

PAULO MARCELO GEHM HOFF

EVOLUÇÃO DO TRATAMENTO CLÍNICO DO CÂNCER DE CÓLON E RETO

TESE APRESENTADA À ACADEMIA
NACIONAL DE MEDICINA PARA
CONCORRER À CADEIRA NÚMERO 58,
SECÇÃO DE MEDICINA, PATRONÍMICA
DE ALOYSIO DE CASTRO

RIO DE JANEIRO, 2016

PAULO MARCELO GEHM HOFF

**Evolução do Tratamento Clínico
do Câncer de Cólon e Reto**

Tese apresentada à Academia Nacional de Medicina para concorrer à
cadeira número 58, secção de Medicina, patronímica de Aloysio de Castro

2016

SUMÁRIO

1. Resumo	3
2. Introdução	4
3 O tratamento de acordo com o estadiamento	6
4. Contribuição ao tratamento do câncer de cólon e reto.	13
4.1 Novas fluoropirimidinas	15
4.1.1 Desenvolvimento do UFT e leucovorin	17
- Estudo de fase III para registro do UFT e leucovorin	18
- Aprovação do UFT e leucovorin no Japão	20
- Novo esquema para administração de UFT e leucovorin	21
4.1.2 Desenvolvimento da capecitabina	22
- Estudo de fase III para registro da capecitabina	23
- Seleção de pacientes	24
4.1.3 Desenvolvimento do S-1	26
- Uso de fase I do S-1 em pacientes ocidentais	26
- Elucidação da farmacocinética do S-1	27
4.1.4 Desenvolvimento do TAS-102	29
4.2. Irinotecano e oxaliplatina	31
4.2.1 Combinação de irinotecano e oxaliplatina	33
4.3 Terapia molecular	35
4.3.1 Desenvolvimento do bevacizumabe	36
4.3.2 Desenvolvimento do cetuximabe e panitumumabe	38
4.3.3 Combinação de anti-VEGF e anti-EGFR	39
4.4. Tratamento adjuvante	40
5. Conclusões	44
6. Referências	46

1. RESUMO

Introdução: O tratamento do câncer de cólon e reto é tarefa multidisciplinar bastante complexa, que requer a participação de um grande número de especialidades médicas. Por um longo tempo apenas o tratamento cirúrgico era considerado, pois este foi considerado um tumor resistente ao tratamento sistêmico até meados da década de 90 do século passado, sendo essencialmente incurável a partir do momento em que se detectavam metástases à distância. Entretanto, as últimas décadas testemunharam um notável progresso no conhecimento e tratamento dessa doença, com a incorporação de diversos novos fármacos. **Material e métodos:** Revisamos nossa contribuição ao tratamento do câncer de cólon e reto avançado, representada por 214 manuscritos indexados (Pubmed, 19/07/2016). Destes, selecionamos as publicações que acreditamos representar melhor nossa linha de pesquisa, e nossa contribuição ao tratamento destes cânceres. **Resultados:** Contamos hoje com um total de 12 fármacos com atividade comprovada contra o câncer de cólon e reto. Participamos de maneira fundamental para a aprovação e para a incorporação no uso clínico de três destes fármacos, a capecitabina, UFT, e o TAS-102, que são medicações orais e substituem com vantagem o 5-fluorouracil utilizado anteriormente. Participamos ainda de maneira importante no desenvolvimento clínico do irinotecano, da oxaliplatina, do bevacizumabe e do cetuximabe. **Conclusão:** Participamos ativamente do desenvolvimento de parte substancial dos novos fármacos disponíveis para o tratamento clínico do câncer de cólon e reto. A disponibilidade desses novos fármacos alterou a história natural desses tumores, e hoje os pacientes não apenas podem esperar por aumento substancial na sobrevida, mas, em casos favoráveis, a presença de metástases à distância não é mais considerada necessariamente um impedimento a tratamento com intuito curativo.

DESCRITORES: Câncer de cólon e reto, Ensaios clínicos, Novos fármacos.

2. INTRODUÇÃO

O câncer de cólon e reto é uma doença relativamente comum, figurando entre as cinco primeiras causas de morte por neoplasia no Brasil e no mundo.^(1, 2) Trata-se, na maioria das vezes, de um adenocarcinoma, afetando preferencialmente pessoas com mais de 50 anos de idade, embora possa ser ocasionalmente encontrado em pessoas bem mais jovens, particularmente quando associado a síndromes genéticas hereditárias.⁽³⁾ A distribuição demográfica deste câncer, com incidência bastante alta nos países mais desenvolvidos do ocidente, leva à suspeita de que fatores como nutrição e atividade física possam estar correlacionados ao seu aparecimento.⁽⁴⁻⁶⁾ Apesar de ainda menos prevalente no Brasil do que em países europeus e nos Estados Unidos, o câncer de cólon e reto já é um problema sério em nosso meio, e as estimativas publicadas na página da internet do Instituto Nacional do Câncer (INCA) para o Brasil apontam incidência de mais de 39.000 novos casos em 2016.

O tratamento unicamente cirúrgico ou a combinação de cirurgia e quimioterapia adjuvante resultam em cura para um número substancial de pacientes, mas o prognóstico para pacientes com doença metastática é desanimador.^(7, 8) Apesar das dificuldades ainda encontradas, o desenvolvimento de novos fármacos, tanto quimioterápicos como moleculares, resultou em uma modificação da história natural dessa doença, gerando um aumento substancial da sobrevida mediana, com ótima qualidade de vida para os pacientes.^(8, 9) Uma consequência importante

destes avanços na eficiência do tratamento sistêmico foi que o uso judicioso de combinações terapêuticas, incluindo novos fármacos e cirurgia, levou a um aumento importante no número de pacientes com câncer metastático tratados com intento curativo.⁽¹⁰⁾

Neste trabalho, abordaremos a evolução no tratamento oncológico clínico do câncer de cólon e reto, enfatizando nossa contribuição para o desenvolvimento de novos fármacos já incorporados ao armamentário oncológico disponível para o tratamento desta patologia.

3. O TRATAMENTO DE ACORDO COM O ESTADIAMENTO

Após a definição da origem e da histologia do tumor, a informação mais relevante para a determinação do prognóstico e para a escolha do tratamento adequado para um paciente com câncer é o seu estadiamento. Embora possa ser frequentemente estimado clinicamente, o estadio do carcinoma de cólon e reto é historicamente, e fundamentalmente cirúrgico. O sistema proposto por Dukes⁽¹¹⁾ foi utilizado por muitas décadas, mas caiu em desuso no final do século XX. Foi substituído pelo sistema TNM (“Tumor, Node, Metastasis”). O **T** (Tumor) é classificado como: **TX** (tumor não-avaliável); **Tis** (carcinoma *in situ*); **T1** (tumor infiltra a submucosa); **T2** (tumor infiltra a muscular própria); **T3** (tumor infiltra até a subserosa ou gordura perirretal) ou **T4** (tumor invade outros órgãos ou estruturas e/ou perfura o peritônio visceral). O **N** (Linfonodo) é classificado como: **N0** (sem metástases linfonodais); **N1** (metástases em um a três linfonodos regionais) ou **N2** (metástases em quatro ou mais linfonodos regionais). Já o **M** (Metástases) é classificado apenas como **M0** (sem metástases à distância) ou **M1** (metástases à distância). Este sistema é facilmente reproduzível e correlaciona-se muito bem com a sobrevida dos pacientes, como demonstrado na Tabela 1. O uso de marcadores moleculares, e mais recentemente a avaliação de DNA ou células tumorais circulantes representa uma nova linha de pesquisa no estadio de pacientes com câncer, mas ainda é considerado experimental, não sendo usado na prática clínica^(12, 13).

Tabela 1 - Estadio TNM para tumores de cólon e reto e expectativa de sobrevida

Estadio	TNM	Sobrevida em 5 anos
0	TispN0M0	100%
I	T1-2pN0M0	93,2%
Ila	T3pN0M0	84,7%
Ilb	pT4pN0M0	72,2%
IIla	T1-2pN1M0	83,4%
IIlb	T3-4pN1M0	64,1%
IIlc	qqTpN2M0	44,3%
IV	qqTqqNM1	8,1%

- Sobrevida em 5 anos baseada no TNM ao diagnóstico

A cirurgia continua sendo o tratamento mais efetivo para pacientes com câncer de cólon e reto, sempre que tecnicamente possível. A sobrevida global em 5 anos para pacientes estadio I é de mais de 90%, mas de apenas 10% para pacientes com estadio IV.⁽¹⁴⁾ Grandes esforços têm sido feitos para a elaboração de estratégias que facilitem a detecção precoce da doença, o que deve resultar em maior número de pacientes curados com cirurgia.⁽¹⁵⁻¹⁷⁾ Aproximadamente 80% dos pacientes são diagnosticados em estadios I a III,⁽¹⁴⁾ mas apesar disso, um número substancial desses pacientes apresentará eventualmente doença metastática devido à doença residual não aparente no momento da cirurgia.

Como acontece em grande parte dos tumores sólidos, a detecção precoce possibilita altas taxas de cura neste tipo de neoplasia, superando 90%. Até mesmo por conta deste baixo risco de recidiva, a recomendação

de tratamento não se alterou na última década, estando ainda restrita ao tratamento cirúrgico, e não há indicação de tratamento adjuvante. Portanto, não há desenvolvimento de novos fármacos nesta indicação, com a pesquisa ficando praticamente restrita a alternativas cirúrgicas e radioterápicas, principalmente em pacientes com adenocarcinomas de reto distal.^(18, 19)

Uma das áreas que ainda apresentam grande controvérsia envolve o tratamento de pacientes com estágio II. Há uma diferença importante entre o tratamento de tumores de cólon ou de reto nesta situação. Os tumores originados no cólon são tratados com ressecção cirúrgica e, dependendo do grau de risco, quimioterapia adjuvante. Pacientes com instabilidade de microssatélite de alta frequência (MSI-H) e sem outros fatores de alto risco têm baixo risco de recorrência.⁽²⁰⁾ Como o benefício da quimioterapia nesse grupo nunca foi demonstrado, não se recomenda quimioterapia adjuvante.

Pacientes com tumores primários perfurados ou obstruídos, tumores com invasão linfovascular ou perineural, CEA pré-operatório > 10 ng/mL, menos de 14 linfonodos regionais analisados no espécime cirúrgico, tumores aneuplóides, ou pobremente diferenciados têm risco de recorrência elevado, e usualmente recebem tratamento quimioterápico adjuvante, usualmente limitada ao uso de uma fluoropirimidina como terapia única.^(21, 22) Embora a redução de risco tenha a mesma magnitude daquela observada em pacientes com estadios III,⁽²³⁾ devido ao risco menor, o benefício absoluto do

tratamento adjuvante nos pacientes em estadio II é pequeno e permanece controverso.⁽²²⁾

Em comparação com os pacientes com câncer de cólon, os pacientes com adenocarcinoma de reto com estadio II apresentam historicamente um maior risco de recorrência local, e são usualmente tratados de forma análoga aos pacientes com estadio III, recebendo tratamento com rádio e quimioterapia baseada em 5-fluorouracil (5-FU) ou uma das fluoropirimidinas orais.⁽²⁴⁻²⁶⁾ A maioria dos estudos em andamento começa a questionar a necessidade deste tratamento mais intenso, focando na limitação da indicação de radioterapia, e na necessidade de administração de quimioterapia para todos estes pacientes.

O risco de recorrência de pacientes com câncer de cólon e reto estadio III é naturalmente mais elevado, e o tratamento usualmente inclui a ressecção cirúrgica seguida de quimioterapia adjuvante baseada em 5-FU, ou um de seus equivalentes orais, preferencialmente combinado com oxaliplatina.^(27, 28) No caso dos pacientes com adenocarcinoma de reto, o tratamento ainda inclui o uso de neoadjuvância com quimiorradioterapia.⁽²⁹⁾ Os regimes utilizados na adjuvância em casos de câncer de cólon e reto são similares, sendo desenvolvidos baseados na experiência adquirida no tratamento de pacientes com doença avançada. Aqueles fármacos e regimes que se mostram ativos contra doença macroscópica são, então, investigados na adjuvância. Embora se espere um melhor resultado em

relação à cura, pois há apenas doença microscópica presente, nem sempre a realidade confirma esta expectativa, e o tratamento adjuvante não apresentou nenhum avanço importante desde o início deste século.

Em relação aos tumores do reto, há sérias dúvidas quanto ao benefício da adjuvância para pacientes que tenham recebido tratamento combinado antes da cirurgia. Um grande estudo de fase III está atualmente recrutando pacientes com câncer de reto no Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP-HC-FMUSP). Após quimiorradioterapia neoadjuvante, os pacientes são aleatorizados para receberem quimioterapia adjuvante, seguindo o tratamento padrão atual, ou observação. Mais de 100 pacientes já foram incluídos, e espera-se que em poucos anos possamos definir com precisão o real benefício do uso de quimioterapia adjuvante para estes pacientes.

