

IMPACTO PROGNÓSTICO DE MARCADORES DO CICLO CELULAR EM PACIENTES COM CARCINOMA DE OVÁRIO

ADRIANA REGINA GONÇALVES RIBEIRO

**Dissertação apresentada à Fundação Antônio Prudente para
obtenção de Título de Mestre em Ciências**

Área de concentração: Oncologia

**Orientador: Dr. Alexandre André Balieiro Anastácio da
Costa**

São Paulo

2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Ensino Apoio ao aluno da Fundação Antônio Prudente*

R484 Ribeiro, Adriana Regina Gonçalves

Impacto prognóstico de marcadores do ciclo celular em pacientes com carcinoma de ovário. / Adriana Regina Gonçalves Ribeiro - São Paulo, 2020. 101p.

Dissertação (Mestrado) - Fundação Antônio Prudente.

Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia.

Orientador: Alexandre André Balieiro Anastácio da Costa

Descritores. 1. Cistadenoma Seroso/Cystadenoma, Serous. 2. Neoplasias Ovarianas/Ovarian Neoplasms. 3. Ciclina E/Cyclin E. 4. Bevacizumab/Bevacizumab. 5. Biomarcadores Tumoriais/Biomarkers, Tumor. 6. Prognóstico/Prognosis.

Elaborado por Suely Francisco CRB 8/2207

*Todos os direitos reservados à FAP. A violação dos direitos autorais constitui crime, previsto no art. 184 do Código Penal, sem prejuízo de indenizações cabíveis, nos termos da Lei nº 9.610/08.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, depois de tantos milagres que vivencie em minha vida, aprendi a me abandonar em seus braços, sou apenas gratidão.

Agradeço à minha família: pais, irmãos, sobrinhos e cunhados vocês são minha base minha fortaleza.

Agradeço ao meu amor, Rodrigo, pelo incentivo, paciência e apoio incondicional nessa jornada. Eu amo você!

Agradeço ao meu orientador, Alexandre André Balieiro Anastácio da Costa, por ter me aceitado como aluna, por toda paciência, motivação e ensinamentos. você é um dos melhores profissionais que eu conheço, aprendi muito esses anos.

Agradeço as patologistas Louise de Brot e Grazielle Bovonin, pela execução da imunoistoquímica, interpretação dos resultados, disponibilidade em ajudar e esclarecer dúvidas, assim como todos os funcionários do laboratório que contribuíram com esse projeto.

À Pós-Graduação, professores, secretárias e demais funcionários.

RESUMO

Ribeiro ARG. **Impacto prognóstico de marcadores do ciclo celular em pacientes com carcinoma de ovário.** [Dissertação]. São Paulo: Fundação Antônio Prudente; 2020.

A hiperexpressão da ciclina E1 (CCNE1h) foi identificada como um marcador de um subgrupo distinto de carcinoma ovariano seroso de alto grau (HGSC), caracterizado por ausência de deficiência de recombinação homóloga. Os inibidores Wee1 são inibidores do *checkpoint* G2-M e atuam principalmente em pacientes com tumores com defeitos no *checkpoint* G1-S. A associação entre CCNE1h e Wee1 ainda não foi avaliada. O objetivo deste estudo é avaliar a expressão de ciclina E1 e Wee1 sua associação com as características clínicas e seu impacto prognóstico em um subconjunto institucional de pacientes brasileiras com diagnóstico de carcinoma de ovário. Também avaliamos em todo grupo institucional as características clínicas e seu impacto prognóstico e em um segundo subgrupo desta população o papel preditivo da expressão do intervalo livre de platina (PFI) e da ciclina E1 na eficácia do bevacizumabe. Realizamos uma revisão retrospectiva de dados clínicos de pacientes com câncer epitelial de ovário (EOC), tratados de janeiro de 2007 a janeiro de 2017 no A.C. Camargo Cancer Center. A CCNE1h e Wee1 foi avaliada por imunoistoquímica (IHC). As características das pacientes foram coletadas e os resultados clínicos medidos foram sobrevida livre de progressão (SLP), sobrevida global (SG), tempo para recidiva platino resistente, e intervalo livre de platina (PFI). Dos 196 pacientes com EOC, a ciclina E1 foi hiperexpressada em 83 pacientes (42%) e esse grupo apresentou características clínicas semelhantes as pacientes sem hiperexpressão. CCNE1h foi associada a menor mediana SGm 56,34 vs 88,08 meses ($p = 0,06$), menor SLP mediana (mSLP) 19,41 vs 22,47 meses ($p = 0,37$) e menor tempo mediano para recidiva platino resistente 50,72 vs 97,54 meses ($p = 0,001$). Foi feita uma subanálise das pacientes com recidiva platina sensível, tratadas com bevacizumabe e quimioterapia (grupo Bev) comparando-as com as tratadas apenas com quimioterapia (grupo CT) pareadas 1: 1 quanto ao intervalo livre de platina, número de linhas anteriores de quimioterapia e histologia. 124 pacientes foram pareadas, 62 em cada grupo. A SLPm foi de 19,5 meses para o grupo Bev vs. 16,0 meses para o grupo CT ($p = 0,150$). Na análise multivariada para SLP, o HR foi de 2,25 (IC95% 1,10-4,60) para a CCNE1h. O benefício do bevacizumabe estava presente apenas no subgrupo de pacientes com PFI <12 meses (SLPm 18,6 versus 10,4 meses, $p = 0,002$) e no subgrupo de pacientes com

CCNE1h (mSLP 16,3 versus 7,0 meses, $p = 0,010$). As pacientes com CCNE1h apresentam pior tempo mediano para recidiva platino resistente. A expressão de Wee1 foi constante e na mesma intensidade para todas as pacientes. A IHC não parece ser um método apropriado para avaliar a atividade Wee1 no tecido tumoral. Concluimos portanto que a CCNE1h está associada à resistência à platina e à sobrevida global e que a CCNE1h e o PFI podem identificar pacientes com o maior benefício do bevacizumabe. Esses dados se confirmados em novos estudos podem ajudar a selecionar melhor os pacientes para terapia antiangiogênica.

Descritores: Carcinoma Seroso. Neoplasias Ovarianas. Ciclina E. Bevacizumabe. Biomarcadores Tumorais. Prognóstico

ABSTRACT

Ribeiro ARG. [Prognostic impact of cell cycle markers in ovarian cancer patients]. [Dissertação]. São Paulo: Fundação Antônio Prudente; 2020.

Cyclin E1 overexpression (*CCNE1h*) has been identified as a marker of a distinct subgroup of high-grade serous ovarian carcinoma (HGSC) characterized by no homologous recombination deficiency. Wee1 inhibitors are G2-M check point inhibitors and act mostly in patients with tumors with G1-S defects. Association between *CCNE1* and Wee1 has not been evaluated yet. The objective of this study is to evaluate the expression of cyclin E1 and Wee1 and their association with the clinical characteristics of patients and their prognostic impact in an institutional subset of Brazilian patients diagnosed with ovarian carcinoma. We also evaluated the clinical characteristics and their prognostic impact in every institutional group and in a second subgroup of this population the predictive role of platinum free interval (PFI) and E1 cyclin expression in the effectiveness of bevacizumab. A retrospective review of clinical data from epithelial ovarian cancer (EOC) patients treated from January 2007 to January 2017 at A.C.Camargo Cancer Center. *CCNE1h* and Wee1 overexpression were assessed by immunohistochemistry (IHC). Patients characteristics were collected, and measured clinical outcomes were progression-free survival (PFS), overall survival (OS), platinum resistant free survival (PRFS), platinum-free interval (PFI). Among 196 patients with EOC, cyclin E1 was overexpressed in 83 patients (42%) and this group had similar clinical characteristics to patients without *CCNE1h*. *CCNE1h* was associated with shorter median OS 56,34 vs 88,08 months ($p=0.06$), shorter mPFS 19,41 vs 22,47 months ($p=0.37$) and shorter mPRFS 50,72 vs 97,54 months ($p=0.001$). A subanalysis of patients with sensitive platinum recurrence treated with bevacizumab and chemotherapy (group Bev) was performed, comparing them with those treated only with chemotherapy (group CT) paired 1: 1 regarding the platinum free interval, number of previous lines of chemotherapy and histology. 124 patients were paired, 62 in each group.. Median PFS (mPFS) was 19.5 months for the Bev group vs. 16.0 months for CT group ($p=0.150$). On multivariate analysis for PFS HR was 2.25 (95%CI 1.10-4.60) for *CCNE1* overexpression. Benefit of bevacizumab was present only in the subgroup of patients with PFI < 12 months (mPFS 18.6 versus 10.4 months, $p=0.002$) and in the subgroup of patients with *CCNE1* overexpression (mPFS 16.3 versus 7.0 months, $p=0.010$). *CCNE1* overexpressed tumors have worse median time for resistant platinum recurrence. IHC does not seem to be an

appropriate method to evaluate Wee1 activity in tumor tissue. We therefore conclude that CCNE1h is associated with platinum resistance and overall survival and that CCNE1h and PFI can identify patients with the greatest benefit from bevacizumab. These data if confirmed in new studies may help to better select patients for antiangiogenic therapy

Keywords: Carcinoma, Serous. Ovarian Neoplasms. Cyclin E. Bevacizumab. Biomarkers, Tumor. Prognosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Diagrama ilustrando a frequência de alterações genéticas, epigenéticas, envolvidas na via HR e não relacionadas à via da HR.....	11
Figura 2	Ilustra a progressão do ciclo celular e as principais proteínas reguladoras	15
Figura 3	Resumo das funções de ciclina E1	17
Figura 4	Funções de WEE1 nas fases S e G2/M do ciclo celular	23
Figura 5	Funções do WEE1 nos checkpoints do ciclo celular Intra-S e G2.....	26
Figura 6	Fluxograma representativo dos critérios de inclusão, adotados no estudo das pacientes que tiveram material biológico do tumor disponível para avaliação....	29
Figura 7	Fluxograma representativo dos critérios de inclusão. adotados no estudo para análise de eficácia do bevacizumabe	29
Figura 8	Desfechos clínicos na população geral	36
Figura 9	Imunoistoquímica da ciclina E1.....	40
Figura 10	Comparação dos desfechos clínicos entre a população com hiperexpressão de ciclina E1 e a população sem a hiperexpressão	42
Figura 11	Sobrevida global no grupo com material biológico tumoral avaliado	43
Figura 12	Sobrevida livre de progressão de doença no grupo com material biológico tumoral avaliado.....	46
Figura 13	Sobrevida livre de progressão no cenário platino resistente no grupo com material biológico tumoral avaliado	49

Figura 14	Sobrevida livre de progressão	57
Figura 15	Sobrevida global	58
Figura 16	Sobrevida livre de progressão, de acordo com o tratamento com bevacizumabe nos subgrupos de pacientes	60
Figura 17	Avaliação de interação entre PFI e ciclina E1 com efeito do Bevacizumabe	61
Figura 18	Imunoistoquímica para WEE1	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Estudos com Bevacizumabe em câncer de ovário	10
Tabela 2	Características clínicas de 664 pacientes	35
Tabela 3	Características clínicas de 196 pacientes	38
Tabela 4	Análise Univariada de sobrevida global no grupo com material biológico do tumor	44
Tabela 5	Análise Multivariada de sobrevida global no grupo com material biológico do tumor	45
Tabela 6	Análise Univariada de SLP no grupo com material biológico do tumor	47
Tabela 7	Análise Multivariada de SLP no grupo com material biológico do tumor	48
Tabela 8	Análise Univariada de cox TTPR no grupo avaliado para <i>CCNE1</i>	50
Tabela 9	Análise Multivariada de cox TTPR no grupo avaliado para <i>CCNE1</i>	51
Tabela 10	Características clínicas das 124 pacientes da coorte de pacientes com recidiva platina sensível.....	53
Tabela 11	Características clínicas das pacientes da coorte de pacientes com recidiva platina sensível avaliadas para Ciclina E1 hiperexpressa	54
Tabela 12	Análise univariada de sobrevida livre de progressão de 124 pacientes	56
Tabela 13	Análise Multivariada para SG e SLP de 124 pacientes	57
Tabela 14	Análise univariada para sobrevida global	59

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BER	Reparo por excisão de base
CCNE1	Gene que codifica a proteína Ciclina E1
CDKs	Quinase dependentes de ciclina
CID	Código internacional da doença
CI	Intervalo de confiança
EOC	Cânceres de ovário
ECOG	<i>Eastern Cooperative Oncologic Group</i>
E2F	Fator de transcrição E2F
FIGO	Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia
FISH	Hibridização in situ por fluorescência
GOG	Grupo de Oncologia Ginecológica
HR	Recombinação homóloga
HR+	Receptor hormonal positivo
HGSC	Carcinomas serosos de alto grau
IHC	Imunoistoquímica
INCA	Instituto Nacional de Câncer
PFI	Intervalo livre de platina
LMW-E	Isoforma de ciclina E de baixo peso molecular
MAPK	Proteína-quinase Ativada por Mitógenos
PARP	Poli- adenosina difosfato-ribose (ADP)-ribose
PFI	Intervalo livre de platina
SLP	Sobrevida livre de progressão
SG	Sobrevida Global
TCGA	Atlas Genômico do Câncer de Ovário
TMA	<i>Tissue-microarray</i>
WT1	<i>Wilms tumor protein</i>
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Epidemiologia.....	1
1.2	Subtipos Histológicos e Alterações Moleculares	1
1.2.1	Carcinoma seroso de alto grau.....	2
1.2.2	Carcinoma endometrióide.....	2
1.2.3	Carcinoma de células claras.....	3
1.2.4	Carcinoma mucinoso	3
1.2.5	Carcinoma seroso de baixo grau.....	3
1.3	Estadiamento e Tratamento do Câncer de Ovário	4
1.3.1	Estadiamento.....	4
1.3.2	O procedimento cirúrgico no câncer de ovário.....	4
1.3.3	Quimioterapia na doença inicial	5
1.3.4	Quimioterapia na doença avançada	5
1.3.5	Tratamento manutenção.....	6
1.3.6	Doença Recidivada	7
1.3.7	Antiangiogênicos no tratamento do câncer de ovário.....	9
1.4	Ciclo Celular e Câncer de Ovário	11
1.4.1	Regulação do ciclo celular.....	12
1.4.2	Alterações no ciclo celular e as neoplasias.....	15
1.4.3	Ciclina E	16
1.4.4	WEE-1	21
2	OBJETIVOS	27
2.1	Objetivo Geral	27
2.2	Objetivos Específicos	27
3	MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1	Desenho do estudo.....	29
3.2	Casuística.....	28
3.2.1	CrITÉRIOS de Inclusão	30

3.2.2	CrITÉrios de Exclusão	30
3.3	Análise da expressão de ciclina E1 e Wee1	30
3.3.1	Tissue-microarray (TMA)	30
3.3.2	Imunoistoquímica	31
3.4	Análise Estatística.....	32
4	RESULTADOS	34
4.1	Avaliação de dados clínico de todas as pacientes com câncer de ovário	34
4.1.1	Desfechos clínicos	36
4.2	Características da população com material biológico do tumor analisado.....	37
4.2.1	Análise de dados e desfechos clínicos das pacientes com hiperexpressão de ciclina E1 no grupo com material biológico do tumor avaliado.....	39
4.2.2	Fatores prognósticos para sobrevida global na população com material biológico do tumor avaliado	42
4.2.3	Fatores prognósticos para sobrevida livre de progressão das pacientes com material biológico analisado	46
4.2.4	Análise do tempo para recidiva de doença no cenário platino resistente nas pacientes com material biológico tumoral analisado.....	49
4.3	Avaliação do Bevacizumabe em câncer de ovário recorrente sensível à platina e de fatores preditivos de sua eficácia	52
4.3.1	Sobrevida livre de progressão.....	55
4.3.2	Sobrevida Global	58
4.3.3	Taxa de resposta global	59
4.3.4	PFI e ciclina E1 como marcadores preditivos de benefício do bevacizumabe.....	60
4.4	Resultados WEE1	62
5	DISCUSSÃO	63
5.1	Frequência da hiperexpressão de ciclina E1 e WEE1 por imunoistoquímica	63
5.2	Características clínicas e patológicas, relacionadas com hiperexpressão de ciclina E1 e WEE1	65
5.3	Impacto da hiperexpressão de ciclina E1 e WEE1 no prognóstico das pacientes e na resposta ao tratamento.....	65
5.4	Benefício do bevacizumabe no cenário de câncer de ovário recorrente platina sensível e o papel preditivo do intervalo livre de platina (PFI) e da expressão	

	de <i>CCNE1</i> para a eficácia do bevacizumabe	69
5.5	Limitações.....	72
6	CONCLUSÕES.....	73
7	REFERÊNCIAS.....	74

ANEXO

Anexo 1 Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

APÊNDICE

Apêndice 1 Ficha de Coleta de Dados – Ovário

1 INTRODUÇÃO

1.1 EPIDEMIOLOGIA

O câncer de ovário é a oitava neoplasia mais frequente entre as mulheres no mundo, com 295.414 novos casos estimados ao ano em 2018, e a oitava em mortalidade entre as mulheres com 184.799 óbitos estimados ao ano. Nos países desenvolvidos é a terceira causa mais comum de câncer ginecológico, com incidência de 7.0 por 100.000 mulheres e taxa de mortalidade de 5.1 por 100.000 mulheres. Nos países em desenvolvimento ele é a terceira causa mais comum de câncer ginecológico com incidência de 5,7 por 100.000 e taxa de mortalidade de 3,1 por 100.000 (Bray et al. 2018).

Nos Estados Unidos o câncer de ovário é a principal causa de mortalidade entre os cânceres ginecológicos e a quinta causa para as mulheres entre todos os tipos de cânceres, sendo que para 2020 são estimados 21.750 casos novos, e 13.940 óbitos (Siegel et al. 2020).

No Brasil a última estimativa do Instituto Nacional do Câncer (INCA) foi de 6.650 casos novos esperados para cada ano do triênio 2020-2022, um risco estimado de 6,18 casos a cada 100 mil mulheres e o sétimo mais incidente (Ministério-da-Saúde 2020).

A idade mediana ao diagnóstico é em torno de 60 anos e o risco de uma mulher desenvolver câncer de ovário ao longo da vida é de 1 a cada 70 mulheres (Cannistra et al. 2004).

1.2 SUBTIPOS HISTOLÓGICOS E ALTERAÇÕES MOLECULARES

Os cânceres epiteliais representam 95% dos cânceres de ovário (EOC), os outros 5% são tumores de células germinativas ou tumores de células estromais. Dentre os cânceres epiteliais de ovário há alguns subtipos que diferem entre si pela morfologia e alterações moleculares características. O mais comum é o seroso de alto grau correspondendo a 70% dos casos, seguido pelo endometrióide (10% dos casos), células claras (10% dos casos), mucinosos (2-4% dos casos), serosos de baixo grau (< 5% dos casos) e outros ainda mais raros como carcinoma de células transicionais, carcinosarcoma e carcinoma de pequenas células (Prat 2012; Rescigno et al. 2013).

O EOC é uma doença heterogênea e que cada subtipo histológico é biologicamente diferente com variados fatores de risco epidemiológico e genético, lesões precursoras, padrões de disseminação, biologia molecular, resposta à terapia e prognóstico (Cannistra et al. 2004).

1.2.1 Carcinoma seroso de alto grau

Os carcinomas serosos de alto grau (HGSC) são os tumores epiteliais de ovário responsáveis por 90% dos óbitos pela doença. Apenas 1% dos casos é restrito ao ovário ao diagnóstico e a sobrevida global em 5 anos para pacientes com estágio IIIC é de apenas 25-30% e para as pacientes com estágio IV de 10-15% (Rescigno et al. 2013; Gurung et al. 2013).

A principal alteração molecular dessas neoplasias é a grande instabilidade genética com muitas alterações do número de cópias do DNA e poucas mutações. Isso é consequência da presença de mutações somáticas do *TP53* em 97% dos casos. A proteína p53 é responsável pela regulação do ciclo celular, reparo do DNA e indução de apoptose de forma que a perda da sua função favorece a instabilidade genética (Gurung et al. 2013; Mittempergher 2016).

1.2.2 Carcinoma endometrióide

Os carcinomas endometrióides correspondem a 10% dos cânceres epiteliais do ovário. O tumor é bilateral em 28% dos casos e entre 15 a 20% está associado à presença de um segundo tumor primário de endométrio. São tumores caracteristicamente de alto grau. É um subtipo sensível a quimioterapia e com melhor prognóstico quando comparado com os serosos de alto grau nos estágios avançados (Mackay et al. 2010; Prat 2012). Já os carcinomas de endométrio de alto grau são molecularmente indistinguíveis do carcinoma de ovário do tipo seroso de alto grau, além de expressarem WT1 (um marcador dos tumores serosos) e de apresentarem perfil de expressão gênica semelhante. Estes dados sugerem que os tumores endometrióides de alto grau não são diferentes dos serosos de alto grau (Prat 2012; Groen et al. 2015).

Segundo a origem do tumor, há dois tipos de carcinoma endometrióide: os relacionados à endometriose, em até 42% dos casos de todos os tumores endometrióides de ovário há evidência de endometriose, e aqueles não relacionados à endometriose. Apesar disso não há diferença entre eles quanto ao prognóstico (Mangili et al. 2012).

1.2.3 Carcinoma de células claras

Os carcinomas de ovário de células claras (10% dos tumores epiteliais) são diagnosticados em idade mais jovem, em torno de 54 anos, e em estágios I e II de forma mais frequente que os serosos, em 57-80% dos casos. Em aproximadamente metade dos casos o tumor se origina de focos de endometriose. Nestes casos, o prognóstico é melhor do que aqueles não associados à endometriose. São neoplasias resistentes à quimioterapia, convencionalmente utilizada para tratar os carcinomas de ovário e, ao menos nos estágios mais avançados, já é bem estabelecido que apresentam uma pior sobrevida global quando comparados aos tumores serosos de alto grau (Del Carmen et al. 2012; Prat 2012; Gurung et al. 2013; Yamashita 2015).

1.2.4 Carcinoma mucinoso

Os carcinomas mucinosos do ovário são um subtipo raro, representando apenas 2 a 4% dos tumores de ovário. Mais de 80% dos casos são diagnosticados no estágio I, quando o prognóstico é excelente, com sobrevida de 90% em 5 anos. Porém trata-se de um tumor resistente à quimioterapia e, quando diagnosticado em estágios avançados, o prognóstico é pior que dos serosos de alto grau (Frumovitz et al. 2010; Mackay et al. 2010; Kelemen et al 2011; Xu et al. 2016).

1.2.5 Carcinoma seroso de baixo grau

Os tumores serosos de baixo grau foram recentemente descritos como uma entidade totalmente diferente dos serosos de alto grau, correspondendo a menos de 4% dos tumores epiteliais de ovário. São muitas vezes associados aos tumores *borderline* de ovário, diagnosticados na maioria das vezes em estágios mais avançados e com uma evolução bastante indolente (Romero et al. 2013; Gurung et al. 2013).

As alterações moleculares são totalmente diferentes daquelas descritas nos carcinomas serosos de alto grau, apresentando baixa frequência de mutações do *TP53* e do *BRCA* e com alterações da via da MAPK em até 70% dos casos. Drogas-alvos explorando os inibidores da via da MAPK quinase (MEK) já foram testadas em estudos clínicos com uma taxa de resposta em torno de 15%, sendo identificados alguns tipos de mutações em MAP2K1 capazes de identificar pacientes com resposta prolongada ao tratamento (Grisham et al. 2015).

Mutações no proto-oncogene BRAF (38%) ou no KRAS (19%), que são mutuamente exclusivas, são as aberrações mais comuns detectadas nos tumores serosos de baixo grau

1.3 ESTADIAMENTO E TRATAMENTO DO CÂNCER DE OVÁRIO

1.3.1 Estadiamento

O sistema de estadiamento mais utilizado para o câncer de ovário é o estadiamento da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO). O estágio I inclui doença restrita ao ovário, IA, unilateral, IB, bilateral, IC: tumor limitado a 1 ou ambos os ovários com qualquer uma das características : IC1 ruptura intra operatória da cápsula ovariana IC2 ruptura de cápsula ovariana antes da cirurgia ou acometimento da superfície ovariana; IC3:células neoplásicas em ascite ou lavado peritoneal; II, doença restrita à pelve. IIA, extensão para tubas uterinas ou útero, IIB, extensão para outros órgãos pélvicos ou peritônio pélvico. III: doença com extensão para cavidade peritoneal e ou envolvimento de linfonodo retroperitoneal IIIA doença microscópica (linfonodo retroperitoneal comprometido e/ou doença microscópica extra pélvica), IIIA1 (linfonodo retroperitoneal comprometido, comprovado por meio de citologia ou histologia), IIIA2 Doença microscópica extra pélvica, envolvimento peritoneal com ou sem linfonodo retroperitoneal comprometido); IIIB, doença macroscópica menor que 2cm, com ou sem linfonodo retroperitoneal comprometido; IIIC, doença macroscópica maior que 2cm com ou sem linfonodo retroperitoneal comprometido. Estágio IV com doença extra cavidade peritoneal, o que inclui doença no parênquima hepático e derrame pleural neoplásico IVA (derrame pleural com citologia positiva) e IVB (metástase para parênquima hepático e/ou esplênico ; metástase para órgãos extra-abdominais incluindo linfonodo inguinal e fora da cavidade abdominal) (Prat et al. 2017).

1.3.2 O procedimento cirúrgico no câncer de ovário

Em todos os estágios, o pilar do tratamento é a cirurgia. A cirurgia para o câncer de ovário tem papel diagnóstico, de estadiamento e terapêutico. O procedimento mínimo para uma cirurgia ser considerada adequada, via de regra envolve: histerectomia total, salpingo-ooforectomia bilateral, omentectomia, biópsias do peritônio e lavado peritoneal. Em algumas situações bastante particulares pode-se optar por não realizar algum desses procedimentos, como é o caso, por exemplo, das cirurgias com conservação de fertilidade. Em caso de doença pélvica e peritoneal, o objetivo da cirurgia é retirar toda a doença visível, com ressecção de todos os implantes visíveis. Essa cirurgia é denominada de citorredução (Fader 2007). O papel da linfadenectomia pélvica e paraaórtica foi recentemente revisto, não sendo mais indicado de forma sistemática (Harter et al. 2017).

A citorredução pode ser classificada quanto ao volume de doença residual (microscópica: citorredução completa e macroscópica) e quanto ao momento do tratamento. Até alguns anos atrás a citorredução com doença residual menor que 10mm era considerada o objetivo do tratamento sendo chamada de citorredução ótima e aquelas com doença residual maior que 10mm chamadas de citorredução subótima. A citorredução completa confere um prognóstico melhor do que citorredução com doença residual macroscópica mesmo em relação aquelas pacientes com doença residual com volume menor que 10mm. Por isso hoje o termo citorredução ótima deve ser empregado para as citorreduções que chegam à doença residual microscópica. Este é um dos principais fatores prognósticos, juntamente com estágio e subtipo histológico da paciente, sendo o único modificável pelo tratamento (Du Bois et al. 2009; Chang et al. 2013). Quanto ao momento da citorredução ela pode ser classificada como primária quando realizada antes do tratamento de quimioterapia, citorredução de intervalo, quando é realizada imediatamente após alguns ciclos de quimioterapia, e secundária quando é realizada no momento da recidiva da doença (Fader 2007).

1.3.3 Quimioterapia na doença inicial

Aproximadamente 25% das pacientes são diagnosticadas em estágio inicial (estádios I a IIA). Nesses casos, o tratamento após a cirurgia é realizado com quimioterapia baseada em platina por 4 a 6 ciclos nas pacientes com estágio IC em diante e grau 3. A indicação de quimioterapia é controversa nos estádios IB e G2 e para pacientes com tumores de células claras e mucinosos estágio IA e IB. O diagnóstico de tumores mucinoso e de células claras era critério de elegibilidade para o estudo de fase III que estabeleceu o benefício da quimioterapia adjuvante. Entretanto, análises posteriores mostraram que esses subtipos histológicos quando nos estádios IA e IB têm um bom prognóstico (Trimbos et al. 2003).

1.3.4 Quimioterapia na doença avançada

Aproximadamente 75% das pacientes são diagnosticadas com doença avançada (estádio IIB a IV). Nesses casos o tratamento após citorredução é quimioterapia baseada em platina. O esquema de quimioterapia, mais tradicionalmente realizado após a cirurgia, é a associação de carboplatina com paclitaxel que se mostrou superior aos esquemas anteriores de combinações de platina com agentes alquilantes como a ciclofosfamida (McGuire et al. 1996; Piccart et al. 2000) e tão eficazes quanto e menos tóxico que a combinação de cisplatina e paclitaxel (Ozols et al. 2003; Du Bois et al. 2003). Atualmente há evidências, ao menos iniciais, de outras combinações de platina tão eficazes como esta que podem ser uma opção alternativa de

tratamento principalmente levando-se em consideração o perfil de efeitos adversos. Estas outras drogas que podem ser combinadas com a carboplatina ao invés do paclitaxel são o docetaxel, ou doxorubicina lipossomal (Vasey et al. 2004; Pignata et al. 2011).

Apesar do uso da quimioterapia, o prognóstico das pacientes com doença avançada é ruim, especialmente para pacientes com estágio IIIC e IV com sobrevida global em 5 anos de acordo com estágio: IIB - 70,2%, IIC – 64,1%, IIIA – 52%, IIIB – 45,2%, IIIC – 32,1%, IV – 15,3% (Prat et al. 2017).

Até o momento 3 estratégias de tratamento são aceitas para pacientes com doença avançada, baseado em estudos de fase III, como alternativas ao tratamento padrão de combinação de carboplatina e paclitaxel com ganho de sobrevida global: o esquema de dose densa com carboplatina intravenosa semanal (IV) a cada 3 semanas e paclitaxel (IV) semanal avaliado na população asiática (Katsumata et al. 2009; Katsumata et al. 2013), embora na população ocidental não tenha demonstrado ganhos em relação ao tratamento padrão, e apresentar maior toxicidade (Clamp et al. 2019); a associação de bevacizumabe às duas drogas (Burger et al. 2011; Perren et al. 2011; Tewari et al. 2019) e a quimioterapia intraperitoneal após cirurgia primária com doença residual menor que 1 cm (Alberts et al. 1996; Markman et al. 2001; Armstrong et al. 2006; Tewari et al. 2015). As combinações destas três alternativas de tratamento entre si, também foram avaliadas em estudos de fase III neste cenário de quimioterapia pós-operatória, na tentativa de estabelecer um novo esquema terapêutico para as pacientes com doença avançada (Raja et al. 2012). O esquema de carboplatina e paclitaxel em dose densa foi similar a quimioterapia intraperitoneal, com menos toxicidade, tendo sido associado com Bevacizumabe nos 3 braços (Walker et al. 2019). Em outro estudo o esquema de dose densa não apresentou benefício ao esquema padrão, sendo que 84% dos pacientes ambos os braços receberam Bevacizumabe (Chan et al. 2016).

1.3.5 Tratamento manutenção

Os genes *BRCA1* e *BRCA2* são classificados como genes supressores de tumor e codificam proteínas relacionadas ao processo de reparo do DNA, por meio da recombinação homóloga (HR) (Pommier et al 2016).

