

## Expertos Invitados

### FATORES GENÉTICOS DE PREDISPOSIÇÃO AO CÂNCER DA TIRÓIDE



Columnista Experto de SIIC  
**Dra. Laura S. Ward**

Chefe do Laboratório de Genética Molecular do Câncer. Departamento de Clínica Médica

Nódulos na tiróide constituem um verdadeiro problema de Saúde Pública tal a sua prevalência, particularmente em mulheres. Estima-se que 5 a 10% da população venha a desenvolver um nódulo palpável durante a vida, de forma que, considerando-se que em áreas previamente carentes de iodo a prevalência de bócio pode atingir mais da metade da população local, é provável que tenhamos no Brasil uma população de cerca de 10 milhões de portadores de nódulos tireoidianos (1). A maior disponibilidade da ultra-sonografia e de outros métodos diagnósticos tem trazido aos serviços de saúde um crescente número de indivíduos aflitos pela possibilidade de portarem um câncer. No entanto, a maior parte dos nódulos deve ser benigna já que o câncer de tiróide é responsável por apenas 0.6% e 1.6% de todos os cânceres de homens e mulheres, respectivamente, nos EUA (2,3). Mais ainda, o carcinoma diferenciado da tiróide. Felizmente, a maior parte dos casos são precocemente diagnosticados e confirmados, graças à citologia facilmente obtida por uma simples punção aspirativa com agulha fina, e a mortalidade pelo câncer diferenciado da tiróide é relativamente baixa (4). Por outro lado, nem todos os casos de carcinomas diferenciados da tiróide têm prognóstico tão bom. Um percentual não desprezível, de 7 a 20% dos pacientes, é tardiamente diagnosticado, evolui mal e acaba contribuindo para as cerca de 1400 mortes anuais por câncer da tiróide previstas para os EUA no ano de 2003 (4,5). A identificação correta dos nódulos que merecem investigação laboratorial mais completa, uma punção do nódulo e/ou cirurgia, é fundamental para o estabelecimento de estratégias que representem a melhor relação de custo-benefício não apenas para o paciente, mas também para o Sistema de Saúde do país, onde a alocação de recursos deve ser muito criteriosa. Uma série de fatores clínicos e epidemiológicos, resumidos, respectivamente, nas Tabelas 1 e 2, vem sendo utilizados na seleção dos pacientes de risco para câncer da tiróide. Nos últimos anos, a biologia molecular vem proporcionando uma maior compreensão da etiopatogenia e dos fatores envolvidos no risco ao câncer, trazendo assim novos métodos de rastreamento. TABELA 1. **Fatores epidemiológicos de risco para câncer de tiróide**

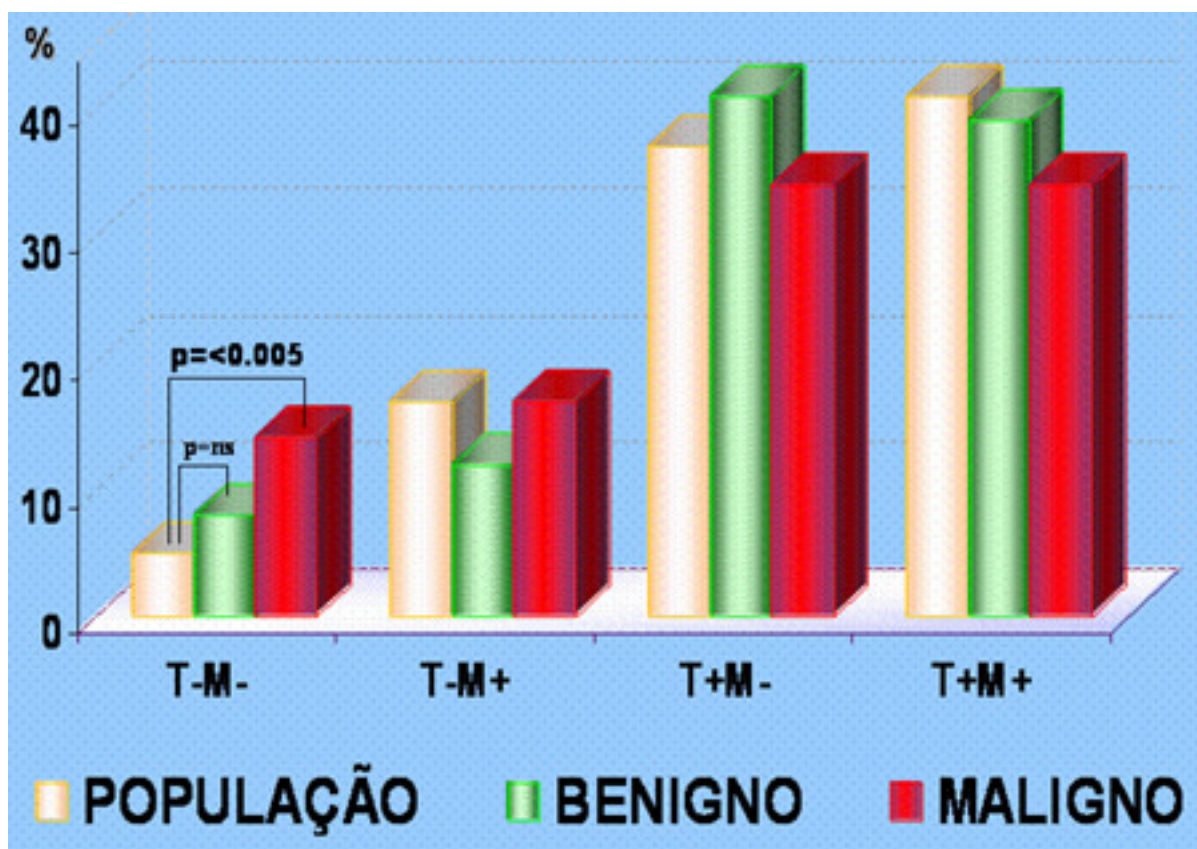
1. **Radiação ionizante terapêutica ou acidental**
2. **Predisposição familiar**
  - o carcinoma papilífero familiar: raro, caracterização genética pobre
  - o polipose adenomatosa familiar: até 160 x risco mulheres < 35 anos
  - o doença de Cowden
  - o neoplasia endócrina múltipla (nem)
3. **Ingesta de iodo**
  - o déficit de iodo: maior risco de carcinoma folicular, > incidência de bmn
  - o suficiência de iodo: predomina o carcinoma papilífero
4. **Tiroidopatias pré-existentes**