Tradicionalmente, a presença de metástases à distância, caracterizando um estágio IV, indicava uma doença que não era passível de tratamento curativo. No entanto, esta realidade mudou drasticamente nas últimas décadas, e pacientes com doença avançada ocasionalmente se beneficiam de tratamento cirúrgico.⁽¹⁰⁾ O tratamento inicial frequentemente é feito com quimioterapia sistêmica.^(7, 8, 30, 31) Esse tratamento evoluiu muito nas últimas décadas, com a integração de novas classes terapêuticas, mas a espinha dorsal de todos os regimes utilizados continua sendo o 5-FU.^(7, 31-35) Muito raramente, o uso de quimioterapia sistêmica pode resultar em cura

para os pacientes com doença metastática, mas isso ocorre tão infreqüentemente que não deve ser considerado como um resultado factível na prática clínica usual.⁽³⁶⁾

Os novos tratamentos baseiam-se em seis classes e em, pelo menos, 13 fármacos diferentes, listados na Tabela 2, o que possibilita um número extremamente alto de combinações, tornando possível e desejável a individualização do tratamento para cada doente. Entretanto, para que essa prática se torne uma realidade no dia a dia, é fundamental que os mecanismos moleculares dos tumores sejam identificados claramente, possibilitando uma escolha terapêutica inteligente e com melhores chances de sucesso.

Como discutido anteriormente, talvez a maior mudança de paradigma no tratamento destes tumores advenha do grande impacto dos regimes quimioterápicos modernos na doença metastática e consequente aumento no número de pacientes que são tratados cirurgicamente com intuito curativo, particularmente quando a doença restringe-se a apenas um órgão, e principalmente quando esse órgão é o fígado.^(10, 37, 38) A melhor seleção de terapias sistêmicas, associada a maior atividade contra o câncer de cólon e reto possibilitará que um maior número de doentes possa ter sua doença controlada por tempo mais longo e, em casos selecionados, tornarem-se candidatos a tratamento curativo.⁽³⁹⁾

Tabela 2 – Drogas quimioterápicas e moleculares com atividade em câncer de cólon e reto

Drogas	Via de administração	Alvo
Fluoropirimidinas 5-fluorouracil UFT Capecitabina S-1 TAS-102	Endovenosa Oral Oral Oral Oral	Timidilato sintetase
Raltitrexed	Endovenosa	Timidilato sintetase
Platinas Oxaliplatina	Endovenosa	DNA
Inibidor de topoisomerase Irinotecano	Endovenosa	Topoisomerase I
Anti-VEGF Bevacizumabe Ramucirumabe Regorafenibe	Endovenosa Endovenosa Oral	Fator de crescimento vâsculo-endotelial
Anti-EGFR Cetuximabe Panitumumabe	Endovenosa Endovenosa	Receptor do fator de crescimento endotelial

4. CONTRIBUIÇÃO AO TRATAMENTO DO CÂNCER DE CÓLON E RETO

O descobrimento e desenvolvimento de novos fármacos e regimes para o tratamento de qualquer tipo de neoplasia é extremamente laborioso, com necessidade de envolvimento de centenas de investigadores e milhares de pacientes. Entre o desenvolvimento pré-clínico inicial, e a comercialização final do produto, o processo frequentemente requer mais de uma década de esforços e perto de um bilhão de dólares em investimentos. Após a aprovação inicial, o desenvolvimento ainda pode levar muitos anos, ou mesmo décadas, já que este mesmo fármaco será testado em combinação com outros produtos com atividade na doença em questão e em outras afecções.

O desenvolvimento de novos fármacos divide-se usualmente em duas partes: uma inicial, feita em laboratório, com o auxílio de linhagens celulares e animais, e uma subsequente, com a administração em seres humanos. Esta segunda etapa divide-se ainda em 4 fases de pesquisa, cada vez mais sofisticadas. Nossa linha de pesquisa principal foca a identificação e o desenvolvimento clínico de novos fármacos para o tratamento de câncer de cólon e reto, por meio de estudos clínicos (Tabelas 3A e B).

Tabela 3A – Lista de estudos de desenvolvimento de novos fármacos (fase I), com participação deste autor

Fármaco	Estágio atual de desenvolvimento	Referência
S-1	Fase III (Comercialmente disponível)	(40, 41)
Exatecano (DX-8951f)	Estudo de fase III negativo, desenvolvimento foi cancelado	(42, 43)
TAS-102	Fase II Fase III (Comercialmente disponível)	(44, 45)
Emitefur	Estudo de fase III negativo, desenvolvimento foi cancelado	(46)
MitoExtra	Fase II	(47)
BOF-A2	Desenvolvimento abandonado após estudo de fase I	(48)
MDAM	Desenvolvimento abandonado após estudo de fase I	(49)
FK-317	Desenvolvimento abandonado após estudo de fase I	(50)
RPR-109881A	Desenvolvimento abandonado após estudo de fase I	(51)

Tabela 3B - Estudos de fase I de combinações de novos fármacos, com participação deste autor

Combinação	Estado atual de desenvolvimento	Referência
Docetaxel e ciclofosfamida	Comercialmente disponível	(52)
Irinotecano e oxaliplatina	Comercialmente disponível	(53)
Semaxanib e irinotecano	Desenvolvimento do semaxanib abandonado após estudo de fase III negativo	(54)
UFT e radioterapia	Comercialmente disponível	(55-57)
Tirapazamina e ciclofosfamida	Fase II	(58)

A seguir será apresentada de forma mais pormenorizada essa contribuição dividida por classe farmacológica.

4.1 NOVAS FLUOROPIRIMIDINAS

Antecipando uma tendência que se tornou muito forte apenas recentemente, o 5-FU foi desenvolvido de maneira racional, e não empírica, por Heidelberger et al.⁽⁵⁹⁾, em 1957. Sessenta anos depois, este fármaco continua sendo o agente quimioterápico mais utilizado no tratamento de tumores de cólon e reto.^(7, 60) Essa medicação é bastante ativa, e extremamente versátil, podendo ser administrada como agente único, combinado com agentes moduladores ou em regimes com outras medicações antitumorais, tais como irinotecano, oxaliplatina, bevacizumabe ou cetuximabe.⁽³⁰⁾ Após todos estes anos e apesar de tantos novos agentes, surpreendentemente, todos os regimes quimioterápicos utilizados em primeira linha no tratamento de câncer de cólon e reto continuam baseados no 5-FU.^(7, 60)

Após sua entrada na circulação sanguínea, a maior parte do 5-FU infundido é rapidamente convertida pela enzima desidrogenase de dihidropirimidina (DPD) em metabólitos inativos.^(61, 62) O restante do 5-FU entra em uma via anabólica, sendo convertido em monofosfato de fluorouridina, que, por sua vez, é convertido em difosfato de fluorouridina e, posteriormente, em trifosfato de fluorouridina (FUTP) ou monofosfato de fluorodeoxiuridina (FdUMP).^(63, 64) Como a concentração de DPD no trato digestório é altamente variável, a absorção oral de 5-FU e

suabiodisponibilidade são muito erráticas.^(33, 65, 66) Portanto, a melhor via de administração é a endovenosa.

O mecanismo de citotoxicidade do 5-FU inclui inibição de síntese de DNA a partir da inibição da enzima timidilato sintase (TS) pelo FdUMP e da inibição da síntese de RNA, quando o FUTP é incorporado no RNA.^(67, 68) A taxa de resposta global da maioria dos estudos fica ao redor de 15%. Pacientes tratados com 5-FU como agente único apresentam sobrevida mediana próxima de 11 meses, comparada aos 6 a 9 meses vistos naqueles com suporte clínico exclusivo.^(69, 70)

O 5-FU pode ainda ser administrado de forma rápida, na forma de infusão de poucos minutos ou de forma contínua, por períodos variando entre 24 horas e 21 dias.⁽⁷¹⁻⁷³⁾ Metanálise incluindo estudos que haviam comparado infusões rápidas e contínuas de 5-FU como tratamento para adenocarcinomas de cólon e reto demonstrou que as infusões contínuas são superiores, em termos de resposta objetiva (22% versus 14%) e sobrevida mediana (12,1 meses versus 11,3 meses).⁽⁷⁴⁾ No entanto, o uso de infusões contínuas por longos períodos de tempo apresenta desafios logísticos consideráveis, devido ao requerimento de acesso central, bem como bombas de infusão portáteis ou longos períodos de hospitalização, identificando-se, portanto, a necessidade de uma alternativa mais prática.^(33, 75, 76)

Os efeitos colaterais da infusão rápida do 5-FU e a inconveniência das infusões prolongadas levaram diversos investigadores a procurarem maneiras alternativas de administração do 5-FU, incluindo drogas orais precursoras, como o tegafur^(77, 78), uracil com tegafur (UFT)⁽⁷⁹⁾ e capecitabina.⁽⁸⁰⁾ O uso das fluoropirimidinas orais proporciona uma exposição prolongada ao 5-FU, com picos plasmáticos menores aos observados com 5-FU em *bolus*.⁽³³⁾ Como demonstrado nos regimes de infusão contínua, isso pode reduzir os efeitos tóxicos associados à alta concentração plasmática do 5-FU, como neutropenia e mucosite. Outro fator importante é a conveniência do tratamento, e pacientes com câncer tendem a preferir a medicação administrada por via oral, desde que se mantenha a eficácia do tratamento.⁽⁸¹⁾ Quatro fluoropirimidinas orais: UFT, S-1, capecitabina e TAS-102, estão disponíveis comercialmente em diversos países, ainda que no Brasil apenas a capecitabina esteja presente.

4.1.1 Desenvolvimento do UFT e leucovorin

O tegafur é uma fluoropirimidina originalmente sintetizada por Hiller et al.⁽⁸²⁾ Essa droga foi investigada originalmente para administração endovenosa e seu uso foi abandonado devido às altas taxas de neurotoxicidade.^(83, 84) No entanto, as características farmacodinâmicas do tegafur permitem seu uso como uma formulação oral, o que gerou grande interesse entre investigadores e médicos japoneses.⁽⁸⁵⁾

Na década de 1980, o desenvolvimento dessa medicação como opção oral ao 5-FU ganhou força no Japão. Quando administrado por via

oral, o tegafur é absorvido de forma intacta e não é metabolizado pela DPD na luz intestinal. Uma vez absorvido, o tegafur é transformado em 5-FU, primariamente no fígado, e entra nas mesmas vias metabólicas do 5-FU administrado por via endovenosa, com o mesmo perfil de atividade.⁽⁸⁶⁻⁸⁸⁾

No UFT, o tegafur é combinado com uracil numa razão molar de 1:4.⁽⁸⁹⁻⁹¹⁾ O uracil é o substrato natural da enzima DPD e compete favoravelmente com o 5-FU pela enzima, resultando em meia-vida mais prolongada do 5-FU, o que mimetiza uma infusão contínua.^(90, 91) O UFT tornou-se rapidamente um dos fármacos mais utilizados no tratamento de tumores originados no trato gastrointestinal no Japão e gerou interesse considerável no mundo ocidental.

Baseado na experiência japonesa, bem como na similaridade do UFT com o 5-FU, os primeiros estudos utilizando UFT e leucovorin foram dirigidos para pacientes com adenocarcinomas de cólon e reto.⁽⁹¹⁾ Em um estudo de fase II, incluindo 45 pacientes, foi descrita uma taxa de resposta de 42%, com toxicidade bastante aceitável. O efeito colateral mais comum foi novamente diarreia, com quatro pacientes apresentando grau 3 dessa toxicidade.⁽⁹²⁾

Estudo de fase III para registro do UFT e leucovorin

Os resultados promissores obtidos nas pesquisas de fase II levaram, a um grande estudo randomizado de fase III, comparando UFT e

leucovorin com ao uso de 5-FU e leucovorin. O estudo incluiu pacientes sem tratamento prévio, com câncer de cólon e reto metastático.⁽⁹³⁾ No total, 816 pacientes participaram do estudo, recebendo um regime de 300 mg/m²/dia de UFT combinado com 25-30 mg de leucovorin três vezes ao dia por 28 dias, repetidos a cada 35 dias, ou o regime clássico da Clínica Mayo, incluindo 425 mg/m²/dia de 5-FU endovenoso, combinado com 20 mg/m²/dia de leucovorin por cinco dias, repetido a cada 28 dias, como braço-controle. Os resultados estão resumidos na Tabela 4. Não houve diferença significativa quanto à taxa de resposta (12% *versus* 15%), tempo para progressão (3,5 *versus* 3,8 meses) ou quanto à sobrevida mediana (12,4 *versus* 13,4 meses) entre o grupo que recebeu UFT e leucovorin e o grupo que recebeu 5-FU e leucovorin, respectivamente.⁽⁹³⁾ Pacientes expostos a UFT e leucovorin tiveram menos neutropenia severa, diarreia (67% *versus* 76%) e estomatite (24% *versus* 75%) do que aqueles expostos ao 5-FU e leucovorin endovenosos.⁽⁹³⁾ Este estudo serviu de base para a aprovação do uso de UFT e leucovorin contra adenocarcinomas de cólon e reto ao redor do mundo, incluindo Brasil. No entanto, atualmente o produto não é mais comercializado em nosso meio.