As mutações nos genes *BRCA1* ou *BRCA2* podem ser germinativas ou somáticas, sendo a mutação germinativa observada em aproximadamente 14% dos pacientes com neoplasia epitelial de ovário não mucinoso, destas aproximadamente 50% ocorre nos HGSCs, enquanto mutações somáticas no *BRCA1* / 2 são encontradas em aproximadamente 6% dos HGSCs (TCGA 2011; Alsop et al. 2012).

As mutações de *BRCA1* e *BRCA2* ocasionam defeito da HR o que torna essas células particularmente dependentes de outras proteínas e vias de reparo do DNA que compensam a perda de atividade de HR. Esse é o caso da PARP-1, poli-adenosina difosfato-ribose (ADP)-ribose, (PARP), uma proteína nuclear importante na detecção e reparo de lesões presentes na fita do DNA. A PARP-1 atua nas vias de reparo de quebra da fita simples do DNA, a via o reparo por excisão de base (BER). A deficiência na via de HR torna as células sensíveis aos inibidores de PARP pelo mecanismo de letalidade sintética: o bloqueio da PARP leva ao acúmulo de lesões de quebra de fita simples do DNA, essas lesões resultam em lesões de dupla fita do DNA que em uma célula normal seriam reparadas pela via da HR, já em uma célula com perda da função da HR o acúmulo de lesões de fita dupla não reparadas leva à morte celular (Fong et al. 2009; Lord et al. 2017).

Tem sido crescente o papel dos inibidores da (PARP) como terapia de manutenção no câncer epitelial avançado de ovário (EOC) para mulheres com mutação de *BRCA 1/2*. Em vários estudos randomizados, que incluíram pacientes com câncer de ovário avançado, cuja doença respondeu à quimioterapia de primeira linha com base em platina, o tratamento de manutenção com um dos inibidores da PARP, veliparibe, niraparibe ou olaparibe, e ainda a combinação de olaparibe e bevacizumabe, melhoraram a sobrevida livre de progressão (Moore et al. 2018; Coleman et al. 2019; González-Martín et al. 2019; Ray-Coquard et al. 2019). Além disso, outros estudos mostraram que em pacientes sem mutação nos genes *BRCA1/2*, mas com deficiência da HR, também se beneficiaram do acréscimo de inibidor de PARP (González-Martín et al. 2019).

Desta forma o conhecimento do status da mutação de *BRCA 1/2* em pacientes com câncer de ovário de forma precoce é importante para identificar as pacientes que podem se beneficiar mais desta abordagem terapêutica de inibição de PARP.

1.3.6 Doença Recidivada

A doença recidivada pode ser dividida em três cenários de acordo com o intervalo livre de platina, definido como o tempo entre a última aplicação de quimioterapia com platina e a recidiva da doença. Caso a recidiva ocorra em menos de 6 meses a doença é considerada platina resistente/refratária, sendo considerada refratária se a progressão ocorrer durante o tratamento (10% dos casos), resistente caso ocorra após o término do tratamento (30% dos casos); platina sensível caso ocorra após 12 meses, e caso ocorra entre 6 e 12 meses é considerada com uma sensibilidade intermediária a platina (50-55% dos casos com sensibilidade intermediária ou completa). Quanto menor esse intervalo, menor a taxa de resposta ao re-tratamento com um

esquema com platina, sendo esperadas taxas de resposta de 0% para platina refratária, 10% para platina resistente, 30-40% para sensibilidade intermediária, e maior que 60% para platina sensível (Colombo et al. 2013).

A) Doença platina sensível e com sensibilidade intermediária

Nas pacientes com recidiva platina sensível uma opção a ser discutida é a citorredução de intervalo. Esta é uma opção que pode ser considerada em pacientes selecionadas (Al Rawahi et al. 2013; Du Bois et al. 2020; Zang et al. 2020).

A quimioterapia é o tratamento fundamental neste cenário e tem intuito paliativo. A combinação de mais de um agente quimioterápico é melhor que a monoterapia. As opções aceitáveis são a re-exposição ao esquema de carboplatina e paclitaxel, variações deste esquema com uso de cisplatina no lugar de carboplatina ou de docetaxel no lugar de paclitaxel, ou ainda outros esquemas com platina que pode ser combinada com gencitabina ou doxorrubicina lipossomal. Não há diferença na sobrevida global alcançada com nenhum destes esquemas e a escolha depende do perfil de efeitos adversos desejado e da tolerância da paciente (Al Rawahi et al. 2013; Elit e Hirte 2013).

Sabe-se que recentemente existem alternativas que levam a uma melhor sobrevida livre de progressão para essas pacientes, ao incluir o uso de agentes anti-angiogênicos como bevacizumabe e pazopanibe em combinação com a quimioterapia e/ou manutenção após a quimioterapia (Aghajanian et al. 2012, 2015; Monk et al. 2013), bem como o uso de inibidores de PARP (olaparibe, rucaparibe, niraparibe) como tratamento de manutenção após a quimioterapia (Ledermann et al. 2012; Ledermann et al. 2014; Oza et al. 2015; Matulonis et al. 2016; Mirza et al. 2016; Coleman et al. 2017; Pujade-Lauraine et al 2017; Friedlander et al. 2018; Del Campo et al. 2019). Recentemente no Congresso Americano de Oncologia Clínica (ASCO) foram apresentados os dados finais do estudo de fase SOLO/ENGOT-ov21, que avaliou o uso de olaparibe de manutenção em pacientes com câncer de ovário recidivado platino sensível e com mutação *BRCA*, que foram expostas a mais de duas linhas de tratamento prévios e responderam à quimioterapia à base de platina. Esses dados mostraram pela primeira vez ganho de sobrevida global de 12,9 meses com uso inibidores de PARP versus placebo, em pacientes com carcinoma epitelial de ovário e mutação de *BRCA* (Poveda et al. 2020).

B) Doença platina resistente

Pacientes com doença platina resistente têm um prognóstico ruim, com uma sobrevida global mediana em torno de 1 ano e taxas de resposta à quimioterapia em torno de 10%. Para essas pacientes o tratamento paliativo deve ser feito com monoquimioterapia, sendo opções de tratamento o uso de gencitabina, doxorubicina lipossomal, topotecano e paclitaxel semanal (Colombo et al. 2013).

Atualmente foi descrita uma nova alternativa para o tratamento, ou seja, o acréscimo do bevacizumabe à quimioterapia que mostrou um aumento da taxa de resposta e da sobrevida livre de progressão nestas pacientes (Pujade-Lauraine et al. 2014; Poveda et al. 2015).

O niraparibe foi aprovado pelo *Food and Drug Administration (FDA)* em monoterapia, para mulheres com carcinoma de ovário seroso de alto grau avançado tratadas com mais de 3 linhas de tratamento e portadoras de mutação deletéria no gene *BRCA1/2* ou deficiência da HR identificada por um marcador de instabilidade genômica (Moore et al. 2019). Da mesma forma o olaparibe inicialmente foi aprovado para pacientes com carcinoma de ovário seroso de alto grau avançado, tratadas com mais de 3 linhas de tratamento e portadoras de mutação deletéria no gene *BRCA1/2* (Kim et al. 2015).

Apesar desses avanços, o câncer de ovário recorre na maioria das pacientes sendo a cura infrequente. Na recidiva as pacientes desenvolvem doença resistente à quimioterapia, e as opções para o tratamento de resgate efetivo são limitadas, justificando a alta mortalidade associada à doença.

1.3.7 Antiangiogênicos no tratamento do câncer de ovário

O bevacizumabe (Avastin®) é um anticorpo monoclonal humanizado, cujo mecanismo de ação baseia-se na sua ligação ao fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF, um dos principais agentes que estimulam a formação de novos vasos), inibindo desta forma a ligação do VEGF aos seus receptores na superfície das células endoteliais. A neutralização da atividade biológica do VEGF diminui a vascularização, o que, no caso de tumores, causa a diminuição ou supressão do crescimento. A adição do Bevacizumabe à quimioterapia no tratamento do câncer de ovário demonstrou aumento na sobrevida livre de progressão em todos os cenários de tratamento, incluindo primeira linha (Burger et al. 2011; Perren et al. 2011), recidiva platino sensível (Aghajanian et al. 2012; Coleman et al. 2017) e recidiva platino resistente (Pujade-Lauraine et al. 2014). Avaliando esses diferentes estudos observamos a redução do valor do *hazard ratio* quanto mais avançada a doença, o que nos leva a pensar que a talvez a magnitude do benefício do bevacizumabe seja maior neste cenário de doença mais avançada. Os diferentes estudos são mostrados na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1 - Estudos com Bevacizumabe em câncer de ovário

Estudo	Agente	Cenário	HR-SLP (95%CI)
GOG 218 (Burger et al. 2011)	Bevacizumabe	Primeira linha/ manutenção	0.72(0.63-0.82)
ICON7 (Perren et al. 2011)	Bevacizumabe	Primeira linha/ manutenção	0.81(0.70-0.94)
AURELIA (Pujade-Lauraine et al. 2014)	Bevacizumabe	Recorrência, Platino resistente, 1-2 anteriores	0.48(0.38-0.60)
OCEANS (Aghajanian et al. 2012)	Bevacizumabe	Recorrência, Platino sensível, 1 anterior	0.48(0.38-0.60)
GOG 0213 (Coleman et al. 2017)	Bevacizumabe	Recorrência, Platino sensível, 1 anterior	0.61 (0.52-0.72)

SLP: sobrevida livre de progressão, CI: intervalo de confiança, HR: *Hazard Ratio*

A) Fatores preditivos de resposta ao bevacizumabe

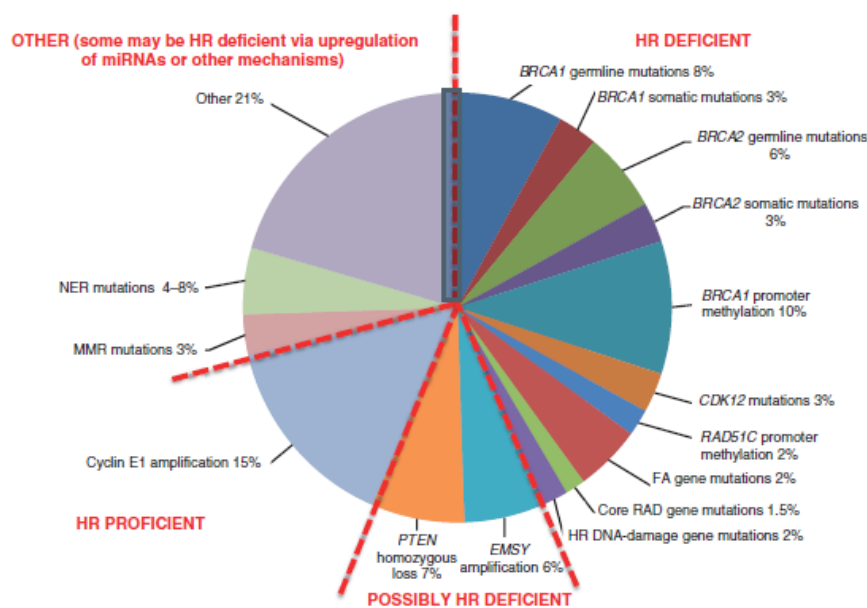
Dois estudos retrospectivos de fase III em primeira linha de tratamento, avaliaram biomarcadores preditivos de resposta ao bevacizumabe. O estudo GOG-0218 avaliou a expressão tumoral de VEGFR2 e a maior densidade de microvasos medida pela expressão de CD31, e mostrou seu valor preditivo para a SLP, mas ambas falharam após um longo período de acompanhamento (Birrer et al. 2015). O outro estudo foi o ICON7, mostrando que entre os quatro subtipos de expressão gênica do câncer de ovário, o bevacizumabe apresentou o maior benefício nos subgrupos mesenquimais e proliferativos (Kommoss et al. 2017). Estes marcadores ainda precisam ser validados e estão longe da prática clínica.

O impacto da presença da deficiência da HR no efeito do bevacizumabe é ainda controverso. Embora um estudo retrospectivo sugira que pacientes sem mutação de *BRCA1/2* não tenham benefício do uso de bevacizumabe (Lorusso et al. 2020), uma análise dos dados do estudo GOG 218 não mostrou impacto da deficiência de HR no efeito do bevacizumabe (Norquist et al. 2018).

Ao avaliar dados dos estudos ICON 7 e GOG 218 podemos observar que o benefício do bevacizumabe foi maior para os pacientes com intervalo livre de platina (PFI) entre 6 e 12 meses se compararmos com os que tinham PFI maior que 12 meses. Mediante este resultado pode-se sugerir que pacientes com PFI mais curto possam derivar benefícios relativamente maiores do bevacizumabe (Perren et al. 2011; Burger et al. 2011).

1.4 CICLO CELULAR E CÂNCER DE OVÁRIO

O Atlas Genômico do Câncer de Ovário (TCGA 2011) caracterizou as principais alterações moleculares dos carcinomas serosos de alto grau de ovário. Como descrito anteriormente 96% dos tumores apresentam mutações em *TP53*, e aproximadamente metade dos tumores apresentam disfunção da via da recombinação homóloga. Essas duas características conferem aos carcinomas serosos de alto grau de ovário uma grande instabilidade genômica (Cancer Genome Atlas Research 2011).



Fonte: Konstantinopoulos et al. (2015)

Figura 1 - Diagrama ilustrando a frequência de alterações genéticas e epigenéticas, envolvidas na via HR e não relacionadas à via da HR.

Os mecanismos de reparo de DNA relacionadas à via da recombinação homóloga bem como diversas funções do gene *TP53* são diretamente ou indiretamente relacionados ao ciclo celular. Além disso aproximadamente 15 a 20% dos carcinomas serosos de alto grau de ovário apresentam amplificação do *CCNE1*, gene que codifica a proteína Ciclina E1, parte integrante dos mecanismos de regulação do ciclo celular (TCGA 2011). Estes achados despertaram muito mais o interesse pelo estudo das alterações de regulação do ciclo celular nos tumores de ovário, levantando a hipótese de tê-las como potenciais alvos terapêuticos (Otto et al. 2017).

O ciclo celular é composto por: interfase (fases: G1, S e G2), sendo G1 (Gap 1, intervalo), S (síntese de DNA), G2 (Gap 2) e M (Mitose). Na fase G1 existe a preparação para

a síntese de DNA, na fase S subsequente, ocorre a replicação do DNA, a fase G2 é o intervalo entre a síntese de DNA e a mitose, as células crescem e se preparam para a divisão celular. Na Fase M ocorre a divisão celular e duas células filhas são formadas após a separação (Suryadinata et al. 2010).

A desregulação do ciclo celular é um marco para o desenvolvimento do câncer, assim, nas células neoplásicas frequentemente encontramos: proliferação não programada, instabilidade genômica, aumento das mutações no DNA e das aberrações cromossômicas, instabilidade cromossômica, e mudanças no número de cromossomos (Malumbres et al. 2009).

1.4.1 Regulação do ciclo celular

O ciclo celular é um processo altamente controlado. Existem vários mecanismos pelos quais as células podem modular sua progressão entre eles os *checkpoints* e as quinase dependentes de ciclina (CDKs) (Bucher et al. 2008; Malumbres et al. 2009).

Os *checkpoints* são pontos de checagem para garantir que a célula está pronta para dar continuidade à divisão celular. Caso haja dano no material genético, ativa-se uma cascata de sinais para bloquear a progressão do ciclo celular, colocando em funcionamento a maquinaria de reparo do material genético e/ou acionando a apoptose por meio de sensores, sinalizadores e efetores específicos. Esses pontos também são responsáveis por permitir a finalização correta dos passos de uma fase precedente, regulando a transição para a fase seguinte. Alterações nesses pontos de checagem levam ao acúmulo de mutações e aberrações cromossômicas que aumentam a probabilidade de desenvolvimento do câncer. Os 3 principais checkpoints ocorrem em: G1 / S, intra-S e G2 / M. A função da proteína p53, que controla os *checkpoints* G1 / S, é perdida ou prejudicada na maioria dos cânceres, fazendo com que as células que possuem essa alteração dependam dos *checkpoints* de S e G2/M para reparação após danos no DNA (Kastan et al. 2004).

Por seu papel fundamental no ciclo celular os *checkpoints* surgiram como potenciais alvos terapêuticos.

A progressão do ciclo celular também é regulada pela expressão ordenada das quinases dependente de ciclina (CDKs), assim denominadas porque a sua ativação depende da associação com subunidades reguladoras conhecidas como ciclinas. Cada fase do ciclo celular possui uma configuração exclusiva de ciclina e CDKs. As atividades de CDKs envolvidas na regulação do ciclo celular são bem controladas: são induzidas por sinais mitogênicos e podem ser inibidas pela ativação dos *checkpoints* do ciclo celular em resposta ao dano do DNA (Otto et al. 2017).

Apenas um subconjunto de complexo CDK-ciclina está diretamente envolvido na condução do ciclo celular. Eles incluem três CDKs na interfase (CDK2, CDK4 e CDK6), um CDK na mitose (CDK1, também conhecida como proteína 2 de controle da divisão celular, CDC2,) e dez ciclinas que pertencem a quatro diferentes classes (As ciclinas do tipo A, B, D e E). As ciclinas do tipo B são citoplasmáticas enquanto as do tipo A, D e E são nucleares (MacLachlan et al. 1995; Malumbres et al. 2009).

A) **Checkpoint G1-S**

Múltiplos estímulos ativadores e inibitórios atuam durante a divisão celular. No início da fase G1, ocorre aumento da ciclina D que se liga e ativa CDK4 e CDK6. As CDK4 e CDK6 são expressas durante todo o ciclo, mas na forma inativa. São ativadas pela ligação das ciclinas ocasionando então a fosforilação e inativação da proteína retinoblastoma (Rb). A proteína Rb fosforilada libera o fator de transcrição E2F, e promove a passagem G1 / S (Koff et al. 1992; Chen et al. 2009).

O E2F atua como fator de transcrição, estimulando a transcrição de genes envolvidos na progressão do ciclo celular, como o gene *CCNE1* que promove a entrada na fase S, além de genes requeridos para a síntese de nucleotídeos e de DNA polimerase. A Rb é mantida fosforilada nas fases S, G2 e durante a mitose. Apenas após a mitose, quando os níveis do complexo CDK ciclina ficam muito reduzidos, ela volta ao seu estado ativo desfosforilada, desempenhando seu efeito inibitório sobre os fatores de transcrição E2F (Trimarchi et al. 2000; Wiedemeyer et al. 2014).

A atividade da ciclina D – CDK4 / 6 diminui no final de G1, sinalizando uma mudança na regulação do ciclo celular das ciclinas do tipo D para o tipo E. O complexo ciclina E – CDK2 fosforila ainda mais o pRb, melhorando a regulação positiva mediada por E2F de genes específicos da fase S (Classon et al. 2002). A atividade do complexo ciclina E – CDK2 está sujeita ao controle intrínseco e extrínseco durante toda a fase G1, em parte por meio da ligação de inibidores endógenos da CDK (CKi), incluindo p21CIP1 e p27Kip1 (Koff et al. 1992). O complexo ciclina E – CDK2 atinge o pico de atividade na fase G1 tardia por meio de mecanismos de *feedback* positivo, incluindo a transcrição aumentada de ciclina E mediada por E2F e a inativação induzida por fosforilação de inibidores principais (por exemplo, p27, p21 e SMAD3 (Sheaff et al. 1997; Matsuura et al. 2004). Eventualmente, o complexo ciclina E – CDK2 se torna insensível a *inputs* intrínsecos e extrínsecos, mediando dano irreversível à divisão celular, o ponto de restrição; (Pardee 1989). À medida que as células progridem na fase

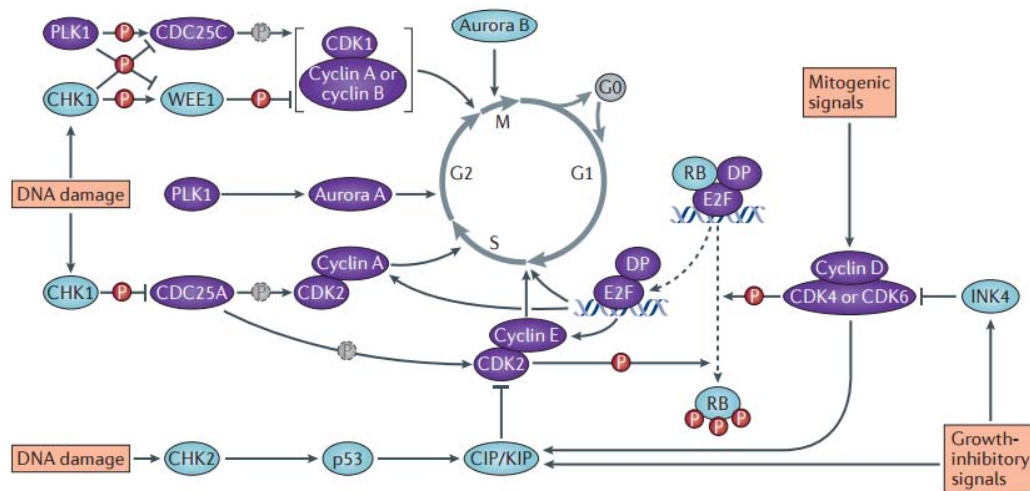
S, a ciclina E é marcada para rápida degradação pelo proteassomo por meio da ubiquitinação dos substratos (sistema ubiquitina-proteassoma). A atividade CDK2 é mantida pela ciclina A na fase S e na fase G2 (Koepp et al. 2001).

B) *Checkpoint intra-S*

O *checkpoint* da fase S desempenha um papel crucial na manutenção da estabilidade genômica em resposta a vários tipos de danos ao DNA. O *checkpoint* da fase S mantém a estabilidade genômica principalmente pela regulação da origem do disparo das forquilhas de replicação, controle da progressão das forquilhas de replicação, e controlando a realização de transcrição de RNA durante a fase G1-S em resposta a danos ao DNA (Ramalingam et al 2017)

C) *Checkpoint G2-M*

A proteína CDK1 é essencial para a entrada em mitose. Durante a fase G2 a CDK1 se liga e é ativada pelas ciclinas A2 e B. Quando a célula entra em mitose a ciclina A2 é degradada e a atividade de CDK1 é sustentada pela ligação com ciclinas do tipo B. A atividade da CDK1 é inibida por fosforilação pela proteína Wee1 e estimulada pela retirada do radical fosfato pela fosfatase CDC25. Estas por sua vez são reguladas pelas proteínas CHK1 e PLK1 que fazem parte do mecanismo de resposta ao dano de DNA (DDR do inglês “DNA Damage Response”) sendo ativadas via ATM ou ATR (Kawabe 2004; Otto et al. 2017).



Fonte: Otto et al. (2017)

Figura 2 - Ilustra a progressão do ciclo celular e as principais proteínas reguladoras. Os círculos roxos indicam reguladores positivos da progressão do ciclo celular e os azuis indicam reguladores negativos do ciclo celular progressão.

1.4.2 Alterações no ciclo celular e as neoplasias

Diversos genes relacionados ao ciclo celular podem estar alterados no carcinoma de ovário, na maioria das vezes por alterações de número de cópias (TCGA 2011).

Amplificação das regiões cromossômicas têm um papel crítico no desenvolvimento tumoral. O aumento no número de cópia de oncogenes promove o desenvolvimento e a progressão do câncer. A amplificação também tem um papel fundamental no desenvolvimento de resistência à droga (Albertson et al. 2003; Wang et al. 2004).

Os métodos mais frequentemente utilizados para avaliar as alterações do número de cópias de DNA, são a imunohistoquímica que detecta a hiperexpressão da proteína na membrana celular das células neoplásicas ou a hibridização in situ por fluorescência (FISH) que detecta a amplificação do gene avaliado (Simon et al. 2001).

Os oncogenes amplificados ou superexpressos conhecidos incluem *c-myc*, *ERBB2*, *EGFR*, *AKT2*, *CCND1* e *CCNE1*. Estudos sobre esses genes não só proporcionaram novos conhecimentos sobre os mecanismos de desenvolvimento de câncer, mas também revelaram implicações para o desenvolvimento de drogas para tratamento de vários tipos de câncer (Slamon et al. 1989; Hinds et al. 1994; Campaner et al. 2010).

1.4.3 Ciclina E

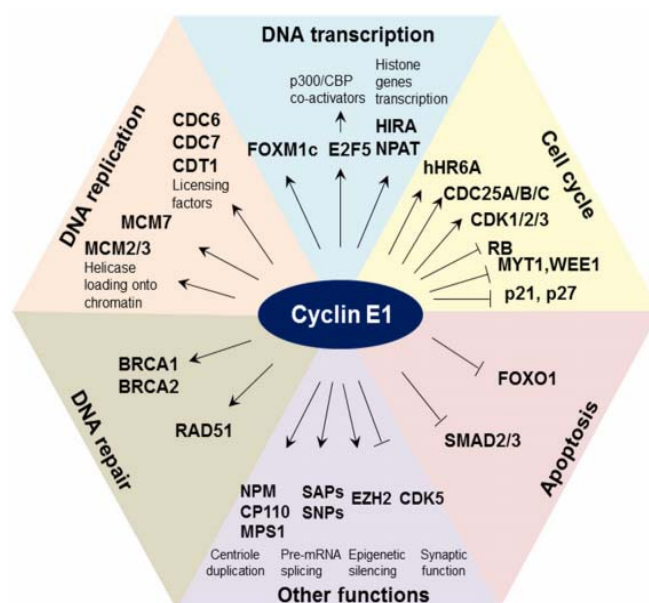
Em 1991 Koff et al. isolaram o gene Ciclina E (*CCNE1*), localizado na banda cromossômica 19q12, que codificava uma nova ciclina, denominada Ciclina E, que é hoje conhecida como ciclina E1.

A) Ciclina E1 e o controle do ciclo celular

Como visto anteriormente a ciclina E1 participa do ciclo celular, e é expressa na fase tardia de G1 e na fase S do ciclo celular, sendo o principal regulador da transição G1-S, ativa a CDK2 para progredir na fase S e promover a replicação do DNA. Esta função da ciclina E1 depende das suas interações com CDK1 e CDK2, sendo que CDK2 apresenta maior afinidade para a ciclina E1 (Aleem et al. 2005). O complexo ciclina E1 / CDK2 medeia a progressão do ciclo celular, por meio da ativação e inibição de uma gama de proteínas reguladoras. Foi demonstrado que a expressão desregulada da ciclina E1 desempenha papel no desenvolvimento tumoral (Bortner et al. 1997; Tat et al. 2012; Teixeira et al. 2017).

O complexo ciclina E1/CDK2 além de regular a transição G1/S, regula vários processos celulares, fosforilando proteínas envolvidas em várias outras funções celulares: o complexo ciclina E-CDK2 fosforila o p220NPAT, estimulando assim a biossíntese de histonas (Zhao et al. 2000; Ma et al. 2000); o complexo também regula a replicação do DNA, desencadeando e determinando o local dos focos de origem da replicação por meio de interações com as subunidades do complexo de origem de replicação (por exemplo, CDC6, CDT1 e o complexo de proteínas de manutenção de minicromossomos), de maneira predominantemente independente de quinase; a ciclina E desencadeia a duplicação dos centrossomas, por meio de um mecanismo dependente de CDK2 mediado pela fosforilação de proteínas dos centrossomas (por exemplo, nucleofosmina B23 e CP110; (Chen et al. 2002; Okuda et al. 2002) e é através de um mecanismo independente de CDK2, dependente de um sinal de localização dos centrossomas na ciclina E (Matsumoto et al. 2004; Hwang et al. 2005; Caldon et al. 2010).

A atividade e expressão da ciclina E está sujeita a uma rede reguladora composta por inibidores de Cdk, vias supressoras de tumor p53 e Fbw7, vias de transdução de sinal e microRNAs.



Fonte: Kanska et al. (2016)

Figura 3 - Resumo das funções de ciclina E1.

B) Ciclina E1 e o câncer de ovário

O significado prognóstico dos níveis de ciclina E1, em pacientes com câncer de ovário, foi apresentado pela primeira vez em 1998 por Kawada et al.

A amplificação/ hiperexpressão de ciclina E1 é encontrada em cerca de 15-20% carcinomas de ovário serosos de alto grau (HGSC), e se correlaciona à redução de sobrevida global e sobrevida livre de progressão (Farley et al. 2003; Nakayama et al. 2010; Karst et al. 2014).

Tumores com amplificação de *CCNE1* são caracterizados por replicação aberrante, altos níveis de instabilidade genômica e estresse replicativo são tumores genomicamente instáveis (Karst et al. 2014).

Como reguladoras do ciclo celular, as ciclinas E1 têm a capacidade de gerar proliferação excessiva quando desregulado. A desregulação da ciclina E é devida a vários fatores incluindo a amplificação de genes, a regulação positiva da transcrição e a interrupção da degradação da ciclina E:

- a) A amplificação do gene da ciclina E é observada em muitos tipos de tumores particularmente ovariano (22%; Au-Yeung et al. 2017), esôfago /gástrico (18%; Miller et al. 2003 e Huber et al. 2015), endometrial (14%; DeLair et al. 2017, bexiga (7%; Fu

et al. 2014), pancreático (6%; Sandhu et al. 2016) e pulmão de células não pequenas câncer (Piao et al. 2018).

- b) A regulação positiva da transcrição da ciclina E ocorre em tumores com Rb inativado, devido a um aumento na transcrição mediada por E2F (Leone et al. 1997; Perez-Roger et al. 1997).
- c) A interrupção da degradação da ciclina E é frequentemente observada após inativação de FBW7, uma subunidade crítica da proteína ubiquitina complexo ligase, responsável pelo direcionamento da degradação da ciclina E (Moberg et al. 2001; Strohmaier et al. 2001).

A hiperexpressão da ciclina E se correlaciona com a entrada acelerada na fase S, pois leva a um reforço da atividade CDK2 e progressão do ciclo celular, reduzindo assim a capacidade das células regularem a transição G1 – S. Devido à redundância funcional, a hiperexpressão do complexo ciclina E - CDK2 tem a capacidade de fosforilar o pRb, mesmo que os complexos da ciclina D - CDK4 / 6 tenham se tornado inativos pela hiperexpressão da p16 (Resnitzky et al. 1994; Gray-Bablin et al. 1996; Ekholm-reed et al. 2003). Em modelos experimentais, a hiperexpressão da ciclina E foi suficiente para induzir a tumorigênese in vivo. Além disso, foi observado que a hiperexpressão de ciclina E1 pode superar o *checkpoint* G1-S, mesmo na presença de p53 tipo-selvagem (Pok et al. 2013). De fato, em tumores existe uma inter-relação entre as alterações em p53 e ciclina E (Smith et al. 2006, Barton et al. 2006). Aproximadamente 10% dos camundongos transgênicos com hiperexpressão da ciclina E na glândula mamária desenvolvem carcinomas mamários (Bortner et al. 1997). A hiperexpressão de Ciclina E melhora drasticamente a transformação por oncogenes como HRAS (Haas et al. 1997). Um provável mecanismo chave da oncogênese mediada pela ciclina E é a indução de instabilidade genômica, que não foi observada após a hiperexpressão da ciclina D1 ou ciclina A (Spruck et al. 1999). A hiperexpressão de ciclina E gera a instabilidade genômica por causar estresse replicativo, por meio do aumento da replicação do DNA, além da redução dos *pools* de nucleotídeos celulares (Bester et al. 2011). Nas células com deficiência de p53, a hiperexpressão da ciclina E causa amplificação dos centrossomas, levando à poliploidia (Mussman et al. 2000).