- adenoma folicular: predispoë ao carcinoma folicular
  - doença de graves
  - tiroidite crônica de hashimoto: linfoma tiroidiano
5. **Fatores hormonais e reprodutivos**
  6. **Fatores étnicos e geográficos**
  7. **Dieta e drogas**

TABELA 2. **Fatores clínicos relacionados a malignidade no nódulo de tiróide**

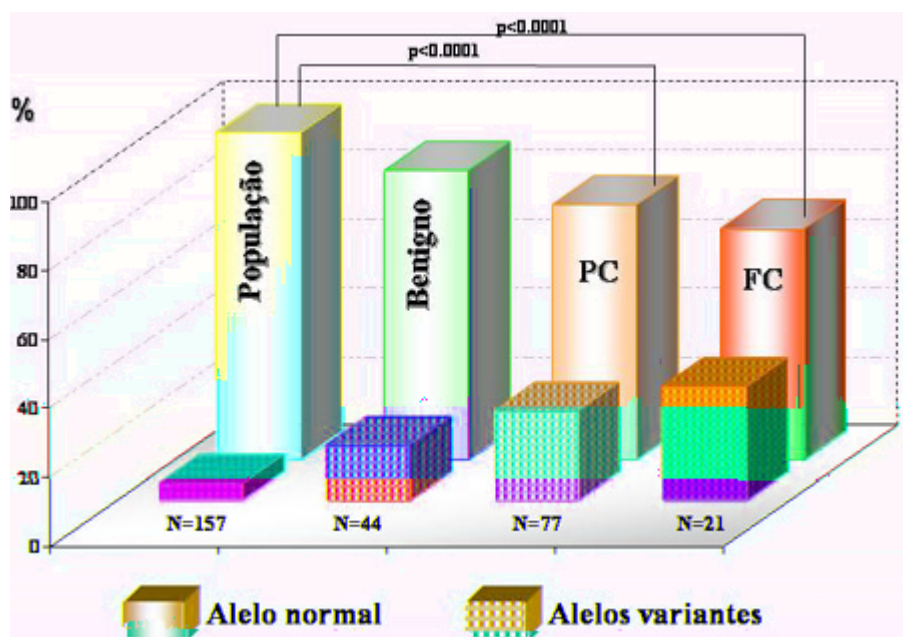
1. **História**
  - irradiação externa
  - história familiar de câncer de tiróide
  - 20 anos < idade > 60 anos
  - sexo masculino
2. **Características do nódulo**
  - de tamanho, principalmente durante terapia supressiva
  - duro, firme, superfície irregular
3. **Outros sintomas**
  - rouquidão, disfagia, paralisia de cordas vocais.
  - gânglios cervicais

Compreendemos atualmente que a grande maioria dos cânceres do ser humano ocorre por uma interação entre fatores ambientais como fumaça de cigarro, alimentos e bebidas, poluição urbana e industrial, etc e a bagagem genética de cada indivíduo (6). Polimorfismos de genes que codificam enzimas responsáveis pelo metabolismo de carcinógenos, como as do sistema da glutationa s- transferase (GST), estão relacionados com desenvolvimento de vários tipos de câncer. Até o presente momento, pelo menos 5 genes diferentes, mu, alfa, pi, teta e sigma, foram identificados como causadores de alteração na atividade enzimática. Existem várias evidências de que a ausência de uma ou mais de uma forma de GST ou variantes alélicas que expressam diferentes combinações de herança étnica destas enzimas (polimorfismo hereditário) são mais susceptíveis de sofrer stress químico (6, 7). Os genes *GST mu 1 (GSTM1)* e *GST teta 1 (GSTT1)* possuem uma variante alélica nula nos quais o gene inteiro está ausente e, portanto, não existe codificação ou produção da respectiva enzima. O gene *GST pi 1 (GSTP1)* possui um polimorfismo de substituição do aminoácido I105V que resulta na produção de uma enzima variante com menor atividade e capacidade de detoxificação. Com a finalidade de avaliar a importância do perfil genotípico das GSTs na susceptibilidade ao câncer da tiróide, estudamos inicialmente o perfil genotípico de 116 portadores de nódulos tiroidianos, incluindo 49 casos benignos (38 bóciós multinodulares e 11 adenomas foliculares) e 67 casos malignos (50 carcinomas papilíferos e 17 foliculares). A população controle foi composta de 300 indivíduos saudáveis da mesma região. Todos os indivíduos e pacientes foram cuidadosamente examinados e interrogados quanto a hábitos alimentares, uso de drogas, cigarros, patologias presentes ou prévias, em especial da tiróide, exposição a radiação ionizante, antecedentes familiares e fatores considerados de risco para câncer em geral e da tiróide em particular. Comparamos o genótipo obtido através de extração de DNA de sangue periférico com o do DNA extraído de 35 casos em que obtivemos o tumor tiroidiano, sempre obtendo resultados idênticos. O método usado foi uma PCR triplex em que ambos os genes, *GSTT1* e *GSTM1*, tinham sua seqüências amplificadas juntamente com uma seqüência do gene da  $\beta$ -globina, controlando-se desta forma a qualidade do DNA extraído. A figura 1 mostra que a distribuição de genótipos é bastante semelhante entre os portadores de nódulos benignos, malignos e a população controle exceto quando os 2 genes estão ausentes. Estes casos são muito mais freqüentes entre os portadores de neoplasias malignas, de forma que a ausência dos 2 genes, combinada, significa um risco 2,6 vezes maior para o desenvolvimento de câncer da tiróide (8).