Tabela 4 - Resultado do estudo de fase III para registro do UFT e leucovorin

	5-FU e leucovorin	UFT e leucovorin
Taxa de resposta	15%	12%
Tempo para progressão	3,8 meses	3,5 meses
Sobrevida mediana	13,4 meses	12,4 meses

* nenhuma comparação atingiu significância estatística⁽⁹³⁾

Aprovação do UFT e leucovorin no Japão

No Japão, o UFT foi desenvolvido como agente único e a agência regulatória japonesa (Koseisho) não aceitou imediatamente os resultados do estudo de fase III como suporte para a aprovação do uso do UFT com leucovorin naquele país. Houve uma dúvida no Japão de que eventuais diferenças no metabolismo das medicações orais em nipônicos poderia levar a diferenças em relação à aplicabilidade dos resultados obtidos no estudo ocidental para a população japonesa em geral. Com intuito de gerar as informações necessárias de eficácia e de farmacocinética comparada entre as duas populações, desenhou-se junto ao Dr. Shirao, do Instituto Nacional do Câncer em Tóquio, um estudo-ponte no qual incluíram-se 45 pacientes americanos, sem ascendência oriental, e 44 pacientes japoneses.⁽⁹⁴⁾ Ambos os grupos receberam a dose de 300 mg/m²/dia e leucovorin 75 mg/dia, divididos em três doses diárias, por 28 dias, seguidos por 7 dias de descanso. Os resultados estão resumidos na Tabela 5. A taxa de resposta foi de 36,4% para os pacientes japoneses e de 34,1% para os pacientes americanos, sem diferença estatística. A incidência de diarreia foi de 9% entre os japoneses e de 22% entre os americanos, e as demais toxicidades foram equivalentes entre os dois grupos. Embora tenha sido notada uma pequena diferença na área sob a curva e na concentração máxima de 5-FU entre os pacientes japoneses, esta não apresentou significância estatística. Baseada no estudo de fase III⁽⁹³⁾ e neste estudo-ponte⁽⁹⁴⁾, a agência regulatória japonesa aprovou o uso da combinação também no Japão.

Tabela 5 - Resultados do estudo ponte de UFT e leucovorin entre EUA e Japão

	UFT e leucovorin Japão	UFT e leucovorin EUA
Taxa de resposta	36,415%	34,1%
Diarréia graus 3 e 4	9%	22%

* nenhuma comparação atingiu significância estatística ⁽⁹³⁾

Novo esquema para a administração de UFT e leucovorin

Um dos maiores entraves quanto ao uso de UFT e leucovorin era a necessidade de que a dose diária fosse dividida em três doses, uma a cada 8 horas. Como os pacientes recebem a medicação por meses, quanto maior o número de administrações diárias, mais difícil se torna manter a aderência ao tratamento. Decidiu-se, então, desenhar e conduzir estudo de fase II, multicêntrico, com 98 pacientes, com o objetivo de demonstrar a equivalência no tempo de progressão com o uso de UFT e leucovorin administrados duas vezes ao dia, com o uso da mesma combinação administrada três vezes ao dia. Objetivos secundários incluíram análise de toxicidade, resposta objetiva e sobrevida global. Os resultados estão resumidos na Tabela 6. O tempo mediano de progressão foi de 3,8 meses, comparado com 3,5 meses observados com o uso da medicação três vezes ao dia e a taxa de resposta foi de 11%, com sobrevida mediana de 12,8 meses, comparável aos resultados de 12% e 12,4 meses obtidas com o uso da combinação três vezes ao dia. A incidência de diarréia com graus 3 e 4 foi de 30% no regime de administração duas vezes ao dia e 21% no de três vezes ao dia. Esses resultados sugerem que o uso de UFT e leucovorin

duas vezes ao dia tem eficácia e toxicidade similares às aquelas obtidas com o uso da mesma medicação três vezes ao dia, possibilitando maior conveniência no uso dessa combinação.^(95, 96)

Tabela 6 - Resultado do estudo de fase II de UFT e leucovorin administrados duas vezes ao dia, comparado aos resultados históricos do estudo de fase III

	UFT e leucovorin 2 vezes ao dia	UFT e leucovorin 3 vezes ao dia
Taxa de resposta	11%	12%
Tempo para progressão	3,8 meses	3,5 meses
Sobrevida mediana	12,8 meses	12,4 meses
Diarréia graus 3 e 4	30%	21%

* comparação sem valor estatístico⁽⁹³⁾

4.1.2 Desenvolvimento da capecitabina

A capecitabina também é um fármaco precursor do 5-FU, desenvolvido racionalmente como alternativa para o 5-FU endovenoso.⁽³³⁾ Este fármaco é absorvido intacto no intestino e metabolizado no fígado em 5'DFCR pela enzima carboxilesterase e, em uma segunda etapa, em 5DFUR pela enzima citidina deaminase no fígado e tecidos tumorais. A última etapa da transformação ocorre, preferencialmente, em tecidos tumorais, nos quais 5'DFUR é transformado em 5-FU pela enzima timidina fosforilase^(97, 98).

Estudo de fase III para registro da capecitabina

Em estudo de fase III, comparou-se o uso de capecitabina 2.500 mg/m²/d por duas semanas, a cada três semanas, com 5-FU em *bolus* na dose de 425mg/m² associado a leucovorin 20 mg/m²/d por cinco dias a cada quatro semanas como primeira linha para câncer metastático de cólon.⁽⁹⁹⁾ O mencionado estudo randomizou 605 pacientes e os resultados estão resumidos na Tabela 7.

Demonstramos um aumento significativo na taxa de resposta no grupo de pacientes tratados com a capecitabina (24,8% *versus* 15,5%). Não houve diferença significativa na sobrevida livre de progressão, nem na sobrevida global mediana (P = 0,24)⁽⁹⁹⁾. A toxicidade observada entre os pacientes que receberam a capecitabina foi menor, com menos efeitos adversos graves e menor número de internações hospitalares. Os efeitos adversos mais comuns nos pacientes do grupo da capecitabina foram síndrome de mão e pé, e diarreia, enquanto os do grupo do 5-FU foram a mucosite e a neutropenia.⁽⁹⁹⁾

Um segundo estudo similar, com 602 pacientes, foi conduzido por Van Cutsem et al.⁽¹⁰⁰⁾, confirmando os resultados obtidos no nosso estudo. Houve aumento significativo da taxa de resposta no grupo da capecitabina (26,6% *versus* 17,9%), com sobrevida mediana semelhante nos dois grupos.⁽¹⁰⁰⁾ Como os dois estudos tinham o mesmo desenho, fez-se uma análise combinada, confirmando os resultados individuais dos estudos,

fortalecendo o poder estatístico da análise.⁽¹⁰¹⁾ Esses resultados levaram à aprovação do uso comercial da capecitabina no tratamento de adenocarcinomas de cólon e reto em praticamente todo o mundo, incluindo o Brasil, onde ainda é fartamente utilizada nesta e em outras indicações. Sua flexibilidade permitiu sua incorporação em diversos regimes quimioterápicos, incluindo tumores de mama, esôfago, estômago, pâncreas, entre outros.^(32, 102)

Tabela 7 - Resultados do estudo de fase III para registro da capecitabina

	5-FU e leucovorin	Capecitabina
Taxa de resposta	15,5%	24,8%
Tempo para progressão	4,7 meses	4,3 meses
Sobrevida mediana	13,3 meses	12,5 meses

* Apenas a diferença na taxa de resposta atingiu significância estatística ($P = 0.005$)⁽⁹³⁾

Seleção dos pacientes

O estudo da fase III foi fator determinante na aprovação do uso da capecitabina como alternativa ao uso do 5-FU em primeira linha para pacientes com câncer de cólon e reto.⁽⁹⁹⁾ Historicamente, pacientes com essa neoplasia que tivessem progredido com o uso de 5-FU eram tratados com a mesma medicação, alterando-se apenas o regime de administração, baseado em estudos pequenos sem poder estatístico real que indicava, nesses casos, taxa de resposta ao redor de 10%.⁽¹⁰³⁾ Como o mecanismo de ativação da capecitabina favorece sua acumulação nos tecidos tumorais,⁽⁹⁷⁾

houve natural interesse no uso desse fármaco como forma de tratamento para pacientes cujos tumores haviam previamente progredido durante o uso de 5-FU. Desenhamos e conduzimos um estudo de fase II, avaliando o benefício do uso de capecitabina nessa situação.⁽¹⁰⁴⁾ Pacientes que haviam progredido anteriormente, durante tratamento com 5-FU e leucovorin, receberam a dose padrão de capecitabina, 1250 mg/m²/dia, por 14 dias, seguidos por sete dias de descanso, com ciclos repetindo-se a cada 21 dias. O desenho estatístico utilizado era o de Simon, e previa dois estágios de inclusão de pacientes, com o segundo estágio sendo aberto apenas se houvesse pelo menos uma resposta objetiva no grupo inicial.^(105, 106) Os pacientes eram reavaliados com exames de imagem a cada seis semanas, já que o objetivo primário era a determinação da taxa de resposta objetiva. Incluíram-se 23 pacientes, e a taxa de resposta foi de 0%. Portanto, o estudo foi encerrado após o primeiro estágio, já que não haveria chance estatística real de que a inclusão de novos pacientes alterasse o resultado final. Metade dos pacientes teve estabilização da doença e o tempo mediano de progressão foi de 64 dias. A sobrevida mediana foi de 389 dias, mas virtualmente todos os pacientes receberam tratamento de terceira linha com irinotecano, o que explica esta sobrevida bastante razoável.⁽¹⁰⁴⁾ As toxicidades ficaram dentro do esperado, sendo as mais comuns a diarreia e a síndrome mão-pé. O estudo, apesar de negativo, é muito importante dentro da literatura mundial, pois permite descartar com segurança o uso de capecitabina como regime de resgate como fármaco único, o que pode

representar ganhos importantes para os pacientes e para os serviços de saúde, já que se poupa a despesa financeira advinda de tratamento ineficaz.

4.1.3 Desenvolvimento do S-1

Estudo de fase I do S-1 em pacientes ocidentais

O novo fármaco conhecido como S-1 foi desenvolvido no Japão,⁽¹⁰⁷⁾ na década de 90. Trata-se de um fármaco composto, no qual o tegafur, que também é utilizado como fonte de 5-FU no UFT, é combinado com dois novos fármacos. O primeiro é o chloro-2.4-dihidroxipiridíneo (CDHP), um bloqueador da enzima DPD, centenas de vezes mais potente que o uracil. O segundo é o oxonato de potássio, usado para bloquear a ação do 5-FU na mucosa intestinal, reduzindo o risco de diarreia.^(108, 109) Estudos iniciais feitos no Japão confirmaram a alta atividade antitumoral desse fármaco, particularmente contra tumores do trato gastrointestinal.⁽¹¹⁰⁻¹¹²⁾ A dose preconizada no Japão é de 40 mg/m² duas vezes ao dia, por 28 dias, a cada 35 dias, e a toxicidade limitante é a neutropenia, com incidência muito baixa de diarreia.⁽¹¹²⁾

Devido aos resultados encorajadores reportados pelos investigadores japoneses, decidiu-se desenvolver este fármaco também na população ocidental. Desenhou-se e conduziu-se o primeiro estudo de fase I com S-1 na população ocidental,^(40, 41) para determinação da dose máxima

tolerada, bem como avaliação de farmacocinética. Com base na experiência japonesa, estabeleceu-se a dose inicial em 30 mg/m² duas vezes ao dia, por 28 dias seguidos por sete dias de descanso, em ciclos de 35 dias. Dezesseis pacientes foram incluídos no estudo, todos com tumores sólidos metastáticos, sem outras opções de tratamento. Para nossa grande surpresa, já no primeiro grupo de pacientes encontrou-se toxicidade limitante na forma de diarreia em um paciente e, quando se tentou aumentar a dose para o segundo grupo, obteve-se 100% de toxicidade limitante, na forma de 3/3 pacientes com diarreia grau 3. O protocolo foi modificado com a inclusão de um nível intermediário, mas mesmo com uma dose de 35 mg/m² duas vezes ao dia, observou-se diarreia limitante em três dos quatro pacientes tratados, levando ao retorno da dose utilizada no nível 1. Apesar de todos os pacientes serem previamente tratados, um paciente com adenocarcinoma de cólon apresentou redução de mais de 50% nos diâmetros do tumor, permanecendo com a doença controlada por período relativamente longo.⁽⁴⁰⁾

Elucidação da farmacocinética do S-1

Embora o estudo de fase I tenha confirmado o potencial de atividade do S-1 em pacientes ocidentais, a toxicidade limitante e dose máxima tolerada foram substancialmente diferentes daquelas reportadas anteriormente por investigadores japoneses.^(40, 108, 113) Pacientes ocidentais apresentaram diarreia como toxicidade limitante e a dose máxima tolerada foi de 30 mg/m² duas vezes ao dia, enquanto os japoneses apresentam

neutropenia como toxicidade limitante e toleram uma dose de até 40 mg/m² duas vezes ao dia. Esses resultados foram confirmados por estudos subseqüentes conduzidos na Europa,⁽¹¹⁴⁾ dificultando até hoje o desenvolvimento do S-1 no hemisfério ocidental.