Outro aspecto estudado é que as isoformas de ciclina E de baixo peso molecular (LMW-E) se correlacionam, especificamente com estágios avançados e grau no câncer de ovário e menor sobrevida global (Davidson et al. 2007; Caruso et al. 2018).

No câncer de ovário a amplificação de Ciclina E1 correlaciona-se com a resistência a agentes terapêuticos baseados em platina e redução de sobrevida (Bedrosian et al. 2007;

Etemadmoghadam et al. 2009, 2010; Nakayama et al. 2010; Aziz et al. 2018; Stronach et al. 2018; Yang et al. 2018). Um estudo avaliando o perfil de alterações genômicas, epigenômicas e transcriptômicas em tumores de ovário classificados, de acordo com sua sensibilidade clínica à platina, identificaram que a única alteração molecular associada à resistência primária à platina foi a amplificação de *CCNE1* (Patch et al. 2015). Em meta análise incluindo 8 estudos com 1470 pacientes com câncer de ovário, a hiperexpressão de ciclina E1 foi um fator de pior prognóstico associada a menor sobrevida global em pacientes com câncer de ovário (Wang et al. 2017).

C) Ciclina E1 e os genes *BRCA1* e *BRCA2*

Uma das importantes funções da ciclina E1 é atuar como cofator para CDK1 e CDK2, ativando a transcrição de *BRCA1* e *BRCA2* via E2F fatores de transcrição (Bracken et al. 2004; Wiedemeyer et al. 2014). Além disso a presença de amplificação de ciclina E1 limita a ação dos mecanismos de reparo de DNA que agem na fase G1 e a célula fica dependente dos mecanismos de reparo que ocorrem na fase S e G2. De fato nos HGSC a amplificação de *CCNE1* e mutação germinativa de *BRCA1* e *BRCA2* são mutuamente excludentes sugerindo que as células com amplificação de *CCNE1* são dependentes do reparo pela via da recombinação homóloga (Etemadmoghadam et al. 2009; Bowtell et al. 2010; Etemadmoghadam et al. 2013a ou b).

D) Ciclina E1 e terapia alvo

No câncer de mama receptor hormonal positivo (HR+) a Ciclina E1 tem se mostrado como um biomarcador de resistência endócrina. Alto *CCNE1* foi preditivo em três coortes de pacientes tratados com tamoxifeno, incluindo menor intervalo livre de doença para pacientes em terapia adjuvante (Span et al. 2003; Desmedt et al. 2006) e tempo para progressão (Jansen et al. 2012). Sendo a isoforma LMW da ciclina E1 associada com aumento de recorrência da doença (Akli et al. 2010). No cenário de doença metastática HR +, o atual padrão de tratamento é um inibidor da CDK4 / 6 em combinação com terapia endócrina, que embora tenha efeito significativo, a resistência é inevitável na maioria dos pacientes. O *CCNE1* foi identificado como potencial biomarcador que alteram a sensibilidade a essa combinação terapêutica e pode indicar uma probabilidade aumentada de resistência (Formisano et al. 2019; Turner et al. 2019). Pelo seu forte valor preditivo, a expressão da ciclina E1 pode ser usada no futuro para triagem

pacientes em potenciais respondedores e não respondedores (Vijayaraghavan et al. 2017; Milioli et al. 2020). Ainda no câncer de mama no subtipo histológico HER2 positivo, dados sustentam que a hiperexpressão de *CCNE1* participa no processo de resistência adquirida ao Trastuzumabe em câncer de mama (Scaltriti et al. 2011).

Icariside II, um flavonóide extraído da planta *Epimedium brevicornum* Maxim, exibiu atividade antitumoral significativa no câncer do colo do útero in vitro e in vivo. O Icarisídeo II inibiu o ciclo celular através da via AKT / CDK 2 / ciclina E (Sun et al. 2020).

Etemadmoghadam et al. (2013a ou b) demonstraram que células tumorais ovarianas sem amplificação de *BRCA* e com amplificação de *CCNE1* são mais sensíveis ao bortezomibe, um inibidor de proteassoma. O mecanismo provável pode ser atenuação da HR ou funções essenciais de proteassoma em células com *CCNE1* amplificado.

Outra estratégia emergente é a inibição do complexo ciclina E-CDK2, através de inibidores de pan-CDK, como o Dinaciclib. Em um estudo pré-clínico, baseado nos dados do TCGA que demonstraram coamplificação de *CCNE1* e *AKT2*, foi avaliada a combinação de Dinaciclib, uma pequena molécula inibidora de CDK2 em combinação com inibidores de AKT. Essa associação mostrou sinergismo em modelo in vitro e in vivo para pacientes com HGSC e amplificação de *CCNE1*, podendo ser efetiva para esse subgrupo (Etemadmoghadam et al. 2013a ou b; Au-Yeung et al. 2017). Em estudo de fase IB, o inibidor da AKT afuresertib foi combinado com paclitaxel e carboplatina em pacientes com câncer de ovário epitelial resistente à platina, os resultados indicam que a combinação foi eficaz e durável, sendo necessário uma avaliação clínica adicional dessa combinação (Blagden et al. 2019). São aguardados os dados do estudo NCT01653912 Fase I/II já finalizado que avaliou Afuresertib (GSK2110183), um inibidor da AKT oral, em combinação com carboplatina e paclitaxel no câncer de ovário recorrente. Em andamento temos o estudo NCT01434316 que avalia o Dinaciclib com Veliparib em pacientes com mutação de *BRCA* e portadores de tumores sólidos avançados.

Tivemos a identificação de uma via de sinalização PI3K / PKC α / Ciclina E como alvo terapêutico durante a tumorigênese do ovário, por Nanos-Webb et al. (2016).

Entre os estudos em andamento avaliando pacientes com amplificação de *CCNE1* temos o NCT03253679, estudo de fase II avalia papel do AZD1775 (Adavosertib) no tratamento de pacientes com tumores sólidos avançado e refratário ao tratamento e com amplificação de *CCNE1*; o NCT0265684, estudo clínico de Fase II para avaliar a eficácia do BAY 1000394 (Roniciclib) que é um inibidor de pan-CDK, em tumores sólidos avançado ou metastático com amplificação de *MCL1*, *Myc* ou *CCNE1*; o estudo de um inibidor de CHK1 como um possível tratamento

para tumores sólidos avançados que possuem alterações genéticas na via da HR, alterações genéticas que indicam estresse de replicação ou com amplificação de *CCNE1*.

Considerando a relativa insensibilidade dos cânceres com *CCNE1* amplificado para as terapias tradicionais, é necessário tratamentos alternativos para este subconjunto de pacientes. Até o momento não houve ensaios clínicos nos quais as pacientes tenham sido selecionadas com base no status de amplificação de *CCNE1* e não existe nenhum medicamento atualmente disponível que se destine especificamente à ciclina E1 (Kanska et al. 2016). Sendo assim a presença de amplificação de *CCNE1* é um potencial alvo molecular em HGSC.

E) Ciclina E1 e antiangiogênicos

Como citado anteriormente bevacizumabe, um antiangiogênico, trouxe ganhos no tratamento do câncer de ovário, mas o valor clínico deste benefício permanece discutível, uma vez que o incremento absoluto no controle da doença é de alguns meses e não se observou melhora definitiva da sobrevida global entre a população não selecionada. Outro aspecto importante é a ausência de marcadores preditivos de resposta ao bevacizumabe validados na prática clínica.

Na ausência de marcadores de resposta à terapia antiangiogênica, a intensificação do tratamento é geralmente prescrita para pacientes de alto risco e a hiperexpressão de Ciclina E1 (*CCNE1*) poderia ser adequada para essa função de fator preditivo de resposta ao tratamento, uma vez que a amplificação do *CCNE1* está associada à resistência primária ao tratamento e à redução da sobrevida global no HGSC, como já explicado acima (The Australian Ovarian Cancer Study Group et al. 2015; Aziz et al. 2018).

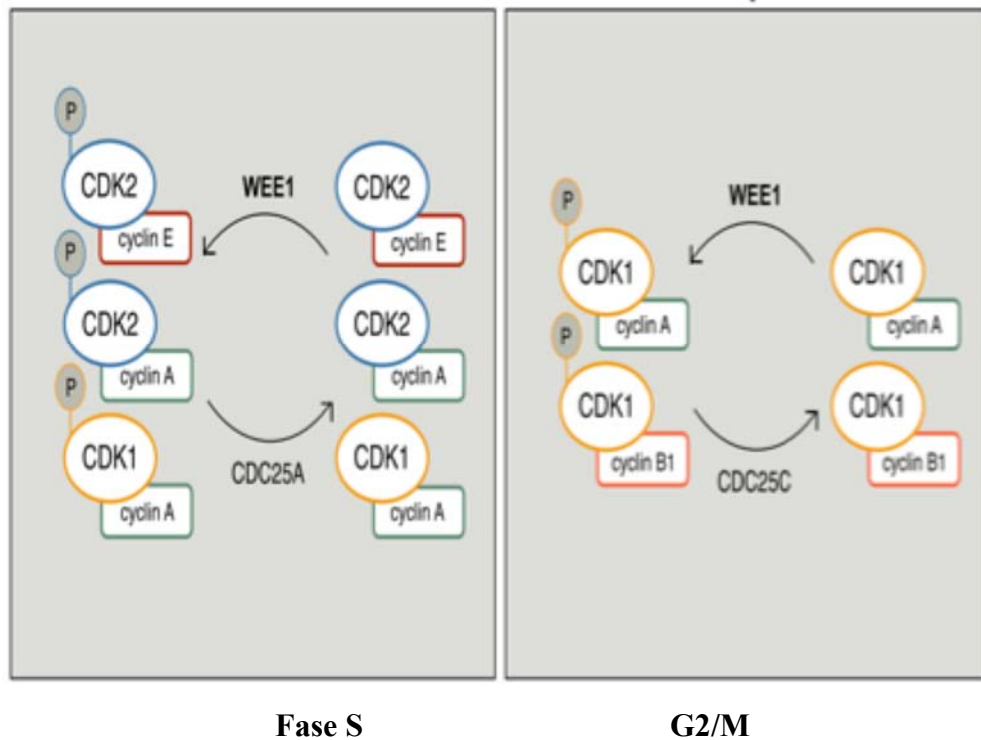
1.4.4 WEE-1

A) Funções e expressão

WEE1 é uma tirosina quinase descoberta pela primeira vez em *Schizosaccharomyces pompe* em 1978 (Thuriaux et al. 1978). É componente do *checkpoint* G2-M do ciclo celular e atua impedindo a entrada na mitose em resposta a danos no DNA (Do et al. 2013). A entrada na fase da mitose é mantida pela fosforilação da *cyclin-dependent kinase 1* (CDK1). Antes da mitose, CDK1 é mantida inativada através da fosforilação da tirosina 15 por WEE1, também conhecido como CDC2 (Nurse et al. 1990), e treonina 14 por MYT1 (Heald et al. 1993; Squire et al. 2005). Portanto, WEE1 atua como um regulador negativo da entrada na transição G2-M, impedindo a formação do complexo ciclinaB/CDK1 ativado.

Durante o ciclo celular, a transcrição e atividade de WEE1 aumentam durante as fases S e G2. À medida que a célula se aproxima da transição G2-M, na ausência de danos ao DNA, PLK1 fosforila WEE1, sinalizando para sua degradação pelo complexo de ubiquitina-ligase. Nesse momento, CDK1 ativa liga-se à ciclina B promovendo a progressão para a fase M (Lindqvist et al. 2009). Além da função como regulador do *checkpoint* G2-M, Wee1 tem sido implicada também na regulação da replicação do DNA durante a fase S, e como controlador de outro *checkpoint* na mitose que coordena tamanho celular com a progressão no ciclo celular (Matheson et al. 2016).

Hiperexpressão de Wee1 tem sido relatado em vários tipos de câncer, incluindo carcinoma hepatocelular (Masaki et al. 2003) , câncer de mama (Iorns et al. 2009; Murrow et al. 2010), câncer cervical (Iorns et al 2009), câncer de pulmão (Iorns et al. 2009), carcinoma de células escamosas (Magnussen et al. 2013), glioblastoma (Music et al. 2016), meduloblastoma (Harris et al. 2014), leucemia (Porter et al. 2012) ovário (Slipicevic et al. 2014), colorretal (Egeland et al. 2016), gástrico (Kim et al. 2016), melanoma (Magnussen et al. 2012). O impacto da expressão de Wee1 em tumores de ovário foi pouco explorado. Apenas um estudo avaliou a expressão de Wee1 por imunoistoquímica em células do líquido ascítico de pacientes com câncer de ovário e mostrou uma pior sobrevida global para pacientes com maior expressão de Wee1 (Slipicevic et al. 2014).



Fonte: Elbaek et al. (2020)

Figura 4 - Funções de WEE1 nas fases S e G2/M do ciclo celular. **Fase S:** Através da fosforilação inibitória dos complexos CDK-ciclina da fase S, a atividade do WEE1 atrasa o início da fase S, limita o disparo de origens de forquilha de replicação inativas suprimindo o estresse de replicação. **Fase G2/M:** Na transição G2/M, WEE1 altera o equilíbrio de CDK1 ativo / inativo em direção à forma inativa, levando a um atraso na transição G2 / M e à supressão de eventos mitóticos precoces.

B) WEE1 como alvo terapêutico

O WEE1 gerou grande interesse como potencial alvo terapêutico para o tratamento antineoplásico. Apesar de seu apelo, poucos inibidores contra o WEE1 foram desenvolvidos. A primeira onda de compostos identificadas como inibidores de WEE1 foi bastante inespecífica e teve como alvo várias outras quinases, como CHK1 e c-Src (Wang et al. 2001; Palmer et al. 2005). Essa variedade de alvos pode ter limitado o avanço desses inibidores em ensaios clínicos. No entanto, foi descoberto o inibidor WEE1 AZD1775 (anteriormente MK-1775) que é uma pequena molécula derivada de pirazol-pirimidina que exibiu alta potência e especificidade aprimorada (Hirai et al. 2009). A inibição de Wee1 leva potencialmente à perda da função do *checkpoint* G2-M.

O ponto de controle G1 está desregulado em muitos tipos de câncer, o que prejudica a capacidade das células de parar o ciclo celular para reparar os danos ao DNA antes da replicação

(fase S) (Milioli et al. 2020). Esta perda de *checkpoint* é observada, por exemplo, em tumores que possuem mutações em *TP53*. Isso proporciona um acúmulo de mutações e aumenta a instabilidade genômica. Assim, as células com defeitos no checkpoint de G1-S dependem então do *checkpoint* G2-M para evitar a apoptose por catástrofe mitótica (Bucher et al. 2008). Isso sugere que a perda do *checkpoint* G2-M pode afetar seletivamente células tumorais cujo *checkpoint* G1-S esteja defeituoso. Os primeiros estudos focaram nos cânceres com mutação no *TP53* (Hirai et al. 2009; Hirai et al. 2010; Leijen et al. 2010). Ficou claro, no entanto, que a perda de p53 não prediz a sensibilidade aos inibidores de WEE1 em todos os casos (Rajeshkumar et al. 2011; Kreahling et al. 2012, Van Linden et al. 2013). Foi demonstrando que o AZD1775 sensibiliza células tumorais para agentes prejudiciais ao DNA, independentemente da funcionalidade p53 (Van Kreahling et al. 2012; Linden et al. 2013; Guertin et al. 2013; Mueller et al. 2014; Harris et al. 2014), sendo sugerido então, que a inibição de WEE1 pode levar a respostas de reparo de DNA independentemente da regulação do ciclo celular e que isso pode explicar os efeitos independentes de p53 (Kreahling et al. 2012; Guertin et al. 2013). Posteriormente notou-se que a sensibilidade aos inibidores de WEE1 é relacionada a presença de estresse replicativo, característico de algumas células neoplásicas e ausente em células não neoplásicas. O estresse replicativo pode ser induzido também por alguns agentes antineoplásicos como a gencitabina e olaparibe (Rajeshkumar et al. 2011; Mueller et al. 2014).

Os inibidores WEE1 (selumetinib and adavosertib) também podem, por essa razão, ser efetivamente combinados com inibidores de PARP (Karnak et al. 2014; Parsels et al. 2018). Estresse de replicação e a depleção de nucleotídeo é induzida quando os inibidores da PARP são combinados com os relacionados a WEE1 (Pilié et al. 2019). A combinação de olaparibe e adavosertibe já foi demonstrado melhorar a eficácia antitumoral em relação a combinação de cisplatina e etoposídeo em modelos pré clínicos de câncer de pulmão de pequenas células sensível à quimioterapia ou refratários à quimioterapia (Lallo et al. 2018).

Curiosamente, o AZD1775 pode exibir atividade antitumoral como um único agente. O primeiro estudo de fase I publicado em 2015 avaliou o uso do AZD1775 em pacientes com tumores sólidos refratários. Foram incluídos 25 pacientes, dois deles apresentaram resposta parcial sendo um paciente com carcinoma de cabeça e pescoço e outra paciente com carcinoma de ovário, ambos portadores de mutação em *BRCA1/2* nos tumores, sugerindo uma relação entre os inibidores de Wee1 e a via da recombinação homóloga (Do et al. 2015).

O segundo estudo de fase I avaliou o uso do AZD1775 isoladamente ou em combinação com carboplatina ou cisplatina ou gencitabina em 202 pacientes com diversos tumores primários. A taxa de resposta foi de 10%, sendo de 21% nos tumores com mutação de *TP53* e

de 12% nos tumores sem mutação de *TP53*, confirmando as hipóteses pré-clínicas de algum papel da mutação em *TP53* como marcador de sensibilidade aos inibidores de Wee1 (Leijen et al. 2016).

Leijen et al. (2016) realizaram um estudo de fase II de AZD1775 combinado com carboplatina de braço único em pacientes com câncer de ovário e *TP53* mutado. Incluíram 24 pacientes e alcançaram uma taxa de resposta global de 43% (IC 95%, 22% a 66%), incluindo um paciente com resposta parcial prolongada. Os pacientes incluídos haviam apresentado anteriormente progressão de doença durante ou antes de 6 meses após a terapêutica padrão de carboplatina-paclitaxel como primeira linha. Leijen et al. (2016) mostraram que o AZD1775 aumenta a eficácia da carboplatina em tumores com *TP53* mutado. Esse estudo clínico fortalece a hipótese de inibição da função da HR com o uso de inibidores de Wee1. De maneira interessante, 3 de 4 pacientes com alteração do gene de ciclina E estavam no grupo que respondeu parcial e completamente. De fato, os dois pacientes com as respostas mais prolongadas apresentavam mutação em *CCNE1* (Leijen et al. 2016).

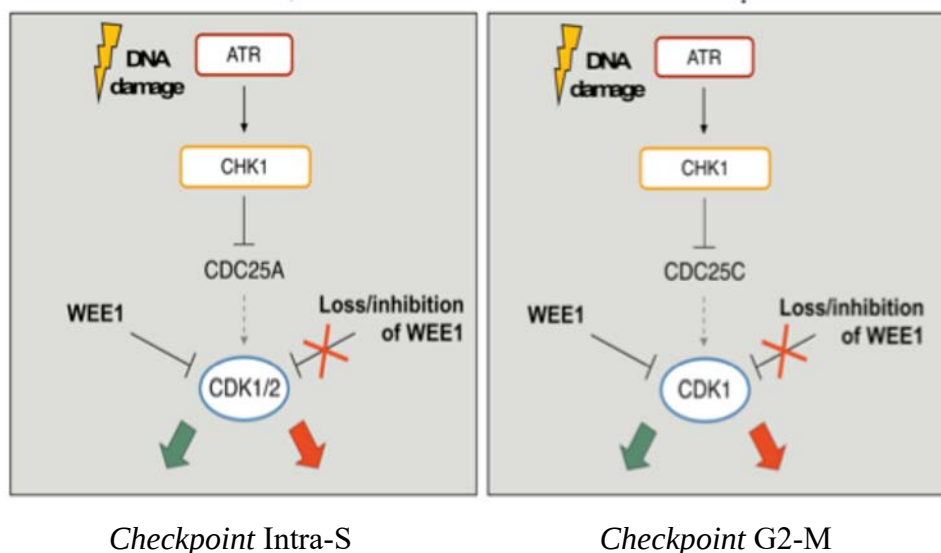
Um outro estudo fase II randomizado publicado recentemente avaliou a adição de AZD1775 ao esquema de carboplatina e paclitaxel em pacientes com câncer de ovário no cenário platina sensível. Houve aumento da sobrevida livre de progressão de 7,9 para 7,3 meses em favor do grupo tratado com o inibidor de Wee1. Todas as pacientes incluídas no estudo possuíam tumores com mutação em *TP53* (Oza et al. 2020).

Na ASCO de 2019 dois estudos de fase II com inibidores de WEE1 foram apresentados: o primeiro comparou gencitabina com a combinação gencitabina e AZD1775 em pacientes com recidiva platina resistente e mostrou aumento de sobrevida livre de progressão e de sobrevida global, 3,0 para 4,6 meses e 7,2 para 11,4 meses respectivamente (Lheureux et al. 2019). O segundo estudo avaliou a combinação de carboplatina com AZD1775 em pacientes com recidiva platina resistente mostrando uma taxa de resposta de 42%, considerada alta para reexposição à platina no cenário platina resistente (Moore et al. 2019).

A associação entre amplificação de *CCNE1* e hiperexpressão de Wee1 também foi pouco estudada. A hipótese de que a perda da função do *checkpoint* G1-S pela amplificação de *CCNE1* torna as células dependentes da via da recombinação homóloga e do *checkpoint* G2-M tornaria os tumores com amplificação de *CCNE1* especialmente sensíveis à inibição de Wee1. Até o momento nenhum estudo avaliou essas hipóteses.

Então, é interessante pensar que um subgrupo de pacientes portadores de câncer de ovário com hiperexpressão de Wee1 possam apresentar maior sensibilidade à inibição do

checkpoint G2-S. Estes pacientes se beneficiariam assim pelo tratamento com o inibidor de WEE1, ADZ1775 em combinação com drogas que provoquem danos ao DNA.



Fonte: Elbaek et al. (2020)

Figura 5 - Funções do WEE1 nos *checkpoints* do ciclo celular Intra-S e G2. A presença de danos no DNA leva à ativação da ATR, que por sua vez ativa a CHK1. CHK1 fosforila e inativa CDC25s, e isso causa uma diminuição na ativação de CDK. WEE1 coopera com essa resposta celular inibindo também a atividade de CDK1. A inibição de WEE1 leva a menor atividade do *checkpoint* intra-S levando ao estresse replicativo e aumento do dano ao DNA, e perda do *checkpoint* G2-M levando a entrada prematura na mitose que pode culminar em catástrofe mitótica e morte celular.

Assim, este projeto tem o objetivo de avaliar a porcentagem de pacientes portadores de câncer de ovário no A.C.Camargo Cancer Center que apresentam hiperexpressão de Ciclina E1 e WEE1, podendo então ser os mais beneficiados com este tratamento.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a frequência da hiperexpressão de ciclina E1 e WEE1 por imunoistoquímica em um subconjunto institucional de pacientes brasileiras com diagnóstico de carcinoma de ovário.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a associação e correlação entre hiperexpressão de ciclina E1 e WEE1.
- Avaliar as características clínicas e patológicas relacionadas à hiperexpressão de ciclina E1 e WEE1.
- Avaliar o impacto da presença da hiperexpressão de ciclina E1 e WEE1 no prognóstico das pacientes e na resposta ao tratamento realizado, através da avaliação de sobrevida livre de progressão, sobrevida global e tempo para recidiva platino resistente.
- Avaliar o benefício do bevacizumabe no cenário de câncer de ovário recorrente platina sensível e testar o papel preditivo do intervalo livre de platina (PFI) e da expressão de *CCNE1* para a eficácia do bevacizumabe.
- Avaliar as características clínicas e sobrevida livre de progressão, sobrevida global e tempo para recidiva platino resistente em todo grupo institucional de pacientes com carcinoma de ovário.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DESENHO DO ESTUDO

2 Coortes retrospectivas.

3.2 CASUÍSTICA

Foram avaliados retrospectivamente os dados de 664 pacientes com diagnóstico de carcinoma de ovário tratadas no período de janeiro de 2007 a janeiro de 2017. As pacientes foram identificadas no banco de dados eletrônico do A.C.Camargo Cancer Center por meio de uma busca pelo código internacional da doença (CID) C56 e diagnóstico histológico de carcinoma de ovário, após revisão das lâminas por um patologista especializado em tumores ginecológicos. Os dados clínicos foram coletados dos registros em prontuário médico eletrônico, empregando ficha de coleta de dados elaborada especificamente para este estudo (Apêndice 1).

Na **Coorte 1** a análise da frequência de hiperexpressão da *CCNE1* e seu impacto prognóstico no diagnóstico inicial foi realizada na coorte das pacientes que tiveram material biológico do tumor disponível para avaliação.

Na Coorte 2 para análise de eficácia do bevacizumabe foram incluídas todas as pacientes tratadas com bevacizumabe no cenário de doença recidivada platina sensível. Pareamos as pacientes tratadas com bevacizumabe numa proporção 1:1 com pacientes com recidiva platina sensível que não receberam bevacizumabe, sendo pareadas para as seguintes características: tipo histológico, número de linha de tratamento prévios, intervalo livre de platina.

O tempo para recidiva platino resistente foi definido como o tempo entre o último tratamento e qualquer progressão de doença clínica ou por exames de imagem, quando esse tempo era inferior a 6 meses, caso contrário a doença era considerada platino sensível.

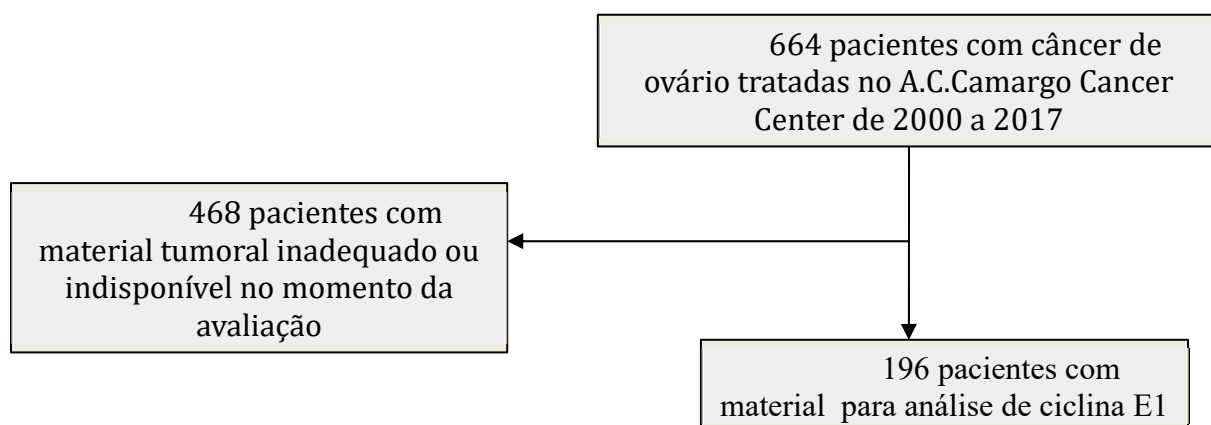


Figura 6 - Fluxograma representativo dos critérios de inclusão adotados no estudo das pacientes que tiveram material biológico do tumor disponível para avaliação

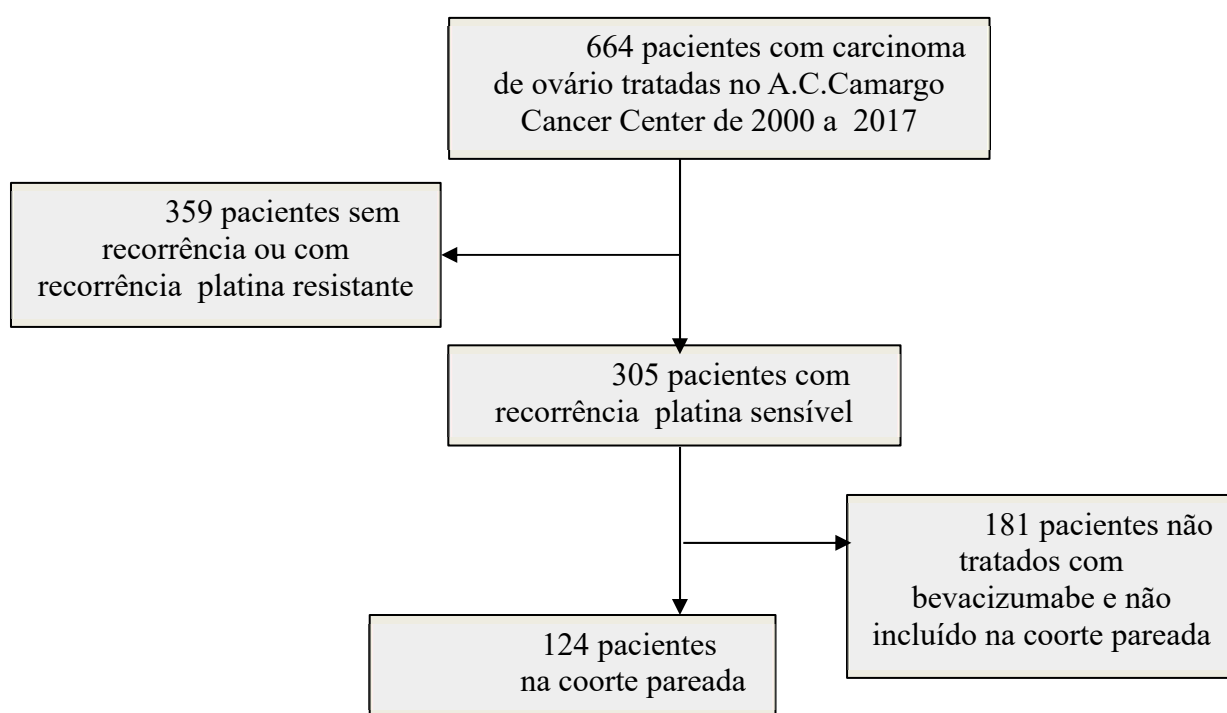


Figura 7 - Fluxograma representativo dos critérios de inclusão adotados no estudo para análise de eficácia do bevacizumabe

3.2.1 Critérios de Inclusão

Critérios de Inclusão (Coorte 1):

- Pacientes com diagnóstico de carcinoma de ovário tratadas no A.C.Camargo Cancer Center no período de janeiro de 2000 a janeiro de 2017.

Critérios de Inclusão (Coorte 2):

- Pacientes que apresentaram recidiva platina sensível e tratadas com bevacizumabe, e pacientes com recidiva platina sensível e tratadas com quimioterapia sem bevacizumabe, pareadas em uma proporção 1:1. Esta coorte foi selecionada para avaliar o papel preditivo do intervalo livre de platina (PFI) e da expressão de ciclina E1 para a eficácia do bevacizumabe.

3.2.2 Critérios de Exclusão

Critérios de Exclusão (Coorte 1):

- Para avaliar a frequência da hiperexpressão de ciclina E1 e WEE1 por imunoistoquímica foram excluídas as pacientes que não tinham material do tumoral armazenado disponível ou suficiente.