**Figura 1.** Comparação entre os diferentes padrões de herança polimórfica para os alelos *GSTT1* (T) e *GSTM* (M) representados como ausentes (-) ou presentes (+) em 300 indivíduos normais da população de Campinas, 49 casos de bócio benigno e 67 casos de carcinomas malignos da tireóide.

Numa segunda fase desta investigação, aumentamos o número de tumores malignos para 98 casos, incluindo 77 carcinomas papilíferos e 21 foliculares. Utilizamos ainda 44 nódulos benignos e uma população controle de 157 indivíduos normais para genotipar as variantes alélicas do gene *GSTP1*, cuja relação com o câncer de cabeça e pescoço é maior segundo a literatura (9). Para tanto, lançamos mão de um método de rastreamento de mutações, a single strand conformation polymorphism analysis (SSCP) cujos resultados foram confirmados pelo sequenciamento direto de todas as amostras que apresentavam suspeita de alteração no padrão de corrida eletroforética. Os resultados obtidos podem ser visualizados na Figura 2. Embora as variantes alélicas de *GSTP1* não distingam bócio de câncer nem adenomas de carcinomas foliculares, os indivíduos com genótipo variante, ajustado para sexo, idade, uso de tabaco e drogas, possuem uma chance de apresentarem câncer 5.7 vezes maior do que a população controle em relação ao carcinoma papilífero e 8.2 vezes maior do que a população controle para o carcinoma folicular (10).



**Figura 2.** Comparação entre os diferentes padrões de herança polimórfica para os alelos normais do gene *GSTP1* representados em barras abertas e para os alelos variantes de *GSTP1* em barras quadriculadas em indivíduos normais da população de Campinas, pacientes com bócio benigno e carcinomas papilíferos e foliculares da tireóide.

Não houve associação entre o genótipo para qualquer GST e as características clínicas dos pacientes, parâmetros da agressividade do tumor no diagnóstico ou comportamento durante o seguimento. Também, não foi encontrada relação entre o perfil genotípico para GSTs e os fatores de risco para o aparecimento de tumores da tireóide benignos e malignos que foram investigados, isto é, idade, sexo, cor, história de patologia tireoidiana prévia, uso de drogas ou medicamentos ou fumo. Assim, tal perfil genotípico parece relacionar-se apenas ao risco do paciente adquirir um câncer da tireóide. Como a susceptibilidade a carcinógenos químicos pode modificar o risco do câncer da tireóide? Diversos produtos químicos causam neoplasia de tireóide em roedores por um efeito carcinogênico direto, ativando os oncogenes, inativando os genes supressores tumorais e produzindo alterações específicas na expressão e função dos genes envolvidos no crescimento celular, diferenciação e tempo de vida da célula (11). Carcinógenos químicos também podem, através de uma variedade de mecanismos, alterar a função da tireóide e produzir uma neoplasia secundária ao desequilíbrio hormonal (11). No entanto, até o momento, o único fator reconhecidamente capaz de produzir tumores benignos e malignos na tireóide humana, tanto do ponto de vista experimental quanto por evidências clínico-epidemiológicas, é a radiação ionizante (2,3). Vários estudos epidemiológicos relacionaram a ingestão de cereais refinados (12), vegetais crucíferos (13) alimentos marinhos (14), laticínios (15) com maior risco de câncer da tireóide, mas outros não encontraram tal associação (16,17). Da mesma forma, a exposição a carcinógenos ambientes e mesmo ao cigarro são fatores discutíveis na susceptibilidade ao câncer da tireóide (13, 18). A ingestão de iodo está nitidamente relacionada à diminuição da prevalência de carcinomas foliculares e parece se relacionar com discreto aumento nos carcinomas papilíferos, mas ainda se discute o efeito de fatores ambientais no câncer da tireóide (18, 19). Dados relativos ao perfil das GSTs em pacientes com patologias tireoidianas são escassos. Conhecemos apenas o estudo de Hernandez et al, que não conseguiu demonstrar relação entre o perfil das GSTs e a susceptibilidade a o câncer da tireóide em moradores de Barcelona, Espanha (20). Além de possível influência do método menos sensível usado por Hernandez (restrição enzimática), podemos aventar as diferenças étnicas de nossa população, exposição a diferentes fatores ambientais e hábitos alimentares diferentes dos europeus como principais causas de tal diferença. Na verdade, acumulam-se evidências de que as GSTs e suas variantes alélicas possuem afinidades específicas por diferentes substratos (21-24). Assim, é possível que a herança de fatores de proteção contra fatores ambientais, como as enzimas do sistema GST, faça parte dos fatores responsáveis pelas diferenças na incidência do câncer da tireóide pelo mundo (14). Nosso laboratório prossegue na investigação de outros genes codificadores de enzimas do sistema GST, do citocromo P450 (CYP), do sistema n-acetil-transferase (Nat) e de outros sistemas de metabolismo de xenobióticos. Acreditamos que o uso de perfis genéticos, juntamente com os clássicos fatores clínicos e