Numa tentativa de melhor explicar as diferenças encontrada nessas duas populações, conduziu-se, em conjunto com investigadores europeus e japoneses, uma análise combinada de nossos estudos de farmacocinética.⁽¹¹⁵⁾ Nessa análise, o comportamento do tegafur, CDHP, oxonato de potássio e 5-FU foi muito similar entre as populações avaliadas, embora diferenças relativamente importantes tenham sido encontradas na dose final de 5-FU, aparentemente devido à diferença significativa nas massas corpóreas observadas nas diferentes populações, com os pacientes japoneses apresentando índices muito menores do que os outros pacientes. Explicação alternativa, ou mesmo complementar, levantada por investigadores japoneses envolveria ativação diferenciada do tegafur em pacientes japoneses devido a diferenças na concentração da enzima relacionada ao gene CYP2A6, no citocromo P450.^(116, 117) Essa diferença no citocromo P450 também explicaria a maior incidência de diarreia entre os pacientes ocidentais expostos ao UFT, em relação aos pacientes japoneses tratados no mesmo estudo, já que ambos fármacos baseiam-se no tegafur como fonte de 5-FU.⁽⁹⁴⁾

A toxicidade e tolerância diferentes demonstradas no estudo de fase I, e confirmadas por Peters et al.⁽¹¹⁴⁾, acabou afetando o desenvolvimento do

S-1 no hemisfério ocidental. O regime de administração foi encurtado para 21 dias seguidos de sete dias de descanso e novo estudo de fase I foi iniciado utilizando doses reduzidas do S-1.⁽¹¹⁸⁾ Determinou-se, então, uma dose de 25 mg/m² duas vezes ao dia como ideal.⁽¹¹⁸⁾ A medicação continua sendo largamente utilizada no Japão, mas nunca se firmou no ocidente.

4.1.4 Desenvolvimento do TAS-102

O TAS-102 é composto por uma combinação de um análogo do ácido nucleico baseado em timidina – trifluridina - e um inibidor da timidina fosforilase – tipiracil. A trifluridina é o composto ativo do TAS-102.⁽¹¹⁹⁾ Apesar de fazer parte da família das fluoropirimidinas, a trifluridina mantém a citotoxicidade mesmo em células resistentes ao 5-FU.⁽¹²⁰⁾ Quando considerado para estudos clínicos, como tentativa de determinar a dose máxima tolerada, toxicidade dose limitante e perfil farmacocinético, desenvolveu-se o estudo de fase I com TAS 102 em tumores sólidos avançados.⁽⁴⁴⁾ O esquema de tratamento oferecido foi de uma dose diária por 14 dias seguido de uma semana de pausa, com ciclos a cada três semanas. Nos 14 pacientes incluídos no estudo, observou-se que a dose máxima tolerada desde antimetabólito foi de 50mg/m²/dia por 14 dias e a toxicidade dose limitante com ocorreu com a dose de 100mg/m². Em doses superiores, observou-se maior incidência de toxicidade grau 3-4 composta principalmente por neutropenia.

Posteriormente, outro estudo de fase I estudou duas posologias diferentes consistindo e suas toxicidades dose limitantes. Os esquemas foram a administração uma vez ao dia do D1-5 e D8-12 a cada 4 semanas ou do D1-5 a cada 3 semanas. Ao final do estudo, a dose recomendada para estudos de fase II foi de 100 mg/m²/dia do primeiro regime e 100 .+mg/m²/dia do segundo.⁽¹²¹⁾ No Japão, um estudo de fase I incluindo 21 pacientes, dos quais 18 eram portadores de câncer colorretal, encontrou uma dose recomendada de 35mg/m² duas vezes ao dia nos dias 1-5 e 8-12 a cada 4 semanas.⁽¹²²⁾

Avaliou-se então o TAS-102 em estudo de fase II com 112 pacientes com câncer colorretal metastático extensamente tratados previamente, realizado no Japão.⁽¹²³⁾ A dose utilizada foi de 35mg/m² duas vezes ao dia nos dias 1-5 e 8-12 a cada 4 semanas. A sobrevida global mediana mostrou-se superior naqueles tratados com TAS-102 (9.0 meses) em comparação àqueles tratados com placebo (6.6 meses), com significância estatística. A sobrevida livre de progressão também foi superior naqueles tratados com TAS-102.

Recentemente estudou-se o uso de TAS-102 em ensaio clínico de fase III incluindo 800 pacientes com câncer colorretal metastático refratários ao tratamento convencional. A sobrevida global mediana foi superior no grupo tratado com TAS-102 quando comparado ao placebo (7.1 x 5.3 meses, p<0,001). O evento adverso mais frequente foi neutropenia que

ocorreu em 38% dos pacientes tratados com a medicação.⁽⁴⁵⁾ Diante destes resultados, o TAS-102 foi aprovado pelo órgão regulamentador americano (FDA) para tratamento de câncer colorretal avançado refratário a múltiplas linhas de tratamento.

4.2 IRINOTECANO E OXALIPLATINA

O câncer de cólon e reto metastático representa um grande desafio para a medicina. Durante muitas décadas o seu tratamento foi limitado pelo alto grau de resistência aos quimioterápicos tradicionais. Desenvolvido nos anos 70, baseado na camptotecina, agente muito tóxico oriundo de um arbusto chinês, o irinotecano foi o primeiro fármaco não relacionado ao 5-FU a ter atividade comprovada no tratamento de adenocarcinomas de cólon e reto. Trata-se de um inibidor potente da topoisomerase I, um mecanismo de ação completamente diferente do 5-FU. Sua adição ao 5-FU resultou na primeira extensão real na sobrevida de pacientes com tumores de cólon e reto metastático.^(34, 124) Dois estudos randomizados europeus confirmaram os bons resultados do irinotecano como segunda linha para pacientes refratários ao 5-FU, levando a sua aprovação comercial^(125, 126).

A aprovação para uso em primeira linha foi embasada por um estudo americano de fase III, que comparou o uso de irinotecano como agente único, *versus* irinotecano combinado ao 5-FU e leucovorin, e 5-FU e

leucovorin apenas⁽¹²⁴⁾. Os resultados desse trabalho mostraram aumento significativo na sobrevida global ($P = 0,04$) para os pacientes tratados com a combinação. Este estudo foi confirmado por investigadores franceses, que conduziram um segundo estudo de fase III com 387 pacientes alocados para receberem 5-FU administrado em infusão contínua, combinado a leucovorin, associado ou não ao irinotecano. Esse estudo confirmou um aumento significativo na sobrevida global a favor do grupo que recebeu irinotecano (16,8 meses *versus* 14 meses, $P < 0,05$).⁽¹²⁷⁾

Na mesma época houve o desenvolvimento da oxaliplatina, um derivado mais moderno da platina, desenvolvido de forma bastante similar ao irinotecano.⁽¹²⁸⁾ Seu mecanismo de ação é semelhante ao de outros derivados da platina, porém seu espectro de ação antineoplásica difere substancialmente do observado com o uso da cisplatina e da carboplatina.^(31, 129) Estudos experimentais mostraram atividade em tumores de cólon resistentes à cisplatina, bem como uma inesperada sinergia com o 5-FU e outros fármacos.⁽¹³⁰⁾

O grupo do Prof. De Gramont conduziu um estudo da fase III com 420 pacientes, divididos em dois grupos, com câncer avançado de cólon e reto sem tratamento prévio. O primeiro grupo recebeu leucovorin 200 mg/m²/d, seguido de 5-FU 400mg/m²/d por 2 dias consecutivos a cada 2 semanas. O segundo grupo recebeu o mesmo esquema associado à oxaliplatina 85 mg/m² no primeiro dia. Houve aumento significativo da taxa

de resposta a favor do grupo que recebeu oxaliplatina (50,7% *versus* 22,3%, $P = 0,0001$) além de um aumento importante na sobrevida mediana livre de doença (9 meses *versus* 6,2 meses, $P = 0,0003$), porém o aumento da sobrevida global mediana não alcançou significância estatística (16,2 *versus* 14,7 meses, $P = 0,12$). A falta de impacto da sobrevida global causou certa incerteza quanto ao papel da oxaliplatina. Seu real benefício como tratamento para pacientes com câncer de cólon e reto avançado somente foi demonstrado conclusivamente pelo estudo INT-9741, no qual o regime de irinotecano combinado a 5-FU e leucovorin foi comparado ao regime de oxaliplatina combinado com 5-FU e leucovorin.⁽¹³¹⁾ Os pacientes tratados com a combinação baseada em oxaliplatina tiveram sobrevida mediana de mais de 19,5 meses, enquanto aqueles tratados com o regime baseado em irinotecano alcançaram sobrevida mediana de apenas 15 meses, em linha com a experiência anterior.⁽¹³¹⁾

4.2.1 Combinação de irinotecano e oxaliplatina

Uma das práticas mais arraigadas na oncologia é a da combinação de agentes ativos individualmente contra um tipo de tumor, buscando não somente sinergia, mas também evitar ou atrasar o desenvolvimento de resistência. Como o irinotecano e a oxaliplatina apresentaram atividade substancial contra células tumorais originadas no cólon e reto, decidiu-se desenvolver um regime combinando ambas as medicações, inicialmente sem a participação do 5-FU. Preparamos um estudo de fase I, no qual os

pacientes recebiam uma dose fixa de 130 mg/m² de oxaliplatina a cada 21 dias, combinada a doses crescentes de irinotecano, para determinação da dose máxima tolerada, bem como toxicidade limitante.⁽⁵³⁾ No total, 14 pacientes foram incluídos neste estudo e a toxicidade limitante foi neutropenia. Mesmo tendo incluído apenas pacientes previamente expostos à quimioterapia, a taxa de resposta observada no estudo de fase I foi de 30%, sendo bastante encorajadora, e a dose recomendada para estudos subseqüentes foi de 130 mg/m² de oxaliplatina combinada a 175 mg/m² de irinotecano, a cada 21 dias.⁽⁵³⁾

Com base no estudo de fase I descrito acima, desenhou-se um estudo de fase II, explorando o uso da combinação de 130 mg/m² de oxaliplatina e 175 mg/m² de irinotecano a cada 21 dias,⁽⁵³⁾ como tratamento de pacientes com câncer de cólon e reto avançado, sem tratamento quimioterápico anterior. No total, 55 pacientes foram incluídos no estudo, sendo que 53 foram considerados avaliáveis. Destes, 18 (34%) obtiveram uma resposta parcial, 27 (51%) doença estável e 8 (15%) apresentaram progressão da doença como melhor resposta ao tratamento.⁽¹³²⁾ A sobrevida mediana para todos os pacientes foi de 16,4 meses e o tempo livre de progressão foi de 4,8 meses. A toxicidade grave mais comum foi neutropenia, afetando 22 pacientes (40%).⁽¹³²⁾

Mais recentemente, houve um interesse no desenvolvimento de um esquema ainda mais complexo, incluindo três agentes quimioterápicos ativos

no tratamento desta doença. O grupo italiano, liderado pelo Prof. Falcone, comparou o uso de 5-FU e irinotecano versus a mesma combinação associada à oxaliplatina. O regime FOLFOXIRI obteve resultados bastante expressivos, com uma taxa de resposta de 66% e uma sobrevida global de 22.6 meses.⁽¹³³⁾ Trata-se do melhor resultado já apresentado com o uso de quimioterapia exclusiva. O palco estava pronto para o aparecimento da terapia molecular, que está revolucionando o tratamento desta doença.

4.3 TERAPIA MOLECULAR

O conceito de terapia molecular baseia-se no reconhecimento de que células tumorais apresentam alterações características no seu código genético que as diferenciam das células normais, e que são, pelo menos parcialmente, responsáveis pelo desenvolvimento dos tumores.⁽⁹⁾

A ideia do uso do sistema imunológico como tratamento de tumores é antiga, mas somente se tornou viável após o desenvolvimento da tecnologia para fabricação de anticorpos monoclonais.^(134, 135) Um dos primeiros tumores escolhidos para tratamento foi justamente os adenocarcinomas de cólon e reto. Têm-se hoje quatro anticorpos monoclonais com atividade comprovada contra esta doença, três deles comercialmente disponíveis no Brasil: bevacizumabe, cetuximabe e panitumumabe.