Critérios de Exclusão (Coorte 2):

- Foram excluídas as pacientes com recidiva no cenário platina resistente e as pacientes com recidiva platina sensível que não foram tratadas com bevacizumabe e nem pareadas para a coorte

3.3 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CICLINA E1 E WEE1

Foram confeccionados blocos e lâminas de *tissue-microarray* (TMA) com as amostras dos tumores das pacientes para realização de expressão proteica por imunoistoquímica.

3.3.1 Tissue-microarray (TMA)

A análise da expressão das proteínas foi realizada por TMA. Os casos foram resgatados do arquivo do Departamento de Anatomia Patológica e os blocos representativos do tumor separados. Após coloração das lâminas pela técnica de hematoxilina-eosina, as áreas mais representativas do tumor foram identificadas por meio de exame microscópico. As áreas de interesse foram marcadas com caneta permanente e identificadas nos blocos de parafina

correspondentes (blocos doadores). Usando o *tissue microarrayer* (Beecher Instrument, Silver Spring, MD, USA), cilindros das áreas de interesse previamente identificadas nos blocos doadores foram retirados e transferidos em novos blocos de parafina (blocos receptores). Os cortes obtidos destes blocos de TMA foram dispostos em lâminas com adesivos Microsystems Inc[®].

Para cada caso foram retirados dois cilindros de 0,6mm de duas áreas distintas do tumor, que foram distribuídos no bloco de parafina receptor de forma que cada amostra de um bloco doador ocupou uma determinada linha e uma determinada coluna no bloco receptor. O registro da leitura dos resultados da expressão proteica por imunoistoquímica nos blocos receptores foi feito no formato de uma tabela de Excel onde se identifica uma determinada amostra pela coluna e linha correspondente àquela que ocupa no bloco de parafina (Begnami 2007).

Nos casos, onde as amostras emblocadas foram inadequadas para confecção de TMA devido ao tamanho, as reações de imunoistoquímica foram realizadas em cortes inteiros.

3.3.2 Imunoistoquímica

A imunoistoquímica para detectar a expressão das proteínas foi realizada por meio das seguintes etapas: desparafinização e hidratação dos cortes histológicos em 3 banhos em xilol (5 minutos cada), 4 banhos de álcool seguidos por lavagem por 5 minutos em água corrente; recuperação antigênica em câmara de pressão (Pascal) em solução de citrato com pH 6,0 à 125° C (30 segundos após atingir 125°C e pressão entre 20 e 25 psi) seguidos por lavagem em água corrente por 5 minutos; bloqueio da peroxidase endógena com 3 banhos de 5 minutos cada com peróxido de hidrogênio 10 volumes seguido por lavagem em PBS; bloqueio de proteínas com banho de 20 minutos com bloqueador de proteínas (DAKO); incubação dos anticorpos primários por 2 horas à temperatura ambiente em câmara úmida seguido por lavagem em PBS; incubação com anticorpo secundário (Advance HRP Link - DAKO) por 30 minutos em temperatura ambiente seguido por lavagem em PBS; incubação com polímero (Advance HRP enzyme - DAKO) por 30 minutos em temperatura ambiente seguido por lavagem em PBS; revelação da reação com cromógeno 3,3'-diaminobenzidina (DAB) por 5 minutos (Kit Liquid DAB + Substrate Chromogen System; DakoCytomation, Carpinteria, California) seguida por lavagem em água corrente; contracoloração com Hematoxilina de Harris por 2 minutos seguida por lavagem em água corrente por 5 minutos; desidratação em álcool, passagem em xilol, e montagem em meio permanente. Foram incluídos controles positivos e negativos para todos os anticorpos a serem utilizados. As secções do TMA foram coradas utilizando os anticorpos primários anti ciclina E1 (clone HE12, sc-247 [Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA];

diluição 1:500) e anti Wee1 (clone B11, [Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA]; diluição 1:200). Um sistema de detecção de polímero foi usado para detectar as reações de coloração (Novolink Max Polymer, Novocastra).

As colorações de imunoistoquímicas foram analisadas sob um microscópio óptico e todas as lâminas foram interpretadas pela mesma patologista experiente em oncologia ginecológica e que desconhecia os dados clínicos dos pacientes. Um escore histológico (H escore) foi aplicado. Resumidamente, uma pontuação de 0 a 6 foi calculada levando em conta tanto a intensidade da coloração nuclear, que varia de 0 a 3, e a porcentagem de células coradas. A porcentagem de células coradas foi classificada como 0 se não foi observada nenhuma coloração, 1 se a coloração foi observada em menos de 50% das células e 2 se a coloração foi observada em mais de 50% das células. O H escore final foi obtido pela multiplicação da pontuação referente à intensidade da coloração pela pontuação referente à porcentagem de células coradas. Um escore maior que a mediana da coorte (escore ≥ 2) foi considerado como ponto de corte para indicar alta expressão de ciclina E1. Não houve necessidade de dicotomizar o H escore de WEE1.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi usada estatística descritiva para caracterização das amostras com determinação de frequências, médias, medianas e medidas de dispersão central.

Para a análise de interação entre variáveis categóricas foi usado o teste de qui-quadrado ou exato de Fischer. Para comparação entre as medianas de variáveis contínuas de acordo com as categorias das variáveis categóricas foi utilizado o teste de *Mann-Whitney*. Empregamos *Kruskal-Wallis* para a comparação de medianas de múltiplos grupos.

Curvas de Kaplan-Meier foram geradas para análise de sobrevida e o impacto das diversas variáveis avaliadas pelo teste de *log-rank*. Análise multivariada foi empregada para predição do impacto combinado de variáveis independentes na sobrevida usando-se o modelo de regressão de Cox com riscos proporcionais.

Para a análise do impacto prognóstico de hiperexpressão de ciclina E1 no diagnóstico inicial a sobrevida global foi definida como intervalo entre o diagnóstico e o óbito por qualquer causa e a sobrevida livre de progressão foi definida como o intervalo entre o diagnóstico e a progressão de doença ou óbito por qualquer causa. Para a análise da eficácia do bevacizumabe no cenário platina sensível a sobrevida global foi definida como intervalo entre o início do tratamento de quimioterapia com ou sem bevacizumabe para o tratamento da recidiva platina

sensível em avaliação e o óbito por qualquer causa e a sobrevida livre de progressão foi definida como o intervalo entre o início do tratamento de quimioterapia com ou sem bevacizumabe para o tratamento da recidiva platina sensível em avaliação e a progressão de doença ou óbito por qualquer causa. Pela presença de riscos não proporcionais na análise do impacto do uso do bevacizumabe na sobrevida além dos métodos de *log-rank* e de regressão de cox utilizamos o tempo de sobrevida médio restrito (*“restricted mean survival time”*). Para avaliarmos a interação do tratamento com bevacizumabe e a hiperexpressão de ciclina E1 e do tratamento com bevacizumabe e o intervalo livre de platina utilizamos teste de interação na regressão de cox.

Consideraremos estatisticamente significativas as análises cujos valores de “p” foram menores que 0,05. Empregaremos os pacotes estatísticos :SPSS 21.0 para *Machintosh*, e o R.

4 RESULTADOS

4.1 AVALIAÇÃO DE DADOS CLÍNICO DE TODAS AS PACIENTES COM CÂNCER DE OVÁRIO

Dados de 664 pacientes com câncer de ovário foram revisados retrospectivamente. A idade mediana encontrada foi 55,15 anos e a histologia mais frequente foi HGSC (77.4% dos casos). Setenta e seis por cento tinham estágio III-IV e 24% eram estágio I e II, conforme a Classificação da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO 2014). Cinquenta e nove por cento tinham ECOG 0 e 41% apresentavam ECOG ≥ 1 . Pelo histórico familiar, 182 (31.0) pacientes apresentavam antecedente para câncer de ovário e/ou mama, 401(69.0) não apresentavam. Trinta e cinco por cento possuíam mutação de *BRCA*. O valor mediano do CA125 prévio a qualquer tipo de tratamento foi de 385 unidades/mL. Quatrocentos e trinta e nove pacientes (78.5%) obtiveram cirurgia ótima, com doença residual ≤ 10 mm, enquanto cento e vinte (21.5%) tiveram doença residual > 10 mm. Noventa e três por cento receberam quimioterapia baseada em platina, que poderia ser Carboplatina ou Cisplatina, combinada com Docetaxel ou Paclitaxel. O intervalo livre de platina mediano foi de 10.50 meses. A recidiva de doença após primeira linha de tratamento ocorreu em setenta e quatro por cento dos casos, enquanto vinte e seis por cento não recidivaram. Duzentos e vinte e sete (44%) tiveram pelo menos uma recidiva platino sensível enquanto 216 (32.6%) em algum momento da doença tiveram alguma recidiva platino resistente. Setenta e um por cento foram submetidas a cirurgia de citorredução secundária. Desde 2015 as pacientes com carcinomas de ovário passaram a ser avaliadas de forma sistemática quanto a presença de mutações germinativas em *BRCA1* e *BRCA2* através de sequenciamento e MLPA de ambos os genes. Das 664 pacientes incluídas no estudo apenas 221 tinham dados disponíveis sobre o status de *BRCA1* e *BRCA2*, das quais 35% eram portadoras de variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas. As características das pacientes estão resumidas na Tabela 2 abaixo:

Tabela 2 - Características clínicas de 664 pacientes

Característica		Freq. (%) 664(100)
Número de pacientes		
Idade, anos	Mediana (p25-p75)	55.15 (46,92-64,88)
Estadiamento	I -II	147 (24,0)
	III-IV	464 (76,0)
ECOG	0	254(59,0)
	≥1	179(41,0)
Histologia	Seroso de alto grau	411 (67,6)
	Endometrióide	35(5,8)
	Células Claras	41(6,7)
	Mucinoso	31(5,1)
	Seroso Baixo Grau	21(3,5)
	CA indiferenciado	37(6,1)
	Carcinossarcoma	9(1,5)
	Misto	20(3,3)
	Células transicionais	3(0,5)
História familiar de câncer de ovário ou mama	Não	401(69,0)
	Sim	182 (31,0)
Mutação germinative de <i>BRCA1</i> ou <i>BRCA2</i>	Não	144(65,0)
	Sim	77 (35,0)
CA125 pré tratamento	Mediana	385
	< 200	169(36,9)
	≥ 200	289(63,1)
Doença residual após cirurgia primária	≤ 10 mm	439 (78,5)
	> 10 mm	120 (21,5)
PFI	Mediana meses	10,50
	< 6 meses	125(30,0)
	> 6 e < 12 meses	103(25,0)
	≥ 12 meses	185(45,0)
Cirurgia	citorredução primária	455 (73,7)
	citorredução de intervalo	163 (26,3)
Regime quimioterapia 1ª linha	Platina + Taxano	550(93,0)
	outros regimes	22(3,70)
	nenhum	20(3,40)
Recidiva após 1a. linha	Não	138(26,0)
	Sim	387(74,0)
Recidiva platino sensível	Não	227(44)
	Sim	289(56)
Recidiva platino resistente	Não	447(67,3)
	Sim	216(32,6)
Cirurgia de citorredução secundária	Não	366 (71,0)
	Sim	150 (29,0)

PFI, intervalo livre de platina; Platinas (Carboplatina, Cisplatina); Taxano (Paclitaxel, Docetaxel); ECOG (*Eastern Cooperative Oncologic Group*: escala para avaliar performance status)

4.1.1 Desfechos clínicos

Com um tempo de seguimento mediano foi de 59 meses a sobrevida livre de progressão (SLP) foi avaliada em 624 pacientes, sendo 355 o número de eventos e a mediana encontrada para SLP foi de 25,40 meses. A sobrevida global mediana foi de 101 meses, 226 pacientes tinham morrido. O tempo mediano para recidiva platino resistente foi de 97,55 meses, sendo considerado como marco zero para o tempo o início do tratamento (Figura 8).

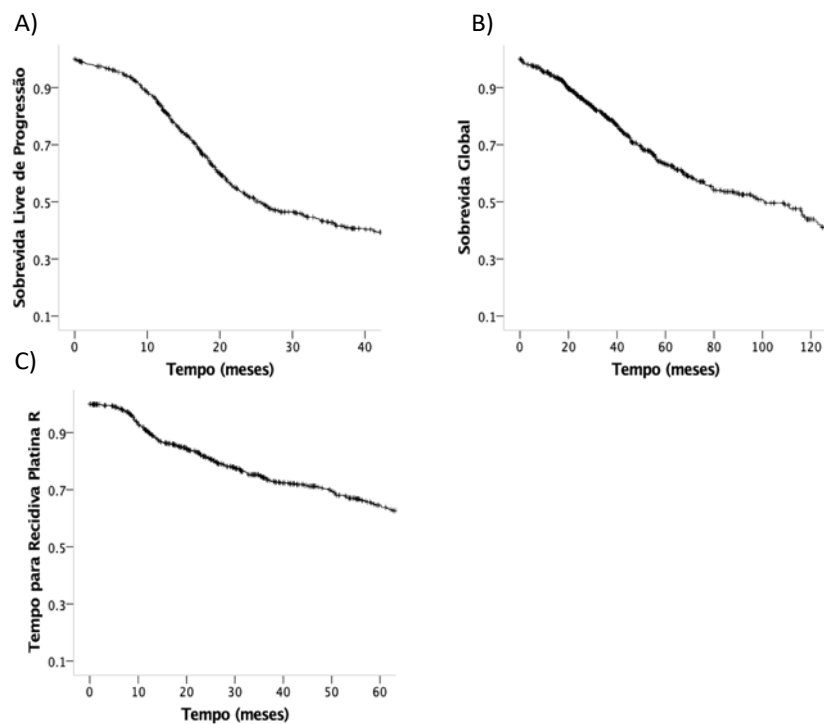


Figura 8 - Desfechos clínicos na população geral. (A) Curva de sobrevida livre de progressão de todas as pacientes com câncer de ovário. (B) Curva de sobrevida global de todas as pacientes com câncer de ovário. (C) Curva do tempo para recidiva platino resistente de todas as pacientes com câncer de ovário.

4.2 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO COM MATERIAL BIOLÓGICO DO TUMOR ANALISADO

Análise do material biológico do tumor foi realizada em 196 pacientes do banco. A idade mediana encontrada foi 54,82 anos e a histologia mais frequente foi HGSC, 84,9% dos casos. Com relação ao estadiamento pela FIGO setenta e nove por cento eram estágio III-IV e vinte e um por cento estágio I e II. Cinquenta e dois por cento tinham ECOG 0 e 48% apresentavam ECOG ≥ 1 . Pelo histórico familiar, 57 (31%) pacientes apresentavam antecedente para câncer de ovário e/ou mama, 128 (69%) não apresentavam. Trinta e dois por cento possuíam mutação de *BRCA*. O valor mediano do CA125 prévio a qualquer tipo de tratamento foi de 440 unidades/mL. Como cirurgia inicial cento e trinta (69,5%) pacientes foram submetidas a citorredução primária enquanto cinquenta e sete (30,5%) à citorredução de intervalo. Sendo que quatrocentos e trinta e nove pacientes (78,5%) obtiveram citorredução com doença residual ≤ 10 mm, enquanto cinquenta e um (31,0%) tiveram doença residual > 10 mm. Em relação ao tratamento quimioterápico a combinação de platina com taxano foi administrada em 93,5% das pacientes. O intervalo livre de platina mediano foi de 9.92 meses. A recidiva de doença após primeira linha de tratamento ocorreu em cento e cinquenta e seis (79,6%) dos casos, enquanto quarenta (20,4%) não recidivaram. Sessenta e dois por cento das pacientes tiveram pelo menos uma recidiva platino sensível, em relação a alguma recidiva platino resistente foi encontrada em oitenta e sete (44,4%) dos pacientes. A cirurgia de citorredução secundária foi realizada em quarenta e dois por cento das pacientes. As características das pacientes estão resumidas na Tabela 3 abaixo.

Tabela 3 - Características clínicas de 196 pacientes

Características		Freq. (%)			p valor
		Todos os pacientes	CCNE1 normal	CCNE1 hiperexpresso	
Idade , anos					0,292**
	Mediana (p25-p75)	54,82 (47-64,95)	53,83 (47,44-65,12)	58,25 (49,39-64,77)	
Idade					0,177
	< 60 anos	119(62,3)	73(66,4)	46(56,8)	
	≥ 60 anos	72(37,7)	37(33,6)	35(43,2)	
Idade 65 anos					0,798
	< 65 anos	145(76,0)	82(75,2)	63(76,8)	
	≥ 65 anos	46(24,0)	27(24,8)	19(23,2)	
ECOG					
	0	71(52,0)	39(50,6)	32(53,3)	0,755
	≥1	66(48,0)	38(49,4)	28(46,7)	
História familiar de câncer de ovário ou mama					0,239
	Não	128(69,2)	77(72,6)	51(64,6)	
	Sim	57(30,8)	29(27,4)	28(35,4)	
Mutação germinativa de BRCA1 ou BRCA2					0,690
	Não	21(67,7)	11(64,7)	10(71,4)	
	Sim	10(32,3)	6(35,3)	4(28,6)	
CA125 pré tratamento					0,843
	Mediana	440	480	420	0,334
	< 200	54(36,2)	28(32,9)	26(40,6)	
	≥ 200	95(63,8)	57(67,1)	38(59,4)	
Histologia					0,083
	Seroso de alto grau	158(84,9)	85(81)	73(90,1)	
	Outras	28(15,1)	20(19)	8(9,90)	
Estadiamento					
	I-II	39(21,0)	24(22,2)	15(18,8)	0,560
	III-IV	149(79,0)	84(77,8)	65(81,2)	
Cirurgia inicial					
	citorredução primária	130(69,5)	78(72,9)	52(65,0)	0,246
	citorredução de intervalo	57(30,5)	29(27,1)	28(35,0)	
Doença residual após cirurgia					
	≤ 10 mm	114(69,1)	64(68,1)	50(70,4)	0,750
	> 10 mm	51(30,9)	30(31,9)	21(29,6)	
Regime quimioterapia 1ª linha					
	Platina + Taxano	174(93,5)	98(92,5)	76(95,0)	0,660
	outros regimes	5(2,7)	4(3,80)	1(1,30)	
	nenhum	7(3,8)	4(3,80)	3(3,80)	
PFI					
	Mediana (meses)	9,92	12,04	8,80	0,195**
	< 6 meses	53(30,3)	28(27,5)	25(34,2)	0,310
	> 6 e < 12 meses	43(24,6)	23(22,5)	20(27,4)	
	≥ 12 meses	79(45,1)	51(50)	28(38,4)	

Cont/ Tabela 3

Características		Freq. (%)			
Recidiva após 1a. linha					0,076
	Não	40(20,4)	28(24,8)	12(14,5)	
	Sim	156(79,6)	85(75,2)	71(85,5)	
1a. recidiva PS					0,335
	Não	73(38)	28(27,5)	25(34,2)	
	Sim	119(62)	74(72,5)	48(65,8)	
2a.recidiva PS					0,071
	Não	109(55,6)	11(23,4)	14(42,4)	
	Sim	87(44,4)	36(76,6)	19(57,6)	
Cirurgia de citorredução					
	Não	111(58,1)	62(56,9)	49(59,8)	
	Sim	80(41,9)	47(43,1)	33(40,2)	
CCNE1 H-escore					
	0	59(30,1)			
	1	54(27,6)			
	2	34(17,3)			
	4	40(20,4)			
	6	9(4,6)			
CCNE1 hiperexpresso					
	Não	113(57,7)			
	Sim	83(42,3)			

*Todos os valores de p foram calculados pelo teste do qui-quadrado, salvo indicação em contrário.

** p value calculated with Mann-Whitney test.

PFI, intervalo livre de platina.

4.2.1 Análise de dados e desfechos clínicos das pacientes com hiperexpressão de ciclina E1 no grupo com material biológico do tumor avaliado

Destacamos aqui os resultados em relação à ciclina E1 dentre as pacientes com material biológico do tumor avaliado. Encontramos que a frequência da hiperexpressão de ciclina E1, ou seja, H score ≥ 2 , foi de oitenta e três casos (42%) e a ausência de hiperexpressão foi vista em cento e treze casos (58%). Em relação ao resultados do H score para avaliar a expressão de ciclina E1, obtivemos: H score=0 em 59(30,1%), H score=1 em 54 (27,6%), H score=2 em 34 (17,3%), H score=4 em 40(20,4%), e H score=6 em 9(4,60).

Exemplos de marcação para ciclina E1 são demonstrados na Figura 9 abaixo.

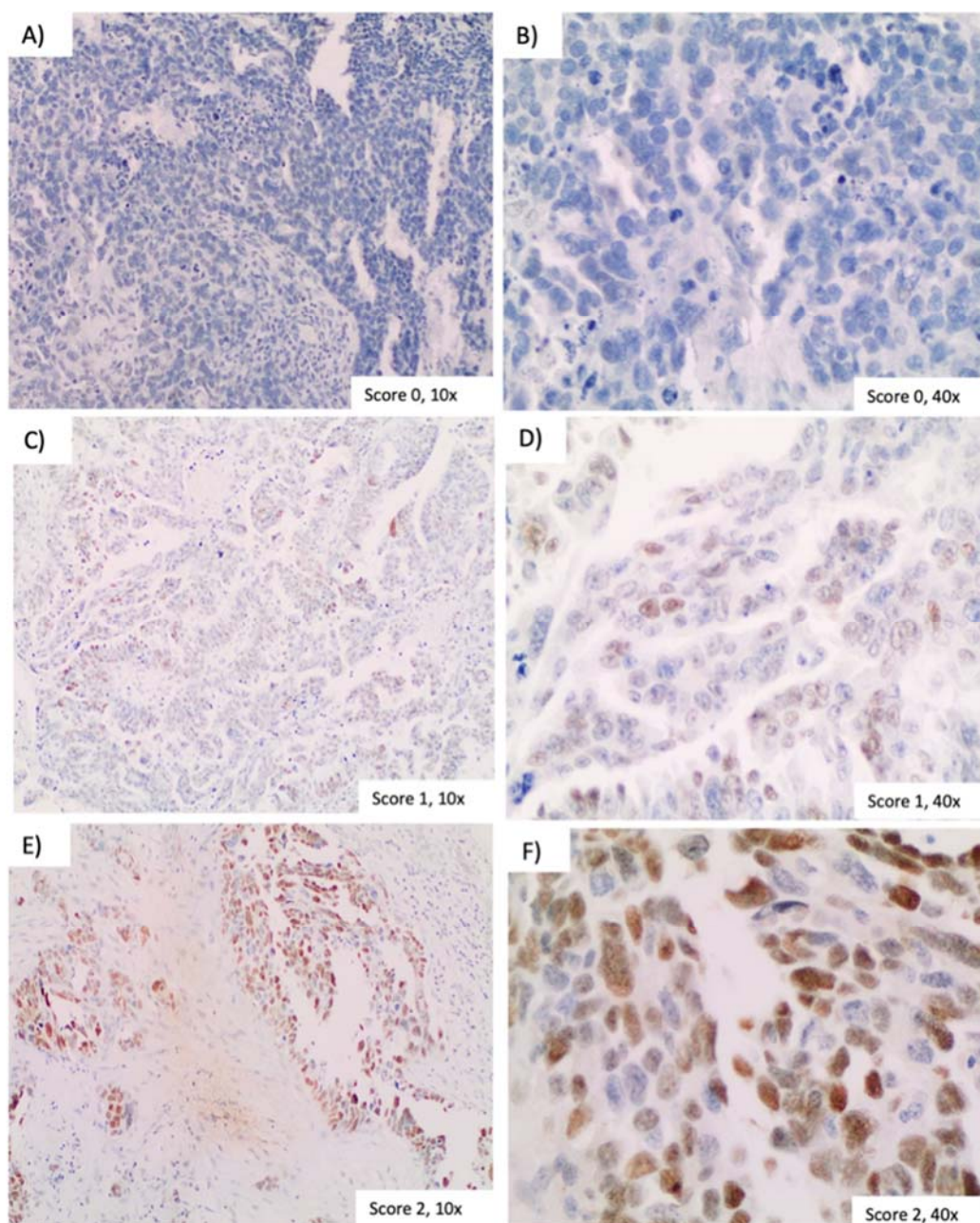


Figura 9 - Imunoistoquímica da ciclina E1. Estão representados diferentes frequência de células positivas para ciclina E1. A) Escore 0, reação negativa , aumento de 10x, B) escore 0, reação negativa , aumento de 40x, C) Escore 1, menos de 50% de células positivas, aumento de 10x, D) Escore 1, menos de 50% de células positivas, aumento de 40x, E) Escore 3, mais que 50% células positivas, aumento de 10x, F) Escore 3, mais que 50% células positivas 40x.

Em relação as características clínicas encontramos uma idade mediana maior no grupo com hiperexpressão de ciclina E1 de 58,25 vs 53,25 anos ($p=0,292$) no grupo sem hiperexpressão, mais casos de história familiar de câncer de ovário ou mama 35,4% vs 27,4% ($p=0,239$), maior porcentagem de histologia HGSC 90,1% vs 81% ($p=0,083$), mais recidiva após primeira linha de tratamento 85,5% vs 75,2% ($p=0,076$), apresentaram com mais frequência primeira recidiva platino resistente 34,2 % x 27,5% ($p=0,335$), observamos ainda no grupo com hiperexpressão de ciclina E1 recidivas mais precoces, o PFI mediano foi 8,80 vs 12,04 meses ($p=0,195$), PFI < 6 meses neste grupo foi de 34,2% vs 27,5%, o mesmo ocorreu com PFI $\geq$ 12 meses foi de 38,4% vs 50% ($p=0,310$). Apenas 31 pacientes tinham dados disponíveis sobre status de mutação germinativa de *BRCA1* ou *BRCA2*, das quais 11 apresentavam variantes patogênicas. Não houve associação entre o status de mutação de *BRCA1/2* e hiperexpressão de ciclina E1 ($p=0,690$). As características das pacientes estão resumidas na Tabela 3.

Pacientes com hiperexpressão de ciclina E1 apresentaram sobrevida livre de progressão mediana de 19,41 meses vs 22,47 meses ($p=0,37$) quando sem a hiperexpressão, a sobrevida global mediana foi de 56,34 meses vs 88,08 meses ($p=0,06$), o tempo para recidiva de doença no cenário platino resistente foi 50,72 meses vs 97,54 meses ($p=0,001$). (Figura 10).

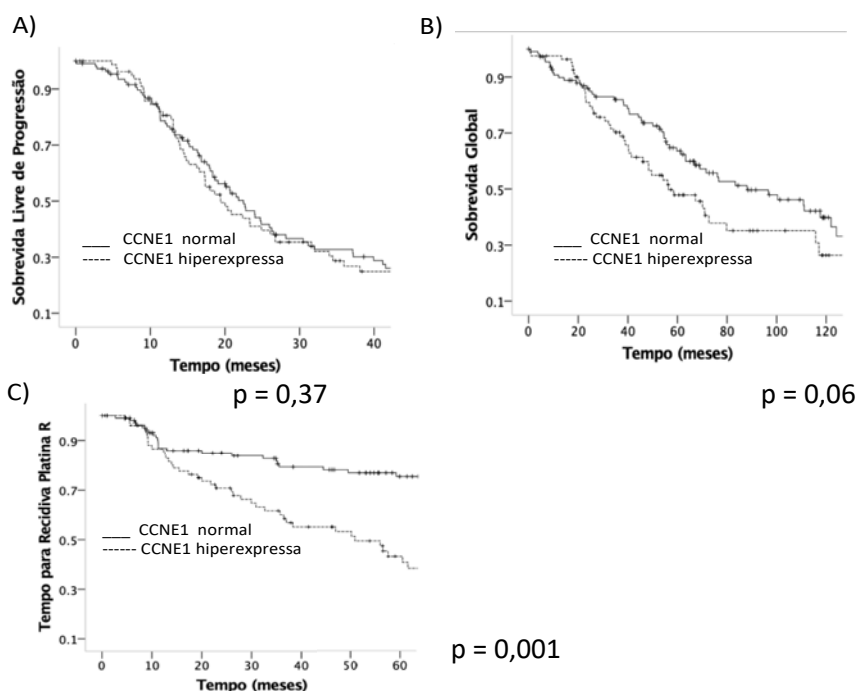


Figura 10 - Comparação dos desfechos clínicos entre a população com hiperexpressão de ciclina E1 e a população sem a hiperexpressão: A) sobrevida livre de progressão, B) Sobrevida Global, C) Tempo para recidiva de doença no cenário platino resistente.

Na regressão de cox univariada para sobrevida livre de progressão encontramos $HR=1.16$ para hiperexpressão de ciclina E1 ($p=0,378$), para sobrevida global encontramos $HR=1.46$ hiperexpressão de ciclina E1 ($p=0,060$) e aumentou o risco de progressão de doença no cenário platino resistente com $HR=2,10$ ($p=0,001$), conforme encontradas nas Tabelas 4, 5 e 6.

4.2.2 Fatores prognósticos para sobrevida global na população com material biológico do tumor avaliado

A análise de todo o grupo com material biológico tumoral avaliado, ou seja, a população com hiperexpressão de ciclina E1 mais os pacientes sem hiperexpressão de ciclina E1, mostrou sobrevida global mediana de 71,60 meses, depois de um seguimento de 89,20 meses, 101 pacientes tinham morrido (Figura 11).

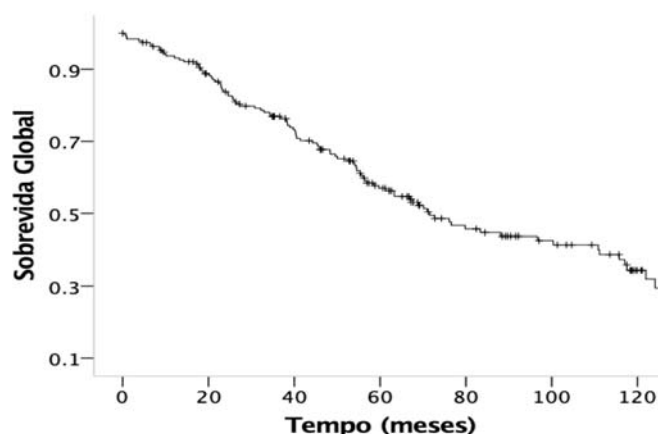


Figura 11 - Sobrevida global no grupo com material biológico tumoral avaliado

Na análise univariada os fatores relacionados com a sobrevida global foram: idade (HR= 1,02, $p=0,002$); ECOG 0 (HR= 2,02, $p=0,004$); CA 125 antes do tratamento < 200 (HR= 2,12, $p=0,005$); Estadiamento I-II (HR= 1,88, $p= 0,028$); citorredução primária (HR=2,22, $p < 0,001$); doença residual após a cirurgia primária $\leq 10\text{mm}$ (HR=1.55, $p < 0.001$); e citorredução secundária (HR= 0,37 e $p < 0,001$), como mostra a Tabela 4. O impacto do status de de mutação de *BRCA1/2* não pôde ser avaliado devido ao pequeno número de pacientes com dados disponíveis.

Na análise multivariada entre os fatores avaliados para a sobrevida global, apenas citorredução primária (HR= 1,97, $p=0,018$) e doença residual após a cirurgia primária $\leq 10\text{mm}$ (HR=1,60, $p < 0,003$) mantiveram relação estatisticamente significativa, os demais não: ECOG 0 (HR= 1,198, $p=0,556$); CA 125 antes do tratamento < 200 (HR = 1,48, $p < 0,271$); Estadiamento I-II (HR= 1,44, $p= 0,530$); hiperexpressão de ciclina E1 (HR= 1,02, $p=0,454$); como mostra a Tabela 5.