epidemiológicos de risco, poderá nos auxiliar na importante decisão de escolher, entre os portadores de nódulos da tiróide, os indivíduos que possuem risco de desenvolver câncer.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Tomimori E, Pedrinola F, Cavaliere H, Knobel M, Medeiros-Neto G. Prevalence of incidental thyroid disease in a relatively low iodine intake area. *Thyroid* 1995; 5(4):273-6.
2. Schlumberger MJ. Papillary and follicular thyroid carcinoma. *Baillieres Best Pract Res Clin Endo Metab* 2000; 14(4): 601-613.
3. Boone RT, Fan CY, Hanna EY. Well-differentiated carcinoma of the thyroid. *Otolaryngol Clin North Am.* 2003;36(1):73-90.
4. Ward LS, Assumpção LVM. Câncer diferenciado da tiróide: fatores prognósticos e tratamento. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2004 - no prelo.
5. American Cancer Society. Cancer facts and figures 2003. Disponível em: <http://www.cancer.org/docroot/PRO/>. Acessado em 23/12/2003.
6. Palli D, Masala G, Vineis P, Garte S, Saieva C, Krogh V, Panico S, Tumino R, Munnia A, Riboli E, Peluso M. Biomarkers of dietary intake of micronutrients modulate DNA adduct levels in healthy adults. *Carcinogenesis.* 2003;24(4):739-46.
7. Knudsen LE, Loft SH, Autrup H Risk assessment: the importance of genetic polymorphisms in man. *Mutat Res.* 2001; 482(1-2):83-8.
8. Morari EC, Leite JLP, Granja F, Assumpção LVM and Ward LS. *Cancer Epidemiol, Bio & Prev* 2002; 11(11):1485-1488.
9. Mulder TP, Manni JJ, Roelofs HM, Peters WH, Wiersma A. Glutathione S-transferases and glutathione in human head and neck cancer. *Carcinogenesis* 1995; 16(3):619-24.
10. Granja F, Morari J, Morari EC, Correia LA, Assumpção LVM, Ward LS. GST profiling may be useful in the screening for thyroid nodule malignancy. *Cancer Letters* 2004 - no prelo.
11. McClain RM. Mechanistic considerations for the relevance of animal data on thyroid neoplasia to human risk assessment. *Mutat Res.* 1995; 333(1-2):131-42.
12. Chatenoud L, La Vecchia C, Franceschi S, Tavani A, Jacobs DR Jr, Parpinel MT, Soler M, Negri E. Refined-cereal intake and risk of selected cancers in Italy. *Am J Clin Nutr.* 1999; 70(6):1107-10.
13. Zivaljevic V, Vlajinac H, Jankovic R, Marinkovic J, Dzodic R, Sipeti Grujii S, Paunovic I, Diklic A, Zivaljevic B. Case-control study of female thyroid cancer - menstrual, reproductive and hormonal factors. *Eur J Cancer Prev.* 2003; 12(1):63-6.
14. Memon A, Varghese A, Suresh A. Benign thyroid disease and dietary factors in thyroid cancer: a case-control study in Kuwait. *Br J Cancer.* 2002;86(11):1745-50.
15. Galanti MR, Hansson L, Bergstrom R, Wolk A, Hjartaker A, Lund E, Grimelius L, Ekblom A. Diet and the risk of papillary and follicular thyroid carcinoma: a population-based case-control study in Sweden and Norway. *Cancer Causes Control.* 1997; (2):205-14.
16. Bosetti C, Negri E, Kolonel L, Ron E, Franceschi S, Preston-Martin S, McTiernan A, Dal Maso L, Mark SD, Mabuchi K, Land C, Jin F, Wingren G, Galanti MR, Hallquist A, Glatte E, Lund E, Levi F, Linos D, La Vecchia C. A pooled analysis of case-control studies of thyroid cancer. VII. Cruciferous and other vegetables (International). *Cancer Causes Control.* 2002; 13(8):765-75.
17. Mack WJ, Preston-Martin S, Bernstein L, Qian D. Lifestyle and other risk factors for thyroid cancer in Los Angeles County females. *Ann Epidemiol.* 2002; 12(6):395-401.
18. Nagataki S, Nystrom E. Epidemiology and primary prevention of thyroid cancer. *Thyroid.* 2002; 12(10):889-96.
19. Czene K, Lichtenstein P, Hemminki K. Environmental and heritable causes of cancer among 9.6 million individuals in the Swedish Family-Cancer Database. *Int J Cancer.* 2002; 99(2):260-6.
20. Hernandez A, Cespedes W, Xamena N, Surralles J, Creus A, Galofre P, Marcos R.. Glutathione S-transferase polymorphisms in thyroid cancer patients. *Cancer Lett.* 2003; 190(1):37-44.
21. Pal A, Hu X, Zimniak P, Singh SV. Catalytic efficiencies of allelic variants of human glutathione S-transferase Pi in the glutathione conjugation of alpha, beta-unsaturated aldehydes. *Cancer Lett.* 2000; 154(1):39-43.
22. Pandya U, Srivastava SK, Singhal SS, Pal A, Awasthi S, Zimniak P, Awasthi YC, Singh SV. Activity of allelic variants of Pi class human glutathione S-transferase toward chlorambucil. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;278(1):258-62.
23. Hu X, Pal A, Krzeminski J, Amin S, Awasthi YC, Zimniak P, Singh SV. Specificities of human glutathione S-transferase isozymes toward anti-diol epoxides of methylchrysenes. *Carcinogenesis.* 1998; 19(9):1685-9.
24. Hu X, Seidel A, Frank H, Srivastava SK, Xia H, Pal A, Zheng S, Oesch F, Singh SV. Differential enantioselectivity of murine glutathione S-transferase isoenzymes in the glutathione conjugation of trans-3,4-dihydroxy-1, 2-oxy-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[c]phenanthrene stereoisomers. *Arch Biochem Biophys.* 1998; 358(1):40-8.



