina	Sim	Amputação abdomino-perineal	Não	Pulmão
8	Reto	III	5-FU e Ác. folínico	Capecitabina	Sim	Amputação abdomino-perineal	Não	Períneo
9	Reto	III	5-FU e Ác. folínico	Não	Sim	Amputação abdomino-perineal	Não	Períneo
10	Melanoma	IV	DTIC***	Não	Não	Ressecção de lesão	Interferon- $\alpha$	Adrenal, fígado, ossos, pulmão
11	Melanoma	IV	DTIC	Não	Não	Ressecção de lesão	Não	Fígado
12	Melanoma	IV	Bioquimioterapia*		Não	Ressecção de lesão	Bioquimioterapia	Fígado, tireóide
13	Melanoma	IV	DTIC e Carboplatina	Fotemustine	Sim	Enucleação	Interferon- $\alpha$ e interleucina-2	Fígado, pulmão
14	Pâncreas	IV	Não	Não	Não	Não	Não	Fígado

\* Bioquimioterapia = Interleucina-2, Interferon- $\alpha$ , Cisplatino, Dacarbazina e Vinblastina

\*\* 5-FU = 5-Fluorouracil

\*\*\* DTIC = Dacarbazina

#### 4.2 TOXICIDADES APRESENTADAS

As toxicidades mais freqüentemente apresentadas pelos pacientes, associadas clinicamente ao uso da talidomida, foram: tonturas, constipação, sonolência e edema, ocorrendo principalmente após o nível de dose de 400mg/dia. Outros efeitos colaterais também observados foram dermatite, parestesia, fadiga, náuseas e vômitos. Na tabela 7 podem ser verificadas as toxicidades e sua freqüência em relação ao número de pacientes e ao nível de dose.

**Tabela 7 - Efeitos Colaterais Relacionados à Talidomida**

Nível de dose	200mg (n=14)	400mg (n=13)	600mg (n=9)	800mg (n=5)
Efeito colateral	No de pac %	No de pac %	No de pac %	No de pac %
Constipação	(10) 71.42	(9) 69.23	(5) 55.55	(4) 80.0
Sonolência	(8) 54.14	(9) 69.23	(6) 66.66	(5) 100.0
Tontura	(5) 35.71	(4) 30.76	(5) 55.55	(5) 100.0
Parestesia	(3) 21.42	(5) 38.46	(4) 44.44	(3) 60.0
Xerostomia	(5) 35.71	(7) 53.84	(6) 66.66	(4) 80.0
Dermatite	(1) 7.14	(1) 7.69	(0) 00	(1) 20.0
Edema	(5) 35.71	(6) 46.15	(4) 44.44	(3) 60.0
Fadiga	(2) 14.28	(2) 15.38	(2) 22.22	(1) 20.0
Náusea/vômito	(3) 21.42	(4) 30.76	(4) 44.44	(2) 40.0

Foi necessária redução de dose em cinco pacientes incluídos no estudo para os seguintes casos: dermatite grau 2, constipação e sonolência grau 3 em um paciente com adenocarcinoma de cólon onde se reduziu dose de 400mg/dia para 200mg/dia; constipação, tontura e sonolência grau 3 em todos os pacientes com melanoma, havendo 2 reduções de 400 para 200mg/dia, 1 redução de 600 para 400mg/dia e uma redução de 800 para 600mg/dia. Na tabela 8 evidencia-se o tempo de exposição de cada paciente ao seu respectivo nível de dose.

**Tabela 8 - Nível de Dose e Duração em Semanas/ Paciente**

Nível de dose Paciente	Número de semanas / Nível de dose			
	200	400	600	800
1	2	6	2	-
2	2	2	2	4
3	2	1	-	-
4	2	2	2	4
5	2	-	-	-
6	2	2	2	4
7	2	2	2	2
8	2	2	2	2
9	6	2	-	-
10	2	4	2	-
11	2	2	3	6
12	4	4	-	-
13	6	2	-	-
14	2	2	2	1

### 4.3 ATIVIDADE ANTITUMORAL

Infelizmente, nenhum dos 14 pacientes com tumores sólidos refratários que participaram dos estudos de fase II realizados em nossa Instituição, quando avaliados para eficácia, apresentou resposta objetiva ou doença estável. Os pacientes incluídos apresentaram uma sobrevida global mediana de 2,9 meses, variando de 1 a 13 meses, conforme representado na tabela 9.

**Tabela 9 - Sobrevida Global dos Pacientes Incluídos no Estudo**

Pacientes	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	#12	#13	#14
SG (meses)	2,2	S	2	3,6	S	13	1,7	1,6	S	6	4	S	S	2

SG: sobrevida global; S: paciente em seguimento clínico

### 4.4 ANÁLISE DOS PARÂMETROS DE FARMACOCINÉTICA

Para análise dos dados de farmacocinética foram considerados 8 dos 14 pacientes. A exclusão de 6 pacientes ocorreu pois somente foi possível analisar a fase da absorção e não da excreção da droga, sendo então consideradas inadequadas para o estudo, conforme demonstrado na tabela 10.

**Tabela 10 - Concentração Plasmática de Talidomida em  $\mu\text{g}/\text{mL}$  por Paciente de Acordo com o Tempo de Coleta**

Cólon	Melanoma													Pâncreas		
Tempo (h)	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	#12	#13	#14	Média	DP
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00
1	0,29	0,13	0,06	0,03	0,58	1,87	0	0,49		0,17	0,34	0,7	0,29	0	0,41	0,51
2	0,58	0,18	0,15	0,24	0,77	2,11	0,11	0,58	0,81	0,56	1,25	0,92	0,89	0,07	0,70	0,55
2,5								0,78	1,09						0,94	0,22
3	0,78	0,26	0,2	0,5	1,26	2,38	1,13	0,69	1,07	1	1,4	0,97	0,97	0,15	0,97	0,56
3,5								0,85	1,32						1,09	0,33
4	1,01	1,35	0,34	0,7	1,28	2,27	0,98	0,85	1,54	1,26	1,75	0,99	1,05	0,28	1,18	0,49
5	0,88	0,84	1,15	0,8	1,48	2,52	0,97	0,69	1,96	1,25	1,49	1,08	1,02	0,54	1,24	0,52
7	0,69	0,75	1,09	0,82	1,71	2,14	1,02	0,57	1,21	0,74	0,7	0,97	0,94	0,69	1,03	0,45
24		0,16				0,5		0,27	0,33	0,12	0,3	0,21	0,24	0,83	0,27	0,12