4.3.1 Desenvolvimento do bevacizumabe

A angiogênese é um processo fundamental para importantes funções fisiológicas, tais como reprodução, proliferação e reparo tecidual.⁽¹³⁶⁾ Pode ser definida como uma proliferação de novos vasos a partir de uma rede vascular pré-existente, que irão garantir o suprimento adequado de oxigênio e outras moléculas essenciais às células. A angiogênese é controlada por um ténue equilíbrio na ação de moléculas pró-angiogênicas e antiangiogênicas presentes no organismo normal.⁽¹³⁷⁾ O fator pró-angiogênico que parece ser mais relevante, e vem sendo mais estudado nos pacientes com câncer de cólon e reto é o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF, “*vascular endothelial growth factor*”), que age através de sua ligação a receptores específicos presentes na membrana de células endoteliais, coletivamente denominados VEGFR⁽¹³⁸⁾. Uma de suas principais ações é promover o crescimento de células endoteliais derivadas de artérias, veias e vasos linfáticos. Como a angiogênese é de vital importância para o crescimento e a disseminação tumoral, novos fármacos com potencial efeito antiangiogênico foram e continuam sendo desenvolvidos. Entre a grande gama de agentes disponíveis no mercado, destaca-se o bevacizumabe, um anticorpo monoclonal humanizado desenvolvido ainda na década de 90.⁽¹³⁹⁾ Em estudo de fase III, a adição de bevacizumabe à quimioterapia, composta por irinotecano e 5-FU, e leucovorin administrados rapidamente, aumentou a taxa de resposta (35% *versus* 45%), a sobrevida livre de progressão (6,2 *versus* 10,6 meses), e a sobrevida global (15,6 *versus* 20,3 meses)⁽¹⁴⁰⁾,

levando a sua aprovação para o tratamento de adenocarcinomas metastáticos de cólon e reto.

Embora o bevacizumabe tenha sido aprovado baseado no estudo em combinação com um regime de irinotecano com 5-FU e leucovorin, administrados de forma rápida no regime conhecido como IFL, este é um regime bastante tóxico e já havia deixado de ser considerado o tratamento padrão no momento em que o anticorpo foi aprovado para uso. Decidimos, então, desenhar e conduzir um estudo combinando bevacizumabe a um regime mais moderno de irinotecano combinado a leucovorin e 5-FU, administrados na forma de infusão lenta no regime conhecido como FOLFIRI, o que reduz a toxicidade e aumenta a eficácia. Neste estudo de fase II, incluíram-se 43 pacientes, obtendo taxa de resposta de 60% e sobrevida livre de progressão de 12,5 meses.⁽¹⁴¹⁾ Embora seja estudo de fase II, esta é a melhor sobrevida livre de progressão jamais reportada em câncer metastático de cólon e reto. Esta combinação sobreviveu ao teste do tempo, e ainda hoje é um dos principais regimes utilizados em primeira linha no tratamento de adenocarcinomas metastáticos de cólon e reto, tendo apresentado um desempenho impressionante no estudo CALGB 80405, no qual os diversos regimes combinando quimioterapia e terapia moleculares foram comparados na primeira linha. Neste estudo, a expectativa de sobrevida global chegou a 30 meses, e todos os regimes obtiveram resultados similares, validando o uso dos mesmos.⁽¹⁴²⁾

4.3.2 Desenvolvimento do cetuximabe e panitumumabe

Uma das vias de sinalização mais preservadas no desenvolvimento humano é a família HER ou Erb. Diversos tipos de tumores dependem da ativação de um dos membros da família, o receptor para o fator de crescimento epidérmico (EGFR), para seu crescimento e capacidade de metastatização.⁽¹⁴³⁾ Existe ampla documentação na literatura sobre o impacto negativo da presença de EGFR nas células tumorais, particularmente quando sua expressão está aumentada.⁽¹⁴⁴⁾ Pacientes com adenocarcinomas de cólon e reto com aumento na expressão do EGFR têm maior probabilidade de desenvolver metástases, e menor sobrevida quando comparados aos pacientes em que a expressão deste receptor não está alterada.⁽¹⁴⁵⁾ O cetuximabe é um anticorpo monoclonal quimérico, direcionado justamente contra o EGFR, tendo sido desenvolvido por John Mendelsohn no final dos anos 1990.⁽¹⁴⁶⁾ Esse anticorpo apresenta múltiplos mecanismos de ação, incluindo inibição da angiogênese por inibição da produção de interleucina-8 e TGF- α , paralisação do ciclo celular na fase G₁, estímulo à apoptose e ativação do sistema imune através dos mecanismos de citotoxicidade e ativação do complemento.⁽¹⁴³⁾

Desde o início de seu desenvolvimento, ficou claro que a presença ou ausência do receptor de EGFR por exames usuais não é relevante para a identificação dos pacientes que podem se beneficiar do uso de ambos os anticorpos anti-EGFR. Uma parcela substancial dos pacientes apresenta mutações ativadoras em moléculas importantes na via do EGFR, particularmente envolvendo a molécula K-Ras e N-Ras.⁽¹⁴⁷⁾ Infelizmente, até

60% dos pacientes com adenocarcinoma de cólon e reto apresentam estas mutações ativadoras, e não são candidatos a este tipo de terapia. Quando o cetuximabe ou o panitumumabe são utilizados indiscriminadamente, apresenta uma taxa de resposta de 10% isoladamente, e aumenta a sensibilidade das células tumorais a outros quimioterápicos convencionais, particularmente ao irinotecano.^(148, 149) O uso do cetuximabe em combinação com o irinotecano, em pacientes que tenham progredido anteriormente na vigência de tratamento com irinotecano, resulta em taxa de resposta de 22%, com sobrevida livre de progressão de quatro meses.⁽¹⁵⁰⁾ No entanto, seu uso em pacientes selecionados pela presença ou não das mutações ativadoras, combinado a regimes quimioterápicos modernos resulta em taxas de resposta de até 59%,⁽¹⁵¹⁾ com sobrevidas globais em excesso de 30 meses.^(152, 153)

4.3.3 Combinação de anti-VEGF e anti-EGFR

Um importante estudo de fase II, patrocinado pelo Instituto Nacional do Câncer Norte-Americano, avaliou pacientes com adenocarcinoma metastático de cólon e reto previamente tratados com quimioterapia, sendo essencial progressão em vigência de irinotecano para inclusão no mesmo.⁽¹⁵⁴⁾ Esses pacientes foram randomizados para receberem uma combinação de cetuximabe e bevacizumabe ou a mesma combinação com a adição de irinotecano. Os resultados desse estudo foram melhores do que o originalmente previsto. Os pacientes que receberam ambos os anticorpos junto ao irinotecano apresentaram taxa de resposta

espetacular, atingindo 37% e chegaram à sobrevida livre de progressão de 7,9 meses.⁽¹⁵⁴⁾ Considerando que a maioria dos pacientes já havia recebido todos os quimioterápicos com atividade nesta doença, este foi um resultado extremamente promissor.

Infelizmente, todos os estudos avaliando este tipo de combinação, com os mais diversos tipos de agentes, falhou em replicar estes resultados. Na realidade, parece claro que o bloqueio de ambas as vias resulta em resultados inferiores ao do bloqueio individual de uma das mesmas. Portanto, este tipo de combinação foi definitivamente abandonado.⁽¹⁵⁵⁾

4.4 TRATAMENTO ADJUVANTE

Tradicionalmente até 80% dos pacientes tem seu diagnóstico inicial ainda com tumores localizados, sem metástases, e, portanto, passíveis de tratamento cirúrgico. Infelizmente, cerca de metade destes pacientes evoluirá com morte por recidiva devido à doença residual microscópica não aparente no momento da cirurgia. A tecnologia atualmente disponível não nos permite determinar exatamente quem são estes pacientes.

Diversos modelos experimentais sugerem que é neste estágio da doença que a quimioterapia tem sua maior efetividade, podendo modificar a história natural da doença em indivíduos sob alto risco para recorrência. Apesar disso, até a década de 1980 inúmeros ensaios clínicos

randomizados de adjuvância com fluoropirimidinas isoladas ou em combinação com outros agentes não haviam sido capazes de demonstrar benefício concreto e o tratamento padrão restringia-se à cirurgia.⁽¹⁵⁶⁾

No final da década de 1980, o estudo Intergrupo 0035 randomizou 929 pacientes com estadios II e III para um braço observacional, *versus* 5-FU e levamisol, *versus* levamisol como fármaco único. Em análise interina, após apenas três anos e meio de seguimento, os resultados confirmavam a diminuição expressiva na recorrência global ($P = 0,0066$) e na mortalidade ($P = 0,0001$) para o grupo de pacientes tratados com 5-FU e levamisol, sendo considerado, a partir de então, o tratamento padrão após cirurgia⁽²⁸⁾.

O passo seguinte foi comparar diretamente os regimes de modulação do 5-FU com levamisol e com leucovorin. O estudo NSABP CO4 randomizou pacientes com estadios II e III para receberem tratamento adjuvante com 5-FU e levamisol por um ano ou 5-FU e leucovorin, ou 5-FU combinado a levamisol e leucovorin. Os resultados obtidos indicaram aumento significativo de sobrevida livre de doença para o grupo com 5-FU e leucovorin (65% com 5-FU e leucovorin *versus* 60% com 5-FU e levamisol, $P = 0,04$) e aumento pouco expressivo de sobrevida global (74% *versus* 70%), sem vantagem demonstrada com adição de levamisol ao leucovorin⁽¹⁵⁷⁾. Com base nesses estudos, o uso de seis meses de tratamento com 5-FU e leucovorin após a cirurgia tornou-se padrão para pacientes com câncer de cólon estadios II e III.

Entre as drogas recentemente estudadas, não há dúvida de que a oxaliplatina foi a que trouxe maior benefício, quando combinada ao 5-fluorouracil e leucovorin. O estudo MOSAIC com 2.200 pacientes comparou FOLFOX (5-fluorouracil, leucovorin e oxaliplatina) com 5-fluorouracil e leucovorin na adjuvância, tanto em pacientes em estadio II, como III. Com um seguimento mediano de quatro anos, observou-se redução relativa do risco de recorrência de 20% em pacientes em estadio II, e de 25% em pacientes em estadio III. Em termos absolutos, houve aumento no intervalo livre de doença de 3,8% em pacientes em estadio II, e de 8,7% em pacientes em estadio III.⁽¹⁵⁸⁾

Embora o uso de combinações de 5-FU e oxaliplatina seja considerado padrão para pacientes operados de um adenocarcinoma de cólon estadio III, quase 30% dos pacientes tratados ainda apresentarão recorrência do tumor nos primeiros três anos após o tratamento. O advento de novos fármacos com atividade contra adenocarcinomas avançados de cólon e reto estimulou o desenvolvimento de novos estudos incorporando esses medicamentos.

Em conjunto com o Dr. Aimery De Gramont, desenhamos e conduzimos, como co-investigador principal mundial, o estudo AVANT, que randomizou 3.450 pacientes operados de adenocarcinomas de cólon estadios II de alto risco, ou III.⁽¹⁵⁹⁾ Esses pacientes receberam seis meses de quimioterapia com FOLFOX, ou seis meses de FOLFOX e um ano de

bevacizumabe, ou seis meses de XELOX (capecitabina e oxaliplatina) e um ano de bevacizumabe. Infelizmente, os resultados deste estudo sugerem que não há nenhum benefício para a adição de bevacizumabe ao regime padrão de 5-FU, leucovorin e oxaliplatina.⁽¹⁵⁹⁾ Da mesma forma, tentativas de adicionar irinotecano⁽¹⁶⁰⁾ e cetuximabe⁽¹⁶¹⁾ não conseguiram demonstrar nenhuma melhora nos resultados observados. Por enquanto, o tratamento adjuvante padrão continua sendo monoterapia com uma fluoropirimidina ou a combinação desta com oxaliplatina. Em linhas gerais, a oxaliplatina não é utilizada em pacientes com tumores estágio II, e em pacientes com mais de 70 anos.^(162, 163)

5. CONCLUSÕES

O tratamento dos adenocarcinomas de cólon e reto permaneceu praticamente inalterado até o final do século XX, quando passou a sofrer mudanças consideráveis com a incorporação de uma série de novos agentes. Poderíamos até mesmo afirmar que hoje que esta é uma das áreas da oncologia clínica onde as inovações são mais rapidamente incorporadas, tendo modificando sobremaneira a história natural desta doença.

Esses avanços são observados em todos os estágios da doença, e têm sido possíveis devido aos esforços conjuntos de um grande número de investigadores e instituições espalhados pelo mundo. Orgulhamo-nos de fazer parte desse esforço e acreditamos ter dado nossa modesta contribuição para o desenvolvimento de novos fármacos e estratégias no combate a esta importante doença. Nossos estudos foram fundamentais para o desenvolvimento e eventual aprovação de três tipos de fluoropirimidinas, a capecitabina, o UFT, e o TAS-102, que hoje são comumente utilizadas. No Brasil, a capecitabina está inclusive disponível para pacientes em tratamento pelo Sistema Único de Saúde (SUS), trazendo conforto e segurança para os usuários deste tipo de medicação. Mesmo no Japão, origem destes três fármacos, todos foram aprovados para uso comercial com base, pelo menos parcial, em nossos estudos.