## ● DISEÑO ESTADÍSTICO DE ESTUDIOS CLÍNICOS EN FASE II Y SUS APLICACIONES EN CÁNCER DE MAMA: ACTUALIZACIÓN DE UNA INVESTIGACIÓN SOBRE LAS MODALIDADES DE EVALUACIÓN Y COMUNICACIÓN DE LA TOXICIDAD EN EL MISMO CONTEXTO CLÍNICO



Columnista Experto de SIIC  
Dr. Ottaiano A, Di Maio M, De Maio E y Perrone F

Médico especialista en Oncología

### "Estudio de modalidades de valoración y comunicación de toxicidad en estudios prospectivos no comparativos de quimioterapia en cáncer de mama". Resumen

Recientemente realizamos una investigación <sup>1</sup> acerca de la forma de valorar y registrar la toxicidad en trabajos clínicos prospectivos no comparativos en cáncer de mama publicados entre 1995 y 1999 en siete revistas distinguidas de la especialidad (*Annals of Oncology; Breast Cancer Research and Treatment; British Journal of Cancer; Cancer; Clinical Cancer Research; European Journal of Cancer y Journal of Clinical Oncology*). Los artículos incluidos se seleccionaron en forma manual; dos investigadores independientes completaron un formulario de registro (*study report form, SRF*). En estos formularios se captaron dos clases de información: datos sobre las características del estudio incluido (revista, año de publicación, año de inicio del trabajo, organización del estudio, apoyo de un patrocinador, número de ramas de la investigación, indicación de la fase del trabajo, diseño estadístico y puntos primarios de evaluación) y datos de las variables asociadas con el registro de toxicidad (escala empleada para codificar la toxicidad, indicación de exámenes planificados y su momento de realización, uso de tablas descriptivas de toxicidad, tipo de mediciones y frecuencia con la que se realizó hemograma). La idoneidad de las modalidades de valoración de toxicidad se estableció en función de cuáles fueron las evaluaciones indicadas por los autores y en qué momento fueron planificadas. Las modalidades pudieron ser adecuadas cuando se publicaron los detalles de ambos interrogantes e inadecuadas cuando uno o ambos parámetros estaban ausentes. Las revistas se clasificaron en dos subgrupos según el factor de impacto: impacto muy alto, representado por el *Journal of Clinical Oncology*, que siempre tuvo un puntaje cercano o superior a 7, y las de impacto alto en la que se incluyeron las seis publicaciones restantes, cuyo factor de impacto estuvo siempre por encima de dos pero por debajo de 4. Los datos se cruzaron en tablas de eventos fortuitos con cinco variables relacionadas con el contexto (número de instituciones participantes; patrocinador; presencia de un diseño estadístico identificable y presencia de un rótulo explícito de fase II). Finalmente evaluamos las asociaciones entre las modalidades de valoración y registro de la toxicidad y de los factores relacionados con el contexto por la prueba de chi cuadrado.

Entre los 122 estudios seleccionados y revisados encontramos que la escala de la OMS fue la utilizada más frecuentemente (45.9%) para evaluar toxicidad, seguida por las escalas CTC (35.2%). Las modalidades de valoración de toxicidad se comunicaron en forma inadecuada o no se comunicaron en más del 20% de los estudios. La toxicidad fue una variable primaria de evaluación en el 45.9% de los estudios y se resumió predominantemente por paciente (69.7%). Se identificaron tres patrones de frecuencia de solicitud de recuento de blancos: semanal (la modalidad más común); una vez al finalizar cada ciclo (la menos habitual) y más de una vez por semana. En el 21.3% de los trabajos no hubo información en relación con este parámetro. En la mayoría de los artículos, la toxicidad y su gravedad fueron comunicadas en forma completa (82.8% y 68.9%, respectivamente). En forma llamativa notamos que un factor de alto impacto se asoció significativamente con un uso más frecuente de las escalas CTC ( $p= 0.001$ ) y con mayor frecuencia de hemogramas ( $p= 0.002$ ). En los trabajos que refirieron los resultados de investigaciones multicéntricas más frecuentemente se adoptaron mediciones por paciente para comunicar la toxicidad ( $p= 0.006$ ). La indicación explícita de la fase de estudio se correlacionó con el uso más frecuente de tablas para comunicar la toxicidad ( $p= 0.0006$ ). Asimismo, la presencia de un patrocinador se correlacionó con un incremento relevante del uso de escalas CTC ( $p= 0.0006$ ).