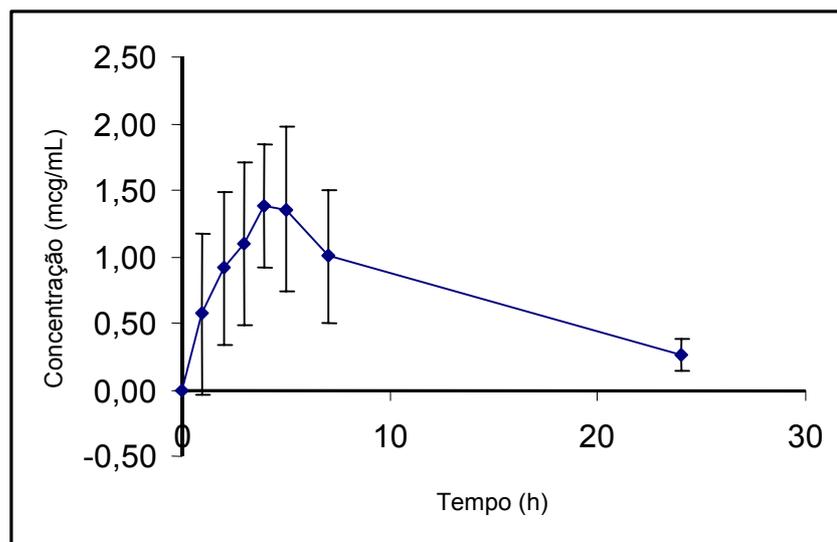
Foram excluídos os seguintes pacientes: #1, #3, #4, #5 e #7 por insuficiência de dados sobre a eliminação da droga (não vieram para a coleta 24 hs após a dosagem), e o #14 pois os resultados encontrados indicaram que ainda estava na fase de absorção. A média da ASC no período de 0 até 24h após a administração de 200mg de talidomida por via oral foi  $17,7 \pm 8,4 \mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$ . A média da  $C_{\text{max}}$  foi  $1,48 \mu\text{g}/\text{mL}$ , variando de  $0,85 - 2,52 \mu\text{g}/\text{mL}$  e foi alcançada em aproximadamente  $4,4 \pm 0,5$  hora  $t_{\text{max}}$  após a ingestão do medicamento.

As médias do  $V_d/f$  e o  $CL/f$  foram  $138,2 \text{ L}$  e  $10,7 \text{ L}/\text{h}$ , respectivamente. O tempo de permanência médio (MRT) foi de  $13 \pm 3,4 \text{ hs}$  e o período de  $t_{1/2}$  médio foi de  $8,8 \pm 2,4 \text{ hs}$ . A média da constante de eliminação ( $k_e$ ) foi de  $0,083 \pm 0,019 \text{ h}^{-1}$ . A média da área sob a curva no primeiro momento da curva (ASMCO) foi de  $271,4 \pm 116,3 \mu\text{g} \cdot \text{h}^2/\text{mL}$ . Os dados farmacocinéticos relevantes em modelo de compartimento único para cada paciente, obtidos durante as primeiras 24h após a administração de 200mg de talidomida, são listados na tabela 11. A média da concentração máxima em 24 horas é demonstrada na figura 5.

**Tabela 11 - Principais Parâmetros Farmacocinéticos da Talidomida em Pacientes Incluídos no Estudo**

Parâmetro/Paciente	#2	#6	#8	#9	#10	#11	#12	#13	Média	DP
<b>Dose (mg)</b>	<b>200</b>									
t <sub>max</sub> (h)	4	5	4	5	4	4	5	4	4,4	0,5
C <sub>max</sub> (µg/ml)	1,35	2,52	0,85	1,96	1,26	1,75	1,08	1,05	1,48	0,56
ASC 0-24 (µg*h/ml)	11,7	37,0	11,3	20,7	13,0	16,2	16,2	15,7	17,7	8,4
k <sub>e</sub> (h <sup>-1</sup> )	0,089	0,085	0,049	0,087	0,117	0,071	0,088	0,078	0,083	0,019
t <sub>1/2</sub> (h)	7,8	8,1	14,0	8,0	5,9	9,8	7,9	8,9	8,8	2,4
ASC <sub>0-inf</sub> (µg*h/ml)	13,5	42,9	16,5	24,5	14,1	20,4	18,6	18,8	21,1	9,5
%extrapol	13,4	13,7	31,9	15,5	7,3	20,7	12,9	16,4	16,5	7,3
V <sub>d</sub> /f (L)	175,4	53,9	246,0	103,3	127,4	141,3	121,3	137,2	138,2	55,7
CL/f (L/h)	14,8	4,7	12,1	8,2	14,2	9,8	10,8	10,6	10,7	3,3
MRT (h)	11,8	11,6	20,3	12,6	9,0	14,4	11,3	12,9	13,0	3,4
ASMC 0-inf (µg*h <sup>2</sup> /ml)	159,1	495,0	336,5	308,9	125,8	294,2	209,7	242,0	271,4	116,3

ASC, área sob a curva; ASMC<sub>0</sub>, área sob o primeiro momento da curva; CL/f, depuração corporal total sobre a biodisponibilidade; C<sub>max</sub>, concentração plasmática máxima; k<sub>e</sub>, constante de eliminação; MRT, tempo de permanência média; t<sub>1/2</sub> meia-vida; t<sub>max</sub>, tempo para a concentração máxima; V<sub>d</sub>/f, volume de distribuição aparente sobre a biodisponibilidade