Embora impressionantes, os avanços obtidos no tratamento do câncer de cólon e reto na atualidade certamente estão aquém do

necessário, e muitos pacientes ainda morrem devido a tumores avançados do cólon e do reto.

A maior promessa de uma eventual cura para todos os pacientes está associada ao uso de tratamentos personalizados, escolhidos individualmente baseado no perfil molecular de cada paciente. Compreendemos agora que os tumores de cólon e reto na realidade são muito diversos, com pelo menos cinco grandes grupos de pacientes, cada um com características muito próprias de prognóstico e de resposta aos tratamentos disponíveis.⁽¹⁶⁴⁾ A disponibilidade cada vez maior de biópsias líquidas torna possível antevermos um momento em que todo o tratamento de nossos pacientes será decidido e monitorado não mais por biópsias e imagens, mas por uma simples coleta de sangue com avaliação de DNA e/ou RNA circulantes.⁽¹⁶⁵⁾

Assim sendo, acreditamos que os avanços obtidos até agora são a base para ferramentas de diagnóstico e terapias ainda mais eficientes, que nos ajudarão a derrotar de vez esta terrível doença. O estado atual do desenvolvimento de terapias para o câncer de cólon e reto pode ser resumido na célebre frase de Winston Churchill em seu discurso após a Batalha da Inglaterra em 1941: “Isto não é o fim. Não é sequer o princípio do fim. Mas é, talvez, o fim do princípio.” Certamente a ciência médica brasileira pode e deve ter um papel de destaque nesta jornada.

6. REFERÊNCIAS

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin*. 2007 Jan-Feb;57(1):43-66.
2. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005 Mar-Apr;55(2):74-108.
3. Gilchrist DM. Hereditary colon cancer. *Can J Gastroenterol*. 1997;11(5):421-
4. Trojian TH, Mody K, Chain P. Exercise and colon cancer: primary and secondary prevention. *Curr Sports Med Rep*. 2007 Apr;6(2):120-4.
5. Slattery ML, Curtin K, Sweeney C, Levin TR, Potter J, Wolff RK, et al. Diet and lifestyle factor associations with CpG island methylator phenotype and BRAF mutations in colon cancer. *Int J Cancer*. 2007 Feb 1;120(3):656-63.
6. Marshall JR, Zielezny MA. Fat and calories in the epidemiology of colon cancer in western New York. *Prev Med*. 1993;22(5):775-82.
7. Varadhachary GR, Hoff PM. Front-line therapy for advanced colorectal cancer: emphasis on chemotherapy. *Semin Oncol*. 2005 Dec;32(6 Suppl 9):S40-2.
8. Hoff PM, Pazdur R. Progress in the development of novel treatments for colorectal cancer. *Oncology (Huntingt)*. 2004 May;18(6):705-8.
9. Hoff PM, Ellis LM, Abbruzzese JL. Monoclonal antibodies: the foundation of therapy for colorectal cancer in the 21st century? *Oncology (Huntingt)*. 2004 May;18(6):736-41; discussion 42, 45-6.
10. Adam R, Avisar E, Ariche A, Giachetti S, Azoulay D, Castaing D, et al. Five-year survival following hepatic resection after neoadjuvant therapy for nonresectable colorectal. *Ann Surg Oncol*. 2001 May;8(4):347-53.
11. Dukes C. The classification of cancer of the rectum. *J Pathol*. 1932;35:323.
12. Dawson SJ, Tsui DW, Murtaza M, Biggs H, Rueda OM, Chin SF, et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. *N Engl J Med*. 2013 Mar 28;368(13):1199-209.
13. Greene FL. Staging of colon and rectal cancer: from endoscopy to molecular markers. *Surgical Endoscopy*. 2006 Apr;20 Suppl 2:S475-8.
14. O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *J Natl Cancer Inst*. 2004 Oct 6;96(19):1420-5.
15. Wei JT, Sandler RS. The right test for colon cancer screening? *Gastrointest Endosc*. 2006 Mar;63(3):459-60.
16. Li S, Wang H, Hu J, Li N, Liu Y, Wu Z, et al. New immunochemical fecal occult blood test with two-consecutive stool sample testing is a cost-effective approach for colon cancer screening: results of a prospective multicenter study in Chinese patients. *Int J Cancer*. 2006 Jun 15;118(12):3078-83.

17. Banerjee S, Van Dam J. CT colonography for colon cancer screening. *Gastrointest Endosc.* 2006 Jan;63(1):121-33.
18. Habr-Gama A, Perez RO, Nadalin W, Sabbaga J, Ribeiro U, Jr., Silva e Sousa AH, Jr., et al. Operative versus nonoperative treatment for stage 0 distal rectal cancer following chemoradiation therapy: long-term results. *Annals of Surgery.* 2004;240(4):711-7.
19. Papillon J, Berard P. Endocavitary irradiation in the conservative treatment of adenocarcinoma of the low rectum. *World J Surg.* 1992 May-Jun;16(3):451-7.
20. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, Thibodeau SN, French AJ, Goldberg RM, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med.* 2003 Jul 17;349(3):247-57.
21. Gill S, Loprinzi CL, Sargent DJ, Thome SD, Alberts SR, Haller DG, et al. Pooled analysis of fluorouracil-based adjuvant therapy for stage II and III colon cancer: who benefits and by how much? *J Clin Oncol.* 2004 May 15;22(10):1797-806.
22. Benson AB, 3rd, Schrag D, Somerfield MR, Cohen AM, Figueredo AT, Flynn PJ, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. *J Clin Oncol.* 2004 Aug 15;22(16):3408-19.
23. Figueredo A, Charette ML, Maroun J, Brouwers MC, Zuraw L. Adjuvant therapy for stage II colon cancer: a systematic review from the Cancer Care Ontario Program in evidence-based care's gastrointestinal cancer disease site group. *J Clin Oncol.* 2004 Aug 15;22(16):3395-407.
24. Janjan NA, Crane C, Feig BW, Cleary K, Dubrow R, Curley S, et al. Improved overall survival among responders to preoperative chemoradiation for locally advanced rectal cancer. *Am J Clin Oncol.* 2001 Apr;24(2):107-12.
25. Saltz LB, Minsky B. Adjuvant therapy of cancers of the colon and rectum. *Surg Clin North Am.* 2002 Oct;82(5):1035-58.
26. Grann A, Feng C, Wong D, Saltz L, Paty PP, Guillem JG, et al. Preoperative combined modality therapy for clinically resectable uT3 rectal adenocarcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2001 Mar 15;49(4):987-95.
27. Wils J. Adjuvant treatment of colon cancer: past, present and future. *J Chemother.* 2007 Apr;19(2):115-22.
28. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, Haller DG, Laurie JA, Goodman PJ, et al. Levamisole and fluorouracil for adjuvant therapy of resected colon carcinoma [see comments]. *New England Journal of Medicine.* 1990;322(6):352-8.
29. Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rodel C, Wittekind C, Fietkau R, et al. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer.[see comment]. *New England Journal of Medicine.* 2004;351(17):1731-40.
30. Saad ED, Hoff PM. Chemotherapy of Metastatic Colorectal Cancer. *Curr Treat Options Gastroenterol.* 2005 Jun;8(3):239-47.

31. Hoff PM. New drugs for colorectal cancer. *Cancer Chemother Biol Response Modif.* 2003;21:817-29.
32. Hoff PM, Cassidy J, Schmoll HJ. The evolution of fluoropyrimidine therapy: from intravenous to oral. *Oncologist.* 2001;6 Suppl 4:3-11.
33. Hoff PM, Royce M, Medgyesy D, Brito R, Pazdur R. Oral fluoropyrimidines. *Semin Oncol.* 1999;26(6):640-6.
34. Fuchs C, Mitchell EP, Hoff PM. Irinotecan in the treatment of colorectal cancer. *Cancer Treat Rev.* 2006 Nov;32(7):491-503.
35. Rothenberg ML, Oza AM, Bigelow RH, Berlin JD, Marshall JL, Ramanathan RK, et al. Superiority of oxaliplatin and fluorouracil-leucovorin compared with either therapy alone in patients with progressive colorectal cancer after irinotecan and fluorouracil-leucovorin: interim results of a phase III trial. *J Clin Oncol.* 2003 Jun 1;21(11):2059-69.
36. Ferrarotto R, Pathak P, Maru D, Agarwal A, Overman M, Hoff PM, et al. Durable complete responses in metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy alone. *Clin Colorectal Cancer.* 2011 Sep;10(3):178-82.
37. Adam R, Huguet E, Azoulay D, Castaing D, Kunstlinger F, Levi F, et al. Hepatic resection after down-staging of unresectable hepatic colorectal metastases. *Surg Oncol Clin N Am.* 2003 Jan;12(1):211-20, xii.
38. Tanaka K, Adam R, Shimada H, Azoulay D, Levi F, Bismuth H. Role of neoadjuvant chemotherapy in the treatment of multiple colorectal metastases to the liver. *Br J Surg.* 2003 Aug;90(8):963-9.
39. Chapman WC, Hoff PM, Strasberg SM. Selection of patients for resection of hepatic colorectal metastases: expert consensus statement by Charnsangavej et al. *Ann Surg Oncol.* 2006 Oct;13(10):1269-70.
40. Hoff PM, Saad ED, Ajani JA, Lassere Y, Wenske C, Medgyesy D, et al. Phase I study with pharmacokinetics of s-1 on an oral daily schedule for 28 days in patients with solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2003 Jan;9(1):134-42.
41. Hoff P, Wenske C, Medgyesy D, Royce M, Brito R, Zukowski T, et al., editors. Phase I and Pharmacokinetic (PK) Study of the Novel Oral Fluoropyrimidine, S-1. (Meeting abstract). *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol;* 1999.
42. Royce M, Hoff P, Brito R, Matei C, Slaughter M, Medgyesy D, et al., editors. PHASE I TRIAL OF DX-8951f, A NOVEL CAMPTOTHECIN ANALOGUE, ADMINISTERED BY A 24-HOUR CONTINUOUS INFUSION (Meeting abstract). *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol;* 1998.
43. Royce ME, Hoff PM, Dumas P, Lassere Y, Lee JJ, Coyle J, et al. Phase I and pharmacokinetic study of exatecan mesylate (DX-8951f): a novel camptothecin analog. *J Clin Oncol.* 2001 Mar 1;19(5):1493-500.
44. Hong DS, Abbruzzese JL, Bogaard K, Lassere Y, Fukushima M, Mita A, et al. Phase I study to determine the safety and pharmacokinetics of oral administration of TAS-102 in patients with solid tumors. *Cancer.* 2006 Sep 15;107(6):1383-90.

45. Mayer RJ, Van Cutsem E, Falcone A, Yoshino T, Garcia-Carbonero R, Mizunuma N, et al. Randomized trial of TAS-102 for refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2015 May 14;372(20):1909-19.
46. Nemunaitis J, Eager R, Twaddell T, Corey A, Sekar K, Tkaczuk K, et al. Phase I assessment of the pharmacokinetics, metabolism, and safety of emitefur in patients with refractory solid tumors. *J Clin Oncol*. 2000;18(19):3423-34.
47. Kozuch P, Hoff PM, Hess K, Adams J, Newman RA, Lee F, et al. Phase I bioequivalency study of MitoExtra and mitomycin C in patients with solid tumors. *Cancer*. 2001 Feb 15;91(4):815-21.
48. Matei C, Hoff PM, Brito R, Slaughter M, Griego C, Pazdur R, et al., editors. PHASE I TRIAL OF ORAL BOF-A2 PLUS LEUCOVORIN (LV) IN ADVANCED COLORECTAL CANCER (CRC): ANTITUMOR ACTIVITY IN FLUOROURACIL-RESISTANT PATIENTS (Meeting abstract). *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol*; 1998.
49. Zukowski T, Carter S, Hoff P, Royce M, Medgyesy D, Brito R, et al., editors. Phase I and Pharmacokinetic (PK) Trial of the Antifolate :FONT:g-Methylene-10-Deazaaminopterin (MDAM) in Patients with Advanced Solid Tumors (Meeting abstract). *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol*; 1999.
50. Ravandi F, Wenske C, Royce M, Hoff P, Brito R, Zukowski T, et al., editors. Phase I Trial of FK317, a Novel Actinomycete Product, in Patients with Advanced Solid Tumors (Meeting abstract). *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol*; 1999.
51. Slaughter M, Pazdur R, Hoff PM, Matei C, Brito R, Dumas P, et al., editors. PHASE I TRIAL OF RPR 109881A (RPR), A NOVEL TAXOID DERIVATIVE, ADMINISTERED AS A 24-HOUR CONTINUOUS INFUSION (Meeting abstract). *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol*; 1998.
52. Valero V, Esparza-Guerra L, Rahman Z, Ibrahim N, Booser D, Patel S, et al., editors. Phase I study of docetaxel (Taxotere) and cyclophosphamide without and with G-CSF in previously treated and untreated solid tumors (Meeting abstract). *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol*; 1997.
53. Hoff PM, Saad ED, Pazdur R, Wolff R, Lassere Y, Bogaard KR, et al. Phase I trial of combined irinotecan and oxaliplatin given every three weeks to patients with metastatic colorectal cancer. *Invest New Drugs*. 2004 Aug;22(3):307-13.
54. Hoff PM, Wolff RA, Bogaard K, Waldrum S, Abbruzzese JL. A Phase I study of escalating doses of the tyrosine kinase inhibitor semaxanib (SU5416) in combination with irinotecan in patients with advanced colorectal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol*. 2006 Feb;36(2):100-3.
55. Hoff P, Brito R, Slaughter M, Matei C, Lassere Y, Janjan N, et al. Preoperative UFT, oral leucovorin (LV) and radiotherapy (RT) for patients (pts) with resectable rectal carcinoma: an oral regimen with complete pathological responses. *Proceedings of American Society of Clinical Oncology*. 1998;17:223a (abstract).
56. Hoff PM, Janjan N, Saad ED, Skibber J, Crane C, Lassere Y, et al. Phase I study of preoperative oral uracil and tegafur plus leucovorin and radiation therapy in rectal cancer. *J Clin Oncol*. 2000;18(20):3529-34.

57. Hoff PM, Saad ED, Janjan N, Skibber J, Pazdur R. A phase I study. Preoperative UFT/leucovorin and radiation therapy in rectal cancer. *Oncology (Huntingt)*. 2000;14(10 Suppl 9):56-8.
58. Hoff PM, Saad ED, Ravandi-Kashani F, Czerny E, Pazdur R. Phase I trial of i.v. administered tirapazamine plus cyclophosphamide. *Anticancer Drugs*. 2001 Jul;12(6):499-503.
59. Heidelberger C, Chauhuri N, Dannenberg P, et al. Fluorinated pyrimidines, a new class of tumor-inhibitory compounds. *Nature*. 1957;179:663-6.
60. Kopetz S, Hoff PM. Cytotoxic chemotherapy for advanced colorectal cancer. Recent advances in management. *Oncology (Williston Park)*. 2005 Nov;19(13 Suppl 6):11-7.
61. Daher GC, Harris BE, Diasio RB. Metabolism of pyrimidine analogues and their nucleosides. *Pharmacol Ther*. 1990;48(2):189-222.
62. Lu Z, Zhang R, Diasio RB. Dihydropyrimidine dehydrogenase activity in human peripheral blood mononuclear cells and liver: population characteristics, newly identified deficient patients, and clinical implication in 5-fluorouracil chemotherapy. *Cancer Res*. 1993;53(22):5433-8.
63. Myers CE, Diasio R, Eliot HM, Chabner BA. Pharmacokinetics of the fluoropyrimidines: implications for their clinical use. *Cancer Treat Rev*. 1976;3(3):175-83.
64. Schuetz JD, Diasio RB. The effect of 5-fluorouracil on DNA chain elongation in intact bone marrow cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1985;133(1):361-7.
65. Diasio RB, Lu Z, Zhang R, Shahinian HS. Fluoropyrimidine catabolism. *Cancer Treat Res*. 1995;78:71-93.
66. Almersjo OE, Gustavsson BG, Regardh CG, Wahlen P. Pharmacokinetic studies of 5-fluorouracil after oral and intravenous administration in man. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*. 1980;46(5):329-36.
67. Schuetz JD, Wallace HJ, Diasio RB. 5-Fluorouracil incorporation into DNA of CF-1 mouse bone marrow cells as a possible mechanism of toxicity. *Cancer Res*. 1984;44(4):1358-63.
68. Diasio RB, Harris BE. Clinical pharmacology of 5-fluorouracil. *Clin Pharmacokinet*. 1989;16(4):215-37.
69. Hoff PM. Novel therapeutic approaches for metastatic colorectal cancer. *Oncology (Huntingt)*. 2000;14(11A):217-20.
70. Royce ME, Hoff PM, Pazdur R. Progress in colorectal cancer chemotherapy: how far have we come, how far to go? *Drugs Aging*. 2000;17(3):201-16.
71. Lokich J. Infusional 5-FU for advanced colorectal cancer. *J Infus Chemother*. 1995;5(4):208-11.
72. de Gramont A, Louvet C, Krulik M. The French experience with infusional 5-fluorouracil in advanced colorectal cancer. *J Infus Chemother*. 1996;6(3):133-6.

73. de Gramont A, Bosset JF, Milan C, Rougier P, Bouche O, Etienne PL, et al. Randomized trial comparing monthly low-dose leucovorin and fluorouracil bolus with bimonthly high-dose leucovorin and fluorouracil bolus plus continuous infusion for advanced colorectal cancer: a French intergroup study. *J Clin Oncol.* 1997;15(2):808-15.
74. Meta-analysis Group In Cancer. Efficacy of intravenous continuous infusion of fluorouracil compared with bolus administration in advanced colorectal cancer. Meta-analysis Group In Cancer. *J Clin Oncol.* 1998;16(1):301-8.
75. Pazdur R, Hoff PM, Medgyesy D, Royce M, Brito R. The oral fluorouracil prodrugs. *Oncology.* 1998;12(Number 10 Supplement 7):48-51.
76. Brito RA, Medgyesy D, Zukowski TH, Royce ME, Ravandi-Kashani F, Hoff PM, et al. Fluoropyrimidines: a critical evaluation. *Oncology.* 1999;57 Suppl 1:2-8.
77. Bedikian AY, Bodey GP, Valdivieso M, Burgess MA. Phase I Evaluation of Oral Tegafur. *Cancer Treat Rep.* 1983;67(1):81-4.
78. Bedikian AY, Stroehlein J, Korinek J, Karlin D, Bodey GP. A Comparative Study of Oral Tegafur and Intravenous 5-Fluorouracil in Patients With Metastatic Colorectal Cancer. *Am J Clin Oncol.* 1983;6(2):181-6.
79. Kamiya O, Hoshino A, Ohara K, Nagata K, Kojima T, Sugihara T, et al. Pharmacokinetics and a Phase I Study of Tegafur-Uracil Enterogranules in Cancer Patients. *Gan To Kagaku Ryoho.* 1983;10(12):2565-72.
80. Budman DR, Meropol NJ, Reigner B, Creaven PJ, Lichtman SM, Berghorn E, et al. Preliminary studies of a novel oral fluoropyrimidine carbamate: capecitabine. *J Clin Oncol.* 1998;16(5):1795-802.
81. Liu G, Franssen E, Fitch MI, Warner E. Patient preferences for oral versus intravenous palliative chemotherapy. *J Clin Oncol.* 1997;15(1):110-5.
82. Hiller SA, Zhuk RA, Lidak MY. Analogs of pyridine nucleosides. *Dokl Adad Nauk SSSR.* 1967;176:332-5.
83. Valdivieso M, Bodey GP, Gottlieb JA, Freireich EJ. Clinical evaluation of ftorafur (pyrimidine-deoxyribose n1-2'-furanidyl-5-fluorouracil). *Cancer Res.* 1976;36(5):1821-4.
84. Friedman MA, Ignoffo RJ. A review of the United States clinical experience of the fluoropyrimidine, ftorafur (NSC-148958). *Cancer Treat Rev.* 1980 Dec;7(4):205-13.
85. Arima S, Futami K, Yoshimura S, Shimura H. Distributions of Tegafur in Tissues of Gastric Adenocarcinoma Patients: Tissue Uptakes and Concentrations in Plasma After Oral and Rectal Administrations. *Jpn J Clin Oncol.* 1989;19(3):237-41.
86. Au JL, Wu AT, Friedman MA, Sadee W. Pharmacokinetics and metabolism of ftorafur in man. *Cancer Treat Rep.* 1979 Mar;63(3):343-50.
87. Smolyanskaya AZ, Tugarinov OA. To biological activity of antitumour antimetabolite "ftorafur". *Neoplasma.* 1972;19(4):341-5.

88. Pallavicini MG, Cohen AM, Dethlefsen LA, Gray JW. In vivo effects of 5-fluorouracil and ftorafur[1-(tetrahydrofuran-2-yl)-5-fluorouracil] on murine mammary tumors and small intestine. *Cell Tissue Kinet.* 1979 Mar;12(2):177-89.
89. Ho DH, Covington WP, Pazdur R, Brown NS, Kuritani J, Newman RA, et al. Clinical pharmacology of combined oral uracil and ftorafur. *Drug Metab Dispos.* 1992;20(6):936-40.
90. Hoff PM, Pazdur R. UFT plus oral leucovorin: a new oral treatment for colorectal cancer. *The Oncologist.* 1998;3:155-64.
91. Hoff PM, Pazdur R, Benner SE, Canetta R. UFT and leucovorin: a review of its clinical development and therapeutic potential in the oral treatment of cancer. *Anticancer Drugs.* 1998;9:479-90.
92. Pazdur R, Lassere Y, Rhodes V, Ajani JA, Sugarman SM, Patt YZ, et al. Phase II trial of uracil and tegafur plus oral leucovorin: an effective oral regimen in the treatment of metastatic colorectal carcinoma. *J Clin Oncol.* 1994;12(11):2296-300.
93. Douillard JY, Hoff PM, Skillings JR, Eisenberg P, Davidson N, Harper P, et al. Multicenter phase III study of uracil/tegafur and oral leucovorin versus fluorouracil and leucovorin in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2002 Sep 1;20(17):3605-16.
94. Shirao K, Hoff PM, Ohtsu A, Loehrer PJ, Hyodo I, Wadler S, et al. Comparison of the Efficacy, Toxicity, and Pharmacokinetics of a Uracil/Tegafur (UFT) Plus Oral Leucovorin (LV) Regimen Between Japanese and American Patients With Advanced Colorectal Cancer: Joint United States and Japan Study of UFT/LV. *J Clin Oncol.* 2004 Sep 1;22(17):3466-74.
95. Hoff P. Estudo de fase II avaliando eficácia e toxicidade de UFT (uracil e tegafur) e leucovorin, administrados duas vezes ao dia, no tratamento de pacientes com câncer metastático de cólon e reto. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2007.
96. Hoff PM, Kopetz S, Thomas MB, Langleben A, Rinaldi D, Anthony L, et al. A phase II study of UFT with leucovorin administered as a twice daily schedule in the treatment of patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2008 Sep 2;99(5):722-6.
97. Ishikawa T, Utoh M, Sawada N, Nishida M, Fukase Y, Sekiguchi F, et al. Tumor selective delivery of 5-fluorouracil by capecitabine, a new oral fluoropyrimidine carbamate, in human cancer xenografts. *Biochem Pharmacol.* 1998;55(7):1091-7.
98. Saeki T, Takashima S. Mechanism and possible biochemical modulation of capecitabine (Xeloda), a newly generated oral fluoropyrimidine. *Gan To Kagaku Ryoho.* 1999;26(4):447-55.
99. Hoff PM, Ansari R, Batist G, Cox J, Kocha W, Kuperminc M, et al. Comparison of oral capecitabine versus intravenous fluorouracil plus leucovorin as first-line treatment in 605 patients with metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase III study. *J Clin Oncol.* 2001 Apr 15;19(8):2282-92.