El diseño estadístico identificó también se asoció en forma significativa con el uso de escalas CTC ( $p= 0.006$ ) y con la aplicación de tablas para referir la toxicidad ( $p = 0.05$ ). En forma similar, los estudios de inicio más reciente (1993-1997 *versus* 1986 a 1992) se asociaron con mayor uso de escalas CTC ( $p = 0.03$ ) y de tablas para mostrar la toxicidad ( $p = 0.05$ ). No hubo correlación significativa de las modalidades de valoración de la toxicidad y de su registro según el año de publicación y las variables principales de análisis del estudio. Dada la amplia diversidad de modalidades de registro y comunicación de la toxicidad observada, en nuestra opinión los estándares actuales deberían ser revisados y compaginados para mejorar la confiabilidad de cada dato.

### **Aspectos metodológicos ocultos en estudios publicados de fase II de tratamiento de cáncer de mama**

Durante el análisis de los datos previos otro defecto importante fue la falta de un diseño estadístico formal el cual sólo pudo identificarse en un tercio de los trabajos seleccionados (34.4%), de manera que la mayoría carecía de un plan estadístico de estudio y una estimación *a priori* del tamaño de la muestra. Por otro lado, observamos que un diseño estadístico se asoció con el uso más frecuente de las escalas CTC y de tablas de toxicidad. Por este motivo, en el trabajo actual prestamos mayor atención a la aplicación de diseños en fase II en el contexto clínico del estudio previo y también analizamos datos de 23 trabajos de terapia hormonal que habían sido eliminados del ensayo anterior por el bajo índice de toxicidad. De hecho, esta actualización se basó en 145 ensayos de tratamiento de cáncer de mama publicados en las mismas revistas entre 1995 y 1999. En la misma revisamos la magnitud de las estrategias estadísticas aplicadas en estudios en fase II de cáncer de mama. Recientemente se ha publicado un artículo extenso al respecto.<sup>2</sup>.

### **Aplicación de los diseños de fase II a la investigación clínica en cáncer de mama: actualización del "Estudio de modalidades de valoración y comunicación de toxicidad en estudios prospectivos no comparativos de quimioterapia en cáncer de mama"**

La investigación de drogas antineoplásicas se realiza con estudios en fase I, luego en fase II y, finalmente, con ensayos clínicos prospectivos en fase III. Las investigaciones en fase II tienen por objetivo evaluar si existe evidencia de acción antitumoral que justifique estudios futuros con la droga experimental; así se reduce la probabilidad de planificar investigaciones prolongadas, costosas y no éticas con terapias ineficaces. La metodología de los estudios en fase II intenta minimizar el número de pacientes tratados con terapias posiblemente inútiles, reducir el riesgo de concluir erróneamente que el nuevo fármaco es ineficaz o de rechazar en forma equivocada un fármaco potencialmente útil. El diseño estadístico de los estudios en fase II puede agruparse según las principales características: principales parámetros o criterios de valoración, número de tratamientos, tipo de estructura de la inferencia, cantidad de estadios, número de drogas (tabla 1).

**TABLA 1. Características principales del diseño estadístico en estudios en fase II.**

---

**Punto de evaluación**

Respuesta  
Respuesta + índice de progresión  
Tiempo hasta el evento (progresión o muerte)  
Respuesta más toxicidad

**Número de brazos**

Uno  
Múltiples (aleatorizado)

**Estructura de inferencia**

Prueba de la hipótesis  
Estimación  
Bayesiana  
Teoría de selección

**Número de estadios**

Un-estadio (no es posible la interrupción precoz)  
Múltiples estadios (la interrupción prematura se basa en inactividad, toxicidad o ambos)

**Número de drogas**

Un único agente  
Combinación de drogas

---

También se tuvieron en cuenta otras variables relacionadas con la planificación de la fase de los estudios, pertinentes para esta actualización: presencia de un estudio en fase I, tipo de tratamiento experimental, cantidad de drogas (agentes en forma aislada o en combinación), número de pacientes enrolados. La aleatorización no se consideró *per se* 0 d(v)16.19013.9po 9713.tadí.1901



Las características generales y metodológicas de los estudios se muestran en la tabla 2 y 3.

**TABLA 2. Características generales de los 145 estudios seleccionados.**

	<b>N (%)</b>
<b>Revista</b>	
<i>Ann Oncology</i>	19 (13.1)
<i>Cancer</i>	13 (9.0)
<i>Breast Cancer Res Treat</i>	21 (14.5)
<i>Br J Cancer</i>	15 (10.3)
<i>Clin Cancer Res</i>	10 (6.9)
<i>Eur J Cancer</i>	18 (12.4)
<i>J Clin Oncol</i>	49 (33.8)
<b>Año de publicación</b>	
1995	29 (20.0)
1996	31 (21.4)
1997	25 (17.2)
1998	25 (17.2)
1999	35 (24.1)
<b>Año de inicio del estudio</b>	
Sin referencia	50 (34.5)
1986-1992	44 (30.3)
1993-1997	51 (35.2)
<b>Centros participantes</b>	
Unico	71 (49.0)
Múltiples	74 (51.0)
<b>Apoyo de un patrocinador</b>	
Ninguno o sin referencia	77 (53.1)
Parcial o total	68 (46.9)
<b>Tratamiento experimental</b>	
Quimioterapia	123 (84.8)
Terapia endócrina	18 (12.4)
Otras	4 (2.8)
<b>Número de drogas</b>	
Unico agente	62 (42.8)
Combinación	83 (57.2)

TABLA 3. Características metodológicas de los 145 estudios seleccionados.