Tabela 4 – Análise Univariada de sobrevida global no grupo com material biológico do tumor

Característica		HR (95% CI)	p valor
Age*		1,03	0,002
Age	< 60	1	0,058
	≥ 60	1,47(0,98-2,20)	
Age	< 65	1	0,123
	≥ 65	1,41(0,91-2,20)	
ECOG	0	1	0,004
	≥1	2,02(1,25-3,26)	
História familiar de câncer de ovário ou mama			
	Não	1	0,799
	Sim	1,05 (0,68-1,63)	
Estadiamento	I -II	1	0,028
	III-IV	1,88(1,07-3,33)	
Histologia	Seroso de alto grau	1	0,334
	Outras	0,74 (0,40-1,36)	
CA125 pré tratamento	< 200	1	0,005
	≥ 200	2,12(1,26-3,58)	
Cirurgia	citorredução primária	1	< 0,001
	citorredução de intervalo	2,22 (1,47-3,36)	
Doença residual após cirurgia primária			
	≤ 10 mm	1	< 0,001
	> 10 mm	1,55 (1,24-1,92)	
Cirurgia de citorredução secundária			< 0,001
	Não	1	
	Sim	0,37(0,25-0,57)	
Regime quimioterapia 1ª linha			
	Platina + Taxano	1	0,225
	outros regimes	0,77 (0,50-1,12)	
	nenhum		
Ciclina E1 Hiperexpressa			
	Não	1	0,060
	Sim	1,15 (0,99-1,24)	

* Variável tratada como continua

Tabela 5 – Análise Multivariada de sobrevida global no grupo com material biológico do tumor

Característica	HR (95% CI)	p valor
ECOG		0,556
0	1	
≥1	1,19 (0,65-2,18)	
Estadiamento		
I -II	1	0,530
III-IV	1,44(0,45-4,53)	
CA125 pré tratamento		0,271
< 200	1	
≥ 200	1,48 (0,73-2,99)	
Cirurgia		
citorredução primária	1	0,018
citorredução de intervalo	1,97 (1,12-3,47)	
Doença residual após cirurgia primária		
≤ 10 mm	1	0,003
> 10 mm	1,60 (1,17-2,19)	
Ciclina E1 Hiperexpressa		
Não	1	0,454
Sim	1,23 (0,70-2,16)	

4.2.3 Fatores prognósticos para sobrevida livre de progressão das pacientes com material biológico analisado

A sobrevida livre de progressão mediana foi de 20,83 meses (Figura 12).

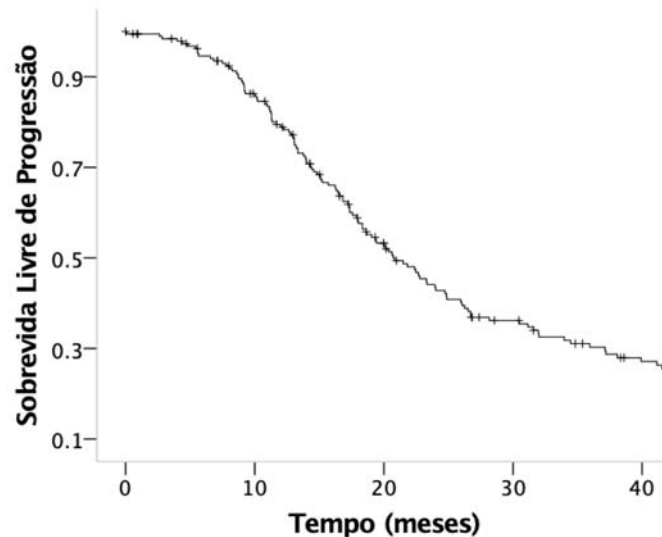


Figura 12 - Sobrevida livre de progressão de doença no grupo com material biológico tumoral avaliado

Na análise univariada os fatores relacionados com a sobrevida livre de progressão foram: idade (HR= 1,61, $p=0,007$); idade menor de 60 anos (HR= 1,61, $p=0,007$); idade menor de 65 anos (HR= 1,65, $p=0,001$); ECOG 0 (HR= 1,46 $p=0,07$); CA 125 pré tratamento < 200 (HR= 1,83, $p=0,005$); estadiamento I-II (HR 1,79, $p= 0,018$); cirurgia de citorredução primária (HR=1,72, $p < 0,003$); doença residual após a cirurgia primária $\leq 10\text{mm}$ (HR=1,57, $p < 0,001$), como mostra a Tabela 6.

Na análise multivariada os fatores relacionados com a sobrevida livre de progressão foram: idade menor de 60 anos (HR= 1,65, $p=0,036$) e doença residual após a cirurgia primária $\leq 10\text{mm}$ (HR=1,54, $p = 0,001$) como mostra a Tabela 7.

Tabela 6 – Análise Univariada de SLP no grupo com material biológico do tumor

Característica	HR (95% CI)	p valor
Age		
< 60	1	0,007
≥ 60	1,61(1,13-2,28)	
Age		
< 65	1	0,001
≥ 65	1,65(1,12-2,44)	
ECOG		0,070
0	1	
≥1	1,46(0,96-2,21)	
História familiar de câncer de ovário ou mama		0,217
Não	1	
Sim	1,25 (0,87-1,80)	
Estadiamento		0,018
I -II	1	
III-IV	1,79(1,10-2,75)	
Histologia		0,466
Seroso de alto grau	1	
Outras	0,82 (0,48-1,39)	
CA125 pré tratamento		0,005
< 200	1	
≥ 200	1,83(1,20-2,79)	
Cirurgia		
citorredução primária	1	0,003
citorredução de intervalo	1,72 (1,21-2,46)	
Doença residual após cirurgia primária		< 0,001
≤ 10 mm	1	
> 10 mm	1,57 (1,30-1,90)	
Regime quimioterapia 1ª linha		
Platina + Taxano	1	0,225
outros regimes	0,77 (0,50-1,12)	
nenhum		
Cirurgia de citorredução secundária		0,240
Não	1	
Sim	0,81(0,58-1,14)	
Ciclina E1 Hiperexpressa		
Não	1	0,380
Sim	1,16 (0,83-1,16)	

Tabela 7 – Análise Multivariada de SLP no grupo com material biológico do tumor

Característica	HR (95% CI)	p valor
Age		
< 60	1	0,036
≥ 60	1,65(1,03-2,65)	
ECOG		0,831
0	1	
≥1	0,94(0,57-1,56)	
Estadiamento		0,706
I -II	1	
III-IV	1,16(0,51-2,63)	
CA125 pré tratamento		0,430
< 200	1	
≥ 200	1,25(0,71-2,21)	
Cirurgia		
citorredução primária	1	0,068
citorredução de intervalo	1,59 (0,96-2,63)	
Doença residual após cirurgia primária		0,001
≤ 10 mm	1	
> 10 mm	1,54 (1,20-1,98)	
Ciclina E1 Hiperexpressa		
Não	1	0,130
Sim	1,41 (0,90-2,22)	

4.2.4 Análise do tempo para recidiva de doença no cenário platino resistente nas pacientes com material biológico tumoral analisado

O tempo mediano para recidiva platino resistente foi de 74,20 meses (Figura 13).

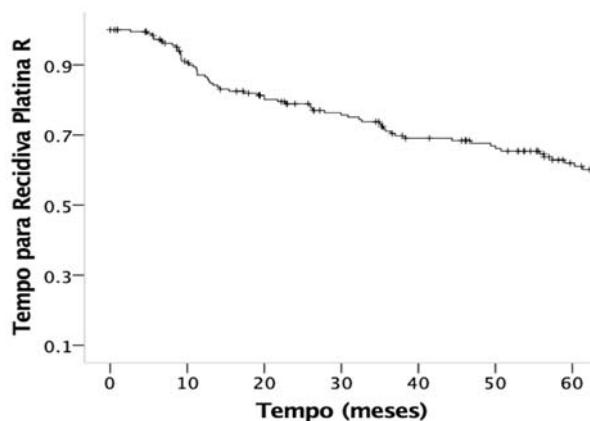


Figura 13 - Sobrevida livre de progressão no cenário platino resistente no grupo com material biológico tumoral avaliado

Na análise univariada os fatores relacionados com recidiva platino resistente foram: Estadiamento I-II (HR= 2,64, p= 0,006); citorredução primária (HR=2,22, p < 0.001); CA 125 pré tratamento < 200 (HR= 1,91, p= 0,019); doença residual após a cirurgia primária $\leq$ 10mm (HR=1,58, p=0,001); e citorredução secundária (HR= 0,50 e p < 0,003), hiperexpressão de ciclina E1 (HR= 2,10, p= 0,001). Como mostra a Tabela 8.

Na análise multivariada os fatores relacionados com recidiva platino resistente foram: doença residual após a cirurgia primária $\leq$ 10mm (HR=1,49, p=0,008); e citorredução secundária (HR= 0,50 e p < 0,003), hiperexpressão de ciclina E1 (HR= 2,13, p= 0,007). Como mostra a Tabela 9.

Tabela 8 – Análise Univariada de cox TTPR no grupo avaliado para *CCNE1*

Característica	HR (95% CI)	p valor
Age		
< 60	1	0,088
≥ 60	1,47(0,94-2,30)	
Age		
< 65	1	0,769
≥ 65	1,08(0,63-1,85)	
ECOG		0,250
0	1	
≥1	1,34(0,80-2,23)	
História familiar de câncer de ovário ou mama		0,352
Não	1	
Sim	1,25 (0,78-2,00)	
Estadiamento		0,006
I -II	1	
III-IV	2,64(1,32-5,30)	
Histologia		0,139
Seroso de alto grau	1	
Outras	0,57 (0,27-1,19)	
CA125 pré tratamento		0,019
< 200	1	
≥ 200	1,91(1,11-3,31)	
Cirurgia		
citorredução primária	1	0,001
citorredução de intervalo	2,17 (1,37-3,45)	
Doença residual após cirurgia primária		< 0,001
≤ 10 mm	1	
> 10 mm	1,58 (1,24-2,01)	
Regime quimioterapia 1ª linha		
Platina + Taxano	1	0,225
outros regimes	0,77 (0,50-1,12)	
nenhum		
Cirurgia de citorredução secundária		0,003
Não	1	
Sim	0,50(0,32-0,79)	
Ciclina E1 hiperexpressa		
Não	1	0,001
Sim	2,10 (1,35-3,26)	

Tabela 9 – Análise Multivariada de cox TTPR no grupo avaliado para *CCNE1*

Característica	HR (95% CI)	p valor
Age		
< 60	1	0,929
≥ 60	1,02(0,58-1,79)	
Estadiamento		0,097
I -II	1	
III-IV	2,88(0,82-10,08)	
CA125 pré tratamento		0,263
< 200	1	
≥ 200	1,42(0,76-2,66)	
Cirurgia		
citorredução primária	1	0,189
citorredução de intervalo	1,47 (0,82-2,61)	
Doença residual após cirurgia primária		< 0,008
≤ 10 mm	1	
> 10 mm	1,49 (1,11-2,00)	
Ciclina E1 hiperexpressa		
Não	1	0,007
Sim	2,13 (1,22-3,71)	

4.3 AVALIAÇÃO DO BEVACIZUMABE EM CÂNCER DE OVÁRIO RECORRENTE SENSÍVEL À PLATINA E DE FATORES PREDITIVOS DE SUA EFICÁCIA

Análise do benefício do bevacizumabe foi realizada em 124 pacientes do banco, com câncer de ovário recorrente sensível à platina. Sessenta e duas (50%) pacientes foram tratadas com quimioterapia (QT) + bevacizumabe e 62 (50%) pacientes foram tratadas apenas com QT sem bevacizumabe. A idade mediana de toda a coorte foi de 57,5 anos e a histologia mais freqüente foi HGSC (94,0% dos casos). Oitenta e sete por cento das pacientes apresentavam a doença no estágio III-IV da FIGO 2014 no momento do diagnóstico e 13% apresentavam o estadio I-II da FIGO. Cinquenta e nove por cento das pacientes receberam bevacizumabe na primeira recaída. A mediana do PFI foi de 10,2 meses. Cirurgia de citorredução secundária foi realizada em 62 (50%) pacientes. As características dos grupos foram bem equilibradas em relação ao PFI, histologia e número de linhas de tratamento anteriores. Os grupos apresentaram desequilíbrio em relação ao esquema quimioterápico, no grupo Bev 52 (83,9%) pacientes foram tratadas com combinação platina-gemcitabina, enquanto que no grupo QT o tratamento mais frequente foi a combinação platina-taxano que foi utilizada em 30 (48,4%) pacientes ($p < 0,001$). As características das pacientes estão resumidas na Tabela 10.

Entre 124 pacientes, 57 pacientes tiveram a avaliação da expressão de Ciclina E1 (Figura 7). Não foi possível realizar a avaliação em todas as pacientes devido à indisponibilidade de amostras tumorais. No entanto, as características clínicas das pacientes avaliados pelo *CCNE1* estavam de acordo com a população geral da coorte (Tabela 11). A hiperexpressão da ciclina E1 foi detectada em 45,6% das pacientes testadas, sendo 15 (62,5%) do grupo tratado com bevacizumabe e 11 (33,3%) no grupo tratado sem bevacizumabe ($p = 0,029$) (Tabela 11).

Tabela 10 – Características clínicas das 124 pacientes da coorte de pacientes com recidiva platina sensível

Características		Freq. (%)		p valor*
		Bevacizumabe	Sem Bevacizumabe	
Número de pacientes		62	62	
Idade, anos				
	Mediana (p25-p75)	56,2 (48,2-63,5)	59,2 (52,0-68,1)	0,091**
Estadiamento				
	I -II	6 (10,0)	9 (15,8)	0,349
	III-IV	54 (90,0)	48 (84,2)	
Histologia Tumoral				
	Seroso de alto grau	56 (94,9)	54 (93,1)	0,680
	Outras	3 (5,10)	4 (6,90)	
História de câncer de ovário e/ou mama				
	Não	39 (69,6)	35 (62,5)	0,425
	Sim	17 (30,4)	21 (37,5)	
Doença residual após cirurgia primária				
	≤ 10 mm	45 (76,3)	35 (70,0)	0,460
	> 10 mm	14 (23,7)	15 (30,0)	
PFI antes do bev -Mediana (IQR)		9,7	10,5	0,383**
	< 12 meses	37 (63,8)	34 (60,7)	0,735
	≥ 12 meses	21 (36,2)	22 (39,3)	
Regime quimioterapia 1^a linha				
	Platina + taxano	9 (14,5)	30 (48,4)	< 0,001
	Platina + gemcitabina	52 (83,9)	26 (41,9)	
	Platina+doxorubicina lipossomal	0 (0,00)	5 (8,10)	
	Monoterapia	1 (1,60)	1 (1,00)	
Número de tratamentos prévios - Linhas				
	1	34 (55,7)	37 (61,7)	0,868
	2	20 (32,8)	18 (30,0)	
	3	5 (8,20)	3 (5,00)	
	4	2 (3,30)	2 (3,30)	
Cirurgia inicial				
	citorredução primária	45 (76,3)	35 (70,0)	0,460
	citorredução de intervalo	14 (23,7)	15 (30,0)	
Cirurgia de citorredução secundária				
	Sim	28 (62,2)	34 (61,8)	0,539
	Não	17 (37,8)	21 (38,2)	
Ciclina E1 hiperexpressa				
	Sim	15 (62,5)	11 (33,3)	0,029
	Não	9 (37,5)	22 (66,7)	

* Todos os valores de p foram calculados pelo teste do qui-quadrado, salvo indicação em contrário

** o valor de p foi calculado pelo teste de Mann-Whitney PFI, intervalo livre de platina

Tabela 11 – Características clínicas das pacientes da coorte de pacientes com recidiva platina sensível avaliadas para Ciclina E1 hiperexpressa

Características		Freq. (%)
Número de pacientes		57
Idade, anos	Mediana (p25-p75)	56,6 (51,8-63,3)
Estadiamento		
	I -II	9 (16,7)
	III-IV	45 (83,3)
Histologia Tumoral		
	Seroso de alto grau	50 (92,6)
	Outras	4 (7,4)
História de câncer de ovário e/ou Mama		
	Não	32 (59,3)
	Sim	22 (40,7)
Doença residual após cirurgia Primária		
	≤ 10 mm	34 (70,8)
	> 10 mm	14 (29,2)
PFI pré uso de bev	Mediana (p25-p75)	10,5 (7,4-14,0)
	< 12 meses	34 (64,2)
	≥ 12 meses	19 (33,3)
Regime quimioterapia		
	Platina + taxano	19 (33,3)
	Platina + gemcitabina	34 (59,6)
	Platina+doxorubicina lipossomal	3 (5,30)
	Monoterapia	1 (1,80)
Número de tratamentos prévios - linhas		
	1	30 (54,5)
	2	20 (36,4)
	3	3 (5,50)
	4	2 (3,60)
Cirurgia inicial		
	citorredução primária	34 (60,7)
	citorredução de intervalo	22 (39,3)
Citorredução secundária		
	Sim	22 (38,6)
	Não	35 (61,4)
Ciclina E1 hiperexpressa		
	Sim	26 (45,6)
	Não	31 (54,4)

PFI, intervalo livre de platina

4.3.1 Sobrevida livre de progressão

A progressão da doença foi observada em 84 pacientes em nossa coorte e a PFS mediana foi de 18,4 meses. As doentes tratadas com bevacizumabe tinham uma PFS mediana de 19,5 meses versus 16,0 meses para aquelas tratadas sem bevacizumabe ($p = 0,150$), (Figura 14). O tempo médio de sobrevida restrito (RMST) para progressão foi de 15,6 meses versus 13,4 meses a favor do grupo Bev ($p = 0,006$) para um seguimento de 18 meses, e 22,2 meses versus 19,8 meses a favor do grupo Bev ($p = 0,310$) para um seguimento até 40 meses.

Pacientes com PFI > 12 meses apresentaram PFS mediana de 20,0 meses vs. 15,5 para pacientes com PFI < 12 meses ($p = 0,042$). Pacientes com hiperexpressão de ciclina E1 mostraram uma PFS mediana de 15,8 meses versus 19,7 meses para aqueles sem hiperexpressão de ciclina E1 ($p = 0,065$) (Figura 14).

Em uma análise univariada, idade < 65, histologia serosa de alto grau, PFI > 12 meses e hiperexpressão de ciclina E1 foram associadas à SLP (Tabela 12). Idade < 65, histologia serosa de alto grau, PFI $\geq$ 12, tratamento com bevacizumabe e hiperexpressão de ciclina E1 foram incluídos na análise multivariada. O tratamento com bevacizumabe e a hiperexpressão da ciclina E1 mantiveram-se no modal final e ambos foram relacionados à SLP (Tabela 13).

Tabela 12 – Análise univariada de sobrevida livre de progressão de 124 pacientes

Características	HR (95% CI)	p valor
Idade, anos		
< 60	1	0,021
≥ 60	1,68(1,08-2,60)	
História de câncer de ovário e/ou mama		
Não	1	0,983
Sim	1,01 (0,63-1,61)	
Estadiamento		
I-II	1	0,696
III-IV	1,14 (0,58-2,23)	
Histologia Tumoral		
Seroso de alto grau	1	0,008
Outras	0,14 (0,03-0,61)	
Cirurgia inicial		
citorredução primária	1	0,409
citorredução de intervalo	1,16 (0,81-1,67)	
Doença residual após cirurgia primária		
≤ 10 mm	1	0,827
> 10 mm	1,03 (0,78-1,36)	
PFI prévio ao uso de beva		
< 12 meses	1	0,044
≥ 12 meses	0,63 (0,40-0,99)	
Tratamento		
Quimioterapia isolada	1	0,225
Quimioterapia + Bevacizumabe	0,77 (0,50-1,12)	
No. de tratamentos prévios:linhas		
1	1	0,264
> 1	1,30 (0,82-2,04)	
Ciclina E1 hiperexpressa		
<2	1	0,069
≥2	1,77 (0,96-3,27)	

PFI, intervalo livre de platina

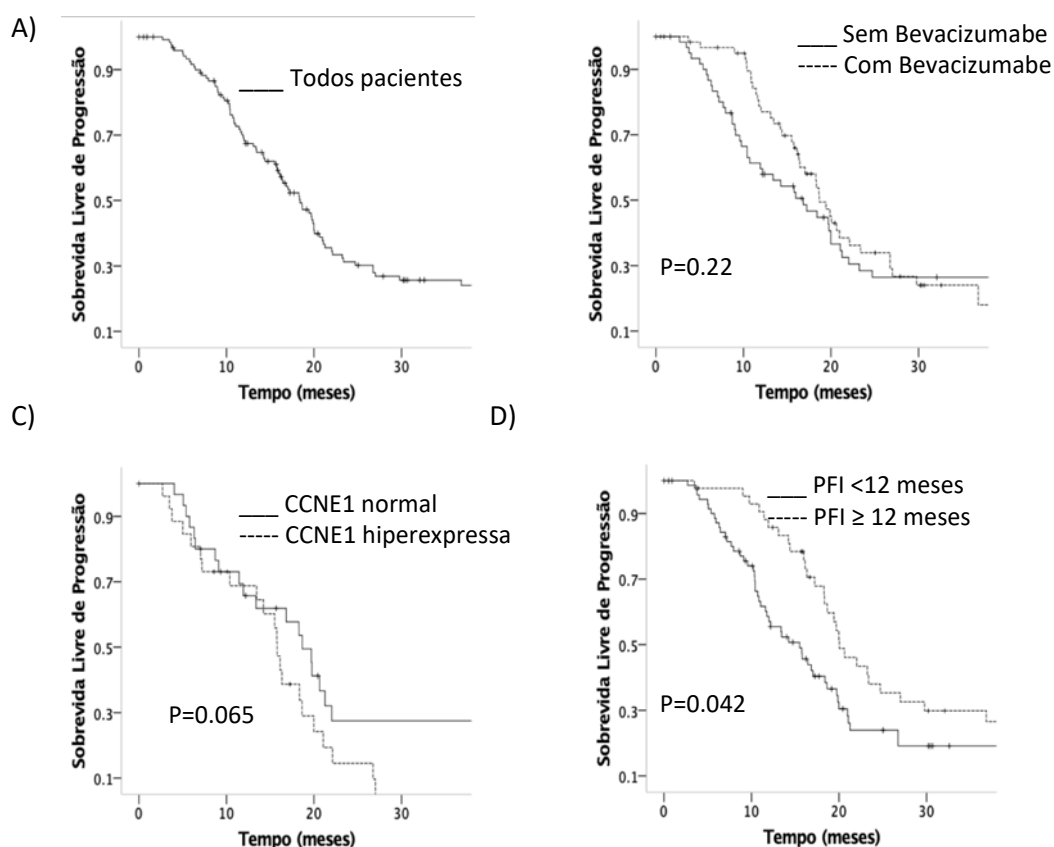


Figura 14 - Sobrevida livre de progressão. A) em toda a coorte, B) de acordo com o tratamento com bevacizumabe, C) de acordo com a expressão da ciclina E1, D) de acordo com o intervalo livre de platina. *CCNE1* = ciclina E1; PFI = intervalo livre de platina. Valores de P calculados usando o teste de log-rank.

Tabela 13 – Análise Multivariada para SG e SLP de 124 pacientes

Características		SLP*		SG**	
		HR (95% CI)	p valor	HR (95% CI)	p valor
Bevacizumabe					
	Não	1	0,084	1	0,401
	Sim	0,54 (0,26-1,09)		0,70 (0,30-1,61)	
Cirurgia inicial					
	citorredução primária	-	-	1	0,088
	citorredução de intervalo	-		2,04 (0,90-4,65)	
Ciclina E1 hiperexpressa					
	Não	1	0,009	1	0,035
	Sim	2,25 (1,10-4,60)		2,40(1,07-5,45)	

*49 pacientes com dados completos incluídos na análise multivariada, 38 eventos.

**49 pacientes com dados completos incluídos na análise multivariada, 28 eventos.

SLP = sobrevida livre de progressão SG = sobrevida global

4.3.2 Sobrevida Global

Após um acompanhamento mediano de 40,0 meses, 61 pacientes morreram. A sobrevida global mediana (SG) foi de 51,3 meses. As pacientes tratadas com bevacizumabe apresentaram uma SG mediana de 48,9 meses em comparação com 51,9 meses para os pacientes do grupo QT apenas ($p = 0,410$). PFI foi preditor para SG: a SG mediana foi de 54,9 meses para pacientes com $PFI > 12$ meses e 31,1 meses para pacientes com um $PFI < 12$ meses ($p = 0,039$). Pacientes com hiperexpressão de ciclina E1 mostraram uma mediana de 24,7 meses versus 67,9 meses para aqueles sem hiperexpressão de ciclina E1 ($p = 0,002$) (Figura 15).

Na análise univariada de Cox, idade < 65 , histologia serosa de alto grau, $PFI < 12$ citorredução ao diagnóstico, história familiar de câncer de mama ou de ovário e hiperexpressão de ciclina E1 foram associadas com SG (Tabela 14). Quando esses fatores foram incluídos em uma análise multivariada, a idade < 65 e a expressão histológica serosa de alto grau permaneceram significativamente associadas a pior SG (Tabela 13).

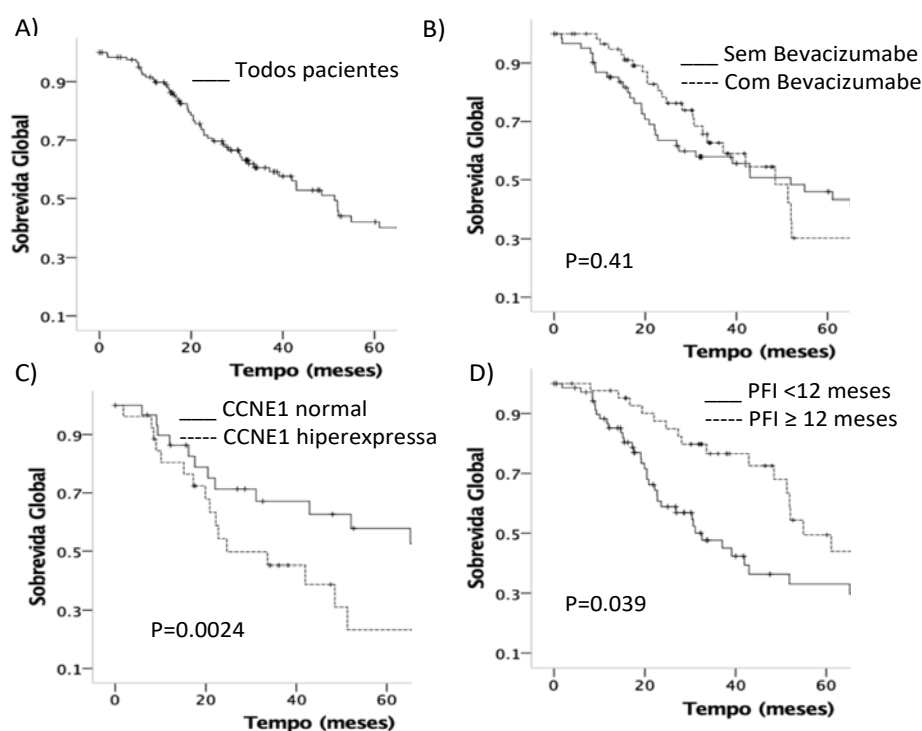


Figura 15 - Sobrevida global. A) em toda a coorte, B) de acordo com o tratamento com bevacizumabe, C) de acordo com a expressão da ciclina E1, D) de acordo com o intervalo livre de platina. *CCNE1* = ciclina E1; PFI = intervalo livre de platina. Valores de P calculados usando o teste de log-rank.

Tabela 14 – Análise univariada para sobrevida global

Características	HR (95% CI)	p valor
Idade		
< 60	1	0,035
≥ 60	1,73(1,04-2,86)	
História de câncer de ovário e/ou mama		
Não	1	0,310
Sim	1,33 (0,77-2,30)	
Estadiamento		
I-II	1	0,157
III-IV	1,95 (0,77-4,92)	
Histologia Tumoral		
Seroso de alto grau	1	0,036
Outras	0,12 (0,02-0,87)	
Cirurgia inicial		
citorredução primária	1	0,010
citorredução de intervalo	1,73 (1,14-2,62)	
Doença residual após cirurgia primária		
≤ 10 mm	1	0,234
> 10 mm	1,19(0,89-1,59)	
Tratamento		
Quimioterapia isolada	1	0,806
Quimioterapia + Bevacizumabe	0,81 (0,47-1,38)	
No. de tratamentos prévios:linhas		
1	1	0,185
> 1	1,42 (0,85-2,37)	
PFI prévio ao bevacizumabe		
< 12 meses	1	0,018
≥ 12 meses	0,52 (0,30-0,91)	
Ciclina E1 hiperexpressa		
Sim	1	0,049
Não	2,07(1,00-4,28)	

PFI, intervalo livre de platina

4.3.3 Taxa de resposta global

A taxa de resposta global (ORR) para esta coorte foi de 79,0%. Taxa de resposta global (ORR) foi de 93,3% no grupo Bev e 67,9% no grupo CT ($p = 0,002$). Pacientes com PFI > 12 meses apresentaram ORR de 75,0% vs. 84,2% para pacientes com PFI < 12 meses ($p = 0,289$). Pacientes com hiperexpressão de ciclina E1 mostraram uma ORR de 75,0% vs. 70,8% para aqueles sem hiperexpressão de ciclina E1 ($p = 0,757$).

4.3.4 PFI e ciclina E1 como marcadores preditivos de benefício do bevacizumabe

O impacto do bevacizumabe pareceu diferir de acordo com a hiperexpressão de ciclina E1 e PFI. O benefício do bevacizumabe estava presente apenas no subgrupo de pacientes com PFI <12 meses (PFS mediana 18,6 versus 10,4 meses, $p = 0,005$) e no subgrupo de pacientes com hiperexpressão *CCNE1* (PFS mediana 16,3 versus 7,1 meses, $p = 0,010$) mas não no grupo de pacientes com PFI > 12 meses (PFS mediana 18,6 meses versus 23,2 meses, $p = 0,062$) e no grupo de pacientes sem hiperexpressão da ciclina E1 (PFS mediana 19,7 meses versus 18,7 meses, $p = 0,796$) (Figura 16). O teste de interação para o efeito de bevacizumab e o PFI foi de 0,005 e para o bevacizumab e o *CCNE1* foi de 0,202. (Figura 16 e 17). Entre os pacientes com hiperexpressão de ciclina E1, a ORR foi de 100% para o grupo Bev e 50% para o grupo CT ($p = 0,033$).