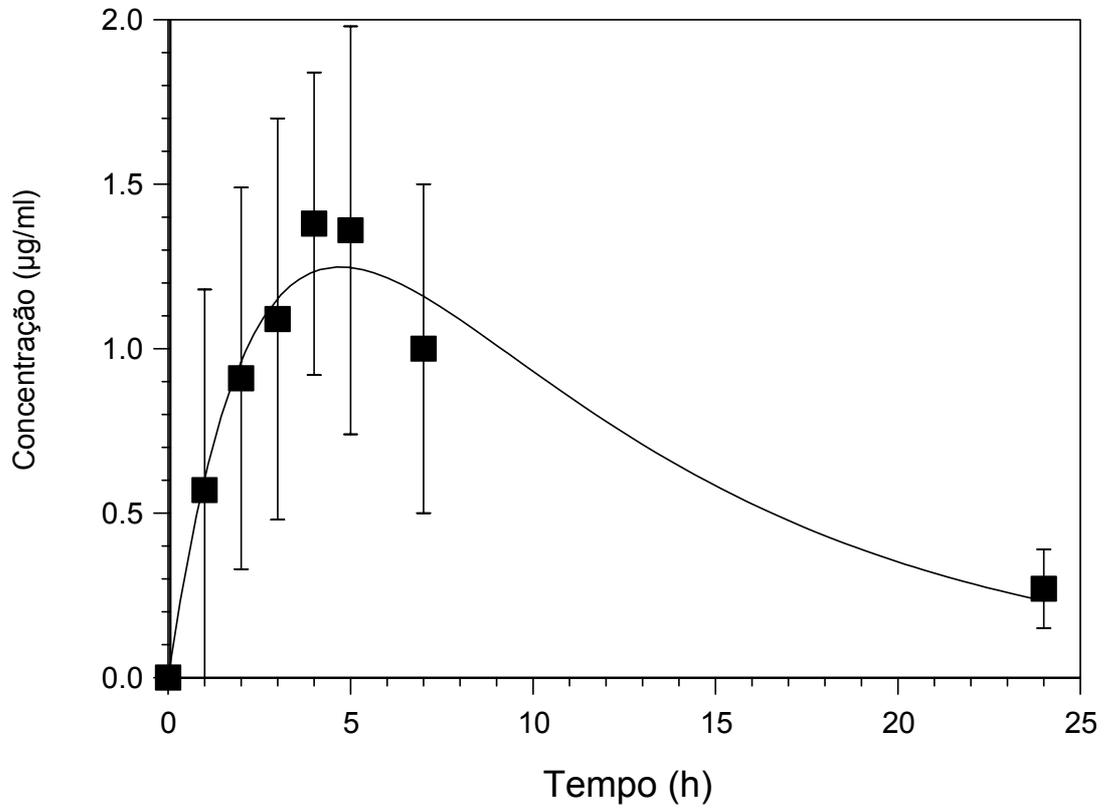
**Figura 5: Gráfico da Média da Concentração Máxima da Talidomida em 24 horas em Pacientes Incluídos no Estudo**

Na análise de padrão compartimental, o modelo farmacocinético que melhor se adaptou ao comportamento da talidomida no plasma de pacientes com tumores sólidos refratários que participaram deste estudo foi o monocompartimental com absorção em primeira ordem. Através da análise compartimental, conforme tabela 12, observou-se que a média da  $t_{1/2}$  de absorção ficou em  $6,5 \pm 3,0$  hs, com um  $V_d/f$  sobre biodisponibilidade de  $99,6 \pm 54,9L$ , uma  $k_e$  média de  $0,133 \pm 0,070$  h<sup>-1</sup>, e uma constante de absorção ( $k_a$ ) média de  $0,413 \pm 0,268$  h<sup>-1</sup>.

**Tabela 12 - Análise Compartimental – Modelo Monocompartimental com Absorção de Primeira Ordem (oral)**

	Cólon				Melanoma				Média	DP
	#2	#6	#8	#9	#10	#11	#12	#13		
f	0,011	0,016	0,005	0,019	0,014	0,019	0,007	0,008	0,012	0,005
ka (h-1)	0,142	0,803	0,745	0,178	0,192	0,269	0,614	0,358	0,413	0,268
ke (h-1)	0,141	0,074	0,063	0,150	0,192	0,269	0,081	0,097	0,133	0,070
Vd/f (L)	89,4	63,8	211,1	52,6	70,1	52,3	139,3	118,4	99,6	54,9
t 1/2 (h)	4,9	9,4	11,0	4,6	3,6	2,6	8,6	7,1	6,5	3,0

A concentração plasmática de talidomida *versus* a curva de tempo para a média dos 8 pacientes avaliados em escala linear é representada nas figuras 6.



**Figura 6: Concentração Plasmática de Talidomida *versus* Tempo em Escala Linear**

## 5 DISCUSSÃO

A talidomida, apesar de seus mais de 40 anos na história da Medicina, permanece como uma importante fonte de pesquisa pois persistem lacunas sobre sua compreensão. Após a evidência da teratogenicidade relacionada ao uso da talidomida em gestantes na década de 60, houve a proibição de seu uso por mais de 20 anos. Este fato trouxe como consequência a necessidade de estabelecer estudos para melhor compreensão dos efeitos e mecanismos de ação das drogas utilizadas em humanos.

Inicialmente o estudo de Sheskin (13), datado de 1965 demonstrou que a talidomida apresentava efeitos antiinflamatórios. Baseado nisto, o interesse pela droga renasceu na última década incentivando diversos grupos de pesquisa ao estudo do mecanismo de ação da talidomida e de seus possíveis benefícios. Estes estudos demonstraram que a talidomida é um agente complexo, com propriedades antiangiogênicas e imunomoduladoras (15,27,28).

Apesar das descobertas baseadas em experimentos com modelos animais e em diversas doenças em humanos como hanseníase, SIDA e neoplasias, existem poucos estudos sobre a farmacocinética da talidomida em pacientes com câncer, sendo o estudo de Figg (93), datado de 1998, pioneiro neste tipo de pesquisa. O espectro de neoplasias malignas em que a talidomida foi testada é amplo e as respostas descritas são variadas, sendo os resultados no tratamento do mieloma múltiplo os mais promissores, com uma citorredução média de 61% (116).

O efeito biológico, através da inibição da angiogênese tumoral, despertou o interesse de pesquisadores em utilizá-la em tumores sólidos. Já foram observados alguns resultados positivos em estudos de fase II envolvendo neoplasias de rim, hepatocarcinoma e gliomas, com respostas de 33%, 48% e 33% respectivamente (102,108,111).

Apesar das diversas pesquisas em pacientes com neoplasias em apenas um estudo em pacientes com câncer de próstata (93) foram realizadas avaliações dos parâmetros farmacocinéticos. Outros estudos disponíveis para observação destes parâmetros foram feitos em voluntários sadios (130), pacientes portadores do vírus HIV (129,136-138) e pacientes com hanseníase (29).

Entre os diversos estudos citados acima envolvendo a farmacocinética da talidomida mostraram o pico das concentrações plasmáticas variando de 1-2  $\mu\text{g/ml}$  dentro de 3-5 horas. Chen e colaboradores publicaram resultados em 8 voluntários sadios que ingeriram 200 mg de talidomida; nestes a média de concentração foi de  $1,15 \pm 0,20 \mu\text{g/ml}$ , atingida em  $4,39 \pm 1,27$  hora.

Neste mesmo estudo o volume de distribuição e a depuração corporal total baseados na biodisponibilidade foram  $120,69 \pm 45,36 \text{ L}$  e  $10,41 \pm 2,04 \text{ L/h}$ . Neste estudo observou-se que a rota de eliminação da talidomida era não-renal pois a taxa de excreção urinária foi de apenas  $0,6 \pm 0,22\%$  da dose de talidomida ingerida (130).