	N (%)
<b>Estudio previo en fase I</b>	
Sin referencia	55 (37.9)
Con Referencia	90 (62.1)
<b>Tipo de estudio</b>	
Unico brazo	134 (92.4)
Aleatorizado	11 (7.6)
<b>Punto primario de evaluación</b>	
Respuesta ( $\pm$ toxicidad)	129 (89.0)
Sólo toxicidad	10 (6.9)
Otros	6 (4.1)
<b>Número de pacientes enrolados (por cuartiles)</b>	
$\leq$ 26	36 (24.8)
27-38	36 (24.8)
39-50	36 (24.8)
$\geq$ 51	37 (25.6)
<b>Indicación de la fase de estudio</b>	
No explícita	24 (16.6)
Fase II explícita (en el título o el texto)	121 (83.4)
<b>Diseño estadístico del estudio</b>	
No identificable	94 (64.8)
Identificable	51 (35.2)
<b>Resultados del estudio</b>	
Negativo	29 (20.0)
Positivo	116 (80.0)

En 50 (34.5%) no se dispuso de información sobre la fecha de inicio del trabajo. En los restantes 95, la duración promedio (tiempo entre el inicio y la publicación del estudio) fue de 4.5 años (DE 2.2). La mitad tuvo una organización multicéntrica. No se informó patrocinador en el 53.1% de los casos. Más de la mitad de las investigaciones (57.2%) evaluó una combinación de drogas y no un único agente. En el 37.9% de los artículos no hubo referencia de un estudio previo en fase I. Como era de esperar, la respuesta tumoral fue el punto primario de análisis en el 89% de los trabajos, en forma aislada o en simultáneo con el registro de toxicidad; esta última fue el único parámetro de evolución en el 6.9% de las investigaciones. El número promedio de pacientes enrolados fue de 39 (rango intercuartilo: 26 a 51). En 24 (19.3%) de los ensayos no hubo indicación explícita de la fase del estudio; no se identificó un diseño estadístico en 94 (64.8%) trabajos. Entre estos estaban los 24 estudios en los cuales no había indicación explícita de la fase de investigación. La referencia de un estudio previo en fase I, el inicio del trabajo en años más recientes, el tratamiento experimental con un único fármaco, la organización multicéntrica y el apoyo de un patrocinador se asociaron significativamente con la presencia de un diseño estadístico específico en el análisis de variables únicas (tabla 4). El tratamiento con un único agente (OR 2.35; IC 95%: 1.01-5.51) y la organización multicéntrica (OR 3.24; IC 95%: 1.47-7.15) fueron factores predictivos independientes de la presencia de un plan estadístico en el modelo de regresión logística de múltiples variables (tabla 4). Tal como se muestra en la tabla 5, los trabajos con planificación estadística más frecuentemente se publicaron en revistas de alto impacto y tuvieron, en forma global, menor duración: transcurrió alrededor de un año menos entre el momento de inicio y de publicación en comparación con aquellos sin planificación estadística (3.9 versus 4.9 años). No se encontró asociación entre el diseño estadístico del estudio y los resultados finales en general.



un diseño explícito; la organización multicéntrica y el tratamiento con un único fármaco experimental fueron las variables que más se relacionaron con la presencia de un diseño estadístico. Los artículos con un plan estadístico formal fueron de menor duración y se publicaron con un factor de alto impacto. El índice de estudios sin un diseño formal es "demasiado" elevado (64.8%). En más de 20 artículos no se hizo referencia en ninguna parte a un diseño estadístico o en fase II. Si bien los mismos se comunicaron como estudios prospectivos es difícil saber si fueron realmente prospectivos o simplemente fueron la recolección retrospectiva de datos. Por ende, sus resultados son cuestionables porque las dos formas de valorar resultados (prospectiva *versus* retrospectiva) pueden dar lugar a información muy distinta.

El hallazgo de que el diseño estadístico fuese más frecuente en estudios con un único fármaco en comparación con investigaciones de dos drogas en forma simultánea debe considerarse con mucha atención. De hecho, el objetivo de los estudios en fase II de combinación de drogas no es simplemente el de mostrar eficacia sino también revelar que la actividad alcanza un nivel suficiente de interés que justifica la realización de estudios más amplios en fase III. La falta de modelo estadístico complica la interpretación de los resultados aún más que en los primeros estudios en fase II cuyo objetivo es mostrar, al menos, algo de actividad incluso cuando sea muy baja.

Sin embargo, el índice de artículos con comunicación de un diseño estadístico es mayor que el recientemente encontrado por Mariani y Marubini<sup>3</sup> quienes mostraron que en sólo el 19.7% de los 308 estudios en fase II de cáncer publicados durante 1997 se identificaba un modelo estadístico. No obstante, estos investigadores prestaron atención a todas las revistas disponibles a través de Medline mientras que nuestra búsqueda se limitó a unas pocas revistas de muy buena calidad (por ejemplo, a aquellas con un factor de impacto constantemente superior a 2 publicadas durante 1994-1999); es por ello que nuestros datos también deben considerarse negativos.