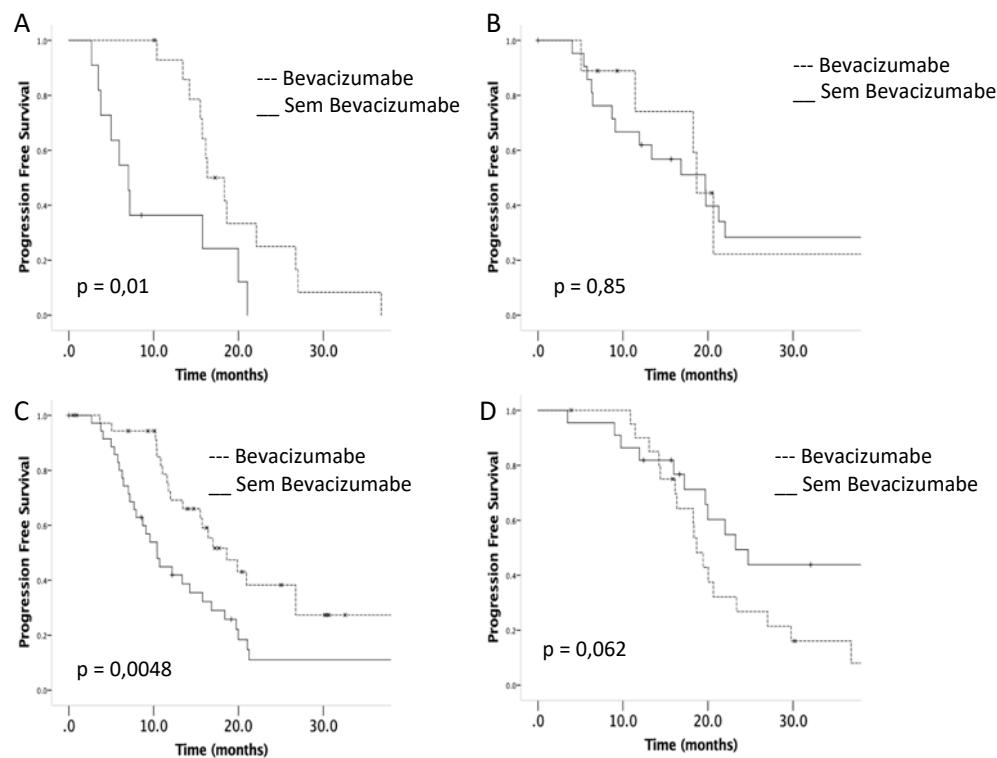


Figura 16 - Sobrevida livre de progressão de acordo com o tratamento com bevacizumabe nos subgrupos de pacientes. A) hiperexpressão de ciclina E1 B) expressão de ciclina E1 normal C) intervalo livre de platina < 12 meses D) intervalo livre de platina ≥ 12 meses Valores de P calculados usando o teste de log-rank

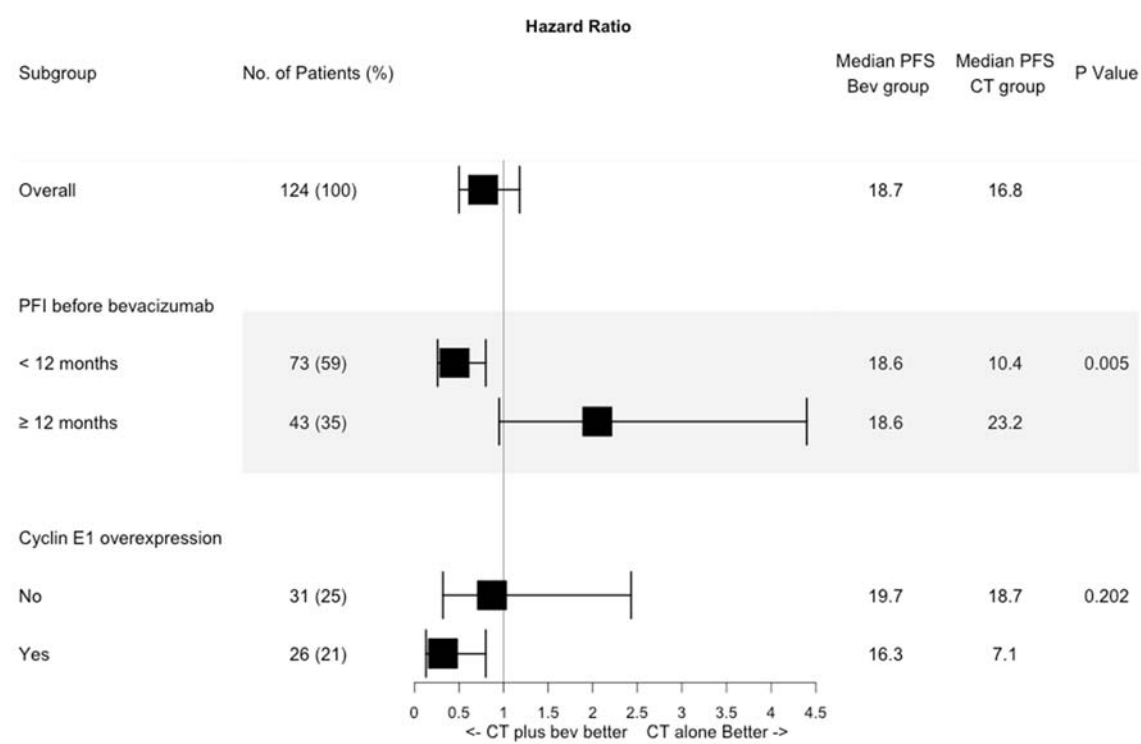


Figura 17 - Avaliação de interação entre PFI e ciclina E1 com efeito do Bevacizumabe

4.4 RESULTADOS WEE1

A marcação para WEE1 apresentou intensidade fraca menor que 50% em apenas 6 pacientes entre as 196 pacientes avaliadas, não sendo possível estabelecer o H score, embora a marcação de WEE1 no tecido utilizado como controle fosse positiva, demonstrando ausência de problemas com o anticorpo. Desta forma não foi possível estabelecer correlação entre a expressão de WEE1 e outros fatores.

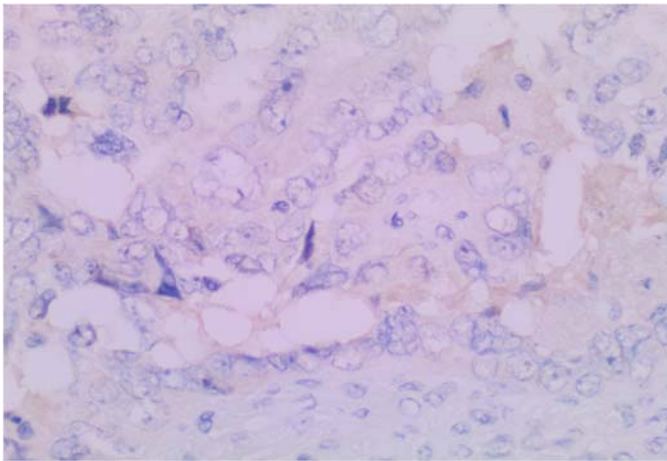


Figura 18 - Imunoistoquímica para WEE1. Reação negativa, ausência de células com marcação positivas para WEE1, aumento de 40x.

5 DISCUSSÃO

Na presente análise retrospectiva de pacientes com câncer epitelial de ovário, as características das 664 pacientes avaliadas estão de acordo com o esperado para a população com câncer de ovário, sendo maioria diagnosticada em fase avançada EC III e IV (76%), a histologia mais frequente o tipo seroso de alto grau (77,4%), 78,5% das pacientes realizaram cirurgia com citorredução ótima e a primeira linha de quimioterapia foi a associação de platina e taxano (93%). As características das 196 pacientes foram semelhantes às características da coorte completa, houve predomínio de EC III e IV (79%), da histologia seroso de alto grau (84,9%), de cirurgia com citorredução ótima (69,1%) e a da associação de platina e taxano (93,5%) como primeira linha de quimioterapia.

5.1 FREQUÊNCIA DA HIPEREXPRESSÃO DE CICLINA E1 E WEE1 POR IMUNOISTOQUÍMICA

Não existe na literatura padronização para avaliação da expressão de ciclina E1 e WEE1 por imunoistoquímica ou do valor de corte para caracterizar a positividade da alta expressão da proteína, assim há grande variação entre os estudos nesse quesito. Na nossa coorte encontramos a hiperexpressão de ciclina E1 por imunoistoquímica em oitenta e três (42%) dos casos, como adotamos a definição de hiperexpressão como qualquer valor de expressão acima da mediana da coorte (escore ≥ 2), era esperado que encontraríamos um valor próximo de 50% de hiperexpressão. Usamos como anticorpo contra Ciclina E1 o clone c-247-HE12 da Santa Cruz Biotechnology.

Aziz et al. (2018) encontraram a hiperexpressão de ciclina E1 em 45,5% (82/262) dos casos, fizeram uso do clone sc-247-HE12 da Santa Cruz Biotechnology e definiram como alta expressão de ciclina E1 H escore ≥ 160 , que foi obtido usando um escore de intensidade de 0 a 3+, sendo um H escore semi-quantitativo obtido adicionando 3 vezes a porcentagem de células fortemente coradas (3+) mais 2 vezes a porcentagem de células moderadamente coradas (2+) mais 1 vez a porcentagem de células fracamente coradas (1 +), dando uma intervalo de 0 a 300.

Noske et al. (2015) também usaram o clone HE12 da Santa Cruz Biotechnology, obtiveram hiperexpressão de ciclina E1 em 52,2% dos casos, e o escore teve base na expressão

nuclear, na intensidade da reação (0 - sem coloração, 1 - fraca, 2 - moderada e 3 - forte), bem como na porcentagem de células tumorais positivas. Posteriormente, o H score foi calculado. O H score médio foi de 140 (faixa de 0 a 300) e foi usado para definir o ponto de corte entre a expressão alta e baixa de ciclina E1.

Nakayama et al. (2010) utilizaram outro anticorpo (Zymed, Invitrogen, Carlsbad, Calif), obtendo a hiperexpressão de ciclina E1 em 50% dos casos, a análise do aumento da expressão de ciclina E1 foi obtida através de um HSCORE modificado que foi calculado da seguinte forma: $HSCORE = \sum P_i(i)$, onde i é a intensidade da coloração (0 = indetectável, 1 = fracamente positivo, 2 = moderadamente positivo, 3 = intensamente positivo) e P_i é uma pontuação baseada na porcentagem de células coradas para cada intensidade, variando de 0% a 100%. O HSCORE mediano do *CCNE1* foi 70 (intervalo de 0 a 353).

A metanálise que avaliou o valor prognóstico da expressão da ciclina E1 em câncer de ovário, inclui 8 estudos, sendo que valor de corte para definir a hiperexpressão de ciclina E1, variou de 10 a 70%, e um dos estudo ainda considerou como variável continua. Houve hiperexpressão de ciclina E1 entre 30,8-78% dos casos de HGSOC (Wang et al. 2017).

Alguns estudos avaliaram simultaneamente a hiperexpressão de ciclina E1 por imunoistoquímica e a amplificação de *CCNE1* avaliada no nível genômico nas neoplasias de ovário, encontrando que não há uma concordância perfeita nos resultados, sendo que a amplificação do *CCNE1* ocorreu em 15–30% dos casos HGSOC (Cancer Genome Atlas Research Network 2011; Patch et al. 2015). Dentre esses estudos em que avaliação foi feita com os dois métodos, em torno de metade dos casos em que há hiperexpressão há também amplificação. Aziz et al. (2018) encontraram concordância de 52%, Nakayama et al. (2010) 41% e Noske et al. (2015) 42%. A discordância pode ser explicada por outros mecanismos causais diferentes da amplificação do *CCNE1* levando à hiperexpressão de ciclina E1 (Noske et al. 2015; Ayhan 2017; Alsop et al. 2012).

A avaliação de expressão de WEE1 por imunoistoquímica mostrou ausência de expressão em quase todos tumores. Este fato pode ser decorrente de WEE1 ser uma proteína com pouca variação de expressão de acordo com ciclo celular e por não haver alterações em nível genômico ou de expressão de RNA em carcinoma de ovário descritas na literatura (Cancer Genome Atlas Research Network 2011). Portanto para avaliar o grau de atividade de WEE1 e de outras proteínas do ponto de checagem G2/M do ciclo celular a expressão de WEE1 não se mostrou um marcador útil. Alguns estudos mais recentes tem apontado para a avaliação de expressão da forma fosforilada de WEE1, CHK1 e CDK1 como marcadores mais interessantes com esse objetivo (Labrie et al. 2019).

5.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E PATOLÓGICAS RELACIONADAS COM HIPEREXPRESSÃO DE CICLINA E1 E WEE1

Não houve diferença estatisticamente significativa na distribuição das características clínico-patológicas entre o grupo de pacientes com hiperexpressão de *CCNE1* e aquelas sem hiperexpressão. Porém a frequência de hiperexpressão de *CCNE1* foi de 46,2% nos tumores serosos de alto grau e de 28,5% nos outros tipos histológicos ($p=0,083$). Essa associação entre hiperexpressão de *CCNE1*/amplificação de *CCNE1* e histologia serosa de alto grau está de acordo com o esperado pelos dados prévios da literatura (Nakayama et al. 2010; Noske et al. 2015).

A incidência de história familiar de câncer de mama ou ovário foi maior do grupo sem hiperexpressão de ciclina E1, 77 (72,6%) vs 51 (64,6%). A presença de mutação de *BRCA1* e *BRCA2* é mais frequente em pacientes com história familiar positiva, e a presença das mutações de *BRCA1* e *BRCA2* são excludentes com a amplificação de *CCNE1* (Cancer Genome Atlas Research Network 2011; Patch et al. 2015; Stronach et al. 2018). Na nossa coorte poucas pacientes chegaram a ser testadas para variantes patogênicas germinativas em *BRCA1* e *BRCA2* por terem diagnóstico e tratamento anterior a 2015-2016 quando o teste se tornou acessível no Brasil por regulamentação da Agência Nacional de Saúde. Encontramos 5 pacientes com mutação germinativas em *BRCA1/2* e hiperexpressão de *CCNE1*. Esse achado contraditório pode ser explicado pela discordância esperada entre hiperexpressão de *CCNE1* e amplificação de *CCNE1*.

5.3 IMPACTO DA HIPEREXPRESSÃO DE CICLINA E1 E WEE1 NO PROGNÓSTICO DAS PACIENTES E NA RESPOSTA AO TRATAMENTO

A sobrevida global mediana foi de 56,34 meses no grupo com hiperexpressão de ciclina E1 e no grupo sem hiperexpressão de 88,08 meses, sendo na univariada o HR= 1,46, IC 95%, 0,98 a 2,17, $p=0,060$, e na multivariada HR= 1,23, IC 95%, 0,70 a 2,16, $p=0,454$. A sobrevida livre de progressão mediana no grupo com hiperexpressão de ciclina E1 foi de 19,41 meses e no grupo sem hiperexpressão 22,47 meses, sendo na univariada HR= 1,16 IC 95%, 0,83 a 1,62, $p=0,378$ e na multivariada HR= 1,41, IC 95%, 0,90 a 2,22, $p=0,130$. O tempo para progressão de doença no cenário platino resistente no grupo com hiperexpressão de ciclina E1 foi de 50,72 meses e no grupo sem hiperexpressão 97,54 com HR= 2,10, IC 95%, 1,34 a 3,26, $p=0,001$ na

univariada e na multivariada HR= 2,13, IC 95%, 1,22 a 3,71, p= 0,007.

Na metanálise que incluiu 8 estudos com 1470 pacientes, a ciclina E1 de tecido ou plasma foi avaliada por imunistoquímica ou western blot. A hiperexpressão da ciclina E1 no câncer de ovário comparado a ausência foi um fator prognóstico com menor SG (HR = 1,48, IC 95%: 1,12,1,85 p=0,02) (Wang et al. 2017).

Um fato interessante entre os estudos que avaliaram simultaneamente o aumento da expressão de ciclina E1 por imunistoquímica e a presença de amplificação de *CCNE1*, foram os diferentes resultados encontrados para os desfechos clínicos dependendo do método diagnóstico utilizado.

Aziz et al. (2018) ao estudarem se tumores com hiperexpressão de ciclina E1 avaliados por imunistoquímica ou com amplificação de *CCNE1* avaliados por hibridização fluorescente in situ (FISH), tinham características semelhante, dividiram os achados em 4 grupos: amplificação de *CCNE1* com ciclina E1 hiperexpressa; amplificação de *CCNE1* sem hiperexpressão de ciclina E1; sem amplificação de *CCNE1* e com ciclina E1 hiperexpressa; sem amplificação de *CCNE1* e sem hiperexpressão ciclina E1. A amplificação de *CCNE1* com ciclina E1 hiperexpressa foi associado à instabilidade genômica e teve um resultado pior do que o grupo não amplificado / ciclina E1 hiperexpressa (Aziz et al. 2018).

Pacientes em que o tumor apresentava amplificação de *CCNE1* com ciclina E1 hiperexpressa tiveram sobrevida global significativamente pior quando comparados ao grupo sem amplificação de *CCNE1* e sem hiperexpressão ciclina E1 (SG mediana 28,57 vs. 45,6 meses, HR 0,6, IC 95%, 0,43 a 0,91, p = 0,0202). Já quando comparados aos casos sem amplificação de *CCNE1* e com ciclina E1 hiperexpressa houve menor SG quando, mas essa diferença não foi estatisticamente significante (mediana 28,6 vs. 43,3 meses, HR 0,7, IC 95%, 0,41 a 1,07, p = 0,298).

Quando comparados os grupos, pacientes com tumores não amplificados seja com ou sem hiperexpressão de ciclina E1 tiveram sobrevida significativamente melhor em comparação com aqueles com tumores amplificados e hiperexpressão de ciclina E1 (p= 0,0125; p = 0,0240 respectivamente).

Esses achados sugerem que, para a ciclina E1, a amplificação do gene tem uma associação maior com o mau prognóstico clínico do que a hiperexpressão proteica.

Nakayama et al. (2010) também avaliaram a expressão de ciclina E1 por imunistoquímica e a amplificação de *CCNE1* pela hibridização fluorescente in situ. A amplificação de *CCNE1* foi definida como uma razão entre os sinais da sonda *CCNE1* e da sonda de referência centromérica do cromossomo 19 ou do cromossomo 2 de 2: 1 ou mais. O

estudo mostrou que a amplificação de *CCNE1* é associada com menor sobrevida global quando comparado ao grupo sem amplificação de *CCNE1* ($p < 0,001$) e menor sobrevida livre progressão ($p < 0,001$). A hiperexpressão de ciclina E1 mostrou um impacto não significativo na sobrevida global ($p=0,1248$) e na sobrevida livre progressão ($p = 0,2865$) em relação a baixa expressão de ciclina E1 (Nakayama et al. 2010).

Etemadmoghadam et al. (2009), avaliaram variações de número de cópias genômicas de todo o genoma usando *microarray* de polimorfismos de único nucleotídeo (SNP array). A avaliação por imunistoquímica foi realizada nos mesmos tecidos para fornecer validação entre o nível da proteína ciclina E1 e a amplificação do gene *CCNE1*. Foi usado o anticorpo anti ciclina E1 (Clone 13A3; LabVision). Houve correlação entre a hiperexpressão de ciclina E1 e tumores com amplificação de *CCNE1* quimiorresistentes com $p < 0,02$. O estudo mostrou ainda que a amplificação de *CCNE1* estava relacionada à pior sobrevida global quando comparados ao grupo sem amplificação de *CCNE1* ($p = 0,019$) e menor sobrevida livre progressão, mas sem significância estatística ($p=0,264$). A amplificação de *CCNE1* foi significativamente associada à menor resposta ao tratamento primário ($p=0,003$) (Etemadmoghadam et al. 2009).

Alguns estudos avaliaram apenas a amplificação de *CCNE1*. No Atlas Genômico do Câncer de Ovário (TCGA 2011) a caracterização das principais alterações moleculares dos carcinomas serosos de alto grau de ovário encontrou aproximadamente 15 a 20% dos carcinomas serosos de alto grau de ovário com amplificação do *CCNE1*, que se apresentavam como amplificações focais no número de cópias. As pacientes com amplificação de *CCNE1* apresentaram pior sobrevida global em relação às demais (Cancer Genome Atlas Research Network 2011).

Yang et al. em 2018, avaliaram 2 grupos de pacientes com diferentes respostas clínica, um grupo com uma sobrevida excepcional a longo prazo (LT), 10 anos ou mais, e outro com pacientes com sobrevida menor que 2 anos, curto prazo (ST). A avaliação de amplificação de *CCNE1* foi feita usando dados de sequenciamento de exoma completo e a amplificação foi definida como um número de cópias maior ou igual a 4. No grupo LT a frequência de amplificação de *CCNE1* foi 10% (2/20) enquanto no grupo ST foi de 21% (4/19) (Yang et al. 2018).

Stronach et al. em 2018 avaliaram a amplificação de *CCNE1* através de um SNP array. Amplificação foi definida como uma razão do número de cópias das sondas da região do *CCNE1* em relação às demais sondas do genoma $> 2,4$. Na amostra foi encontrado amplificação de *CCNE1* em quarenta e sete (19%) amostras, sendo que no subgrupo HGSOC a ausência de amplificação levou a uma maior sobrevida livre de progressão (PFS) (HR = 1,95, IC 95%: 1,

28-2, 99 $p = 0,003$) e sobrevida global (OS) (HR = 1,69, IC 95%: 1,01-2,84 $p = 0,056$), (Stronach et al. 2018).

Nos nossos resultados assim como Etemadmoghadam et al. (2013a ou b) encontramos que a hiperexpressão de ciclina E1 esteve fortemente associada à resistência à quimioterapia com um menor tempo para recidiva platina resistente nas pacientes com hiperexpressão mantido após ajuste para outros fatores prognósticos relevantes. Na nossa coorte porém a associação com a SLP e SG vista na análise univariada não se manteve estatisticamente significativa na multivariada. Os achados dos estudos acima citados, onde a associação com a SG e SLP variou de acordo com o método empregado (amplificação gênica ou pesquisa da expressão de ciclina E1 por imunohistoquímica), juntamente com nossos achados sugerem que a amplificação tenha uma associação mais forte com a sobrevida que a hiperexpressão e que o impacto principal seja da amplificação ou da hiperexpressão é aumentar a resistência à platina.

A hiperexpressão da ciclina E é reconhecida como marcador de mau prognóstico em várias neoplasias, como câncer gastrointestinal, câncer de mama, câncer de pulmão, câncer de bexiga e câncer retal (Zhou et al. 2011; Huang et al. 2012; Akli et al. 2012; Gao et al. 2013; Huang et al. 2015). Alguns trabalhos mais recentes tem identificado a associação de amplificação de *CCNE1* com resistência à terapias alvo. No câncer de mama tivemos recentemente a avaliação de um painel de expressão gênica nas amostra tumorais das pacientes do estudo PALOMA-3. Este estudo avaliou o papel do palbociclibe, um inibidor de CDK 4/6, no cenário de câncer de mama metastático em que as pacientes foram randomizadas para receberem fulvestranto em combinação com palbociclibe ou fulvestranto com placebo, que resultou em aumento significativo da SLP para o braço da nova droga (Cristofanilli et al. 2016). O objetivo deste painel era identificar biomarcadores preditivos para a eficácia relativa de adicionando palbociclibe ao fulvestranto. A adição de palbociclibe ao fulvestranto demonstrou eficácia em todos os grupos de biomarcadores, embora a alta expressão do mRNA do *CCNE1* foi associada à resistência relativa ao palbociclibe, sendo o fator preditivo mais significativo (mPFS 14,1 m x 7,6 m, HR, 0,85(95% CI, 0,58 to 1,26, $p = 0,0238$) (Turner et al. 2019).

Lheureux et al. (2019) avaliaram o papel da associação do cediranibe, um antiangiogênico oral, ao olaparibe, um inibidor da poli (ADP-ribose) polimerase como forma de superar a resistência ao iPARP em pacientes com câncer de ovário sensível à platina com recidiva após progressão de inibidor de Parp isolado. Exoma completo e sequenciamento de RNA foram realizados em tecidos de tumores em amostras pré e pós o tratamento inicial com iPARP. As análises moleculares identificaram diferentes mecanismos de resistência a iPARP

em aproximadamente 77% das pacientes. A amplificação de *CCNE1* foi um destes mecanismos identificados (Lheureux et al. 2019).

Na nossa coorte não tivemos pacientes tratadas com iPARP para avaliar o impacto da hiperexpressão de *CCNE1* na eficácia deste tipo de tratamento.

5.4 BENEFÍCIO DO BEVACIZUMABE NO CENÁRIO DE CÂNCER DE OVÁRIO RECORRENTE PLATINA SENSÍVEL E O PAPEL PREDITIVO DO INTERVALO LIVRE DE PLATINA (PFI) E DA EXPRESSÃO DE *CCNE1* PARA A EFICÁCIA DO BEVACIZUMABE

Uma outra análise realizada avaliou de forma pareada pacientes tratados com Bevacizumabe (Bev) e pacientes que não receberam a medicação. Os resultados sugerem a expressão de *CCNE1* e PFI como marcadores do benefício do bevacizumabe. Podemos confirmar o benefício na sobrevida livre de progressão trazido pelo bevacizumabe em população não selecionada e o papel prognóstico do PFI. A hiperexpressão de ciclina E1 não teve um papel apreciável como marcador prognóstico na população geral, no entanto, pacientes com hiperexpressão pareciam obter o maior benefício da introdução do bevacizumabe, enquanto pacientes com baixa expressão não tinham benefício. Assim, apesar do pequeno número de pacientes envolvidos na análise, a hiperexpressão de *CCNE1* pode ser vista como um potencial biomarcador do benefício do bevacizumabe.

O bevacizumabe demonstrou melhorar a sobrevida livre de progressão em todos os contextos de tratamento do câncer de ovário, mas carece de um biomarcador, durante o tratamento primário (Burger et al. 2011; Perren et al. 2011), recidiva sensível à platina (Aghajanian et al. 2012) e recorrência resistente à platina (Pujade-Lauraine et al. 2014). Na primeira linha, a densidade microvascular avaliada pela expressão de CD31 e os subtipos de expressão gênica proliferativa e mesenquimal foram associados à eficácia do bevacizumabe nos estudos GOG218 e ICON7, respectivamente (Birrer et al. 2015; Kommoss et al. 2017). Apesar desses achados iniciais, eles não foram validados prospectivamente até o momento e não há um biomarcador bem estabelecido (preditivo) de benefício do bevacizumabe.

A magnitude do benefício do bevacizumabe no presente estudo (PFS HR de 0,54) está de acordo com os grandes estudos prospectivos (Aghajanian et al. 2012; Coleman et al. 2017). Os pacientes dos dois grupos foram pareados para os principais fatores prognósticos, como intervalo livre de platina, histologia do tumor e número de linhas de tratamento anteriores.

Nenhuma característica foi desequilibrada entre pacientes Bev e não-Bev, com exceção da hiperexpressão de ciclina E1 que predominou no grupo Bev. É digno de nota que os médicos responsáveis pelo tratamento prescreveram ou não o bevacizumabe sem o conhecimento prévio do status da ciclina E1. Caso contrário, poder-se-ia sugerir que os tumores com hiperexpressão de ciclina 1 foram considerados mais agressivos, exigindo intensificação do tratamento.

O benefício do bevacizumabe esteve presente apenas no grupo de pacientes com hiperexpressão de *CCNE1*. Apesar do pior prognóstico de pacientes com hiperexpressão de *CCNE1* não tratadas com bevacizumabe (SLP mediana 7,1 meses), a SLP mediana de pacientes com hiperexpressão de *CCNE1* tratadas com bevacizumabe foi semelhante a das pacientes sem hiperexpressão de *CCNE1* não tratadas com bevacizumabe (SLP mediana 16,3 meses). Quanto ao PFI, o maior benefício do bevacizumabe no grupo com hiperexpressão de ciclina E1 poderia estar relacionado apenas à associação entre hiperexpressão de ciclina E1 e resistência da platina. Porém outra explicação possível vem do fato da amplificação do *CCNE1* ser mutuamente excludente com a deficiência de recombinação homóloga (Ciriello et al. 2012; Stronach et al. 2018) devido a uma relação de letalidade sintética entre as duas vias (Etemadmoghadam et al. 2013a ou b), e a terapia anti-angiogênica poder resultar em deficiência de recombinação homóloga (Chan et al. 2010). Isso poderia estabelecer a base biológica para o papel preditivo da hiperexpressão de *CCNE1* encontrada em nosso estudo.

Por ser mutuamente excludente com a deficiência de recombinação homóloga, pode-se argumentar que o papel preditivo da hiperexpressão de ciclina E1 poderia, na realidade, ser impulsionado por uma eficácia diferente da terapia antiangiogênica entre os tumores deficientes em recombinação homóloga. Porém, uma avaliação retrospectiva do ensaio de primeira linha com bevacizumabe do GOG não encontrou nenhuma associação entre mutações no gene da recombinação homóloga e a eficácia do bevacizumabe (Norquist et al. 2018).

O intervalo livre de platina é o fator prognóstico mais importante na recidiva do câncer ovariano (Lee et al. 2012). Também é um marcador de resposta à reexposição à platina, ou seja, quanto maior a PFI, maior a probabilidade de resposta à terapia com platina (Lindemann et al. 2018). Nos dois ensaios de fase 3 do bevacizumabe no cenário sensível à platina, os pacientes com PFI entre 6 e 12 meses tiveram um maior benefício do bevacizumabe do que os pacientes com PFI mais longo (Aghajanian et al. 2012; Coleman et al. 2017). Além disso, entre todos os estudos fase III em câncer de ovário, o maior benefício relativo do bevacizumabe foi observado no cenário resistente à platina (Pujade-Lauraine et al. 2014). No presente estudo, constatou-se que a duração da PFI afeta o benefício do bevacizumabe, com benefício em pacientes com PFI de 6 a 12 meses e benefício não estatisticamente significativo em pacientes com PFI maior que

12 meses. A ausência de benefício no subgrupo PFI mais longo neste estudo pode ser decorrente da pequena amostra e poder estatístico limitado inerente, embora o teste de interação estatisticamente significativo ($p = 0,005$) tenha identificado um benefício distinto do bevacizumabe de acordo com a duração da PFI.

O benefício aparentemente maior do bevacizumabe observado entre pacientes com sensibilidade limítrofe à platina (PFI 6-12 meses) pode derivar da menor sensibilidade à platina nesse cenário. Com uma quimioterapia menos eficaz, um efeito constante do bevacizumabe resultaria em um benefício relativo maior. Apesar desta hipótese, pelo menos um estudo sugeriu um papel mais importante para a angiogênese nos tumores resistentes à platina do que nos tumores sensíveis à platina com maior expressão de VEGFR2 em tumores resistentes à platina (Avril et al. 2017). O pano de fundo biológico para essa hipótese deve ser mais investigado.

O PFI como marcador clínico da eficácia do bevacizumabe a priori não leva à mudança da prática clínica, pois os resultados vieram de análises de subgrupo e o benefício do bevacizumabe está presente nos estudos para toda a população, mas atualmente há a opção de inibidores de PARP para tratamento de manutenção. Para as pacientes com *BRCA1/2* não mutado no cenário sensível à platina (Ledermann et al. 2014; Mirza et al. 2016; MD PRLC 2017), esses dados poderiam ajudar a orientar as decisões sobre a melhor opção de manutenção para essas pacientes.

No presente estudo, riscos não proporcionais para o bevacizumabe na SLP estavam presentes como em vários ensaios randomizados com bevacizumabe (Mok et al. 2009). O benefício do bevacizumabe nos pacientes hiperexpressores de *CCNE1*, porém, mostrou um padrão de risco proporcional.

Como perspectivas futuras estamos ampliando o número de pacientes do nosso banco de dados, atualmente com 815 pacientes, e fazer a avaliação da amplificação de *CCNE1* por *FISH*, buscando avaliar se encontraremos associação entre a amplificação do *CCNE1* e SLP e SG, e não apenas a diferença numérica como encontramos com a avaliação de hiperexpressão de ciclina E1 sem significância estatística, e confirmar os achados de predição do efeito de bevacizumabe.