O achado da baixa excreção renal da talidomida foi observado também no estudo de Crawford, onde foram utilizadas dosagens de 400 mg de talidomida em pacientes com hanseníase e em voluntários sadios, atingindo uma concentração máxima de  $3,44\mu\text{g/ml}$  em um período que variou entre 2,9 e 5,7 hs (29). Embora a disfunção renal não interfira no metabolismo da droga o ideal funcionamento hepático interferiria, não na sua eliminação, mas na produção do seu metabólito angiogênico (33).

Entre os estudos em pacientes portadores do vírus HIV podemos citar Piscitelli, que reportou a farmacocinética da talidomida nas dosagens de 100 e 300 mg/dia, sendo caracterizada por lenta absorção, com uma concentração máxima de  $1,17\pm 0,21\mu\text{g/ml}$  atingidos em  $3,4\pm 1,8$  hs para o grupo de 100 mg, e uma concentração máxima de  $3,47\pm 1,14\mu\text{g/ml}$  em  $3,4\pm 1,5$ h para o grupo de 300 mg/dia (129).

Nos estudos coordenados pelo *AIDS Clinical Trials Group* ficou evidenciado que a concentração sérica da talidomida aumenta com o escalonamento da dose, porém o tempo máximo de concentração e o clearance não diferiram (136). Para todos os estudos citados, com exceção do estudo de Crawford (29), a dose de talidomida usada não foi maior que 300 mg.

Já Figg, que investigou 24 pacientes com câncer de próstata usando duas dosagens de talidomida (200 mg em um grupo e escalonando doses até 1200 mg para outro grupo) mostrou uma variabilidade de 2 a 7,1 horas na concentração máxima, e observou que a meia-vida de eliminação apresenta variações de acordo com a dose usada (93).

Em nosso estudo evidenciamos parâmetros farmacocinéticos semelhantes aos obtidos na literatura conforme os estudos descritos acima. Sendo que as amostras foram coletadas no primeiro dia de administração de talidomida, na dose de 200mg com pontos de coleta de sangue imediatamente antes a primeira dose e 1h, 2h, 2,5h, 3h, 3,5h, 4h, 5h, 7h e 24h após a administração. Todos os pacientes eram portadores de neoplasias sólidas refratárias e submeteram-se a um estudo de fase II com escalonamento de dose de talidomida.

Os parâmetros farmacocinéticos alcançados em nosso estudo foram: média da  $C_{max}$  de  $1,48 \pm 0,56 \mu\text{g/ml}$  obtidos em  $4,4 \pm 0,5\text{h}$ , com uma média da ASC de  $17,7 \pm 8,4 \mu\text{g} \times \text{h/mL}$  para a dose de 200mg de talidomida, uma média de  $k_e$  de  $0,083 \pm 0,019 \text{ h}^{-1}$ , um tempo de permanência média de  $13 \pm 3,4 \text{ hs}$  e um  $V_d/f$  de  $138,2 \pm 55,7\text{L}$ . O período de  $t_{1/2}$  observado foi de  $6,5 \pm 3,0 \text{ hs}$ .

Baseada em estudos em voluntários saudáveis (130) e em pacientes infectados pelo HIV (131), a farmacocinética da talidomida pode ser descrita por um modelo compartimental único com absorção de primeira ordem (130,132). Em nosso estudo o modelo compartimental que mais se adaptou ao comportamento da talidomida no plasma de pacientes com neoplasias sólidas refratárias foi o modelo monocompartimental com absorção de primeira ordem.

Atualmente a Celgene Corporation é o laboratório de biotecnologia americano responsável pela fabricação e por grande parte dos estudos envolvendo talidomida. Duas formulações da Celgene (comercial e de estudo clínico) mostraram parâmetros farmacocinéticos similares, descritos em um modelo compartimental único (145). A Thalidomide <sup>TM</sup> é um produto da Celgene aprovado pelo FDA para o tratamento do eritema nodoso da hanseníase e encontra-se em uso comercial nos Estados Unidos.

O perfil plasmático de uma terceira formulação de talidomida, chamada de Tortuga (usada no Brasil, produzida pelo Laboratório Champion), possui algumas diferenças farmacocinéticas quando comparadas com as formulações da Celgene, provavelmente pelo material de formulação utilizado ou devido ao menor índice de pureza da formulação Tortuga (97,1%), quando comparado aos 100% da Celgene (145). A farmacocinética da talidomida ainda não está claramente caracterizada no homem. Estudos adicionais são necessários para determinar se a idade afeta o clearance da talidomida e se a formulação de um metabólito ativo da talidomida que iniba a angiogênese encontra-se alterado por mudanças na depuração.

## 6 CONCLUSÕES

### 6.1 GERAL

O perfil de segurança da talidomida foi semelhante ao descrito anteriormente na literatura, com tonturas, sonolência e constipação sendo os efeitos colaterais mais frequentes. Não foram documentadas respostas tumorais objetivas. Os parâmetros farmacocinéticos da talidomida estudados em pacientes com tumores sólidos refratários incluídos em estudo de fase II em nossa instituição foram semelhantes àqueles descritos em voluntários sadios e pacientes com HIV, hanseníase ou adenocarcinoma de próstata.

### 6.2 ESPECÍFICAS

O modelo farmacocinético que melhor se adaptou ao comportamento da talidomida no plasma dos pacientes que participaram deste estudo foi o modelo monocompartimental com absorção em primeira ordem.

## 7 PERSPECTIVAS

Nos dias atuais observamos o crescente advento de novas modalidades terapêuticas em Oncologia. O uso de inibidores da angiogênese tumoral surge como uma modalidade promissora e menos tóxica de tratamento para pacientes portadores de neoplasias. Conhecendo-se melhor as drogas disponíveis e empenhando-se na descoberta de novas moléculas avança-se cada vez mais em direção a tratamentos com maior índice terapêutico.

A talidomida mostrou ser ativa em pacientes com mieloma múltiplo e hoje é parte integrante do tratamento inicial desta doença. Infelizmente, os estudos em tumores sólidos avançados não tem sido acompanhados de respostas tumorais significativas. Entretanto, a talidomida tem sido testada em pacientes com doença avançada, quando o volume tumoral é elevado e há grandes probabilidades de resistência tumoral.

É possível que este tipo de abordagem antiangiogênica seja mais eficaz quando aplicado nas fases iniciais do desenvolvimento neoplásico, já que os clones de células malignas estão iniciando seu crescimento exponencial e necessitam sustentação através do processo angiogênico.

Uma vez que pacientes em estádios mais avançados de neoplasias malignas apresentam uma grande heterogeneidade de clones tumorais, um único agente antiangiogênico poderia não ser suficiente para atingir respostas objetivas. Sugere-se, portanto, que os próximos estudos dediquem-se a pesquisas da ação da talidomida ou seus análogos em estágios iniciais da doença, quando estas formas de inibição angiogênica possam exercer um efeito terapêutico mais marcante.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sneader W. Drug Discovery: The evolution of modern medicines. New York: John Wiley & Sons, Inc; 1985.
2. Randall T. Thalidomide has 37-year history. JAMA 1990 Mar 16; 264 (11): 1474.
3. Mujajic H, Chabner BA, Mujajic Z. Mechanisms of action and potential therapeutic use of thalidomide. Croat Med J 2002 Jun; 43(3): 274-85.
4. Somers GF. Pharmacological properties of thalidomide, a new sedative hypnotic drug. Br J Pharm 1960;15:111-6.
5. Powell RJ. New roles for thalidomide. Br Med J 1996 Aug 17;313(7054):377-8.
6. Raje N, Anderson K. Thalidomide – a revival story. N Engl J Med 1999 Nov 18; 341(21):606-9.
7. Grover JK, Vats V, Gopalakrishna R, Ramam. Thalidomide: are-look. M Natl Med J India 2000;13(3):32-41.
8. Mc Bride WG. Thalidomide and congenital abnormalities. Lancet 1961;2:1358.
9. Lenz W. Malformations caused by drugs in pregnancy. Am J Dis Child 1966;112:99-106.
10. A.B.P.S.T. Associação Brasileira dos Portadores da Síndrome da Talidomida. [Capturado em 2002 Nov 8]. Disponível em: URL: <http://www.ibap.org>.
11. Kelsey FO. The evolution of new drug legislation. BMQ 1966 Sep;17(3):72-81.
12. Lima LM, Fraga CAM, Barreiro EJ. O renascimento de um fármaco. Química Nova 2001;24(5):683-8.

13. Sheskin J. Further observation with thalidomide in lepra reactions. *Lepr Rev* 1965 Oct;36(4):183-7.
14. Bessis D, Guillet B, Monpoint S, et al. Thalidomide for systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1992 Feb 29;339(8792):549-50.
15. Kaplan G, Sampaio EP, Sano EN, et al. Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor alpha production by stimulated human monocytes. *J Exp Med* 1991 Mar 1;173(3):699-703.
16. Mascano J. Thalidomide in the treatment of recurrent necrotic and giant mucocutaneous aphtae and aphtosis. *Arch Dermatol* 1979;115:636-7.
17. Jacobson JM, Greenspan JS, Spritzler J, et al. Thalidomide for the treatment of oral aphtous ulcers in patients with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1997; 336:1487-93.
18. Knop J. Thalidomide in the treatment of 60 cases of discoid lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 1983;108:461-6.
19. Bahmer F. Thalidomide treatment of recurrent erythema multiform. *Acta Dermatol* 1979;115:636-7.
20. Tseng S, Pak G, Washenik K, et al. Rediscovery thalidomide: a review of its mechanisms of action, side effects and potential uses. *J Am Acad Dermatol* 1996;35(6):969-79.
21. Parker P. Thalidomide as a salvage therapy for chronic graft-versus-host disease. *Blood* 1995;86:3604-9.
22. Vogelsang GB, Farmer ER, Hess Ad, et al. Thalidomide for the treatment of chronic graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 1992;326:1055-8.
23. Badger AM, Adams JL. The rebirth of a drug: Thalidomide. *Ann Rept Med Chem* 1998;33:203.
24. Lima LM, Castro P, Machado AL, et al. Synthesis and anti-inflammatory activity of phthalimide derivatives, designed as new thalidomide analogues. *Bioorganic & Med Chem* 2002 Sept;10(9):3067-73.

25. Sartor RB. New therapeutic approaches to Crohn's disease. *N Engl J Med* 2000 Jun 1;342(22):1664-6.
26. Gutman M, Szold A, Ravid A, et al. Failure of thalidomide to inhibit tumor growth and angiogenesis in vivo. *Anticancer Res* 1996;16(6B):3673-7.
27. D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, et al. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc N Acad Sci* 1994;91:4082-85.
28. Kruse F. Thalidomide inhibits corneal angiogenesis induced by vascular endothelial growth factor. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1998;236:461-6.
29. Crawford CL. Use of thalidomide in leprosy. *Adverse Drug React Toxicol Rev* 1994;13:177-192.
30. Jacobson JM. Thalidomide: a remarkable comeback. *Expert Opin Pharmacother* 2000;1(4):849-63.
31. Eriksson T, Bjorkman S, Hougland P. Clinical Pharmacology of Thalidomide. *Eur J Clin Pharmacol* 2001;57(5):365-76.
32. Schumacher H, Smith RL, Williams RT, et al. The metabolism of thalidomide and some of its hydrolysis products in various species. *Br J Pharmacol* 1965;24:338-51.
33. Argiles J, Carbo N, Lopez-Soriano FJ, et al. Was tumor necrosis factor alpha responsible for the fetal malformations associated with thalidomide in the early 1960s? *Med Hypotheses* 1998;50:313-8.
34. Ching LM, Xu ZF, Gummer BH, et al. Effect of thalidomide on tumour necrosis factor production and anti-tumour activity induced by 5,6-dimethylxantheone-4-acetic acid. *Br J Cancer* 1995;72:339-43.
35. Tramontana Jm, Utaipat U, Molley A, et al. Thalidomide treatment reduces tumor necrosis factor alpha production and enhances weight gain in patients with pulmonary tuberculosis. *Mol Med* 1995 May;1(4):384-97.
36. Corral LG, Kaplan G. Immunomodulation by thalidomide and thalidomide analogues. *Ann Rheum Dis*. 1999 Nov; 58 Suppl 1:107-10.

37. Corral Lg, Müller GW, Moreira AL, et al. Selection of novel analogues of thalidomide with enhanced tumor necrosis factor alpha inhibitory activity. *Mol Med* 1996 Jul;2(4):506-15.
38. Haslett P, Corral L, Albert M, et al. Thalidomide co stimulates primary human T lymphocytes, preferentially inducing proliferation, cytokine production and cytotoxic responses in the CD8+ subset. *J Exp Med* 1998;187:1885-92.
39. Kenneth S. Inhibition of angiogenesis by thalidomide requires metabolic activation, which is species-dependent. *Bioch Pharmacol* 1998; 55: 1827-1834.
40. Fujita J, Mestre J, Zeldis J, et al. Thalidomide and its analogues inhibit lipopolysaccharide-mediated induction of cyclooxygenase-2. *Clin Cancer Res* 2001;7:3349-55.
41. Celgene Corp Request for Medical Information. Thalidomid and cancer. Document 702, revised Feb. 1999.
42. Geitz H, Handt S, Zwingenberger K. Thalidomide selectively modulates the density of cell surface molecules involved in the cell adhesion cascade. *Immunopharmacol* 1996;31:213-21.
43. MC Carty MF. Thalidomide may impede cell migration in primates by down regulating integrin beta chains: potential therapeutic utility in solid malignancies, proliferative retinopathy, inflammatory disorders, neointimal hyperplasia and osteoporosis. *Med Hypotheses* 1997; 49:123-31.
44. Teo SK, Harden JL, Burke AB, Noormohamed FH et al. Thalidomide is distributed into human semen after oral dosing. *Drug Metab Dispos* 2001; 29(10):1355-7.
45. Warren N. Thalomid (thalidomide) STEPS (System for Thalidomide Education and Prescribing Safety) Folder. Celgene Corp, 1998.
46. Warren N. Thalidomide capsules (thalidomide) prescription product insert. Celgene Corp. revised August 1998.
47. Anderson K. Multiple myeloma: Advances in disease biology – Therapeutics implications. *Semin Hematol* 2001; 38(2 suppl 3):6-10.

48. Fabro S, Smith RL. The teratogenic activity of thalidomide in the rabbit. *J Pathol Bacteriol* 1966 Apr;91(2):511-9.
49. Matsubara Y, Mikami T. teratogenic potentially of single dose of thalidomide in JW-NIBS rabbits. *Jikken Dobutsu* 1985 Jul; 34(3) 295-302.
50. Ockenfels H, Kohler F, Meise W. Teratogenic effects of N-phthaloyl-L-aspartic acid on the mouse. *Arzneimittelforschung* 1977;27(1):126-8.
51. Arlen RR, Wells PG. Inhibition of thalidomide teratogenicity by acetylsalicylic acid: evidences for prostaglandin H synthase-catalyzed bioactivation of thalidomide to a teratogenic reactive intermediate. *Pharmacol Exp Ther* 1996; 277(3):1649-58.
52. Schwartzmann G, Winograd B, Pinedo HM. The main steps in the development of new anticancer agents. *Radiotherapy and Oncology* 1988;12:301-13.
53. Mans DR, Rocha AB, Schwartzmann G. Anticancer drug discovery and development in Brazil: targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anticancer compounds. *The Oncologist* 2000; 5:185-98.
54. 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* 1991; 27:1162-8.
55. Steinberg SM, Wesley M. Clinical trials: design and evaluation. Chapter 44 pp: 415-425.
56. Arrigo C, Koier IJ, Mcvie GJ, et al. Minimal guidelines for the monitoring of early clinical trials (phase I-II) in: Europe under the CRC/EORTC/NCI Joint Agreement. *Eur J Cancer* 1992;1289-92.
57. Mani S, Ratain Mj. New phase I trial methodology. *Sem Oncol* 1997;24:253-61.
58. Schwartzmann G. EORTC strategies for anticancer drug discovery. *Forum Trends in Experimental and Clinical Medicine* 1992;2:520-28.
59. Schwartzmann G, Workmann P. Anticancer drug screening and discovery in the 1990s: a European perspective. *Eur J Cancer* 1993; 29:3-14.

60. Schwartzmann G, Koier IJ, Wanders J, et al. An overview of phase I trials with new anticancer agents under the coordination and monitoring of the EORTC New Drug Development Office. *J Drug Develop* 1991;4 (1):47-55.
61. Wittes RE, Marsoni S, Leyland-Jones B. The phase II trial. *Editorial of Cancer Treatment Reports* 1985; 69.
62. Marsoni S, Hoth D, Simon R, et al. Clinical drug development an analysis of phase II trials, 1970-1985. *Cancer Treat Rep* 1987;71:71-80.
63. Gehan LA. The determination of the number of patients required in preliminary and follow-up trial of a new chemotherapeutic agent. *J Chronic Dis* 1961;13:346-9.
64. Winograd B, Renard J, Dodion P. Standard operating procedures for disease-oriented phase II studies with a new anticancer drug. NDDO, August 1997; updated by Wanders J and Schwartzmann G, August 1990.
65. Simon R. Optimal two-stage design for phase II clinical trials. *Controlled Clinical Trials* 1989;10:1-10.
66. Olson K. Thalidomide (N-phthaloyl-glutamimide) in the treatment of advanced cancer. *Clin Pharmacol Ther* 1965; 6: 292-297.
67. Grabstald H. Clinical experiences with thalidomide in patients with cancer. *Clin Pharmacol Ther* 1965;6:298-302.
68. Abeloff, MD, Armitage JO, Lichter AS, et al. *Clinical Oncology*, 2<sup>nd</sup> ed Churchill Livingstone, 2000.
69. Ding Q, Kestell P, Baguley BC. Potentiation of the antitumor effect of cyclophosphamide in mice by thalidomide. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002;50(3):186-92.
70. Bauer KS, Dixon SC, Figg WD. Inhibition of angiogenesis by thalidomide requires metabolic activation, which is species-dependent. *Biochem Pharmacol* 1998;55:1827-34.

71. Zhou S, Paxton JW, Kestell P et al. In vitro and in vivo kinetic interactions of the antitumour agent 5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid with thalidomide and diclofenaco. *Cancer Chemother Pharmacol* 2001; 47(4):319-26.
72. Zhou S, Kestell P, Baguley BC et al. 5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid (DMXAA): a new biological response modifier for cancer therapy. *Invest New Drugs* 2002; 20(3):281-95.
73. Zhou S, Kestell P, Tingle MD. A difference between the rat and mouse in the pharmacokinetic interaction of 5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid with thalidomide. *Cancer Chemother Pharmacol* 2001; 47(6):541-4.
74. Browne WL, Wilson WR, Baguley BC. Suppression of serum tumour necrosis factor-alpha by thalidomide does not lead to reversal of tumour vascular collapse and anti-tumour activity of 5, 6-dimethylxanthenone-4-acetic acid. *Anticancer Res* 1998;18(6A):4409-13.
75. Minchinton AI, Fryer KH, Wendt KR. The effect of thalidomide on experimental tumors and metastases. *Anticancer Drugs* 1996;7(3):339-43.
76. Dixon S. Thalidomide effects on angiogenesis and PSA expression. *Proc Ann Meet Am Assoc Cancer Res* 1997; 38:2866.
77. Folkman, J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285:1182-6.
78. Bosari S, Lee AKC, Delellis RA, et al. Microvessel quantitation and prognoses in invasive breast carcinoma. *Human Pathol* 1992;23:755-61.
79. Horak E, Leek R, Klenk N, et al. Angiogenesis, assessed by platelet/endothelial cell adhesion molecule antibodies as indicator of node metastasis and survival breast cancer. *Lancet* 1992;340:1120-4.
80. Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis – correlation in invasive breast cancer. *N Engl J Med* 1991; 324(1):1-8.
81. Yamazaki K, Abe S, Takekawa H, et al. Tumor angiogenesis in human lung adenocarcinoma. *Cancer* 1994; 74(8):2245-50.

82. Dickinson AJ, Fox SB, Persad RA, et al. Quantification of angiogenesis as an independent predictor of prognosis in invasive bladder carcinomas. *Br J Urol* 1994;74:762-6.
83. Wakui S. Tumour angiogenesis in prostatic carcinoma with and without bone marrow metastasis: a morphometric study. *J Pathol* 1992;168:257-62.
84. Srivastava A. The prognostic significance of tumour vascularity in intermediate thickness skin melanoma. *Am J Pathol* 1988; 133: 419-423.
85. Chung YS, Maeda K, Sowa M, et al. Prognostic value of angiogenesis in gastrointestinal tumors. *Eur J Cancer* 1996;74:762-5.
86. Bossi P, Viale G, Lee AKC, et al. Angiogenesis in colorectal tumors: microvessel quantitation in adenomas and carcinomas with clinicopathological correlations. *Cancer Res* 1995;55:5049-53.
87. Aotake T, Lu CS, Chiba Y, et al. Changes of angiogenesis and tumor cell apoptosis during colorectal carcinogenesis. *Clin Cancer Res* 1999;5(1):135-42.
88. Ogata Y. .Angiogenic activity as a prognostic factor in colorectal cancer. *Proc Ann Meet Am Soc Clin Oncol*, 1998;39:1029.
89. Giatromanolaki A, Stathopoulos GP, Koukourakis MI, et al. Prognostic role of angiogenesis in colorectal cancer. *Proc Ann Meet Am Soc Clin Oncol*, 1999;18:252.
90. Tanigawa, N, Amaya H, Matsumura M, et al. Tumor angiogenesis correlates only with hematogenous, but neither peritoneal nor lymph node metastasis in both human gastric and colorectal cancers. *Proc Ann Meet Am Soc Clin Oncol*, 1997; 38:1772.
91. Nguyen M, Tran C, Barsky S, et al. Thalidomide and chemotherapy combination: preliminary results of preclinical and clinical studies. *Int J Oncol* 1997;10:965-969.
92. Politi P, Reboredo G, Losso M, et al. Phase I trial of thalidomide in AIDS-related Kaposi sarcoma. *Proc Ann Meet Am Soc Clin Oncol* 1998;17:41.
93. Figg WD, Raje S, Bauer KS, et al. Pharmacokinetics of thalidomide in elderly prostate cancer population. *J Pharm Sci* 1999;88:121-125.

94. Eisen T, Boshoff C, Mak I, et al. Continuous low dose thalidomide: A phase II study in advanced melanoma, renal cell, ovarian and breast cancer. *Br J Cancer* 2000;82:812-17.
95. Hwu W-J, Krown SE, Panageas KS, Krown PB, et al. Temozolamide plus thalidomide in patients with advanced melanoma: Results of dose-finding trial. *J Clin Oncol* 2002;20:2610-15.
96. Baidas SM, Winer EP, Fleming GF, et al. Phase II evaluation of thalidomide in patients with metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2000;18(14):2710-2717.
97. Costa P. Thalidomide and pentoxifylline prevent the development of chronic cardiomyopathy provoked by doxorubicin in rats without inhibiting its antitumoral effect. *Blood* 1998;92 (suppl 1, part 2):235b.
98. Bower M, Howard M, Gracie F, et al. A phase II study of thalidomide for Kaposi sarcoma: activity and correlation with KSHV DNA load. *J Immune Defic Syndr Hum Retrovir* 1997; 14(A35): 76.
99. Little R, Kathleen M, Pluda JM, et al. Activity of thalidomide in AIDS-related Kaposi sarcoma. *J Clin Oncol* 2000;18(13):2593-602.
100. Stebbing J, Benson C, Eisen T, et al. The treatment of advanced renal cell cancer with high-dose oral thalidomide. *Br J Cancer* 2001;85:953-8.
101. Motzer R, Berg W, Ginsberg M, et al. Phase II trial of thalidomide for patients advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2002;20:302-6.
102. Minor D, Elias L. Thalidomide treatment of metastatic renal cell carcinoma. *Proc Ann Meet Am Soc Clin Oncol* 2000; 19:352.
103. Vuky J, Berg W, Yu R, et al: Phase II trial of thalidomide in patients with metastatic renal cell carcinoma (RCC). *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol* 2001;20:1056.
104. Novik Y, Dutcher JP, Larkin M, et al: Phase II study of thalidomide in advanced refractory metastatic renal cell cancer (MRCC) progressing after interleukine-2 (IL-2) – based therapy (Rx). *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol* 2001;20:1058.

105. Li Z, Amato R, Papandreou C, et al. Phase II study of thalidomide for patients with metastatic renal cell carcinoma (MRCC) progressing after interleukin-2 (IL-2)-based therapy (Rx). Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 2001; 20:717.
106. Escudier B, Lassau N, Couanet D, et al. Phase II trial of thalidomide in renal cell carcinoma. Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 2001; 20:718.
107. Nathan PD, Walker D, Bridle H, et al. A phase II studies investigating the use of thalidomide in conjunction with interferon- $\alpha$  in patients with metastatic renal cell carcinoma. Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 2001;20:2282.
108. Fine HA, Figg WD, Jaeckle K, et al. Phase II trial of the antiangiogenic agent thalidomide in patients with recurrent high grade gliomas. Journ Clin Oncol 2000;18 (14):708-15.
109. Fine HA, Maher EA, When PY, et al. Phase II trial of thalidomide and BCNU in recurrent high-grade gliomas. Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 2001;20:218.
110. Tseng JE, Glisson BS, Khuri FR, et al. Phase II trial of thalidomide in the treatment of recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck(SCHN). Proc Ann Meet Am Soc Clin Oncol 2000;19:417.
111. Patt YZ, Hassan MM, Lozano RD, et al. Phase II trial of thalidomide for treatment of non-resectable hepatocelular carcinoma (HCC). Proc Ann Meet Am Soc Clin Oncol 2000;19:266.
112. Kong HL, Boyer MJ, Lim R, et al. Phase II trial of thalidomide in unresectable hepatocelular carcinoma (HCC) – a Cancer Therapeutics Research group (CTRG) Study. Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 2001; 20: 2282.
113. Eisen T, Boshoff C, Mak I, et al. Continuous low dose Thalidomide: a phase II study in advanced melanoma, renal cell, ovarian and breast cancer. Br J Cancer 2000;82(4):812-7.
114. Marx GM, Levi JA, Bell DR, et al. A phase I/II trial of thalidomide as an antiangiogenic agent in the treatment of advanced cancer. Proc Ann Meet Am Soc Clin Oncol 1999;18:454.
115. Merchant JJ, Hammes LC, Larson ML, et al. Pilot and safety trial of carboplatin, paclitaxel and thalidomide in advanced non-small cell lung cancer. Proc Ann Meet Am Soc Clin Oncol 2000;19:541.

116. Singhal S, Metha J, Desikan R, et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N Engl J Med* 1999;341(21):1565-71.
117. Strupp C, Germing U, Aivado M, et al. Thalidomide for the treatment of patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2002;16:1-16.
118. Singhal S, Metha J. Thalidomide in Cancer. *Biomed Pharmacother* 2002;56:4-12.
119. Barlogie B, Desikan R, Munshi N, et al. Single course D.T.PACE anti-angiochemotherapy effects CR in plasma cell leukemia and fulminant multiple myeloma. *Blood* 1998; 92(suppl 1, part 2):273b.
120. Moehler T, Neben K, Benner A, et al. Salvage therapy for multiple myeloma with thalidomide and CED chemotherapy. *Blood* 2001;98:3846-8.
121. Rajkumar SV, Gertz MA, Dispenzieri A, et al. Thalidomide therapy for previously untreated, smoldering and relapsed multiple myeloma (MM). *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol* 2001; 20:1194.
122. Figg W, Arlen P, Gulley J, et al. A randomized phase II trial of docetaxel plus thalidomide in androgen-independent prostate cancer. *Semin Oncol* 2001;28:62-6(4suppl 15).
123. Nathan P, Gore M, Eisen T. Unexpected toxicity of combination thalidomide and interferon alfa-2a treatment in metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2002;20:1429-30 (letter).
124. Govindarajan R. Irinotecan and thalidomide in metastatic colorectal cancer. *Oncology* 2000;14(12 Suppl 13):29-32.
125. Govindarajan R. Irinotecan/thalidomide in metastatic colorectal cancer. *Oncology* 2002;16(4 Suppl 3):23-6.
126. Dal Lago L, Schwartzmann G, Richter M. Estudo Clínico de Fase II e Farmacocinética para o uso de Talidomida em pacientes com câncer colorretal metastático. Defesa de Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.

127. Zwingenberger K, Wrendt S. Immunomodulation by thalidomide: Systematic review of the literature and unpublished observations. *J Inflamm* 1996;46:177-211.
128. Gunzler V. Thalidomide in human immunodeficiency virus (HIV) patients. A review of safety considerations. *Drug Sup* 1992;7:116-34.
129. Piscitelli et al. Single-dose pharmacokinetics of thalidomide in human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:2797-9.
130. Chen TL, Vogelsang GB, Petty BG, et al. Plasma pharmacokinetics and urinary excretion of thalidomide after oral dosing in healthy male volunteers. *Drug Metab Dispos* 1989;17(4):402-5.
131. Noormohamed FH, Youle MS, Higgs CJ, et al. Pharmacokinetics and hemodynamics effects of single oral doses of thalidomide in asymptomatic human immunodeficiency virus-infected subjects. *AIDS Res Hum Retrovirus* 1999;15:1047-52.
132. Calabrese L, Resztak K. Thalidomide revisited: pharmacology and clinical applications. *Exp Opin Invest Drugs*. 1998;7:2043-60.
133. Teo SK, Sabourin PJ, O'Brien K. Metabolism of thalidomide in human microsomes, cloned human cytochrome P-450 isoenzymes, and Hansen's disease patients. *J Biochem Mol Toxicol* 2000;14(3):140-7.
134. Scheffler MR, Colburn W, Kook KA, et al. Thalidomide does not alter estrogen-progesterone hormone single dose Pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther*. 1999;65:438-90.
135. Trapnell CB, Donahne SR, Collins JM, et al. Thalidomide does not alter the pharmacokinetics of ethiny estradiol and norethindone. *Clin Pharmacol Ther*. 1998;64:597-602.
136. Wohl DA, Aweeka FT, Shmitz J. Safety, tolerability, and pharmacokinetic effects of thalidomide in patients infected with human immunodeficiency virus: AIDS Clinical Trials Group 267. *J Infect Dis* 2002;185(9):1359-63.
137. Aweeka F, Trapnell C, Chernoff M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of thalidomide in HIV patients treated for oral aphthous ulcers: ACTG protocol 251. AIDS Clinical Trials Group. *J Clin Pharmacol* 2001;41(10):1091-7.

138. Youle MS, Higgs C, Kook KA. Pharmacokinetics and hemodynamics effects of single oral doses of thalidomide in asymptomatic human immunodeficiency virus-infected subjects. *AIDS Research and Human Retroviruses* 1999;15(12):1047-52.
139. Teo SK, Sheffler MR, Kook K. Effect of a high-fat meal on thalidomide pharmacokinetics and the relative bioavailability of oral formulations in healthy men and women. *Biopharm Drug Dispos* 2000; 21(1):33-40.
140. CTC Version 2.0. Revised 1998 March, 23.
141. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. 52<sup>nd</sup> WMA General Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000.
142. Eriksson T, Björkman S, Fyge A. Determination of thalidomide in plasma and blood by high-performance liquid chromatography: avoiding hydrolytic degradation. *J Chromatogr* 1992;582: 211-6.
143. Eriksson T, Björkman S. Handling of blood samples for determination of thalidomide. *Clin Chem* 1997;43:094-5.
144. Simmons BR, Lush RM, Figg WD. A reversed-phase high performance liquid chromatography method using solid phase extraction to quantitate thalidomide in human serum. *Anal Chim Acta* 1997;339:91-7.
145. Teo SK, Colburn WA, Thomas SD. Single-dose oral pharmacokinetics of three formulations of thalidomide in healthy male volunteers. *J. Clin. Pharmacol* 1999;39:1162-8.
146. Torano JS, Verbon A, Guchelaar HJ. Quantitative determination of thalidomide in human serum with high-performance liquid chromatography using protein precipitation with trichloroacetic acid and ultraviolet detection. *J Chromatogr B Biomed Sci* 1999;734(2):203-10.
147. Kenyon BM, Browne F, D'Amato RJ. Effects of thalidomide and related metabolites in a mouse corneal model of neovascularization. *Exp Eye Res* 1997 Jun; 64(6):971-8