El índice bajo de estudios con planificación estadística puede tener varias explicaciones. En primer lugar, las asociaciones entre un plan estadístico y la organización multicéntrica y un inicio más reciente indican que la difusión de la cultura de la metodología es cada vez mayor, particularmente en aquellas situaciones en las que ciertos aspectos metodológicos y estadísticos específicos se tienen en cuenta durante la planificación de la investigación. Sin embargo, en una enfermedad frecuente como lo es el cáncer de mama, es posible alcanzar el tamaño de la muestra requerida para la mayoría de los estudios en fase II en muchas unidades clínicas y esto favorece el inicio de ensayos en fase II sin planificación. Además, la forma usual de resumir los datos provenientes de estudios en fase II sobre una determinada droga es una forma elemental de comunicar el índice de respuesta o de toxicidad, en el mejor de los casos con intervalos de confianza; desafortunadamente, los datos rara vez son interpretados y presentados acorde con el plan estadístico del estudio. Aún así, este tipo de interpretación requeriría una homogeneidad sustancial en los métodos para la planificación estadística que no podemos analizar en esta revisión por el escaso número de artículos con diseño encontrados.

Otro problema es la interpretación errónea del papel de los trabajos en fase II en investigación clínica. En forma ideal, deberían realizarse uno o unos pocos estudios en fase II para cada nueva droga o combinación de fármacos, inmediatamente después de la investigación en fase I y, en caso de resultados positivos, antes de trabajos en fase III. La mayoría de los planes estadísticos incluyen aspectos éticos y operativos coherentes con este contexto. Lamentablemente, muchos de los artículos que revisamos no reúnen este paradigma fundamental. En aproximadamente el 40% de los estudios no se menciona un análisis previo en fase I. Algunos trabajos que abordan drogas no nuevas podrían leerse en forma optimista como estudios confirmatorios en fase II, pero más bien parecen tener la apariencia de un diseño hecho a medida acorde con la práctica clínica común. Por último, muchos artículos tienden a dar mensajes definitivos acerca de la utilidad clínica de la droga, a pesar de que deberían ser dados por estudios en fase III. Las futuras investigaciones de seguimiento podrían evaluar cuántos de estos estudios en fase II con hallazgos positivos culminan realmente en estudios en fase III.

Los ensayos en fase II aleatorizados<sup>4</sup> son particularmente proclives a este tipo de error, especialmente cuando se incluye un estándar o un brazo control como base de comparación. El pasaje desde el abordaje de selección (que es en sí para eliminar) al abordaje de la evaluación de la

hipótesis podría asociarse con un riesgo inaceptablemente alto de resultados falsos positivos.<sup>5</sup> Tal como se estableció en forma reciente, a menos que el estudio de seguimiento en fase III esté garantizado por algún mecanismo externo -regulaciones gubernamentales para la aprobación de un nuevo fármaco; el diseño de selección puede ser más dañino que beneficioso por la propensión a ser usado en forma incorrecta.<sup>6</sup>

No encontramos diferencia en el número de pacientes enrolados en trabajos según la presencia o no de un plan estadístico. Por supuesto, en los trabajos que carecen de plan no pudimos verificar *a posteriori* si el número de pacientes tratados era el adecuado. La selección de revistas de alto impacto podría nuevamente ser una posible explicación. Es factible que tales revistas acepten estudios bien planificados o sólo aquellos no planificados con un tamaño razonable de muestra (ni demasiado alto ni demasiado bajo). Sin embargo, esto no significa que se produzca información de la misma cantidad y calidad, independientemente del diseño estadístico ya que la interpretación de la mayoría de los estudios sin planificación sólo se deja al criterio de sus Autores, frecuentemente no relacionado con los objetivos propuestos y la literatura de contexto. Si bien en el grupo de artículos que revisamos no hubo diferencia entre el índice de resultados negativos entre los ensayos con y sin planificación, los Autores usualmente tendieron a hacer hincapié en los hallazgos positivos y a minimizar los negativos. Sin el control adecuado de los hallazgos falsos positivos y falsos negativos, muchos trabajos con un bajo índice de respuesta son presentados como "bien tolerados". Es preocupante por ejemplo que la distribución de los índices de respuesta oscilara entre el 32% y el 94% en 16 trabajos limitados a la quimioterapia de primera línea en enfermedad en estadio IV que concluyen con un mensaje "positivo".

### Los resultados de la revisión llaman la atención

Nuestra revisión de 160 artículos de alta calidad publicados entre 1995 y 1999 en revistas de alta calidad tiene un buen diseño estadístico, fenómeno que se observó particularmente en aquellos con organización multicéntrica. La falta de un diseño formal aparentemente no indujo diferencias sustanciales en el número de pacientes enrolados y en el índice de resultados "positivos". Sin embargo, se asoció con un tiempo mayor desde el inicio hasta la publicación y con un factor de impacto menor. Un número bastante grande

1. prospective studies of chemotherapy in breast cancer Clin Oncol 2002; 20: 52-7.
2. Perrone F, Di Maio M, De Maio E, et al: Statistical design in phase II clinical trials and its application in breast cancer. Lancet Oncol 2003; 4: 305-311.
3. Mariani L, Marubini E. Content and quality of currently published phase II cancer trials J Clin Oncol 2000; 18: 429-436.
4. Simon R, Wittes RE, Ellenberg SS. Randomized phase II clinical trials. Cancer Treatment Rep 1985; 69: 1375-1381.
5. Sylvester RJ. A bayesian approach to the design of phase II clinical trials. Biometrics 1988; 44: 823-836.
6. Liu PY, LeBlanc M, Desai M. False positive rates of randomized phase II designs. Control Clin Trials 1999; 20: 343-352.