5.5 LIMITAÇÕES

Nosso estudo apresenta várias limitações, devido à sua natureza retrospectiva, com dados clínicos e de evolução nem sempre completos, obtidos de prontuários das pacientes, e a falta de material biológico para análise de muitas pacientes.

Ausência de padronização para quantificação da ciclina E1 e anticorpo.

Em relação a análise do uso de bevacizumabe a para análise da hiperexpressão de ciclina E1 tivemos: pequeno número de pacientes, com um teste de interação não estatisticamente significativo ($p=0,202$), e a ausência de validação externa, que limitam qualquer conclusão definitiva. Apesar dessas limitações, os dois grupos de tratamento foram pareados para os fatores prognósticos mais importantes.

6 CONCLUSÕES

Em nosso estudo concluímos que a imunoistoquímica não foi eficaz para avaliar a expressão de WEE1, e em relação a ciclina E1 nossos achados sugerem que, a imunoistoquímica não parece ser o método mais acuraz para avaliar o impacto das alterações relacionadas à ciclina E1. A avaliação no nível genômico existe como alternativa a ser explorada

Nossos achados reforçam o valor clínico do status da ciclina E1 no câncer de ovário, como um forte preditor da curso biológico da doença. A correlação entre hiperexpressão de ciclina E1 e menor tempo para progressão de doença no cenário platino resistente apontam à importância da ciclina E1 como marcador de pior prognóstico.

Foi novo o achado da hiperexpressão de ciclina E1 como potencial biomarcador de resposta ao tratamento com bevacizumabe. Embora nosso estudo seja retrospectivo e o número de pacientes avaliados seja pequeno, e esse achado deva ser validado por outros estudos, gerou uma hipótese inovadora, que pode ser a resposta a uma lacuna na prática clínica, possibilitando ajudar na seleção de quais pacientes se beneficiarão mais com o uso de bevacizumabe.

As características clínicas e desfechos encontradas nesta população com carcinoma de ovário avaliada, estão de acordo com a literatura médica.

7 REFERÊNCIAS

Aarts M, Bajrami M I, Herrera-abreu MT, Elliott R, Brough R, Ashworth A, et al. Functional genetic screen identifies increased sensitivity to WEE1 inhibition in cells with defects in fanconi Anemia and HR pathways. *Mol Cancer Ther.* 2015;14(4):865-76.

Aghajanian C, Blank SV, Goff BA, Judson PL, Teneriello MG, Husain A, et al. OCEANS: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial of chemotherapy with or without bevacizumab in patients with platinum-sensitive recurrent epithelial ovarian, primary peritoneal, or fallopian tube cancer. *J Clin Oncol.* 2012;30(17):2039-45.

Aghajanian C, Goff B, Nycum LR, Wang YV, Husain A, Blank SV. Final overall survival and safety analysis of OCEANS, a phase 3 trial of chemotherapy with or without bevacizumab in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2015;139(1):10-6.

Akli S, Bui T, Wingate H, Biernacka A, Moulder S, Tucker SL, et al. Low-molecular-weight cyclin E can bypass letrozole-induced G1 arrest in human breast cancer cells and tumors. *Clin Cancer Res* 2010;16(4):1179-90.

Akli S, Zhang XQ, Bondaruk J, Tucker SL, Czerniak PB, Benedict WF, et al. Low molecular weight cyclin E is associated with p27-resistant, highgrade, high-stage and invasive bladder cancer. *Cell Cycle.* 2012;11(7):1468-76.

Alberts D. S, Liu P.Y, O'Toole R, Williams SD, Young JA, et al Intraperitoneal cisplatin plus intravenous cyclophosphamide versus intravenous cisplatin plus intravenous cyclophosphamide for stage III ovarian cancer. *N Engl J Med.* 1996;335(26):1950-5.

Albertson DG, Collins C, McCormick F, Gray JW. Chromosome aberrations in solid tumors. *Nat Gene.* 2003;34(4):369-76.

Aleem E, Kiyokawa H, Kaldis P. Cdc2–cyclin E complexes regulate the G1/S phase transition. *Nat Cell Biol.* 2005;7(8):831-6.

Al Rawahi T, Lopes AD, Bristow RE, Bryant A, Elattar A, Chattopadhyay S, et al. Surgical cytoreduction for recurrent epithelial ovarian cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013(2):CD008765.

Alsop K, Fereday S, Meldrum C, deFazio A, Emmanuel C, George J, et al. BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 2012;30(21):2654-63.

Armstrong DK, Bundy B, Wenzel L, Huang HQ, Baergen R, et al. Intraperitoneal cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2006;354(1):34–43.

Au-Yeung G, Lang F, Azar WJ, Mitchell C, Jarman KE, Lackovic K, et al. Selective targeting of cyclin e1-amplified high-grade serous ovarian cancer by cyclindependent kinase 2 and AKT inhibition. *Clin Cancer Res.* 2017;23(7):1862-74.

Avril S, Dincer Y, Malinowsky K, Wolff C, Gündisch S, Hapfelmeier A, et al. Increased PDGFR-beta and VEGFR-2 protein levels are associated with resistance to platinum-based chemotherapy and adverse outcome of ovarian cancer patients. *Oncotarget.* 2017;8(58):97851–61.

Ayhan A, Kuhn E, Wu RC, Ogawa H, Bahadırli-Talbott A, Mao TL, et al. CCNE1 copy-number gain and overexpression identify ovarian clear cell carcinoma with a poor prognosis. *Mod Pathol.* 2017;30(2):297–303.

Aziz D, Etemadmoghadam D, Caldon CE, Au-Yeung G, Deng N, Hutchinson R, et al. 19q12 amplified and non-amplified subsets of high grade serous ovarian cancer with overexpression of cyclin E1 differ in their molecular drivers and clinical outcomes. *Gynecol Oncol.* 2018;151(2):327–36.

Barton MC, Akli S, Keyomarsi K. Deregulation of cyclin E meets dysfunction in p53: closing the escape hatch on breast cancer. *J Cell Physiol.* 2006;209(3):686-694

Bester AC, Roniger M, Oren YS, Im MM, Sarni D, Chaoat M, et al. Nucleotide deficiency promotes genomic instability in early stages of cancer development. *Cell.* 2011;145(3):435–46.

Bedrosian I, Lee C, Tucker SL, Palla SL, Lu K, Keyomarsi K. Cyclin E-associated kinase activity predicts response to platinum-based chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 2007;13(16):4800-6.

Begnamí MD. Classificação molecular dos carcinomas gástricos. [Tese]. São Paulo; Fundação Antônio Prudente; 2007.

Birrer MJ, Choi Y, Brady MF, Mannel RS, Burger RA, WEI W, et al. Retrospective analysis of candidate predictive tumor biomarkers (BMs) for efficacy in the GOG-0218 trial evaluating front-line carboplatin–paclitaxel (CP) ± bevacizumab (BEV) for epithelial ovarian cancer (EOC). *J Clin Oncol.* 2015;33(15):5505–5.

Blagden SP, Hamilton AL, Mileschkin L, et al. Phase IB dose escalation and expansion study of AKT inhibitor afuresertib with carboplatin and paclitaxel in recurrent platinum-resistant ovarian cancer. *Clin Cancer Res.* 2019;25(5):1472-8.

Bortner DM, Rosenberg MP. Induction of mammary gland hyperplasia and carcinomas in transgenic mice expressing human cyclin E. *Mol Cell Biol.* 1997;17(1):453-9.

Bowtell DD. The genesis and evolution of high-grade serous ovarian cancer. *Nat Rev Cancer.* 2010;10(11):803-8.

Bracken AP, Ciro M, Cocito A, Helin K. E2F target genes: unraveling the biology. *Trends Biochem Sci.* 2004;29(8):409-17.

Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [published correction appears in *CA Cancer J Clin.* 2020;70(4):313]. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.

Bucher N, Britten CD. G2 checkpoint abrogation and checkpoint kinase-1 targeting in the treatment of cancer. *Br J Cancer.* 2008;98(3):523-528.

Burger RA, Brady MF, Bookman MA, Fleming GF, Monk BJ, Huang H, et al. Incorporation of bevacizumab in the primary treatment of ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2011;365(26):2473-83.

Caldon CE, Musgrove EA. Distinct and redundant functions of cyclin E1 and cyclin E2 in development and cancer. *Cell Div.* 2010;5:2.

Campaner S, Doni M, Hydbring P, Verrecchia A, Bianchi L, Sardella D, et al. Cdk2 suppresses cellular senescence induced by the c-myc oncogene. *Nat Cell Biol.* 2010;12(1):54-9.

Cannistra SA. Cancer of the ovary [published correction appears in *N Engl J Med.* 2005;352(1):104. *N Engl J Med.* 2004;351(24):2519-29.

Caruso JA, Duong MT, Carey JPW, Hunt KK, Keyomarsi K. Low-Molecular-Weight Cyclin E in human cancer: cellular consequences and opportunities for targeted therapies. *Cancer Res.* 2018;78(19):5481-91.

Chan JK, Brady MF, Penson RT, Huang H, Birrer MJ, Walker JL, et al. Weekly vs. Every-3-week paclitaxel and carboplatin for ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2016;374(98):738-48.

Chan N, Bristow RG. "Contextual" synthetic lethality and/or loss of heterozygosity: tumor hypoxia and modification of DNA repair. *Clin Cancer Res.* 2010;16(18):4553-60.

Chang SJ, Hodeib M, Chang J, Bristow RE. Survival impact of complete cytoreduction to no gross residual disease for advanced-stage ovarian cancer: a meta-analysis. *Gynecol Oncol.* 2013;130(3):493-8.

Chen HZ, Tsai SY, Leone G. Emerging roles of E2Fs in cancer: an exit from cell cycle control. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(11):785-97.

Chen Z, Indjeian VB, McManus M, Wang L, Dynlacht BD. CP110, a cell cycle-dependent CDK substrate, regulates centrosome duplication in human cells. *Dev Cell*. 2002;3(3):339-50.

Ciriello G, Cerami E, Sander C, Schultz N. Mutual exclusivity analysis identifies oncogenic network modules. *Genome Res*. 2012;22(2):398-406.

Clamp AR, James EC, McNeish IA, Dean A, Kim JW, O'Donnell DM, et al. Weekly dose-dense chemotherapy in first-line epithelial ovarian, fallopian tube, or primary peritoneal carcinoma treatment (ICON8): primary progression free survival analysis results from a GCIg phase 3 randomised controlled trial. *Lancet*. 2019;394(10214):2084-95.

Classon M, Harlow E. The retinoblastoma tumour suppressor in development and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(12):910-7.

Coleman RL, Brady MF, Herzog TJ, Sabbatini P, Armstrong DK, Walker JL, et al. Bevacizumab and paclitaxel-carboplatin chemotherapy and secondary cytoreduction in recurrent, platinum-sensitive ovarian cancer (NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group study GOG-0213): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(6):779-91.

Coleman RL, Oza AM, Lorusso D, Aghajanian C, Oaknin A, Dean A, et al. Rucaparib maintenance treatment for recurrent ovarian carcinoma after response to platinum therapy (ARIEL3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [published correction appears in *Lancet*. 2017 Oct 28;390(10106):1948]. *Lancet*. 2017;390(10106):1949-61.

Coleman RL, Fleming GF, Brady MF, Swisher EM, Steffensen KD, Friedlander M, et al. Veliparib with first-line chemotherapy and as maintenance therapy in ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2019;381(25):2403-15.

Colombo PE, Fabbro M, Theillet C, Bibeau F, Rouanet P, Ray-Coquard I. Sensitivity and resistance to treatment in the primary management of epithelial ovarian cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2014;89(2):207-16.

Cristofanilli M, Turner NC, Bondarenko I, Ro J, Im SA, Masuda N, et al. Fulvestrant plus palbociclib versus fulvestrant plus placebo for treatment of hormone-receptor-positive, HER2-negative metastatic breast cancer that progressed on previous endocrine therapy (PALOMA-3): final analysis of the multicentre, double-blind, phase 3 randomised controlled trial [published correction appears in *Lancet Oncol*. 2016;17 (4):e136] [published correction appears in *Lancet Oncol*. 2016;17 (7):e270]. *Lancet Oncol*. 2016;17(4):425-39.

Davidson B, Skrede M, Silins I, Shih IeM, Trope CG, Flørenes VA. Low-molecular weight forms of cyclin E differentiate ovarian carcinoma from cells of mesothelial origin and are associated with poor survival in ovarian carcinoma. *Cancer*. 2007;110(6):1264-71.

Debies MT, Welch DR. Genetic basis of human breast cancer metastasis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2001;6(4):441-51.

Del Carmen MG, Birrer M, Schorge JO. Clear cell carcinoma of the ovary: a review of the literature. *Gynecol Oncol*. 2012;126(3):481-90.

Del Campo JM, Matulonis UA, Malander S, Provencher D, Mahner S, Follana P, et al. Niraparib maintenance therapy in patients with recurrent ovarian cancer after a partial response to the last platinum-based chemotherapy in the ENGOT-OV16/NOVA Trial. *J Clin Oncol*. 2019;37(32):2968-73.

DeLair DF, Burke KA, Selenica P, Lim RS, Scott SN, Middha S, et al. The genetic landscape of endometrial clear cell carcinomas. *J Pathol*. 2017;243(2):230-41.

Desmedt C, Ouriaghli FE, Durbecq V, Soree A, Colozza MA, Azambuja E, et al. Impact of cyclins E, neutrophil elastase and proteinase 3 expression levels on clinical outcome in primary breast cancer patients. *Int J Cancer*. 2006;119(11):2539-45.

Do K, Wilsker D, Ji J, Zlott J, Freshwater T, Kinders RJ, et al. Phase I Study of Single-Agent AZD1775 (MK-1775), a weel kinase inhibitor, in patients with refractory solid tumors. *J Clin Oncol*. 2015;33(30):3409-15.

du Bois A, Lück HJ, Meier W, Adams HP, Möbus V, Costa S, et al. A randomized clinical trial of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel as first-line treatment of ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95(17):1320-29.

du Bois A, Reuss A, Pujade-Lauraine E, Harter P, Ray-Coquard I, Pfisterer J. Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: a combined exploratory analysis of 3 prospectively randomized phase 3 multicenter trials: by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom (AGO-OVAR) and the Groupe d'Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l'Ovaire (GINECO). *Cancer*. 2009;115(6):1234-44.

du Bois A, Schouli J, Vergote I, Ferron G, Reuss A, Meier Werner et al. Randomized phase III study to evaluate the impact of secondary cytoreductive surgery in recurrent ovarian cancer: final analysis of AGO DESKTOP III/ENGOT-ov20 [abstract]. *J Clin Oncol*. 2020;38:(15 suppl):6000. [Presented at 2020 ASCO Annual Meeting I, Virtual. August 8-10, 2020].

Egeland EV, Flatmark K, Nesland JM, Flørenes VA, Mælandsmo GM, Boye K. Expression and clinical significance of Wee1 in colorectal cancer. *Tumour Biol*. 2016;37(9):12133-40.

Ekholm-Reed S, Méndez J, Tedesco D, Zetterberg A, Stillman B, Reed SI. Deregulation of cyclin E in human cells interferes with prereplication complex assembly. *J Cell Biol*. 2004;165(6):789-800.

Elbæk CR, Petrosius V, Sørensen CS. WEE1 kinase limits CDK activities to safeguard DNA replication and mitotic entry. *Mutat Res*. 2020;819-820:111694.

Elit L, Hirte H. Palliative systemic therapy for women with recurrent epithelial ovarian cancer: current options. *Onco Targets Ther*. 2013;6:107-18.

Etemadmoghadam D, deFazio A, Beroukhi R, Mermel C, George J, Getz G, et al. Integrated genome-wide DNA copy number and expression analysis identifies distinct mechanisms of primary chemoresistance in ovarian carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2009;15(4):1417-27.

Etemadmoghadam D, George J, Cowin PA, Cullinane C, Kansara M; Australian Ovarian Cancer Study Group, et al. Amplicon-dependent CCNE1 expression is critical for clonogenic survival after cisplatin treatment and is correlated with 20q11 gain in ovarian cancer. *PLoS One.* 2010;5(11):e15498.

Etemadmoghadam D, Weir BA, Au-Yeung G, Alsop K, Mitchell G, George J, et al. Synthetic lethality between CCNE1 amplification and loss of BRCA1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013a;110(48):19489-94.

Etemadmoghadam D, Au-Yeung G, Wall M, Mitchell C, Kansara M, Loehrer E, et al. Resistance to CDK2 inhibitors is associated with selection of polyploid cells in CCNE1-amplified ovarian cancer. *Clin Cancer Res.* 2013b;19(21):5960-71.

Fader AN, Rose PG. Role of surgery in ovarian carcinoma. *J Clin Oncol.* 2007;25(20):2873-83.

Farley J, Smith LM, Darcy KM, Sobel E, O'Connor D, Henderson B, et al. Cyclin E expression is a significant predictor of survival in advanced, suboptimally debulked ovarian epithelial cancers: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer Res.* 2003;63(6):1235-41.

Formisano L, Lu Y, Servetto A, Hanker AB, Jansen VM, Bauer JA, et al. Aberrant FGFR signaling mediates resistance to CDK4/6 inhibitors in ER+ breast cancer. *Nat Commun.* 2019;10(1):1373.

Fong PC, Boss DS, Yap TA, Tutt A, Wu P, Mergui-Roelvink M, et al. Inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers. *N Engl J Med.* 2009;361(2):123-34.

Friedlander M, Matulonis U, Gourley C, du Bois A, Vergote I, Rustin G, et al. Long-term efficacy, tolerability and overall survival in patients with platinum-sensitive, recurrent high-

grade serous ovarian cancer treated with maintenance olaparib capsules following response to chemotherapy. *Br J Cancer*. 2018;119(9):1075-85.

Frumovitz M, Schmeler KM, Malpica A, Sood AK, Gershenson DM. Unmasking the complexities of mucinous ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2010;117(3):491-6.

Fu YP, Kohaar I, Moore LE, Lenz P, Figueroa JD, Tang W, et al. The 19q12 bladder cancer GWAS signal: association with cyclin E function and aggressive disease. *Cancer Res*. 2014;74(20):5808-18.

Gao S, Ma JJ, Lu C. Prognostic value of cyclin E expression in breast cancer: a meta-analysis. *Tumour Biol*. 2013;34(6):3423-30.

González-Martín A, Pothuri B, Vergote I, et al. Niraparib in patients with newly diagnosed advanced ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2019;381(25):2391-2402.

Gray-Bablin J, Zalvide J, Fox MP, Knickerbocker CJ, DeCaprio JA, Keyomarsi K. Cyclin E, a redundant cyclin in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(26):15215-220.

Grisham RN, Sylvester BE, Won H, McDermott G, DeLair D, Ramirez R, et al. Extreme outlier analysis identifies occult mitogen-activated protein kinase pathway mutations in patients with low-grade serous ovarian cancer. *J Clin Oncol*. 2015;33(34):4099-105.

Groen RS, Gershenson DM, Fader AN. Updates and emerging therapies for rare epithelial ovarian cancers: one size no longer fits all. *Gynecol Oncol*. 2015;136(2):373-83.

Guertin AD, Li J, Liu Y, Hurd MS, Schuller AG, Long B, et al. Preclinical evaluation of the WEE1 inhibitor MK-1775 as single-agent anticancer therapy. *Mol Cancer Ther*. 2013;12(8):1442-52.

Gurung A, Hung T, Morin J, Gilks CB. Molecular abnormalities in ovarian carcinoma: clinical, morphological and therapeutic correlates. *Histopathology*. 2013;62(1):59-70.

Haas K, Johannes C, Geisen C, Schmidt T, Karsunky H, Blass-Kampmann S, et al. Malignant transformation by cyclin E and Ha-Ras correlates with lower sensitivity towards induction of cell death but requires functional Myc and CDK4. *Oncogene*. 1997;15(21):2615-23.

Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57-70.

Harris PS, Venkataraman S, Alimova I, Birks DK, Balakrishnan I, Cristiano B, et al. Integrated genomic analysis identifies the mitotic checkpoint kinase WEE1 as a novel therapeutic target in medulloblastoma. *Mol Cancer*. 2014;13:72.

Harter P, Sehouli J, Lorusso D, Reuss A, Vergote I, Marth C, et al. LION: Lymphadenectomy in ovarian neoplasms: a prospective randomized AGO study group led gynecologic cancer intergroup trial [abstract]. *J Clin Oncol*. 2017;35(15 suppl):5500. [Presented at 2020 ASCO Annual Meeting I, Virtual. August 8-10, 2020].

Heald R, McLoughlin M, McKeon F. Human wee1 maintains mitotic timing by protecting the nucleus from cytoplasmically activated Cdc2 kinase. *Cell*. 1993;74(3):463-74.

Hinds PW, Dowdy SF, Eaton EN, Arnold A, Weinberg RA. Function of a human cyclin gene as an oncogene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(2):709-13.

Hirai H, Iwasawa Y, Okada M, Arai T, Nishibata T, Kobayashi M, et al. Small-molecule inhibition of Wee1 kinase by MK-1775 selectively sensitizes p53-deficient tumor cells to DNA-damaging agents. *Mol Cancer Ther*. 2009;8(11):2992-3000.

Hirai H, Arai T, Okada M, Nishibata T, Kobayashi M, Sakai N, et al. MK-1775, a small molecule Wee1 inhibitor, enhances anti-tumor efficacy of various DNA-damaging agents, including 5-fluorouracil. *Cancer Biol Ther*. 2010;9(7):514-22.

Huang LN, Wang DS, Chen YQ, Li W, Hu FD, Gong BL, et al. Meta-analysis for cyclin E in lung cancer survival. *Clin Chim Acta*. 2012;413(7-8):663-8.

Huang L, Ren F, Tang R, Feng Z, Chen G. Prognostic value of expression of cyclin e in gastrointestinal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Technol Cancer Res Treat*. 2016;15(1):12-19.

Huber AR, Tan D, Sun J, Dean D, Wu T, Zhou Z. High expression of carbonic anhydrase IX is significantly associated with glandular lesions in gastroesophageal junction and with tumorigenesis markers BMI1, MCM4 and MCM7. *BMC Gastroenterol*. 2015;15:80.

Hwang HC, Clurman BE. Cyclin E in normal and neoplastic cell cycles. *Oncogene*. 2005;24(17):2776-86.

Iorns E, Lord CJ, Grigoriadis A, McDonald S, Fenwick K, Mackay A, et al. Integrated functional, gene expression and genomic analysis for the identification of cancer targets. *PLoS One*. 2009;4(4):e5120.

Iyer DR, Rhind N. The Intra-S Checkpoint Responses to DNA Damage. *Genes (Basel)*. 2017;8(2):74.

Jansen MP, Reijm EA, Sieuwerts AM, Ruigrok-Ritstier K, Look MP, Rodríguez-González FG, et al. High miR-26a and low CDC2 levels associate with decreased EZH2 expression and with favorable outcome on tamoxifen in metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;133(3):937-47.

Kanska J, Zakhour M, Taylor-Harding B, Karlan BY, Wiedemeyer WR. Cyclin E as a potential therapeutic target in high grade serous ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2016;143(1):152-8.

Kastan MB, Bartek J. Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature*. 2004;432(7015):316-23.

Karnak D, Engelke CG, Parsels LA, Kausar T, Wei D, Robertson JR, et al. Combined inhibition of Wee1 and PARP1/2 for radiosensitization in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*. 2014;20(19):5085-96.

Karst AM, Jones PM, Vena N, Ligon AH, Liu JF, Hirsch MS, et al. Cyclin E1 deregulation occurs early in secretory cell transformation to promote formation of fallopian tube-derived high-grade serous ovarian cancers. *Cancer Res.* 2014;74(4):1141-52.

Katsumata N, Yasuda M, Takahashi F, Isonishi S, Jobo T, Aoki D, et al. Dose-dense paclitaxel once a week in combination with carboplatin every 3 weeks for advanced ovarian cancer: a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet.* 2009;374(9698):1331-8.

Katsumata N, Yasuda M, Isonishi S, Takahashi F, Michimae H, Kimura E, et al. Long-term results of dose-dense paclitaxel and carboplatin versus conventional paclitaxel and carboplatin for treatment of advanced epithelial ovarian, fallopian tube, or primary peritoneal cancer (JGOG 3016): a randomised, controlled, open-label trial. *Lancet Oncol.* 2013;14(10):1020-6.

Kawada M, Uehara Y, Mizuno S, Yamori T, Tsuruo T. Up-regulation of p27Kip1 correlates inversely with anchorage-independent growth of human cancer cell lines. *Jpn J Cancer Res.* 1998;89(2):110-5.

Kawabe T. G2 checkpoint abrogators as anticancer drugs. *Mol Cancer Ther.* 2004;3(4):513-9.

Kelemen LE, Köbel M. Mucinous carcinomas of the ovary and colorectum: different organ, same dilemma. *Lancet Oncol.* 2011;12(11):1071-80.

Kim HY, Cho Y, Kang H, Yim YS, Kim SJ, Song J, et al. Targeting the WEE1 kinase as a molecular targeted therapy for gastric cancer. *Oncotarget.* 2016;7(31):49902-16.

Kim G, Ison G, McKee AE, Zhang H, Tang S, Gwise T, et al. FDA approval summary: olaparib monotherapy in patients with deleterious germline BRCA-mutated advanced ovarian cancer treated with three or more lines of chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 2015;21(19):4257-61.

Kreahling JM, Gemmer JY, Reed D, Letson D, Bui M, Altioek S. MK1775, a selective Wee1 inhibitor, shows single-agent antitumor activity against sarcoma cells. *Mol Cancer Ther.* 2012;11(1):174-82.

Koepp DM, Schaefer LK, Ye X, Keyomarsi K, Chu C, Harper JW, et al. Phosphorylation-dependent ubiquitination of cyclin E by the SCFFbw7 ubiquitin ligase. *Science.* 2001;294(5540):173-7.

Koff A, Cross F, Fisher A, Schumacher J, Leguellec K, Philippe M, et al. Human cyclin E, a new cyclin that interacts with two members of the CDC2 gene family. *Cell.* 1991;66(6):1217-28.

Koff A, Giordano A, Desai D, Yamashita K, Harper JW, Elledge S, et al. Formation and activation of a cyclin E-cdk2 complex during the G1 phase of the human cell cycle. *Science.* 1992;257(5077):1689-94.

Kommoss S, Winterhoff B, Oberg AL, Konecny GE, Wang C, Riska SM, et al. Bevacizumab may differentially improve ovarian cancer outcome in patients with proliferative and mesenchymal molecular subtypes. *Clin Cancer Res.* 2017;23(14):3794-801.

Konstantinopoulos PA, Ceccaldi R, Shapiro GI, D'Andrea AD. Homologous recombination deficiency: exploiting the fundamental vulnerability of ovarian cancer. *Cancer Discov.* 2015;5(11):1137-54

Labrie M, Kim TB, Ju Z, Lee S, Zhao W, Fang Y, et al. Adaptive responses in a PARP inhibitor window of opportunity trial illustrate limited functional interlesional heterogeneity and potential combination therapy options. *Oncotarget.* 2019;10(37):3533-46.

Lallo A, Frese KK, Morrow CJ, Sloane R, Gulati S, Schenk MW, et al. The combination of the PARP inhibitor olaparib and the wee1 inhibitor azd1775 as a new therapeutic option for small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2018;24(20):5153-64.

Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, et al. Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2012;366(15):1382-92.

Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial [published correction appears in *Lancet Oncol.* 2015;16(4):e158]. *Lancet Oncol.* 2014;15(8):852-61.

Lee CK, Simes RJ, Brown C, GebSKI V, Pfisterer J, Swart AM, et al. A prognostic nomogram to predict overall survival in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer. *Ann Oncol.* 2013;24(4):937-43.

Leijen S, Beijnen JH, Schellens JH. Abrogation of the G2 checkpoint by inhibition of Wee-1 kinase results in sensitization of p53-deficient tumor cells to DNA-damaging agents. *Curr Clin Pharmacol.* 2010;5(3):186-91.

Leijen S, van Geel RM, Pavlick AC, Tibes R, Rosen L, Razak AR, et al. Phase I study evaluating WEE1 inhibitor AZD1775 as monotherapy and in combination with gemcitabine, cisplatin, or carboplatin in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol.* 2016;34(36):4371-80.

Lheureux S, Oaknin A, Garg S, Bruce J, Dhani NC, Madariaga A, et al. Evolve: a post PARP inhibitor clinical translational phase II trial of cediranib-olaparib in ovarian cancer: a Princess Margaret Consortium – GCIG Phase II Trial [abstract]. *J Clin Oncol.* 2019;37(15 suppl):5521. [Presented at 2019 ASCO Annual Meeting I, May 31-June 4 in Chicago-II]

Lheureux S, Cabanero M, Cristea MC, Mantia-Smaldone G, Olawaiye A, Ellard S, et al. A randomized double-blind placebo-controlled phase II trial comparing gemcitabine monotherapy to gemcitabine in combination with adavosertib in women with recurrent, platinum resistant epithelial ovarian cancer: A trial of the Princess Margaret, California, Chicago and Mayo Phase II Consortia [abstract]. *J Clin Oncol*. 2019;37(15 suppl):5518. [Presented at 2019 ASCO Annual Meeting I, May 31-June 4 in Chicago-II]

Leone G, DeGregori J, Sears R, Jakoi L, Nevins JR. Myc and Ras collaborate in inducing accumulation of active cyclin E/Cdk2 and E2F [published correction appears in *Nature* 1997;387(6636):932]. *Nature*. 1997;387(6631):422-6.

Lindemann K, Gao B, Mapagu C, Fereday S, Emmanuel C, Alsop K, et al. Response rates to second-line platinum-based therapy in ovarian cancer patients challenge the clinical definition of platinum resistance. *Gynecol Oncol*. 2018;150(2):239-46.

Lindqvist A, Rodríguez-Bravo V, Medema RH. The decision to enter mitosis: feedback and redundancy in the mitotic entry network. *J Cell Biol*. 2009;185(2):193-202.

Lord CJ, Ashworth A. PARP inhibitors: Synthetic lethality in the clinic. *Science*. 2017;355(6330):1152-8.

Lorusso D, Marchetti C, Conte C, Giudice E, Bolomini G, Vertechy L, et al. Bevacizumab as maintenance treatment in BRCA mutated patients with advanced ovarian cancer: a large, retrospective, multicenter case-control study. *Gynecol Oncol*. 2020;159(1):95-100.

Mackay HJ, Brady MF, Oza AM, Reuss A, Pujade-Lauraine E, Swart AM, et al. Prognostic relevance of uncommon ovarian histology in women with stage III/IV epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2010;20(6):945-52.

MacLachlan TK, Sang N, Giordano A. Cyclins, cyclin-dependent kinases and cdk inhibitors: implications in cell cycle control and cancer. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 1995;5(2):127-56.

Magnussen GI, Holm R, Emilsen E, Rosnes AK, Slipicevic A, Flørenes VA. High expression of Wee1 is associated with poor disease-free survival in malignant melanoma: potential for targeted therapy. *PLoS One*. 2012;7(6):e38254.