100. Van Cutsem E, Twelves C, Cassidy J, Allman D, Bajetta E, Boyer M, et al. Oral capecitabine compared with intravenous fluorouracil plus leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer: results of a large phase III study. *J Clin Oncol*. 2001 Nov 1;19(21):4097-106.
101. Van Cutsem E, Hoff PM, Harper P, Bukowski RM, Cunningham D, Dufour P, et al. Oral capecitabine vs intravenous 5-fluorouracil and leucovorin: integrated efficacy data and novel analyses from two large, randomised, phase III trials. *Br J Cancer*. 2004 Mar 22;90(6):1190-7.
102. Hoff PM. Practical considerations in the use of oral fluoropyrimidines. *Semin Oncol*. 2003 Jun;30(3 Suppl 6):88-92.
103. Mori A, Bertoglio S, Guglielmi A, Aschele C, Bolli E, Tixi L, et al. Activity of continuous-infusion 5-fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer clinically resistant to bolus 5-fluorouracil. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1993;33(2):179-80.
104. Hoff PM, Pazdur R, Lassere Y, Carter S, Samid D, Polito D, et al. Phase II study of capecitabine in patients with fluorouracil-resistant metastatic colorectal carcinoma. *J Clin Oncol*. 2004 Jun 1;22(11):2078-83.
105. Gehan EA, Freireich EJ. Non-randomized controls in cancer clinical trials. *N Engl J Med*. 1974 Jan 24;290(4):198-203.
106. Roseberry TD, Gehan EA. The construction of two- and three-stage screening procedures. *Cancer Chemother Rep*. 1962 May;18:21-6.
107. Uchida J, Takechi T, Nakano K, Takeda S, Fukushima M, Unemi N, et al., editors. Preclinical studies of S-1, a new oral tegafur plus two modulators (Meeting abstract). *Proc Annu Meet Am Assoc Cancer Res*; 1995.
108. Hoff PM. The tegafur-based dihydropyrimidine dehydrogenase inhibitory fluoropyrimidines, UFT/leucovorin (ORZEL) and S-1: a review of their clinical development and therapeutic potential. *Invest New Drugs*. 2000;18(4):331-42.
109. Peters GJ, Van Groeningen CJ, Schomage JH, Gall HE, Noordhuis P, de Vriesand M, et al., editors. Phase I clinical and pharmacokinetic study of S-1, an oral 5-fluorouracil (5-FU)-based antineoplastic agent (Meeting abstract). *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol*; 1997.
110. Taguchi T, Inuyama Y, Kanamaru R, Hasegawa K, Akazawa S, Niitani H, et al. Phase I study of S-1. S-1 Study Group. *Gan To Kagaku Ryoho*. 1997;24(15):2253-64.
111. Fukushima M, Shimamoto Y, Kato T, Uchida J, Yonekura R, Ohshimo H, et al. Anticancer activity and toxicity of S-1, an oral combination of tegafur and two biochemical modulators, compared with continuous i.v. infusion of 5-fluorouracil. *Anticancer Drugs*. 1998;9(9):817-23.
112. Sakata Y, Ohtsu A, Horikoshi N, Sugimachi K, Mitachi Y, Taguchi T. Late phase II study of novel oral fluoropyrimidine anticancer drug S-1 (1 M tegafur-0.4 M gimestat-1 M otastat potassium) in advanced gastric cancer patients. *European Journal of Cancer*. 1998;34(11):1715-20.

113. Saad ED, Hoff PM. Other fluorinated pyrimidines in the treatment of solid tumors. *Oncology (Huntingt)*. 2001;15(1 Suppl 2):65-8.
114. Peters GJ, Noordhuis P, Van Kuilenburg AB, Schornagel JH, Gall H, Turner SL, et al. Pharmacokinetics of S-1, an oral formulation of fluorouracil, oxonic acid and 5-chloro-2,4-dihydropyridine (molar ratio 1:0.4:1) in patients with solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2003 Jul;52(1):1-12.
115. Comets E, Ikeda K, Hoff P, Fumoleau P, Wanders J, Tanigawara Y. Comparison of the pharmacokinetics of S-1, an oral anticancer agent, in western and Japanese patients. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2003 Aug;30(4):257-83.
116. Kajita J, Fuse E, Kuwabara T, Kobayashi H. The contribution of cytochrome P450 to the metabolism of tegafur in human liver. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2003;18(5):303-9.
117. Komatsu T, Yamazaki H, Shimada N, Nakajima M, Yokoi T. Roles of cytochromes P450 1A2, 2A6, and 2C8 in 5-fluorouracil formation from tegafur, an anticancer prodrug, in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos*. 2000 Dec;28(12):1457-63.
118. Ajani JA, Faust J, Ikeda K, Yao JC, Anbe H, Carr KL, et al. Phase I pharmacokinetic study of S-1 plus cisplatin in patients with advanced gastric carcinoma. *J Clin Oncol*. 2005 Oct 1;23(28):6957-65.
119. Mota JM, Fonseca LG, Braghiroli MI, Hoff PM. Review on TAS-102 development and its use for metastatic colorectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016 Aug;104:91-7.
120. Murakami Y, Kazuno H, Emura T, Tsujimoto H, Suzuki N, Fukushima M. Different mechanisms of acquired resistance to fluorinated pyrimidines in human colorectal cancer cells. *Int J Oncol*. 2000 Aug;17(2):277-83.
121. Overman MJ, Kopetz S, Varadhachary G, Fukushima M, Kuwata K, Mita A, et al. Phase I clinical study of three times a day oral administration of TAS-102 in patients with solid tumors. *Cancer Invest*. 2008 Oct;26(8):794-9.
122. Doi T, Ohtsu A, Yoshino T, Boku N, Onozawa Y, Fukutomi A, et al. Phase I study of TAS-102 treatment in Japanese patients with advanced solid tumours. *Br J Cancer*. 2012 Jul 24;107(3):429-34.
123. Yoshino T, Mizunuma N, Yamazaki K, Nishina T, Komatsu Y, Baba H, et al. TAS-102 monotherapy for pretreated metastatic colorectal cancer: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2012 Oct;13(10):993-1001.
124. Saltz LB, Cox JV, Blanke C, Rosen LS, Fehrenbacher L, Moore MJ, et al. Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan Study Group. *N Engl J Med*. 2000 Sep 28;343(13):905-14.
125. Cunningham D, Pyrhonen S, James RD, Punt CJ, Hickish TF, Heikkila R, et al. Randomised trial of irinotecan plus supportive care versus supportive care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet*. 1998 Oct 31;352(9138):1413-8.

126. Rougier P, Van Cutsem E, Bajetta E, Niederle N, Possinger K, Labianca R, et al. Randomised trial of irinotecan versus fluorouracil by continuous infusion after fluorouracil failure in patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet*. 1998;352:1407-18.
127. Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, Navarro M, James RD, Karasek P, et al. Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. *Lancet*. 2000 Mar 25;355(9209):1041-7.
128. Extra JM, Espie M, Calvo F, Ferme C, Mignot L, Marty M. Phase I study of oxaliplatin in patients with advanced cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1990;25(4):299-303.
129. Raymond E, Chaney SG, Taamma A, Cvitkovic E. Oxaliplatin: a review of preclinical and clinical studies. *Ann Oncol*. 1998;9:1053-71.
130. Royce ME, Hoff PM, Padzur R. Novel Chemotherapy Agents for Colorectal Cancer: Oral Fluoropyrimidines, Oxaliplatin, and Raltitrexed. *Curr Oncol Rep*. 1999;1(2):161-7.
131. Goldberg RM, Sargent DJ, Morton RF, Fuchs CS, Ramanathan RK, Williamson SK, et al. A randomized controlled trial of fluorouracil plus leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin combinations in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2004 Jan 1;22(1):23-30.
132. Hoff PM, Wolff RA, Xiong H, Jones D, Lin E, Eng C, et al. Phase II trial of combined irinotecan and oxaliplatin given every 3 weeks to patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer*. 2006 May 15;106(10):2241-6.
133. Falcone A, Ricci S, Brunetti I, Pfanner E, Allegrini G, Barbara C, et al. Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nord Ovest. *J Clin Oncol*. 2007 May 1;25(13):1670-6.
134. Kohler G. The Nobel Lectures in Immunology. The Nobel Prize for Physiology or Medicine, 1984. Derivation and diversification of monoclonal antibodies. *Scand J Immunol*. 1993 Feb;37(2):117-29.
135. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975 Aug 7;256(5517):495-7.
136. Rhee J, Hoff PM. Angiogenesis inhibitors in the treatment of cancer. *Expert Opin Pharmacother*. 2005 Aug;6(10):1701-11.
137. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: therapeutic implications. *Semin Oncol*. 2002 Dec;29(6 Suppl 16):10-4.
138. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003 Jun;9(6):669-76.
139. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber HP, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2004 May;3(5):391-400.

140. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2004 Jun 3;350(23):2335-42.
141. Kopetz S, Glover K, Eng C, Wolff R, Chang D, Adinin R, et al. Phase II study of infusional 5-fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) plus bevacizumab as first-line treatment for metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. [abstract]. 2007;25(18s):4089.
142. Venook AP, Niedzwiecki D, Lenz H, Innocenti F, R. MM, O'Neil BH, et al. CALGB/SWOG 80405: Phase III trial of irinotecan/5-FU/leucovorin (FOLFIRI) or oxaliplatin/5-FU/leucovorin (mFOLFOX6) with bevacizumab (BV) or cetuximab (CET) for patients (pts) with KRAS wild-type (wt) untreated metastatic adenocarcinoma of the colon or rectum (MCRC). *J Clin Oncol*. 2014;32(18 LBA3).
143. Overman MJ, Hoff PM. EGFR-Targeted Therapies in Colorectal Cancer Dis Colon Rectum. 2007 Jun 14.
144. Rubin Grandis J, Melhem M, Gooding W, Day R, Holst V, Wagener M, et al. Levels of TGF-alpha and EGFR protein in head and neck squamous cell carcinoma and patient survival. *J Natl Cancer Inst*. 1998 Jun 3;90(11):824-32.
145. Takahashi Y, Kitadai Y, Bucana CD, Cleary KR, Ellis LM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, correlates with vascularity, metastasis, and proliferation of human colon cancer. *Cancer Res*. 1995;55(18):3964-8.
146. Baselga J. The EGFR as a target for anticancer therapy--focus on cetuximab. *Eur J Cancer*. 2001 Sep;37 Suppl 4:S16-22.
147. De Roock W, De Vriendt V, Normanno N, Ciardiello F, Tejpar S. KRAS, BRAF, PIK3CA, and PTEN mutations: implications for targeted therapies in metastatic colorectal cancer. *Lancet Oncol*. 2011 Jun;12(6):594-603.
148. Ellis L, Hoff P. Targeting the epidermal growth factor receptor: an important incremental step in the battle against colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2004 Apr 1;22(7):1177-9.
149. Saltz LB, Meropol NJ, Loehrer PJ, Sr., Needle MN, Kopit J, Mayer RJ. Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor. *J Clin Oncol*. 2004 Apr 1;22(7):1201-8.
150. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, Bleiberg H, Santoro A, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2004 Jul 22;351(4):337-45.
151. Van Cutsem E, Kohne CH, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2009 Apr 2;360(14):1408-17.
152. Heinemann V, von Weikersthal LF, Decker T, Kiani A, Vehling-Kaiser U, Al-Batran SE, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2014 Sep;15(10):1065-75.

153. Ye LC, Liu TS, Ren L, Wei Y, Zhu DX, Zai SY, et al. Randomized controlled trial of cetuximab plus chemotherapy for patients with KRAS wild-type unresectable colorectal liver-limited metastases. *J Clin Oncol*. 2013 Jun 1;31(16):1931-8.
154. Saltz L, Lenz H, Hochster H, Wadler S, Hoff P, Kemeny N, et al., editors. Randomized Phase II Trial of Cetuximab/Bevacizumab/Irinotecan (CBI) versus Cetuximab/Bevacizumab (CB) in Irinotecan-Refractory Colorectal Cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol*; 2005.
155. Tol J, Koopman M, Cats A, Rodenburg CJ, Creemers GJ, Schrama JG, et al. Chemotherapy, bevacizumab, and cetuximab in metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2009 Feb 5;360(6):563-72.
156. Lawrence W, Jr., Terz JJ, Horsley Sd, Donaldson M, Lovett WL, Brown PW, et al. Chemotherapy as an adjuvant to surgery for colorectal cancer. *Annals of Surgery*. 1975;181(5):616-23.
157. Wolmark N, Rockette H, Mamounas E, et al. The relative efficacy of 5-FU plus leucovorin (FU-LV), 5-FU plus levamisole (FU-LEV), and 5-FU plus leucovorin plus levamisole (FU-LV-LEV) in patients with Dukes' B and C ca of the colon: First report of NSABP C-04. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 1996;15:205a (abstract).
158. Andre T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med*. 2004 Jun 3;350(23):2343-51.
159. de Gramont A, Van Cutsem E, Schmoll HJ, Tabernero J, Clarke S, Moore MJ, et al. Bevacizumab plus oxaliplatin-based chemotherapy as adjuvant treatment for colon cancer (AVANT): a phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2012 Dec;13(12):1225-33.
160. Saltz LB, Niedzwiecki D, Hollis D, Goldberg RM, Hantel A, Thomas JP, et al. Irinotecan fluorouracil plus leucovorin is not superior to fluorouracil plus leucovorin alone as adjuvant treatment for stage III colon cancer: results of CALGB 89803. *J Clin Oncol*. 2007 Aug 10;25(23):3456-61.
161. Alberts SR, Sargent DJ, Nair S, Mahoney MR, Mooney M, Thibodeau SN, et al. Effect of oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin with or without cetuximab on survival among patients with resected stage III colon cancer: a randomized trial. *JAMA*. 2012 Apr 4;307(13):1383-93.
162. Kopetz S, Freitas D, Calabrich AF, Hoff PM. Adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. *Oncology (Williston Park)*. 2008 Mar;22(3):260-70; discussion 70, 73, 75.
163. Bastos DA, Ribeiro SC, de Freitas D, Hoff PM. Combination therapy in high-risk stage II or stage III colon cancer: current practice and future prospects. *Ther Adv Med Oncol*. 2010 Jul;2(4):261-72.
164. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reynies A, Schlicker A, Soneson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*. 2015 Nov;21(11):1350-6.

165. Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2008 Jul 1;26(19):3213-21.