Magnussen GI, Hellesylt E, Nesland JM, Trope CG, Flørenes VA, Holm R. High expression of wee1 is associated with malignancy in vulvar squamous cell carcinoma patients. *BMC Cancer*. 2013;13:288.

Markman M, Bundy BN, Alberts DS, Fowler JM, Clark-Pearson DL, Carson LF, et al. Phase III trial of standard-dose intravenous cisplatin plus paclitaxel versus moderately high-dose carboplatin followed by intravenous paclitaxel and intraperitoneal cisplatin in small-volume stage III ovarian carcinoma: an intergroup study of the Gynecologic Oncology Group, Southwestern Oncology Group, and Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2001;19(4):1001-7.

Masaki T, Shiratori Y, Rengifo W, Igarashi K, Yamagata M, Kurokohchi K, et al. Cyclins and cyclin-dependent kinases: comparative study of hepatocellular carcinoma versus cirrhosis. *Hepatology*. 2003;37(3):534-43.

Ma T, Van Tine BA, Wei Y, Garrett MD, Nelson D, Adams PD, et al. Cell cycle-regulated phosphorylation of p220(NPAT) by cyclin E/Cdk2 in Cajal bodies promotes histone gene transcription. *Genes Dev*. 2000;14(18):2298-313.

Matheson CJ, Backos DS, Reigan P. Targeting WEE1 kinase in cancer. *Trends Pharmacol Sci*. 2016;37(10):872-81.

Matulonis UA, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed serous ovarian cancer and a BRCA mutation: Overall survival adjusted for postprogression poly(adenosine diphosphate ribose) polymerase inhibitor therapy. *Cancer*. 2016;122(12):1844-52.

Matsuura I, Denissova NG, Wang G, He D, Long J, Liu F. Cyclin-dependent kinases regulate the antiproliferative function of Smads. *Nature*. 2004;430(6996):226-31.

Matsumoto Y, Maller JL. A centrosomal localization signal in cyclin E required for Cdk2-independent S phase entry. *Science*. 2004;306(5697):885-8.

McGuire WP, Hoskins WJ, Brady MF, Kucera PR, Partridge EE, Look KY, et al. Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer. *N Engl J Med*. 1996;334(1):1-6.

Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(3):153-66.

Mangili G, Bergamini A, Taccagni G, Gentile C, Panina P, Viganò P, et al. Unraveling the two entities of endometrioid ovarian cancer: a single center clinical experience. *Gynecol Oncol*. 2012;126(3):403-7.

Milioli H, Alexandrou S, Lim E, Caldon CE. Cyclins E1 and E2 in ER+ breast cancer: prospects as biomarkers and therapeutic targets. *Endocr Relat Cancer*. 2020;27(5):R93-R112.

Miller CT, Moy JR, Lin L, Schipper M, Normolle D, Brenner DE, et al. Gene amplification in esophageal adenocarcinomas and Barrett's with high-grade dysplasia. *Clin Cancer Res*. 2003;9(13):4819-25.

Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa/2020: incidência de no câncer Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2020.

Mitttempergher L. Genomic characterization of high-grade serous ovarian cancer: dissecting its molecular heterogeneity as a road towards effective therapeutic strategies. *Curr Oncol Rep*. 2016;18(7):44.

Mirza MR, Monk BJ, Herrstedt J, Oza AM, Mahner S, Redondo A, et al. Niraparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive, Recurrent Ovarian Cancer. *N Engl J Med*. 2016;375(22):2154-64.

Moberg KH, Bell DW, Wahrer DC, Haber DA, Hariharan IK. Archipelago regulates Cyclin E levels in *Drosophila* and is mutated in human cancer cell lines. *Nature*. 2001;413(6853):311-6.

Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, Yang CH, Chu DT, Saijo N, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med*. 2009;361(10):947-57.

Monk BJ, Dalton H, Farley JH, Chase DM, Benjamin I. Antiangiogenic agents as a maintenance strategy for advanced epithelial ovarian cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013;86(2):161-75.

Moore K, Colombo N, Scambia G, Kim BG, Oaknin A, Friedlander M, et al. Maintenance olaparib in patients with newly diagnosed advanced ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2018;379(26):2495-505.

Moore KN, Secord AA, Geller MA, Miller DS, Cloven N, Fleming GF, et al. Niraparib monotherapy for late-line treatment of ovarian cancer (QUADRA): a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 trial [published correction appears in *Lancet Oncol*. 2019;20(5):e242]. *Lancet Oncol*. 2019;20(5):636-48.

Moore KN, Chambers SK, Hamilton EP, Chen L, Oza AM, Ghamande AS, et al. Adavosertib with chemotherapy (CT) in patients (pts) with platinum-resistant ovarian cancer (PPROC): An open label, four-arm, phase II study [abstract]. *J Clin Oncol*. 2019;37(15_suppl):5513. [Presented at 2019 ASCO Annual Meeting I, May 31-June 4 in Chicago-II]

Murrow LM, Garimella SV, Jones TL, Caplen NJ, Lipkowitz S. Identification of WEE1 as a potential molecular target in cancer cells by RNAi screening of the human tyrosine kinome. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;122(2):347-57.

Mueller S, Hashizume R, Yang X, Kolkowitz I, Olow AK, Phillips J, et al. Targeting Wee1 for the treatment of pediatric high-grade gliomas. *Neuro Oncol*. 2014;16(3):352-60.

Music D, Dahlrot RH, Hermansen SK, Hjelmberg J, de Stricker K, Hansen S, et al. Expression and prognostic value of the WEE1 kinase in gliomas. *J Neurooncol*. 2016;127(2):381-9.

Mussman JG, Horn HF, Carroll PE, Okuda M, Tarapore P, Donehower LA, et al. Synergistic induction of centrosome hyperamplification by loss of p53 and cyclin E overexpression. *Oncogene*. 2000;19(13):1635-46.

Nakayama N, Nakayama K, Shamima Y, Ishikawa M, Katagiri A, Iida K, et al. Gene amplification CCNE1 is related to poor survival and potential therapeutic target in ovarian cancer. *Cancer*. 2010;116(11):2621-34.

Nanos-Webb A, Bui T, Karakas C, hang D, Carey JP, Mills GB, et al. PKC α promotes ovarian tumor progression through deregulation of cyclin E. *Oncogene*. 2016;35(19):2428-40.

Noske A, Henricksen LA, LaFleur B, Zimmermann AK, Tubbs A, Singh S, et al. Characterization of the 19q12 amplification including CCNE1 and URI in different epithelial ovarian cancer subtypes. *Exp Mol Pathol*. 2015;98(1):47-54.

Norquist BM, Brady MF, Harrell MI, Walsh T, Lee MK, Gulsuner S, et al. Mutations in homologous recombination genes and outcomes in ovarian carcinoma patients in GOG 218: an NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group Study. *Clin Cancer Res*. 2018;24(4):777-83.

Nurse P. Universal control mechanism regulating onset of M-phase. *Nature*. 1990;344(6266):503-8.

Okuda M, Horn HF, Tarapore P, Tokuyama Y, Smulian AG, Chan PK, et al. Nucleophosmin/B23 is a target of CDK2/cyclin E in centrosome duplication. *Cell*. 2000;103(1):127-40.

Otto T, Sicinski P. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(2):93-115.

Oza AM, Cibula D, Benzaquen AO, Poole C, Mathijssen RH, Sonke GS, et al. Olaparib combined with chemotherapy for recurrent platinum-sensitive ovarian cancer: a randomised phase 2 trial [published correction appears in *Lancet Oncol*. 2015;16(2):e55] [published correction appears in *Lancet Oncol*. 2015;16(1):e6]. *Lancet Oncol*. 2015;16(1):87-97.

Oza AM, Cook AD, Pfisterer J, Embleton A, Ledermann JA, Pujade-Lauraine E, et al. Standard chemotherapy with or without bevacizumab for women with newly diagnosed ovarian cancer

(ICON7): overall survival results of a phase 3 randomised trial. *Lancet Oncol.* 2015;16(8):928-36.

Oza AM, Estevez-Diz MDP, Grischke EM, Hall M, Marmé F, Provencher DM, et al. A biomarker-enriched, randomized Phase II trial of adavosertib (AZD1775) plus paclitaxel and carboplatin for women with platinum-sensitive TP53-mutant ovarian cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(18):4767-76.

Ozols RF, Bundy BN, Greer BE, Fowler JM, Clarke-Pearson D, Burger RA, et al. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *J Clin Oncol.* 2003;21(17):3194-200.

Palmer BD, Smaill JB, Rewcastle GW, Dobrusin EM, Kraker A, Moore CW, et al. Structure-activity relationships for 2-anilino-6-phenylpyrido[2,3-d] pyrimidin-7(8H)-ones as inhibitors of the cellular checkpoint kinase Wee1. *Bioorg Med Chem Lett.* 2005;15(7):1931-5.

Pardee AB. G1 events and regulation of cell proliferation. *Science.* 1989;246(4930):603-8.

Parsels LA, Karnak D, Parsels JD, Zhang Q, Vélez-Padilla J, Reichert ZR, et al. PARP1 Trapping and DNA replication stress enhance radiosensitization with combined WEE1 and PARP inhibitors. *Mol Cancer Res.* 2018;16(2):222-32.

Patch AM, Christie EL, Etemadmoghadam D, Garsed DW, George J, Fereday S, et al. Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer [published correction appears in *Nature.* 2015;527(7578):398]. *Nature.* 2015;521(7553):489-94.

Pérez-Roger I, Solomon DL, Sewing A, Land H. Myc activation of cyclin E/Cdk2 kinase involves induction of cyclin E gene transcription and inhibition of p27(Kip1) binding to newly formed complexes. *Oncogene.* 1997;14(20):2373-81.

Perren TJ, Swart AM, Pfisterer J, Ledermann JA, Pujade-Lauraine E, Kristensen G, et al. A phase 3 trial of bevacizumab in ovarian cancer [published correction appears in *N Engl J Med.* 2012;366(3):284]. *N Engl J Med.* 2011;365(26):2484-96.

Piao J, Sun J, Yang Y, Jin T, Chen L, Lin Z. Target gene screening and evaluation of prognostic values in non-small cell lung cancers by bioinformatics analysis. *Gene*. 2018;647:306-11.

Piccart MJ, Bertelsen K, James K, Cassidy J, Mangioni C, Simonsen E, et al. Randomized intergroup trial of cisplatin-paclitaxel versus cisplatin-cyclophosphamide in women with advanced epithelial ovarian cancer: three-year results. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92(9):699-708.

Pignata S, Scambia G, Ferrandina G, Savarese A, Sorio R, Breda E, et al. Carboplatin plus paclitaxel versus carboplatin plus pegylated liposomal doxorubicin as first-line treatment for patients with ovarian cancer: the MITO-2 randomized phase III trial. *J Clin Oncol*. 2011;29(27):3628-35.

Pilié PG, Tang C, Mills GB, Yap TA. State-of-the-art strategies for targeting the DNA damage response in cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2019;16(2):81-104.

Pok S, Wen V, Shackel N, Alsop A, Pyakurel P, Fahrner A, et al. Cyclin E facilitates dysplastic hepatocytes to bypass G1/S checkpoint in hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013;28(9):1545-54.

Pommier Y, O'Connor MJ, de Bono J. Laying a trap to kill cancer cells: PARP inhibitors and their mechanisms of action [published correction appears in *Sci Transl Med*. 2016;8(368):368er7]. *Sci Transl Med*. 2016;8(362):362ps17.

Porter CC, Kim J, Fosmire S, Gearheart CM, van Linden A, Baturin D, et al. Integrated genomic analyses identify WEE1 as a critical mediator of cell fate and a novel therapeutic target in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2012;26(6):1266-76.

Poveda AM, Selle F, Hilpert F, Reuss A, Savarese A, Vergote I, et al. Bevacizumab Combined With Weekly Paclitaxel, Pegylated Liposomal Doxorubicin, or Topotecan in Platinum-Resistant Recurrent Ovarian Cancer: Analysis by Chemotherapy Cohort of the Randomized Phase III AURELIA Trial. *J Clin Oncol*. 2015;33(32):3836-8.

Poveda A, Floquet A. Final overall survival (OS) results from SOLO2/ENGOT-ov21: A phase III trial assessing maintenance olaparib in patients (pts) with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA mutation [abstract]. *J Clin Oncol.* 2020; 38(15 suppl):6002. [Presented at 2020 ASCO Annual Meeting I, Virtual. August 8-10, 2020].

Prat J. Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features. *Virchows Arch.* 2012;460(3):237-49.

Prat J; FIGO Committee on Gynecologic Oncology. Staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet.* 2014;124(1):1-5.

Prat J, Olawaiye AB, Bermudez A, Chen L-M, Copeland LJ, Gibb RK, et al. Ovary, fallopian tube, and primary peritoneal carcinoma. In: Amin MB, editor. *AJCC cancer staging manual*. 8th ed. New York: Springer; 2017. p.681-90.

Pujade-Lauraine E, Hilpert F, Weber B, Reuss A, Poveda A, Kristensen G, et al. Bevacizumab combined with chemotherapy for platinum-resistant recurrent ovarian cancer: The AURELIA open-label randomized phase III trial [published correction appears in *J Clin Oncol.* 2014;32(35):4025]. *J Clin Oncol.* 2014;32(13):1302-8.

Pujade-Lauraine E, Ledermann JA, Selle F, Gebski V, Penson RT, Oza AM, et al. Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial [published correction appears in *Lancet Oncol.* 2017;18(9):e510]. *Lancet Oncol.* 2017;18(9):1274-84.

Raja FA, Chopra N, Ledermann JA. Optimal first-line treatment in ovarian cancer. *Ann Oncol.* 2012;23 Suppl 10:x118-x127.

Rajeshkumar NV, De Oliveira E, Ottenhof N, Watters J, Brooks D, Demuth T, et al. MK-1775, a potent Wee1 inhibitor, synergizes with gemcitabine to achieve tumor regressions, selectively in p53-deficient pancreatic cancer xenografts. *Clin Cancer Res.* 2011;17(9):2799-806.

Rescigno P, Cerillo I, Ruocco R, Condello C, De Placido S, Pensabene M. New hypothesis on pathogenesis of ovarian cancer lead to future tailored approaches. *Biomed Res Int*. 2013;2013:852839.

Resnitzky D, Gossen M, Bujard H, Reed SI. Acceleration of the G1/S phase transition by expression of cyclins D1 and E with an inducible system. *Mol Cell Biol*. 1994;14(3):1669-79.

Romero I, Sun CC, Wong KK, Bast RC Jr, Gershenson DM. Low-grade serous carcinoma: new concepts and emerging therapies. *Gynecol Oncol*. 2013;130(3):660-6.

Ray-Coquard I, Pautier P, Pignata S, Pérol D, González-Martín A, Berger R, et al. Olaparib plus bevacizumab as first-line maintenance in ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2019;381(25):2416-28.

Sandhu V, Wedge DC, Bowitz Lothe IM, Labori KJ, Dentre SC, Buanes T, et al. The genomic landscape of pancreatic and periampullary adenocarcinoma. *Cancer Res*. 2016;76(17):5092-102.

Scaltriti M, Eichhorn PJ, Cortés J, Prudkin L, Aura C, Jiménez J, et al. Cyclin E amplification/overexpression is a mechanism of trastuzumab resistance in HER2+ breast cancer patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(9):3761-6.

Sheaff RJ, Groudine M, Gordon M, Roberts JM, Clurman BE. Cyclin E-CDK2 is a regulator of p27Kip1. *Genes Dev*. 1997;11(11):1464-78.

Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin*. 2020;70(1):7-30.
Simon R, Nocito A, Hübscher T, Bucher C, Torhorst J, Schraml P, et al. Patterns of her-2/neu amplification and overexpression in primary and metastatic breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93(15):1141-6.

Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science*. 1989;244(4905):707-12.

Slipicevic A, Holth A, Hellesylt E, Tropé CG, Davidson B, Flørenes VA. Wee1 is a novel independent prognostic marker of poor survival in post-chemotherapy ovarian carcinoma effusions. *Gynecol Oncol*. 2014;135(1):118-24.

Smith AP, Henze M, Lee JA, Osborn KG, Keck JM, Tedesco D, et al. Deregulated cyclin E promotes p53 loss of heterozygosity and tumorigenesis in the mouse mammary gland. *Oncogene*. 2006;25(55):7245-59.

Span PN, Tjan-Heijnen VC, Manders P, Beex LV, Sweep CG. Cyclin-E is a strong predictor of endocrine therapy failure in human breast cancer. *Oncogene*. 2003;22(31):4898-904.

Squire CJ, Dickson JM, Ivanovic I, Baker EN. Structure and inhibition of the human cell cycle checkpoint kinase, Wee1A kinase: an atypical tyrosine kinase with a key role in CDK1 regulation. *Structure*. 2005;13(4):541-50.

Spruck CH, Won KA, Reed SI. Deregulated cyclin E induces chromosome instability. *Nature*. 1999;401(6750):297-300.

Strohmaier H, Spruck CH, Kaiser P, Won KA, Sangfelt O, Reed SI. Human F-box protein hCdc4 targets cyclin E for proteolysis and is mutated in a breast cancer cell line. *Nature*. 2001;413(6853):316-22.

Stronach EA, Paul J, Timms KM, Hughes E, Brown K, Neff C, et al. Biomarker assessment of HR deficiency, tumor BRCA1/2 mutations, and CCNE1 copy number in ovarian cancer: associations with clinical outcome following platinum monotherapy. *Mol Cancer Res*. 2018;16(7):1103-11.

Sun YS, Thakur K, Hu F, Zhang JG, Wei ZJ. Icariside II inhibits tumorigenesis via inhibiting AKT/Cyclin E/ CDK 2 pathway and activating mitochondria-dependent pathway. *Pharmacol Res*. 2020;152:104616.

Suryadinata R, Sadowski M, Sarcevic B. Control of cell cycle progression by phosphorylation of cyclin-dependent kinase (CDK) substrates. *Biosci Rep*. 2010;30(4):243-55.

Swisher EM, Lin KK, Oza AM, Scott CL, Giordano H, Sun J, et al. Rucaparib in relapsed, platinum-sensitive high-grade ovarian carcinoma (ARIEL2 Part 1): an international, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(1):75-87.

Siu KT, Rosner MR, Minella AC. An integrated view of cyclin E function and regulation. *Cell Cycle.* 2012;11(1):57-64.

Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma [published correction appears in *Nature.* 2012;490(7419):298]. *Nature.* 2011;474(7353):609-15.

Teixeira LK, Reed SI. Cyclin E Deregulation and genomic instability. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1042:527-47.

Tewari D, Java JJ, Salani R, Armstrong DK, Markman M, Herzog T, et al. Long-term survival advantage and prognostic factors associated with intraperitoneal chemotherapy treatment in advanced ovarian cancer: a gynecologic oncology group study [published correction appears in *J Clin Oncol.* 2015;33(31):3678]. *J Clin Oncol.* 2015;33(13):1460-6.

Tewari KS, Burger RA, Enserro D, Norquist BM, Swisher EM, et al. Final overall survival of a randomized trial of bevacizumab for primary treatment of ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 2019;37(26):2317-28.

Thuriaux P, Nurse P, Carter B. Mutants altered in the control co-ordinating cell division with cell growth in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol Gen Genet.* 1978;161(2):215-20.

Trimbos JB, Parmar M, Vergote I, Guthrie D, Bolis G, Colombo N, et al. International Collaborative Ovarian Neoplasm trial 1 and adjuvant chemotherapy in ovarian neoplasm trial: two parallel randomized phase III trials of adjuvant chemotherapy in patients with early-stage ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95(2):105-12.

Trimarchi JM, Lees JA. Sibling rivalry in the E2F family. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002;3(1):11-20.

Turner NC, Liu Y, Zhu Z, Loi S, Colleoni M, Loibl S, et al. Cyclin E1 expression and palbociclib efficacy in previously treated hormone receptor-positive metastatic breast cancer [published correction appears in *J Clin Oncol*. 2019;37(31):2956]. *J Clin Oncol*. 2019;37(14):1169-78.

Vasey PA, Jayson GC, Gordon A, Gabra H, Coleman R, Atkinson R, et al. Phase III randomized trial of docetaxel-carboplatin versus paclitaxel-carboplatin as first-line chemotherapy for ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(22):1682-91.

Van Linden AA, Baturin D, Ford JB, Fosmire SP, Gardner L, Korch C, et al. Inhibition of Wee1 sensitizes cancer cells to antimetabolite chemotherapeutics in vitro and in vivo, independent of p53 functionality. *Mol Cancer Ther*. 2013;12(12):2675-84.

Vijayaraghavan S, Karakas C, Doostan I, Chen X, Bui T, Yi M, et al. CDK4/6 and autophagy inhibitors synergistically induce senescence in Rb positive cytoplasmic cyclin E negative cancers. *Nat Commun*. 2017; 8:15916.

Vriend LE, De Witt Hamer PC, Van Noorden CJ, Würdinger T. WEE1 inhibition and genomic instability in cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1836(2):227-35.

Wang Y, Li J, Booher RN, Kraker A, Lawrence T, Leopold WR, et al. Radiosensitization of p53 mutant cells by PD0166285, a novel G(2) checkpoint abrogator. *Cancer Res*. 2001;61(22):8211-7.

Wang TL, Diaz LA Jr, Romans K, Bardelli A, Saha S, Galizia G, et al. Digital karyotyping identifies thymidylate synthase amplification as a mechanism of resistance to 5-fluorouracil in metastatic colorectal cancer patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(9):3089-94.

Wang X, Qi X, Ming X, Wang L, Wang Y, Zhao X. Prognostic value of cyclin E expression in patients with ovarian cancer: a Meta-analysis. *J BUON*. 2017;22(1):64-71.

Walker JL, Brady MF, Wenzel L, Fleming GF, Huang HQ, DiSilvestro PA, et al. Randomized trial of intravenous versus intraperitoneal chemotherapy plus bevacizumab in advanced ovarian

carcinoma: an NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group Study [published correction appears in *J Clin Oncol*. 2019;37(25):2299]. *J Clin Oncol*. 2019;37(16):1380-90.

Wiedemeyer WR, Beach JA, Karlan BY. Reversing platinum resistance in high-grade serous ovarian carcinoma: targeting BRCA and the homologous recombination system. *Front Oncol*. 2014;4:34.

Xu W, Rush J, Rickett K, Coward JI. Mucinous ovarian cancer: a therapeutic review. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016;102:26-36.

Yamashita Y. Ovarian cancer: new developments in clear cell carcinoma and hopes for targeted therapy. *Jpn J Clin Oncol*. 2015;45(5):405-7.

Yang SYC, Lheureux S, Karakasis K, Burnier JV, Bruce JP, Clouthier DL, et al. Landscape of genomic alterations in high-grade serous ovarian cancer from exceptional long- and short-term survivors. *Genome Med*. 2018;10(1):81.

Zang R, Zhu J, Shi T, Liu J, Tu D, Yin S. A randomized phase III trial of secondary cytoreductive surgery in later recurrent ovarian cancer: SOC1/SGOG-OV2 [abstract]. *J Clin Oncol*. 2020;38(15 suppl):6001. [Presented at 2020 ASCO Annual Meeting I, Virtual. August 8-10, 2020].

Zhao J, Kennedy BK, Lawrence BD, Barbie DA, Matera AG, Fletcher JA, et al. NPAT links cyclin E-Cdk2 to the regulation of replication-dependent histone gene transcription. *Genes Dev*. 2000;14(18):2283-97.

Zhou YJ, Xie YT, Gu J, Yan L, Guan GX, Liu X. Overexpression of cyclin E isoforms correlates with poor prognosis in rectal cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2011;37(12):1078-84.

Anexo 1 - Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP



A.C. Camargo Cancer Center

Centro Integrado de Diagnóstico, Tratamento, Ensino e Pesquisa

**COMITÊ DE ÉTICA
EM PESQUISA - CEP**

São Paulo, 27 de fevereiro de 2018.

Ao

Dr. Alexandre André Balieiro Anastácio da Costa

Aluna: Adriana Regina Gonçalves Ribeiro (Mestrado)

Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 2459/17B

“Impacto prognóstico de marcadores do ciclo celular em pacientes com carcinoma de ovário.”

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente – A.C. Camargo Cancer Center, em sua última reunião de **20/02/2018**, **tomaram conhecimento e aprovaram** os seguintes documentos:

- Solicitação de dispensa da submissão da documentação obrigatória e análise ética do projeto acima mencionado por se tratar de um projeto afiliado ao temático intitulado: “Análise da superexpressão de proteínas do ciclo celular e mutações em TP53 em pacientes com carcinoma de ovário e impacto destas alterações na resposta ao AZD1775”, registrado neste CEP sob nº. 2459/17. O projeto afiliado em referência será Mestrado da aluna *Adriana Regina Gonçalves Ribeiro*, sob orientação do *Dr. Alexandre André Balieiro Anastácio da Costa*;
- Projeto de Mestrado

Atenciosamente,

Dra. Sandra Caíres Serrano

2ª. Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

1/1

Apêndice 1 - Ficha de Coleta de Dados – Ovário

1-Identificação:

1.1 Nome: _____

1.2 RGH-HC: _____

1.3 Data de nascimento _____ / _____ / _____ 1.4 Data Dx: _____ / _____ / _____.

2- Dados cirúrgicos:

A- Cirurgia inicial:

A.1- Data Cx: _____ / _____ / _____

A.2- Momento: (1) Citorredução primária (2) Citorredução intervalo _____ I _____ I

A.3- Doença residual: (1) microscópica (Completa) (2) < 10mm (3) > 10mm

(4) “ótima” sem especificação - I _____ I

A.4- Procedimentos realizados:	(0)Não (1) Sim
HTA	
SOB	
Omentectomia	
Linfadenectomia pélvica	
Linfadenectomia paraórtica	
Ressecção intestinal	
Esplenectomia	
Cx adequada	
Preservação de fertilidade	
QT IP (HIPEC)	

A.5- Complicações Cx:	
Óbito < 28d	(0)Não (1) Sim

Nº AP	Data AP	Momento do tto: (1) Cx inic. (2) Rec Plat S (3) RecPlat R (4) Cito Intervalo

B- Dados da cirurgia recidiva:

B.1- Data Cx: _____ / _____ / _____.

B.2- Momento: (1) Primeira recidiva (2) Segunda recidiva (3) Terceira recidiva (4) Quarta ou mais I _____ I

B.3- Doença residual: (1) microscópica (Completa) (2) < 10mm (3) > 10mm
(4) “ótima” sem especificação - I _____ I

B.4- QT intraperitoneal hipertérmica: (1) sim (0) não _____
I _____ I

Droga e dose: _____ **Óbito < 28 dias:** (1) sim (0) não _ I _____ I

C- Dados da cirurgia recidiva:

C.1- Data Cx: ____/____/____.

C.2- Momento: (1) Primeira recidiva (2) Segunda recidiva (3) Terceira recidiva
(4) Quarta ou mais ----- I ____ I

C.3- Doença residual: (1) microscópica (Completa) (2) < 10mm (3) > 10mm

(4) “ótima” sem especificação - I ____ I

C.4- QT intraperitoneal hipertérmica: (1) sim (0) não ----- I ____ I

Droga e dose: _____ Óbito < 28 dias: (1) sim (0) não _ I ____ I

3- Fatores Prognósticos iniciais:

Idade na primeira cx	
Histologia	
Grau FIGO	
Estágio FIGO	
CA125 pré tto inicial(cirurgia/qt neo)	
CA 125 pós op	
Plqt pré tto inicial (cirurgia / qt neo)	
Plqt pós cirurgia	
ECOG pré qt (ou pré cx caso sem qt)	

Comorbidades (ver anestesia):
História familiar:
Outras neoplasias:

4- Tratamento QT inicial :

A - drogas e posologia: _____

B - número de ciclos totais: _____

C - **data início:** ____/____/____ **data de término :** ____/____/____

D- se interrupção antes de 6 ciclos por toxicidade qual? _____

E - QT neoadjuvante:

- quantos ciclos antes da cirurgia: _____

- resposta à qt neo: (1) RC (2) RP (3) DE (4) PD

- CA 125 pré qt / pós qt: _____ / _____

5- Seguimento inicial e primeira recidiva:

A- CA 125:

Data						
Valor						
Data						
Valor						

B- Recidiva:

B.1- Data da recidiva por marcador: ____/____/____

B.2- Valor CA 125 na recidiva: _____

B.3- Data da recidiva por imagem: ____/____/____

B.4- Sintomática: (0)Não (1) Sim ----- I _____ I

B.5- Alteração de imagem: (0)Não (1) Sim, não mensurável (2) Sim, mensurável ----- I _____ I

B.6- Sítio recidiva (anotar todos): _____

6. Recidivas/PD:

1ª rec. platina S – data marcador:		Plaquetas e Hb pré qt	
CA 125 pré qt – pós qt		Drogas e posol	
Data por imagem:		Data início	
Tamanho maior tumor		Data término	
Sítios (anotar todos peritôn. vale 1)		Resp. por imag.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
ECOG pré QT		Resp por Marc.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD

2ª recidiva PS – data*	
Drogas	
Data início	
Data término	
Tipo de resp.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
Resp por Marc.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD

3ª recidiva PS - data	
Drogas	
Data início	
Data término	
Tipo de resp.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
Resp por Marc.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD

4ª recidiva PS - data	
Drogas	
Data início	
Data término	
Tipo de resp.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
Resp por Marc.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD

5ª recidiva PS - data	
Drogas	
Data início	
Data término	
Tipo de resp.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
Resp por Marc.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD

OBS: Resposta e progressão por marcador CA 125 – critérioc GCIG:

Resposta: queda de 50% em relação ao marcador inicial (que deve ser de 2 sem antes de iniciar o tto)

Progressão:

- **Marcador normal ao início do tto:** aumento para mais de 2x o valor da normalidade

- **Marcador aumentado ao início do tto:** aumento para mais de 2x o valor do nadir após início do tto

* A partir da 2ª recidiva anotar apenas a data que vier primeiro, progressão por marcador ou imagem

1ª rec. Platina R – data marcador:		Plaquetas e Hb pré qt	
CA 125 pré qt – pós qt		Drogas e posol	
Data por imagem:		Data início	
Tamanho maior tumor		Data término	
Sítios (anotar todos peritôn. vale 1)		Resp. por imag.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
ECOG pré QT		Resp por Marc.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD

5ª recidiva PR - data	
Drogas	
Data início	
Data término	
Tipo de resp.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
Resp por Marc.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
6ª recidiva PR - data	
Drogas	
Data início	
Data término	
Tipo de resp.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
Resp por Marc.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
7ª recidiva PR - data	
Drogas	
Data início	
Data término	
Tipo de resp.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
Resp por Marc.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD

2ª recidiva PR - data	
Drogas	
Data início	
Data término	
Tipo de resp.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
Resp por Marc.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD

3ª recidiva PR - data	
Drogas	
Data início	
Data término	
Tipo de resp.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
Resp por Marc.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD

4ª recidiva PR - data	
Drogas	
Data início	
Data término	
Tipo de resp.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD
Resp por Marc.	(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD

Uso de bevacizumabe em alguma linha (0) Não (1) Sim Qual ----- I _____ I

Meta SNC algum momento (0) Não (1) Sim ----- I _____ I

Data	(0) Vivo (1) Óbito	(0) SED (1) Recidivada	(0) aguarda retorno (1) perda de seg.
Telefones e email:			

Hormonioterapia em algum momento (0) Não (1) Sim ----- I _____ I

6. Última aval.: