



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**  
Centro Biomédico  
Faculdade de Ciências Médicas

Solange Maria Diniz Bizzo

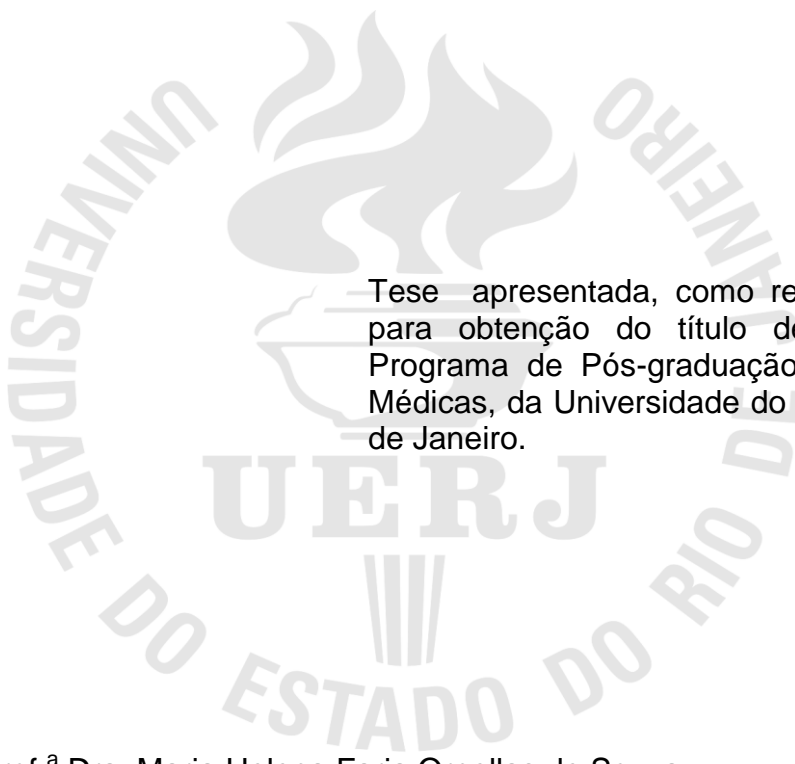
**Análise das dosagens do fator de crescimento endotelial vascular no  
plasma e fluidos peritoneais de pacientes  
com câncer epitelial de ovário**

Rio de Janeiro

2010

Solange Maria Diniz Bizzo

**Análise das dosagens do fator de crescimento endotelial vascular no plasma e fluidos peritoneais de pacientes com câncer epitelial de ovário**



Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Helena Faria Ornellas de Souza

Coorientador: Prof. Dr. José Cláudio Casali da Rocha

Rio de Janeiro

2010

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

B625 Bizzo, Solange Maria Diniz.  
Análise das dosagens do fator de crescimento endotelial vascular no plasma e fluidos peritoneais de pacientes com câncer epitelial de ovário / Solange Maria Diniz Bizzo. – 2010.  
157 f.

Orientadora: Maria Helena Faria Ornellas de Souza.  
Coorientador: José Cláudio Casal da Rocha.  
Tese (Doutorado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Ovários - Câncer - Teses. 2. Ovários - Cirurgia - Teses. 3. Fatores de crescimento Endotelial Vascular. 4. Angiogênese patológica. 5. Albumina - Teses. I. Souza, Maria Helena Faria Ornellas de. II. Rocha, José Cláudio Casal da. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 618.1-006.6

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Solange Maria Diniz Bizzo

**Análise das dosagens do fator de crescimento endotelial vascular no plasma e fluidos peritoneais de pacientes com câncer epitelial de ovário**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 29 de janeiro de 2010.

Coorientador:

---

Prof. José Cláudio Casali da Rocha  
Instituto Nacional do Câncer- INCA

Banca Examinadora:

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Helena Faria Ornellas de Souza (Orientadora)  
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

---

Prof. Dr. Marco Aurélio Pinho Oliveira  
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

---

Prof. Dr. Prof Ricardo Bassil Lasmar  
Universidade Federal Fluminense - UFF

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Dayse Aparecida da Silva  
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

---

Prof. Dr. Antonio Augusto Ornellas de Souza  
Instituto Nacional do Câncer- INCA

Rio de Janeiro

2010

## **AGRADECIMENTOS**

Mãe, como é bom ter uma mãe exemplar para poder enchê-la de alegria com cada uma de minhas conquistas.

Pai, mesmo apesar de falecido, seus exemplos de luta e persistência mantêm-se vivos em minha memória.

Victor, meu filho, pela sua mente tão aguçada, que me faz reavaliar cada gesto, cada atitude a toda hora.

Marcelo, meu filho, que me educa com sua paciência e com seus questionamentos.

Professora Maria Helena, porque creio que todos pós-graduandos sonham em ter um orientador como você.

Professor José Cláudio Casali-da-Rocha, diretor do Banco Nacional de Tumores e co-orientador, pelo apoio operacional para a execução desta pesquisa.

Dr. José Marinaldo Lima, cirurgião do Serviço de Ginecologia, pela sua colaboração neste estudo.

Dr Luiz Figueiredo Mathias, chefe do Serviço de Ginecologia do INCA, pelo apoio ao nosso esforço em desenvolver este projeto.

Professora Eurídice Maria de Almeida Figueiredo pela semente lançada.

Vera Lúcia da Cunha Alves, chefe do Laboratório de Patologia Clínica, do INCA e sua equipe pela sua primorosa participação no preparo de todo o material coletado.

Dr Fábio Carvalho de Barros Moreira, médico do Serviço de Anatomia Patológica do INCA pela sua colaboração com os diagnósticos histopatológicos.

Débora Dummer e Jânio da Silva Mororó pelo paciente trabalho de dosagens dos componentes das amostras.

Carlos Eduardo Raymundo pelo inestimável auxílio na análise ROC.

Alma Lúcia Araújo, circulante do centro cirúrgico, amante da ciência e tão colaborativa com todo o processo de coleta das amostras.

Edna Maria Gonçalves Martins, secretária do Serviço de Ginecologia Oncológica pelo cuidado da marcação de internação e cirurgia destas pacientes além de suas tantas outras responsabilidades.

Dr. Martinelis Tavares, médico do Serviço de Anestesia do Hospital do Câncer II, pela paciência de obter e fornecer fotos durante o ato operatório.

Dra Renata Quintella Zamolyi, Residente da Anatomia Patológica do Instituto Nacional de Câncer pelas fotos de lâminas histopatológicas.

Régis de Souza Carvalho, Marcos Madeira e Sandra Maria Justiniano Gonçalves da Administração do Hospital do Câncer II, pelo seu inestimável apoio no transporte do material coletado.

Juliana Félix Alves pela ajuda na formatação do texto.

Olívia Conceição Kelly da Silva, não só pelo apoio técnico, mas principalmente pelo carinho e orientação espiritual ao longo desta jornada árdua da pós-graduação.

Residentes de Cirurgia Oncológica que me auxiliaram direta ou indiretamente neste projeto.

Instrumentadoras cirúrgicas que deram o máximo de si em cada ato cirúrgico.

Enfim, a todas as pacientes que mesmo já tendo partido, deixaram para a humanidade seu legado de preocupação com o próximo.

Meu Senhor,

Sempre me trataste como a menina dos teus olhos. Muitas vezes sofri antes de te conhecer, meu Pai. Porém, quando descobri o imenso amor que sentias por mim, nunca mais me vi desamparada. E sempre que ouço o que esperas de mim, consigo andar segura neste mundo tão violento e caótico.

“Por tudo o que tens feito e por tudo que vais fazer. Por tua beleza e por tudo que és  
Eu quero te agradecer com todo o meu ser.

Agradeço-te meu Jesus”.

*Dennis Jernigan*

## RESUMO

BIZZO, Solange Maria Diniz. *Análise das dosagens do fator de crescimento endotelial vascular no plasma e fluidos peritoneais de pacientes com câncer epitelial de ovário*. 2010. 159 f. Tese (Doutorado em Ciências Médica) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010

A carcinogênese epitelial ovariana tem sido foco de estudos científicos em todo o mundo desenvolvido. A angiogênese tumoral ovariana é um processo multifatorial que resulta em vários produtos pró-angiogênicos. Entre eles, o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) é predominante. Os objetivos deste estudo foram relacionar as dosagens do VEGF dos fluidos peritoneais, do plasma periférico e do infundíbulo pélvico aos níveis de citorredução em pacientes operadas de adenocarcinoma epitelial de ovário (CEO); formular um modelo probabilístico de citorredução e utilizar estas dosagens para estimar a probabilidade do desfecho de citorredução. Além disto, foi criada uma nova variável chamada carga de VEGF. Pelo procedimento *step-wise* a citorredução foi melhor descrita pela carga de VEGF, mas faltou Normalidade aos resíduos, não sendo possível a adequação de um modelo matemático. Porém, a curva ROC, forneceu uma área sob a curva de 0,84, com sensibilidade de 71,4 % e especificidade variando de 69,5 a 73,9%. O ponto de corte ótimo foi 15,52 log de picograma de carga de VEGF. A *odds-ratio* (OR) calculada para citorredução ótima descrita pela carga de VEGF foi de 11 (IC= 2,59 ; 46,78). No grupo com estágio avançado (III e IV), a OR foi de 6 (IC= 1,15; 31,22). Apesar do pequeno número de casos, esta nova variável pode vir a ser um auxiliar na determinação de situações onde cirurgia citoredutora deixa de ser a pedra fundamental do tratamento primário do CEO e a indução quimioterápica passe a ter o principal papel na citorredução química antes da cirurgia nestes casos.

Palavras-chave: Câncer de ovário. Fator de crescimento. VEGF. Citorredução. Angiogênese. Albumina.



## ABSTRACT

Epithelial ovarian carcinogenesis has been the focus of scientific studies in developed world. The ovarian tumor angiogenesis is a multifactorial process that results in pro-angiogenic products. Among them, vascular endothelial growth factor (VEGF) is predominant. This study aimed to relate VEGF levels in peritoneal fluids, peripheral plasma and pelvic infundibular plasma to debulking levels in patients operated on for epithelial ovarian carcinoma (EOC), formulate a probabilistic model for debulking and use these measurements to estimate the probability of the outcome of debulking. Moreover, it was created a new variable called burden of VEGF. For step-wise procedure, cytoreduction was better described by of burden VEGF, but missed Normality of residuals, so the adequacy of a mathematical model was not possible. Nevertheless, the ROC curve provided an area under the curve of 0.84, with sensitivity of 71.4 % and especificity varying from 69.5 to 73,9%. The optimal cutoff point was 15.52 log of picograms of VEGF burden. An odds-ratio for optimal cytoreduction described by the VEGF burden was 11 (CI= 2.59; 46.78). In the group with advanced stages (III & IV), the OR was 6 (CI= 1.15; 31.22). Apart from the small number of cases, this new variable might help to determine situations where cytoreductive surgery leaves behind the cornerstone of primary treatment of CEO and the chemotherapeutic induction comes to have main role in chemical cytoreduction prior to surgery in these cases.

Keywords: Ovarian cancer. Growth factor. VEGF. Debulking. Angiogenesis. Serum albumin.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Secção do córtex ovariana de uma mulher adulta normal. A seta aponta o epitélio da superfície ovariana (ESO) externamente, como camada única de epitélio cuboidal. (H & E x 160).....	23
Figura 2	Número de casos de neoplasia maligna de ovário no ano de 2000 (Fonte: MS/ INCA/ Conprev/ Divisão de Informação, 2000).....	32
Quadro 1	Tratamento cirúrgico do câncer de ovário.....	36
Figura 3	Coleta do sangue do infundíbulo pélvico.....	44
Figura 4	Histogramas das distribuições das dosagens de VEGF e CA 125 antes das transformações.....	55
Figura 5	Distribuição das dosagens de VEGF e CA 125 transformados.....	56
Figura 6	Distribuição das dosagens de VEGF e CA 125 transformados.....	58
Figura 7	Distribuição da citorredução para ponto de corte de CA 125 em 330 U/ml.....	59
Figura 8	Distribuição da citorredução para ponto de corte de CA 125 em 500 U/ml.....	61
Quadro 2	Relatório produzido pelo procedimento <i>step-wise</i> , utilizando o modelo vazio e as variáveis com p-valor menor que 0,3.....	72
Quadro 3	Sumário do modelo fornecido pelo procedimento <i>step-wise</i> .....	73
Figura 9	Diagnóstico gráfico dos resíduos fornecidos pelo modelo do <i>step-wise</i> .....	74
Figura 10	Gráfico quantil-quantil para avaliação da normalidade dos resíduos e valores extremos.....	75
Figura 11	Gráfico da análise ROC, mostrando a sensibilidade <i>versus</i> a taxa de falso positivo (1-especificidade).....	77
Figura 12	Estabelecimento do ponto de corte ao nível de sensibilidade de 71,4% (linha preta) e especificidade de 69,5 a 73,9% (linha vermelha). A linha azul é referente ao <i>plateau</i> de sensibilidade.....	78
Quadro 4	Relatório da regressão logística simples da citorredução descrita pelo ponto de carga de VEGF. O p-valor é igual a 0,001 .....	79

Quadro 5	Análise da citorredução descrita pelo ponto de corte de log de carga de VEGF(15,52) para pacientes em estádios avançados. O p-valor é igual a 0,03 .....	80
----------	--	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Estratificação de risco em estádios iniciais de CEO .....	37
Tabela 2	Descrição das variáveis utilizadas no estudo .....	47
Tabela 3	Diagnósticos histopatológicos das pacientes operadas .....	51
Tabela 4	Distribuição dos casos de CEO, conforme estadiamento da FIGO .	52
Tabela 5	Distribuição de acordo com subtipo histopatológico .....	52
Tabela 6	Distribuição segundo o grau histopatológico . .....	53
Tabela 7	Distribuição segundo as categorias do volume de fluidos peritoneais .....	53
Tabela 8	Distribuição das dosagens de albumina categorizada .....	54
Tabela 9	Distribuição da citologia peritoneal.....	54
Tabela 10	Transformações das variáveis das dosagens de VEGF e CA 125 ..	56
Tabela 11	Dosagens de VEGF por local de coleta em log de pg/ml e CA 125 em log U/ml .....	57
Tabela 12	Distribuição dos casos segundo a citorredução .....	58
Tabela 13	Citorredução para ponto de corte de CA 125 em 330U/ml .....	59
Tabela 14	Citorredução para ponto de corte de CA 125 em 500 U/ml .....	60
Tabela 15	Distribuição dos casos segundo estadiamento .....	61
Tabela 16	Resumo dos testes estatísticos aplicados no grupo total de 46 pacientes .....	63
Tabela 17	Resumo dos testes de correlação entre as dosagens de VEGF nas 46 pacientes .....	64
Tabela 18	Resumo dos testes estatísticos aplicados no grupo estratificado por ascite .....	66
Tabela 19	Testes de correlações em pacientes portadoras de ascite .....	67
Tabela 20	Distribuição de citorredução em pacientes com estádios avançados .....	68
Tabela 21	Análises estatísticas de pacientes com estádios III e IV .....	69

Tabela 22	Testes de correlações em pacientes com estádios III e IV .....	70
Tabela 23	Resumo das análises bivariadas, através de regressão logística simples .....	71

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIC	Akaike information criterium (critério de informação de Akaike)
AUC	Area under the curve (área sob a curva)
CEO	Câncer epitelial de ovário
DP	Desvio padrão
ESO	Epitélio superficial de ovário
FC	Fator de crescimento
FIGO	Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia
FSH	Hormônio folículo estimulante
H & E	Hematoxilina e eosina
IC	Intervalo de confiança (limite inferior; limite superior)
INCA	Instituto Nacional de Câncer
KW	Teste de Kruskal-Wallis
LH	Luteinizing hormone (hormônio luteinizante)
MW	Teste de Mann-Whitney
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	<i>Odds ratio</i> (razão de chances)
ROC	Receiving operating characteristic (Curva operativa do receptor)
SOE	Sem outra especificação
TAP	Tempo e atividade de protrombina
VEGF	Vascular endothelial growth factor (Fator de crescimento endotelial vascular)

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
1	<b>FATORES DE CRESCIMENTO EM OVÁRIO</b> .....	19
2	<b>A BIOLOGIA DO EPITÉLIO DA SUPERFÍCIE OVARIANA</b> .....	22
3	<b>A CARCINOGENESE EPITELIAL DO OVÁRIO</b> .....	24
4	<b>O MARCADOR TUMORAL CA 125</b> .....	28
5	<b>EPIDEMIOLOGIA</b> .....	31
6	<b>CLASSIFICAÇÃO HISTOPATOLÓGICA</b> .....	33
7	<b>DIAGNÓSTICO</b> .....	34
8	<b>ESTADIAMENTO CIRÚRGICO</b> .....	35
9	<b>QUIMIOTERAPIA NO CÂNCER EPITELIAL DE OVÁRIO</b> .....	37
10	<b>FATORES PROGNÓSTICOS</b> .....	39
11	<b>OBJETIVOS</b> .....	40
12	<b>PACIENTES E MÉTODOS</b> .....	41
12.1	<b>Critérios de elegibilidade</b> .....	41
12.1.1	<u>Critérios de inclusão</u> .....	41
12.1.2	<u>Critérios de exclusão</u> .....	41
12.2	<b>Exames de avaliação pré-operatória</b> .....	42
12.3	<b>Avaliação transoperatória</b> .....	42
12.4	<b>Protocolo de dosagem do VEGF</b> .....	44
12.4.1	<u>Preparo da placa</u> .....	45
12.4.2	<u>Protocolo ELISA</u> .....	45
12.5	<b>Análise estatística</b> .....	46
13	<b>RESULTADOS</b> .....	51
14	<b>DISCUSSÃO</b> .....	82

15	<b>CONCLUSÕES</b> .....	89
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	90
	<b>APENDICE A</b> - Metodologia das transformações das dosagens de VEGF e CA 125 .....	102
	<b>APENDICE B</b> - Resumo das correlações entre as amostras de VEGF...	114
	<b>APENDICE C</b> - Modelos estatísticos testados .....	122
	<b>APENDICE D</b> - Curva ROC, sensibilidade e especificidade .....	147
	<b>ANEXO A</b> - Carcinoma de ovário: nomenclatura da figo, 1988 .....	156
	<b>ANEXO B</b> – Família dos fatores de crescimento (Brentani, 1997) .....	157
	<b>ANEXO C</b> - Causas de aumento de CA 125.....	158
	<b>ANEXO D</b> - Classificação dos tumores malignos epiteliais de ovário (OMS, 2003) .....	159
	<b>ANEXO E</b> - Tabela dos coeficientes de correlações (Santos, 2007) .....	160



## INTRODUÇÃO

No ovário ocorre a maior variedade de tumores do que em qualquer outro órgão no corpo humano (Brown et al.,1993). O câncer epitelial de ovário (CEO) apresenta mau prognóstico e é a principal causa de morte entre as enfermidades malignas ginecológicas que afetam as mulheres ocidentais em países desenvolvidos. Cerca de 23.000 novos casos de câncer de ovário são diagnosticados a cada ano nos Estados Unidos (Brown et al 2000). Para 2009, foram estimados 21.550 casos novos e 14.600 mortes por câncer de ovário nos Estados Unidos da América do Norte (American Cancer Society, 2010). Infelizmente, no Brasil não existe estimativa da incidência do CEO para 2010 (Ministério da Saúde, 2009).

Esta doença geralmente se restringe, pelo menos de início, à cavidade peritoneal através da qual se dissemina. Na maioria das vezes, a principal queixa é aumento do volume abdominal causado pela ascite (Czernobilsky, 1987; Bamberg & Perrett, 2002). Por se apresentar pobre em sintomas, o diagnóstico do CEO ocorre em casos avançados, ou seja, estágio III ou IV, de acordo com a classificação da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia, FIGO, (ANEXO 1), e a sobrevida em 5 anos está em torno de 20% (Kristensen & Tropé, 1997).

O desenvolvimento tumoral está associado a vários mecanismos, entre eles a angiogênese. Porém, tantos outros processos fisiológicos, como desenvolvimento embrionário, funções reprodutivas (ovulação, inclusive), cicatrização de feridas, processos degenerativos como artrite reumatóide, retinopatias, psoríase também estão ligadas a este processo (Carmeliet & Jain, 2000). Todos estes processos são dependentes da proliferação vascular, através da formação de novas células endoteliais (Folkman,1990; Brown et al, 2000). O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é um dos mais potentes fatores angiogênicos descritos e é também conhecido por aumentar a permeabilidade microvascular (Dvorak et al, 1995), e a sua superexpressão tem sido demonstrada numa variedade de tumores, incluindo os tumores de mama, ovário, bexiga, vulva, útero e cervix uterina (Bamberger & Perret, 2002).

No entanto, muitas questões ainda estão por ser respondidas em relação ao VEGF e o câncer de ovário. Qual seria o valor prognóstico do VEGF no câncer de ovário? Níveis elevados de VEGF estariam relacionados ao volume de ascite neoplásica e à disseminação intraperitoneal da moléstia? Quem seria o maior determinante das concentrações plasmáticas e na ascite de VEGF: volume tumoral, tipo histopatológico ou grau de diferenciação?

Este estudo avalia a utilização das dosagens de VEGF plasmático e em fluidos peritoneais e suas relações com o desfecho cirúrgico de citorredução em pacientes portadoras de CEO e sua aplicação na prática médica.

## 1 FATORES DE CRESCIMENTO E A ANGIOGÊNESE EM OVÁRIO

Fatores de crescimento (FC) são polipeptídeos que estão direta e especificamente envolvidos no estímulo da divisão celular (Brentani, 1997). Estão entre as substâncias biológicas mais potentes, sendo ativas em concentrações na ordem de pg/ml ( $1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ g}$ ). Os fatores de crescimento estão agrupados em famílias de acordo com suas semelhanças estruturais e sequenciais. O anexo 2 mostra as principais famílias conhecidas (Brentani, 1997).

Os FC se ligam a receptores de membrana celular e emitem sinais biológicos para desencadear uma resposta celular. Alguns receptores se ligam a mais de um FC.

As respostas celulares aos FC muitas vezes estão ligadas a expressão de enzimas, (cinases, fosforilases, hidrolases), estímulo de quimiotaxia, ativação genética indireta, com conseqüente transcrição e divisão celular.

No epitélio da superfície ovariana (ESO) a atividade basal dos FC se mantém até próximo à ovulação. O fator de crescimento epitelial (EGF) e o fator transformante de crescimento alfa ( $\text{TGF-}\alpha$ ) estão relacionados à proliferação epitelial reparadora pós-ovulatória em ovários normais. Esta resposta ao EGF não é observada nas células de carcinoma ovariano, enquanto a expressão persistente de  $\text{TGF-}\alpha$  foi encontrada em uma fração de tumores malignos (Brentani, 1997).

A angiogênese em tecidos humanos normais adultos é infrequente e o endotélio da maioria dos tecidos representa uma população de células endoteliais estáveis com baixo índice de mitose (Denekamp apud Reynolds et al, 2002)

O fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) é até o momento, o principal fator de crescimento vascular atuante em processos fisiológicos, inflamatórios, cicatrização, processos degenerativos e câncer. No ovário, o VEGF está envolvido em situações fisiológicas, tais como proliferação do epitélio, crescimento folicular, esteroidogênese, ovulação, desenvolvimento do corpo lúteo entre outros (Lam, 2005).

O VEGF, também conhecido outrora como fator de permeabilidade vascular, é uma glicoproteína dimérica do grupo das citocinas e tem peso molecular de 34.000 a 42000 kilodaltons que apresenta potentes efeitos mitogênicos e quimiotáxicos (Ferrara et al, 1991). É 50.000 vezes mais potente que a histamina na indução da permeabilidade (Collins et al ,1993). Como uma citocina multifuncional, pode ser expressa em pelo menos quatro isoformas ( A, B, C, D, com 206, 189, 165 e 121 aminoácidos, respectivamente) . De acordo com estudos de Ferrara et al,1991, ele induz o crescimento endotelial e o brotamento capilar *in vitro* (Brown et al, 1993; Oslon et al, 1994; Brown et al, 1995), além de se correlacionar com o aumento da densidade vascular e disseminação metastática, resultando em prognóstico reservado. (Gasparini & Haris, 1995).

A primeira hipótese de fatores angiogênicos produzidos por tumores foi concebida em 1968 (Greenblatt & Shubik, 1968; Ehrmann & Knoth, 1968). Atualmente se aceita que existe um equilíbrio entre fatores pró-angiogênicos e anti-angiogênicos (Bouck et al, 1996; Hanahan & Weinberg, 2000). Sem vasos sanguíneos o tumor não pode se desenvolver, uma vez que a dispersão de oxigênio e nutrientes nos tecidos atinge de 100 a 200 milimicra além do vaso sanguíneo (Folkman, 1990).

Os tumores humanos podem permanecer adormecidos por anos, devido ao equilíbrio entre apoptose e proliferação celular. Em situações fisiológicas, os fatores anti-angiogênicos, com meia vida mais longa, excedem os fatores angiogênicos, impedindo a proliferação celular e o crescimento de metástase à distância (Carmeliet et al. 2000).

A relação entre VEGF e câncer de ovário ainda não está bem estabelecida, não se podendo afirmar se ele é um fator prognóstico independente (Secord et al., 2004). Yamamoto e colaboradores relataram que os níveis séricos de VEGF não apresentavam correspondência linear com o marcador tumoral CA 125 na mesma paciente. No entanto, estava elevado em 2 de 3 pacientes com adenocarcinoma de células claras em estágio inicial, onde os níveis séricos de CA 125 estavam normais (Yamamoto et al., 1997).

O VEGF induz a proliferação e migração das células endoteliais, agindo como fator mitogênico destas células, promovendo sua migração e inibindo a apoptose (Sönmezer et al., 2004). Por outro lado, o aumento do VEGF afeta a

diferenciação de múltiplas linhagens hematopoiéticas e compromete o desenvolvimento de células CD4+, resultando em maturação defeituosa de células dendríticas com conseqüente imunossupressão em várias neoplasias malignas, incluindo câncer de ovário, permitindo assim a progressão tumoral (Ye et al., 2004).

A inibição do VEGF causa regressão de células vasculares imaturas, mas não afeta as células maduras dos vasos sanguíneos. A alta expressão do VEGF pelo tumor também aumenta a pressão intersticial e um aporte desigual de nutrientes, oxigênio e agentes terapêuticos ao tumor. Além disto, o extravasamento intersticial de proteínas do plasma e a formação de um gel de fibrina ajudam células endoteliais não estruturadas a crescerem. A ruptura da adesão intercelular dentro do tumor aumenta a permeabilidade e aciona a liberação de células tumorais nos espaços linfáticos e vasculares. Células metastáticas poderão crescer após sua implantação bem sucedida em localizações à distância (Rasila et al, 2005).

## 2 A BIOLOGIA DO EPITÉLIO DA SUPERFÍCIE OVARIANA (ESO)

Cerca de 90% dos tumores malignos epiteliais ovarianos originam-se do ESO. Este epitélio que cobre toda a superfície ovariana é derivado do epitélio mesodermal das cristas gonadais, também chamado de epitélio celômico. Ele também dá origem aos ductos mullerianos (paramesonéfrico), ou seja, aos ovidutos e útero (Auersperg et al., 2001).

O epitélio celômico na região gonadal, no entanto, tem a capacidade de diferenciar-se através de várias vias em diferentes tipos celulares e parece que esta propriedade permanece nas células do ESO, ou seja, elas podem reproduzir linhagens celulares tumorais semelhantes ao epitélio do oviduto, endométrio e epitélio endocervical em tumores ovarianos epiteliais (Young et al.1989).

Este epitélio no menacme é considerado um mesotélio, por exibir fenótipo misto de epitélio e tecido mesenquimal, isto é, uma estrutura mesotelial simples que expressa um fenótipo epitélio-mesenquimal misto: os traços epiteliais incluem queratina, mucina, desmossoma, microvilosidade apical e uma membrana basal. Porém, como células mesenquimais ou estromais, o ESO contem vimentina e N-caderina e é deficiente em marcadores CA 125 e E-caderina que estão presentes no epitélio do oviduto e endométrio normais, tecido ovariano metaplásico de criptas e cistos de inclusão (Auersperg et al., 1994). O ESO normal responde ao micro-ambiente de cultura de tecidos, modulando seu fenótipo de epitelial para mesenquimal (Auersperg et al., 1994; Dyck et al.,1996). Curiosamente, esta capacidade é perdida com a progressão neoplásica e as células ficam pronunciadamente acometidas pelo fenótipo epitelial, que inclui a formação de estruturas glandulares e papilas (Young et al.1989; Dyck et al.,1996; Sundfeldt et al., 1997; Wong et al., 2002).

As células neoplásicas adquirem a molécula de adesividade E-caderina que parece agir como fator de sobrevivência (Kantak et al., 1998; Peluso et al., 2000), e aumentam a expressão do receptor para fator de crescimento do hepatócito (c-met), o que contribui para crescimento e invasão de uma série de tumores (Huntsman et al., 1999). A estabilidade destes fenótipos epiteliais sob uma variedade de condições *in vivo* e em cultura demonstra provavelmente

uma forma de autonomia, isto é, uma falta de resposta ao controle ambiental, que é uma característica importante das células neoplásicas.

A complexidade do ESO é bem maior que a sua inocente aparência (figura1), pois ele transporta material para e a partir do peritônio, toma parte da ruptura e reparo do folículo no ciclo ovulatório, secreta e expressa receptores para hormônios, fatores de crescimento, citocinas com capacidade reguladora de crescimento e diferenciação (Kacinski et al., 1990; Bast et al., 1993; 71; Wong et al., 2001;). Como afirma Ausperg e colaboradores, em frase ainda muito atual: “Ainda não se tem o total conhecimento dos mecanismos reguladores que controlam o crescimento e diferenciação do ESO, o que resultaria em melhores condições de explorar terapêuticamente a resposta e dependência dos carcinomas ovarianos considerando a relação hormônio/fator de crescimento e ainda fornecer meios para a identificação de novos marcadores para diagnóstico mais precoce desta enfermidade” (Ausperg et al, 2001).

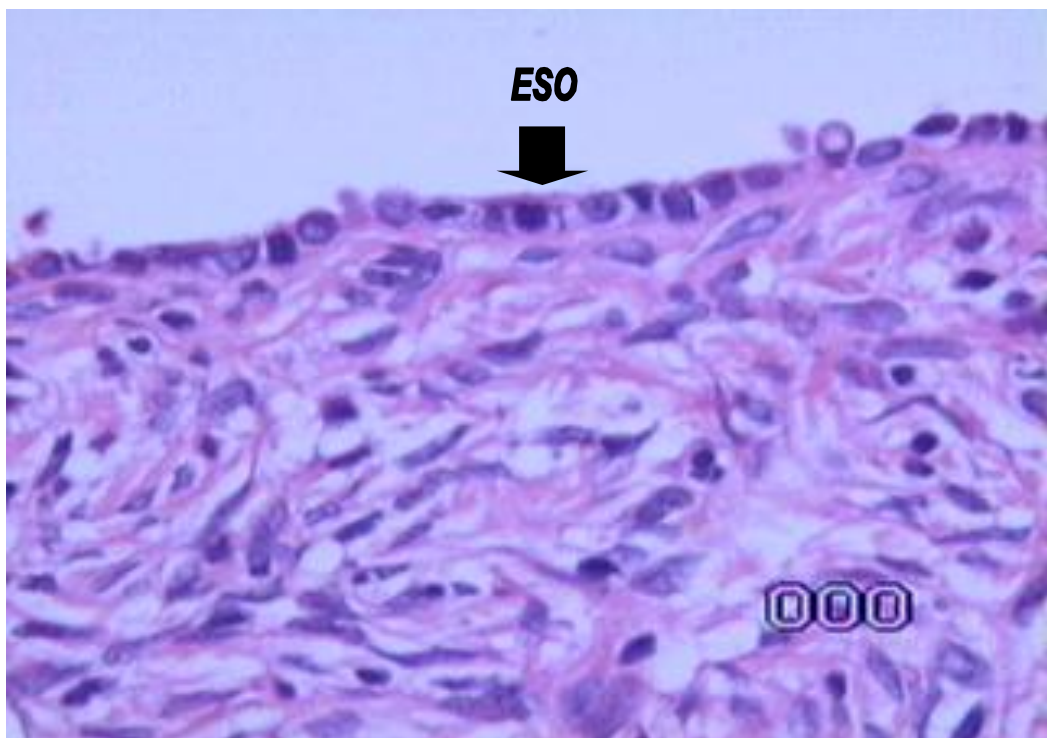


Figura 1: Secção do córtex ovariana de uma mulher adulta normal. A seta aponta o epitélio da superfície ovariana (ESO) externamente, como camada única de epitélio cuboidal. (H & E x 160)

### 3 A CARCINOGENESE EPITELIAL DO OVÁRIO

O CEO parece iniciar-se a partir do ESO, que como já abordado, recobre todo o ovário e sua morfologia variando desde escamoso simples a cuboidal e a pseudo-estratificado colunar (Papadaki et al,1977; Blaunstein et al, 1979). Não se sabe ao certo sobre as interrelações entre o ESO normal, metaplasia, tumores epiteliais benignos, tumores de baixo potencial de malignidade (“*borderline*”) e adenocarcinomas. O CEO apresenta uma variedade de manifestações tumorais, expressando propriedades relacionadas ao epitélio da trompa de Falópio (tumor seroso), endocervix ou epitélio colônico (tumor mucinoso), endométrio (tumor endometrióide) ou do trato urogenital (tumor de células claras). Estes subtipos histopatológicos apresentam prognósticos diferentes, apesar de aparentemente derivarem da mesma estrutura epitelial (Young et al.1989; van Niekerk et al., 1993). Estudos experimentais são comprometidos pela dificuldade de um modelo animal adequado. Por outro lado, a obtenção de ESO para manipulação em cultura de tecido é de complicada execução, devido ao frágil revestimento de tecido mesotelial em camada simples sobre a superfície do órgão.

Por tudo isto, vários pesquisadores têm voltado seu interesse para o estudo das neoplasias epiteliais malignas propriamente ditas, utilizando os vários recursos disponíveis para melhor entendimento dos eventos precoces ligados à carcinogênese ovariana. Os investimentos na pesquisa de drogas que aumentam a resposta e a sobrevida das pacientes são altíssimos e até o momento a perspectiva de mudança do quadro desta doença é pouco animadora. No entanto, atualmente o número de descobertas acerca de fenômenos moleculares e genéticos tem diminuído o abismo entre nós e esta devastadora enfermidade. Os principais avanços no conhecimento da carcinogênese desta doença têm se baseado, principalmente, na investigação em modelos animais e cultura de tecido de linhagens tumorais ovarianas.

Os eventos que precedem e iniciam a carcinogênese ovariana são pouco conhecidos. Não se pode ainda afirmar se eles se originam de um tumor benigno ou *borderline*, muito menos se isto acontece *de novo* em um ESO ou cisto de inclusão, resultantes das sucessivas ovulações (Fathalla et al., 1971).



Porém, é interessante observar que a incidência desta enfermidade aumenta drasticamente na fase do climatério por razões ainda desconhecidas. No entanto, existem duas hipóteses:

- Diminuição das células germinativas: Fatores hereditários e idade predispõem a uma frequência maior de invaginações epiteliais e cistos de inclusão, atualmente consideradas como alterações pré-neoplásicas. A depleção de células germinativas em camundongos resultou em aparecimento de adenoma tubular ovariano bilateral (Murphy, 1972; Murphy & Beamer, 1973; Ishimura et al., 1986; Duncan et al., 1993). O mecanismo pelo qual a deficiência ou depleção de células germinativas leva ao desenvolvimento de câncer ovariano é desconhecido. Porém, postula-se que esta deficiência conduza à falha no desenvolvimento do folículo ovariano, o que leva a crer que a presença de célula germinativa de certa forma direciona o desenvolvimento folicular. A destruição ou diminuição prematura do folículo ovariano provoca queda de hormônios esteróides principalmente o estradiol, o que se reflete no aumento da produção de gonadotrofinas hipofisárias, como ocorre na menopausa (Chakravarti et al., 1976; Cramer et al., 1983).

- Aumento das concentrações de gonadotrofinas: no climatério, quando ocorre o início da falência ovariana há aumento na secreção das gonadotrofinas. Estes hormônios permanecerão aumentados após o estabelecimento da menopausa ao que parece como estímulo contínuo sobre o ESO (Chakravarti et al., 1976; Cramer et al., 1983). Provavelmente, o mecanismo de ação destas substâncias seria por estímulo do crescimento contínuo do ESO. Os receptores de FSH e LH estão presentes tanto nas células do ESO como nas células dos cistos de inclusão (Zheng et al., 1996). Outro mecanismo de ação proposto é que as gonadotrofinas teriam um papel na prevenção da apoptose (Kuroda et al., 1998). Porém, a tendência atual é assumir que as gonadotrofinas tanto parecem estimular a proliferação celular do ESO, quanto inibir a apoptose (Ho, 2003).

Existem ainda outros fatores não relacionados à menopausa que parecem estar envolvidos neste processo, como a hipótese de ovulação incessante (Fathalla et al., 1971). Esta hipótese é reforçada por estudos epidemiológicos que demonstraram que fatores que diminuem a ovulação (gravidez, anticoncepcional oral, duração da lactação, menopausa precoce),

reduzem substancialmente o risco de câncer de ovário (Whittemore et al., 1992; La Vecchia et al., 1999).

Hormônios esteróides parecem também estar envolvidos na carcinogênese ovariana. Assim, foi constatado que a concentração de estrogênio ovariano é cerca de cem vezes maior que os níveis plasmáticos e os níveis intrafoliculares parecem ser ainda maiores (Lindgren et al., 2002). A literatura tem demonstrado o efeito genotóxico das altas concentrações de estrogênio (Yager et al. 2000). Em outros estudos já havia sido demonstrado o efeito antiapoptótico do estrogênio (Nash et al. 1989) e mitogênico (Liu et al.,1994; Kang et al.,2001). Já a progesterona parece ter um papel protetor contra o câncer de ovário, uma vez que estudos têm observado que em mulheres com deficiência de progesterona existe um aumento do risco de contrair CEO (Modan et al.,1998), enquanto a multiparidade parece oferecer proteção a esta enfermidade (Adami et al., 1994; Salazar-Martinez et al., 1999).

Em relação aos androgênios, os níveis elevados deste hormônio parecem estar relacionados com uma maior incidência de câncer de ovário. Esta hipótese é corroborada pelo fato de cerca de 80% dos tumores expressarem receptores de androgênio (Ilekis et al.,1997) e também pelo risco elevado de câncer de ovário em mulheres com elevados níveis de androgênios plasmáticos (Helzlsouer et al.,1995). É provável que o androgênio induza alterações na superfície do ESO, como crescimento celular por inibição do fator de crescimento tumoral beta (TGF- $\beta$ ) (Silva et al., 1997).

Outros fatores relacionados ao câncer de ovário são os ambientais, como talco (Gertig et al., 2000), hexaclorobenzeno, metoxiclor e N-etil-N-nitrosurea (Stoica et al.,1985; Collins et al., 1987; Maronpot, 1987; Sims et al., 1991; Borgeest et al., 2002).

Atualmente uma forte história familiar de câncer ovariano é o mais importante e melhor definido fator de risco para o desenvolvimento da doença e está associado com 5 a 10% dos CEO. O risco aumenta de 1,4% da população em geral para 5% para mulheres com um parente em primeiro grau e 8% para mulheres com dois parentes em primeiro grau afetados. Há também forte associação com história familiar de câncer de mama e associação menor com história familiar de câncer de colon e endométrio (Auersperg et al., 1997). As duas principais síndromes de câncer ovário hereditário autossômico dominantes

são a síndrome hereditária colon-retal sem polipose (HNPCC, síndrome de Lynch II) e a síndrome do câncer de mama e ovário hereditário (HBOC) que envolvem mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 (Kote-Jarai et al.,1999).

#### 4 O MARCADOR TUMORAL CA 125

Um marcador tumoral é uma substância que pode ser medida nos fluidos corporais em associação ou por produção do metabolismo tumoral. O CA 125 é um antígeno identificado pelo anticorpo monoclonal OC-125 produzido por camundongos imunizados por ascite de pacientes portadoras de adenocarcinoma seroso de ovário. Podemos observar elevação do CA 125 em 30% de portadoras de CEO e em 1% de mulheres normais (Oliveira & Abrão, 1997).

O anexo 3 enumera as principais situações em que há aumento do CA 125 (Oliveira e Abrão, 1997), não sendo, portanto, um teste de alta especificidade para detecção e diagnóstico de CEO. Normalmente se aceita o valor sérico de 35 U/ dl como limite superior normal na prática clínica. Porém, recomenda-se que valores máximos aceitáveis sejam de 20 a 26U/ml em mulheres na menopausa ou após histerectomia (Zurawski et al., 1988; Alagoz et al., 1994). A utilização do CA 125 possui limitações. Os achados de elevação de CA 125 são melhores observados nos subtipos seroso e endometrióide. Nos subtipos mucinoso, células claras e nos tumores de baixo potencial de malignidade, os achados de elevação do marcador podem não estar presentes (Oliveira & Abrão, 1997). Ele serve como exame de seguimento ambulatorial somente em pacientes com valores pré-operatórios alterados e sua persistente elevação não significa necessariamente doença neoplásica em atividade.

A utilização de CA 125 como método de diagnóstico diferencial entre massas anexiais benignas e malignas tem sido demonstrado em pacientes na menopausa. Isto pode ser comprovado em um grupo de 100 mulheres com dosagens prévias de CA 125 e que foram submetidas à laparotomia diagnóstica por massas anexiais palpáveis, 23 das quais apresentavam diagnóstico histopatológico de malignidade. Neste caso, calculou-se que, usando-se um limite superior de 35 U/ ml, a sensibilidade para tumor maligno foi de 78%, a especificidade de 95% e o valor preditivo positivo de 82% (Einhorn et al., 1986). O risco de malignidade foi avaliado através da associação de ultrassonografia, CA 125 aumentado e menopausa, criando-se uma pontuação que aumentou a sensibilidade para 85% e a especificidade para 97%. Quando aplicados em

estudos prospectivos esta metodologia foi amplamente validada (Jacobs et al., 1990). Mais recentemente, comprovou-se que a associação da ultrassonografia transvaginal aumenta a sensibilidade deste marcador (Reynolds et al., 2005).

Os níveis plasmáticos de CA 125 na fase pré-operatória estão relacionados ao estágio, carga tumoral e grau histológico da doença, embora não se possa afirmar que ele seja um fator prognóstico independente. Observou-se também que altos níveis plasmáticos de CA 125 associados à hipoalbuminemia concorrem para pior prognóstico (Parker et al., 1994). Em pacientes no estágio I da FIGO, o CA 125 pré-operatório revelou-se como poderoso fator prognóstico de sobrevida, quando superior a 65 U/ ml, aumentando em 6 vezes o risco de morte (Nagele et al., 1995).

Os níveis pós-operatórios do CA 125 e avaliações séricas durante a quimioterapia têm valor prognóstico. A primeira medida do marcador deve ser após a terceira semana de pós-operatório. Níveis pós-operatórios de CA 125 maiores que 35 U/ ml em mulheres sem doença residual e maior que 65 U/ ml em pacientes com doença residual representaram pior fator prognóstico independente o que foi demonstrado por Rosen e colaboradores num estudo envolvendo 687 pacientes com câncer ovariano invasor (Rosen et al., 1990).

Na monitoração de resposta ao tratamento, o CA 125 mostrou-se eficaz em cerca de 90% das pacientes que tinham o marcador elevado no período pré-operatório. Porém, é necessário lembrar que níveis normais de CA 125 não excluem doença residual (Reynolds et al., 2005).

Durante a quimioterapia adjuvante, a meia vida do CA 125 é de valor prognóstico independente com um ponto de corte de 20 dias, não só para alcançar a remissão completa da doença, como também para sobrevida de pacientes com câncer avançado. Níveis de CA 125 antes do 3º ciclo de quimioterapia e a queda da curva de regressão exponencial são também utilizados como fatores prognósticos (Reynolds et al., 2005).

No que diz respeito à recidiva tumoral, como já exposto, o controle através deste marcador só é válido se há um aumento na fase pré-operatória. E quando tem o valor aumentado em duas vezes o limite superior, a recidiva tumoral pode ser predita com uma especificidade de 84% e uma taxa de falso negativo de 2% (Rustin et al., 1996).

No momento, uma estratégia eficaz para detecção precoce de câncer de ovário, assim como avaliação terapêutica através de marcadores tumorais múltiplos, tem sido traçada em vários centros de pesquisa, com o principal objetivo de aumentar a sensibilidade sem comprometer a especificidade. Espera-se para os próximos anos uma combinação de marcadores tumorais ou mesmo um marcador tumoral que possa detectar precocemente esta enfermidade.

Atualmente uma combinação de CA 125, leptina, prolactina, osteopontina, fator II de crescimento insulina símile, fator inibidor de macrófago e um índice de risco calculado vêm sendo utilizado comercialmente (Mor et al., 2005). Porém, a Sociedade de Oncologistas Ginecológicos não validou a efetividade do teste, recomendando estudos adicionais (Society of Gynecologic Oncologists, 2008).

## 5 EPIDEMIOLOGIA

O CEO é uma enfermidade com alta mortalidade, principalmente nos países desenvolvidos. Entre as neoplasias malignas que acometem o aparelho reprodutor, seu índice de mortalidade pode atingir 60% ou mais. Provavelmente, isto se deve ao fato de que, à época do diagnóstico, sua apresentação se faz numa fase mais avançada da doença em cerca de 75% dos casos. No nosso país, dados reais sobre a incidência desta doença não têm registros adequados (Pascalichio et al., 2004). No Brasil, ele também parece comprometer a mulher numa fase produtiva e não se conseguiu modificar significativamente sua mortalidade que, no município de São Paulo, pode chegar a 60% em 5 anos (Pascalichio, 2004).

Não se estabeleceram métodos de rastreamento adequados, pois a localização da glândula e a pobreza de sintomatologia nas fases iniciais colaboram para o diagnóstico da doença em fase avançada. No Instituto Nacional de Câncer (INCA) esta doença ocupa o segundo lugar das neoplasias malignas do trato genital feminino, atrás do câncer do colo uterino (Paiva 2004; Paiva 2006). A figura 2 revela alguns registros da incidência de câncer de ovário no ano de 2000, realizados em algumas cidades brasileiras de grande porte. Fica evidente a deficiência dos registros de câncer em nosso país. No Brasil, estimativas de câncer de ovário não são fornecidas pelo INCA, o que dificulta os estudos epidemiológicos desta enfermidade.

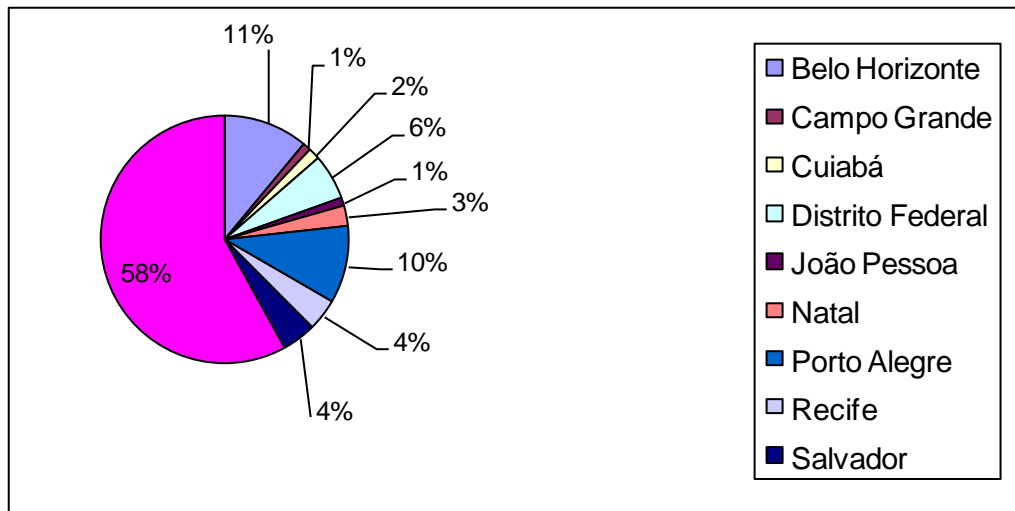


Figura 2: Número de casos de neoplasia maligna de ovário no ano de 2000 (Fonte: MS/ INCA/ Conprev/ Divisão de Informação, 2000)\*.

\* Apenas estas cidades notificaram neoplasia maligna de ovário neste período.



## **6 CLASSIFICAÇÃO HISTOPATOLÓGICA**

A diversidade da classificação dos CEO reflete a complexidade desta enfermidade. O anexo 4 mostra uma classificação simplificada baseada na Classificação de Tumores da Organização Mundial de Saúde, 2003 (Ozols et al, 2005).

## 7 DIAGNÓSTICO

A detecção precoce do CEO ainda não é possível e 75 a 85 % das pacientes têm seu diagnóstico estabelecido quando a doença se disseminou para toda a cavidade peritoneal (Ozols et al., 2005). Massa anexial pode ser um achado num exame ginecológico de rotina. A ultra-sonografia transvaginal associado ao Doppler colorido é um método de exame complementar auxiliar no diagnóstico destas massas e revela irregularidades parietais, elementos sólidos, neovascularização, septos irregulares e espessados e bilateralidade. A ultra-sonografia também informa sobre a presença de ascite (Ueland et al, 2003). A tomografia computadorizada e a ressonância magnética são indicadas em situações onde são necessárias informações adicionais quanto à extensão da doença (Ozols et al., 2005).

O marcador tumoral CA 125 quando anormal sugere nestes casos a malignidade da massa anexial, embora isto nem sempre seja uma regra. Além disto, nível normal do marcador não exclui a possibilidade de doença maligna ovariana.

## 8 ESTADIAMENTO CIRÚRGICO

O estadiamento do CEO é cirúrgico e se baseia na disseminação da doença na cavidade peritoneal e fora dela. A partir dos achados cirúrgicos, laudos histopatológicos em parafina, análise do líquido ascítico e / ou pleural o tumor é estadiado segundo os critérios da FIGO (Pecorelli, 2000), como apresentado o Anexo 1.

A laparotomia mediana transumbilical é a via de acesso indicada para massas anexiais suspeitas. Segue-se, então, com a coleta de líquido ascítico para citologia e mensuração do seu volume, e na sua ausência, realiza-se lavado peritoneal com pelo menos 150 ml de soro fisiológico. É obrigatório o inventário detalhado dos órgãos pélvicos e abdominais, incluindo as avaliações e biópsias das seguintes localizações:

- fundo de saco de Douglas,
- fundo de saco vésico-uterino,
- goteiras parieto-cólicas,
- cúpulas diafragmáticas.

Amostragem de linfonodos retroperitoneais (pélvicos e para-aórticos) também é realizada baseada em laudos de análise por congelação do espécime cirúrgico.

Devem-se descrever as características dos achados per-operatórios (diâmetros da massa, órgãos comprometidos por contiguidade, locais e diâmetros dos implantes e se eles estão presentes além da pelve verdadeira).

Procede-se, então, a obtenção do espécime tumoral para o diagnóstico histopatológico por congelação (anexectomia ou biópsia tumoral apenas, de acordo com a viabilidade de ressecção). Se confirmado diagnóstico de malignidade, deve-se prosseguir com a cirurgia padronizada pela FIGO em 1998 para câncer de ovário, como apresentada no quadro 1 (Pecorelli et al., 2000).

Procedimento cirúrgico padrão para câncer de ovário:

1. histerectomia total do tipo Piver I;
2. salpingooforectomia bilateral;
3. omentectomia infracólica;
4. linfadenectomia pélvica e para-aórtica;
5. se macroscopicamente a doença está restrita à pelve verdadeira, são realizadas biópsias das goteiras parietocólicas, cúpulas diafragmáticas, fundo de saco de Douglas e peritônio vesical (Marsden & Frielander, 2000)

Quadro 1: Tratamento cirúrgico do câncer de ovário

As ressecções viscerais estão indicadas nos casos de iminência de obstrução ou quando esta situação conduzir a citorredução ótima (Marsden & Friedlander, 2000). Porém, é importante considerar as comorbidades e morbidades adicionais relacionadas à realização desse procedimento. Neste caso, estomas descompressivos são opções terapêuticas (Dauplat et al., 2000), já que, como já demonstrado, quando uma cirurgia de grande porte é necessária, incluindo desnudamento peritoneal e ressecções viscerais entre outras, o prognóstico é pior (Potter et al., 1991).

Alguns estudos revelam que nesses casos a quimioterapia neoadjuvante ou a laparotomia de intervalo após 3 a 4 ciclos de indução quimioterápica baseada em platina são opções melhores ( van der Burg et al., 1995; Vergote et al., 1998; Vergote et al., 2000), embora outros não tenham demonstrado melhora na sobrevida global com esta conduta ( Rose et al., 2004).

## 9 QUIMIOTERAPIA NO CÂNCER EPITELIAL DE OVÁRIO

A quimioterapia adjuvante completa o tratamento do CEO, e sua indicação é feita de acordo com estadiamento cirúrgico e diagnóstico histopatológico.

Para tumores em estádios iniciais estratifica-se em grupo de alto risco e grupo de baixo risco (Klassen et al., 1988), como observado na tabela 1.

Tabela 1: Estratificação de risco em estádios iniciais de CEO

<b>RISCO</b>	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>
<b>ESTÁDIO</b>		
<b>Estádio</b>	<b>IA/IB</b>	<b>IC/II</b>
<b>Grau</b>	<b>1 e 2</b>	<b>3</b>
<b>Histologia</b>	<b>Outras</b>	<b>Células claras</b>

A sobrevida global em 5 anos para pacientes em estádios iniciais de baixo risco é de 94% (Demdo et al., 1990; Klassen et al., 1988). Em pacientes de alto risco a sobrevida global em 5 anos é de 60% a 80%. Porém, estes pacientes se beneficiaram de tratamento adjuvante (Klassen et al., 1988; Young et al., 1990; Bolis et al, 1995). Atualmente, concorda-se que o tratamento adjuvante baseado em platina deva ser indicado em grupos de alto risco. No entanto, questiona-se quanto à duração do tratamento, poli ou mono-quimioterapia e adição de novas drogas no esquema adjuvante (Pereira & Martins, 2004).

O tratamento adjuvante do câncer avançado de ovário envolve a utilização de derivado de platina e paclitaxel. Vários estudos foram realizados para avaliar a melhor combinação de drogas, para analisar a superioridade da carboplatina em relação à platina quando combinada ao paclitaxel. A conclusão é que não havia diferença entre estes dois compostos de platina, porém a

neurotoxicidade foi menor no grupo da carboplatina (du Bois et al., 1999; Ozols et al., 1999; Colombo, 2000).

O grupo americano de Ginecologia Oncológica (GOG) publicou um estudo demonstrando a não inferioridade da combinação carboplatina (área sob a curva de concentração-tempo de 7,5, intravenoso) e paclitaxel (175 mg /m<sup>2</sup> em infusão de três horas) em relação à cisplatina 75mg/m<sup>2</sup> e paclitaxel 135 mg/m<sup>2</sup> em infusão de 24 horas em pacientes estágio III com baixo volume tumoral. Além de toxicidade intestinal, renal, metabólica e hematológica menores no primeiro esquema, a sobrevida livre de doença e a sobrevida global foram de 20,7 e 57,4 meses respectivamente para a combinação com carboplatina em relação a 19,4 e 48,4 para a combinação com platina (Ozols et al., 2003). No entanto, este estudo também demonstrou que mais de 70% dos pacientes submetidos à cirurgia citorrredutora com doença residual maior que 1 cm apresentaram recidiva em menos de 2 anos, o que implicava em piora do prognóstico com tempo de sobrevida inferior a 23 meses. Atualmente, procura-se determinar um esquema terapêutico de manutenção para este grupo de pacientes, entre os quais quimioterapia, radiação e agentes biológicos. No entanto, até o momento, não há nenhuma evidência que sugira algum benefício clínico da quimioterapia de manutenção para o CEO avançado.

Em janeiro de 2006, o Instituto Nacional de Câncer americano anunciou uma recomendação na qual mulheres com CEO avançado que se submeteram a citorredução ótima com doença residual menor que um centímetro, deveriam ser submetidas a quimioterapia intraperitoneal com cisplatina ou taxol, combinada ou não ao tratamento intravenoso baseado em platina e paclitaxel (Tribble, 2006). Esta medida foi baseada principalmente nos resultados de dois ensaios clínicos (Markman, 2001; Armstrong, 2006) e disseminou o procedimento na abordagem terapêutica adjuvante desta enfermidade.

## 10 FATORES PROGNÓSTICOS

Além de permitir o estadiamento, a cirurgia permite a análise de uma série de variáveis clínico-patológicas que influenciam a sobrevida, como descritas a seguir.

O estadiamento cirúrgico da doença à época do diagnóstico está relacionado à sobrevida em 5 anos, com 90% de sobrevida em 5 anos para estágio I *versus* 15% no mesmo período para estágio III (Ozols et al., 2005).

A doença residual descrita ao término da citorredução cirúrgica está diretamente relacionada à sobrevida, embora a redução tumoral máxima seguida de quimioterapia não ofereça garantia de remissão completa da doença (Piver et al., 1998).

O tipo histológico parece afetar pouco o prognóstico, embora existam controvérsias sobre os tumores de células claras (Ozols et al., 2005).

O grau histológico afeta a sobrevida, principalmente quando diagnosticado no estágio I da doença (Klassen et al., 1988; Young et al., 1990; Bolis et al., 1995).

Com relação aos níveis de CA 125, estes parecem refletir o volume de doença e seus valores pré-quimioterapia não parecem ter valor prognóstico semelhante aos níveis pós-operatórios, que parecem influenciar mais o prognóstico (Mongensen, 1992). A queda do CA 125 durante o tratamento adjuvante foi observado como de valor prognóstico, principalmente após o terceiro ciclo de quimioterapia. Porém a taxa de falso positivo para prever progressão de doença foi de 19% (Rustin et al., 1996). O CA 125 também tem sido usado como indicador de doença em progressão durante e após completar a quimioterapia adjuvante (Ozols et al., 2005).

## 11 OBJETIVOS

### **Objetivo primário**

Correlacionar os níveis do VEGF plasmáticos e dos fluidos peritoneais em pacientes com CEO submetidas a tratamento cirúrgico primário aos níveis de citorredução primária.

### **Objetivos secundários**

1. Conhecer as dosagens do VEGF e do CA125 em relação a variáveis pré e pós-operatórias;
2. Conhecer diferenças de médias das dosagens do VEGF de diferentes origens em relação a conhecidos fatores prognósticos de CEO;
3. Formular de um modelo probabilístico para o desfecho binário de citorredução, utilizando-se também as dosagens de VEGF como uma das variáveis explicativas.



## 12 PACIENTES E MÉTODOS

Este foi um estudo de casos, aprovado pelo Comitê de Ética do INCA sob o número 27/04, com início em outubro de 2005 e término em março de 2008, no qual pacientes matriculadas no Serviço de Ginecologia Oncológica, com suspeita de serem portadoras de neoplasia maligna de ovário foram convidadas a participar do projeto de pesquisa e, a partir da assinatura do termo de consentimento lido e esclarecido, se tornaram candidatas em potencial, se no ato operatório fosse constatada neoplasia ovariana de provável origem epitelial maligna.

### 12.1 Critérios de elegibilidade:

#### 12.1.1 Critérios de inclusão:

- Maior que dezoito anos de idade;
- Câncer epitelial de ovário, inicialmente diagnosticado por exame de congelação do espécime cirúrgico no período transoperatório e posteriormente confirmado por laudo em parafina;
- Não ter realizado cirurgias prévias que comprometessem a integridade dos infundíbulos pélvicos;

#### 12.1.2 Critérios de exclusão:

- Outras neoplasias, sincrônicas ou não, exceto neoplasias epiteliais de pele;
- Alterações funcionais hepáticas, renais e cardiológicas graves que comprometam os parâmetros de análise clínicos laboratoriais;
- Apresentarem HIV, hepatite, tuberculose em atividade em qualquer momento do estudo;
- Apresentarem alterações psicóticas diagnosticadas previamente ou suspeitas no momento da matrícula;

- Manifestação do desejo de abandonar o estudo;

## 12.2 Exames de avaliação pré-operatória

- Exames de rotina pré-operatória do Serviço de Ginecologia Oncológica do Hospital do Câncer II/INCA para pacientes com suspeita diagnóstica de tumor de ovário: colpocitologia oncótica, hemograma, TAP, bioquímica plasmática: dosagens de sódio, potássio, glicose, uréia, creatinina; marcador tumoral CA 125. eletrocardiograma, radiografias de tórax (incidências póstero-anterior e perfil), ultrassonografia abdominopélvica com doppler colorido. Tomografia computadorizada, quando havia suspeita de comprometimento de outras vísceras.
- Exames adicionais neste estudo: VEGF plasmático e dos fluidos peritoneais, marcadores virais de hepatite e HIV.

## 12.3 Avaliação transoperatória

- 98% das pacientes foram operadas por 2 cirurgiões oncológicos participantes do estudo; 2% foram operadas com outros cirurgiões oncológicos em coparticipação com estes cirurgiões.
- O objetivo do ato cirúrgico foi a ressecção tumoral máxima através de laparotomia mediana trans-umbilical, até que fosse atingida nenhuma doença residual macroscópica ou doença residual mínima (menor que 1 cm de diâmetro).
- Seguiu-se abordagem padrão preconizada pela FIGO usando o lavado peritoneal com 150 ml de solução salina fisiológica ou coleta de líquido ascítico. Em seguida, o tumor pélvico foi avaliado quanto à sua origem anexial. Caso afirmativo, procedeu-se ao pinçamento, secção e ligadura do ligamento redondo homolateral ao tumor com abertura do peritônio pélvico paralelo ao infundíbulo pélvico homolateral , que uma vez isolado obteve-se uma amostra do sangue venoso para dosagem do VEGF infundibular. Sequencialmente, procedeu-se ao pinçamento , secção e ligadura do infundíbulo. O espécime

cirúrgico era, então, encaminhado ao patologista para exame por congelação e armazenamento no Banco Nacional de Tumores e DNA, um projeto da Coordenação de Pesquisa do INCA.

- Procedeu-se o inventário da cavidade para avaliar a extensão tumoral para o abdômen e avaliação de possibilidade de ressecção tumoral ótima.
- Confirmada a malignidade e a natureza epitelial maligna da neoplasia, prosseguimos a cirurgia com histerectomia total abdominal tipo I de Piver, salpingooforectomia contralateral, omentectomia, biópsias peritoneais, amostragem de linfonodos pélvicos e para-aórticos. Avaliou-se a ressecção de vísceras comprometidas quando este procedimento levava à citorredução ótima. Em casos em que a citorredução não foi possível, procederam-se às biópsias tumorais.

Portanto, durante o ato cirúrgico foram obtidos os seguintes materiais para exame:

- Ascite ou lavado peritoneal para avaliação citológica e dosagem do VEGF, obtido por procedimento de aspiração de toda a quantidade de líquido visível;
- Sangue infundibular homolateral ao tumor para coleta do VEGF (figura 3);
- Exame por congelação do espécime obtido a partir do tumor ovariano;
- Todos os materiais coletados foram processados, aliquotados e armazenados em congelador a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises.

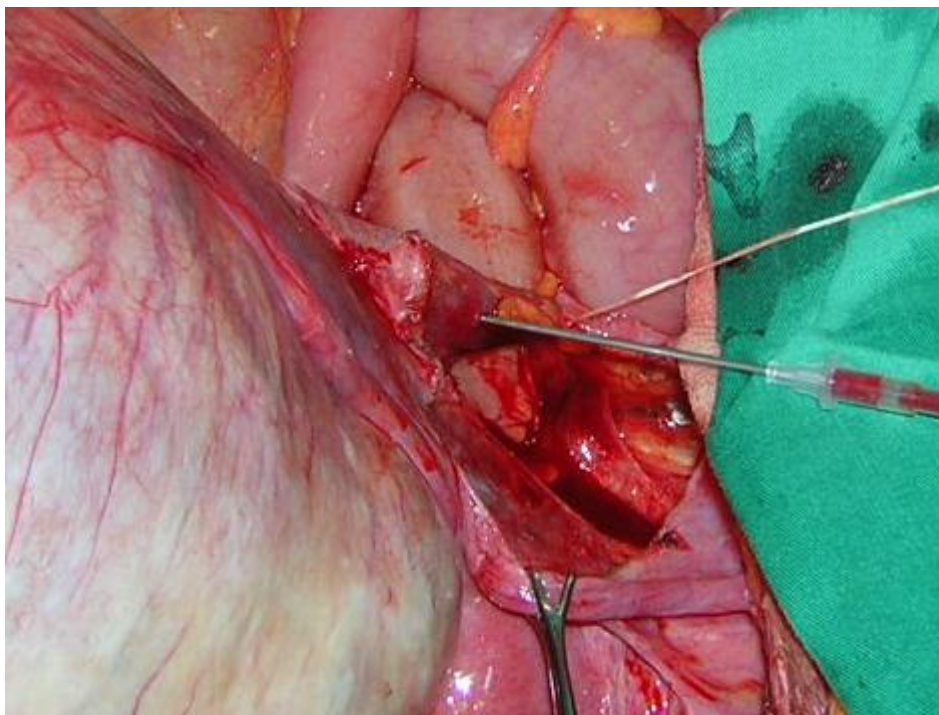


Figura 3: Coleta do sangue do infundíbulo pélvico.

#### 12.4 Protocolo de dosagem do VEGF

A preparação das amostras e dosagens do VEGF também foi realizada no laboratório do Banco Nacional de Tumores, utilizando os reagentes que compõem o *kit Human VEGF* do fabricante Pepro Tech, Nova Jersey, Estados Unidos da América, através do método de ELISA, cuja referência é 900-K10, com capacidade de dosagem quantitativa de VEGF humano de 15-2000pg/ ml. O *kit* é composto de:

- Anticorpo de captura: 50 ug de anticorpo de afinidade anti-VEGF humano purificado, reconstituído em 500 ul de água estéril para uma concentração de 100 ug / ml.
- Anticorpo de detecção: 25 ug de antígeno de afinidade purificado anti-VEGF humano, reconstituído em 0,25 ml de água estéril para uma concentração de 100 ug / ml.
- VEGF humano padrão: 1,0 ug de VEGF recombinante, reconstituído em 1 ml de água estéril para uma concentração de 1,0 ug / ml.

- Os componentes reconstituídos permanecem estáveis por 2 semanas quando estocados a 2-8°C.

#### 12.4.1 Preparo da placa:

1. O anticorpo de captura foi diluído em PBS (tampão salina fosfato), para uma concentração de 0,5 ug / ml. Adicionou-se imediatamente a cada poço da placa de ELISA, selando imediatamente e incubando por uma noite à temperatura de 4°C.
2. Os poços foram aspirados para remover o líquido e lavada a placa 8 vezes com 200 ul de tampão de lavagem por poço (tampão de lavagem: Tween-20 a 0,05% em PBS). Após a última lavagem, inverteu-se a placa para remover o tampão residual, deixando repousar a placa sobre papel toalha.
3. Adicionou-se 300 ul de tampão de bloqueio em cada poço (soro fetal bovino, SFB, a 10% em PBS). Incubou-se por 1 hora à temperatura ambiente.
4. Aspiraram-se e lavaram-se os poços 4 vezes.

#### 12.4.2 Protocolo ELISA:

- Padrão/ amostra: diluiu-se o padrão de 4ng/ml até zero em diluente (0,05% de Tween-20, 0,1% de SFB em PBS). Diluiu-se imediatamente 100 ul do padrão ou amostra em cada poço. Incubou-se à temperatura ambiente por 2 horas.
- Detecção: aspiraram-se e lavaram-se as placas 4 vezes. Diluiu-se o anticorpo de detecção na solução diluente (soro fetal bovino, SFB, a 10% em PBS), a uma concentração de 0,25 ug /ml. Adicionou-se 100 ul por poço. Incubou-se à temperatura ambiente por 2 horas.
- Avidina peroxidase: aspirou-se e lavou-se a placa 4 vezes. Diluiu-se a avidina peroxidase 1: 2000 em diluente. Adicionou-se 100 ul por poço. Incubou-se por 30 minutos à temperatura ambiente.
- Aspirou-se e lavou-se a placa 4 vezes. Adicionou-se 100 ul do substrato tetra-metil-benzidina em cada poço. Incubou-se à temperatura ambiente para desenvolvimento da cor.

- Monitorou-se a reação em aparelho de leitura de ELISA, Spectra Max da Molecular Devices, Califórnia, Estados Unidos da América; o comprimento de onda com correção é feito automaticamente pelo aparelho quando selecionada a função ELISA (leitura de 405 nm com correção do comprimento de onda a 650 nm).

#### Observações:

1. A variação da curva padrão foi de 16 a 2000 pg/ml;
2. Quando os valores das dosagens estavam abaixo da curva padrão fornecida pelo método, a triplicata daquela amostra era repetida para confirmação dos valores;
3. Quando os valores das dosagens estavam acima da concentração da curva padrão era feita uma diluição, até de 1:10; o resultado da concentração da amostra era multiplicado por 10, para compensar a diluição anterior;
4. Quando o desvio padrão da triplicata estava acima de 10%, era repetida a triplicata em um a nova placa para confirmação de concentração de VEGF;
5. O resultado foi fornecido em picogramas por ml(pg/ml);
6. O lavado peritoneal foi realizado com 150 ml de soro fisiológico. Após o resultado das dosagens, o VEGF do lavado peritoneal foi multiplicado por 150;

### 12.5 Análise estatística

Este foi um estudo prospectivo do tipo observacional de casos de câncer epitelial de ovário em pacientes portadoras de massa anexial ou pélvica matriculadas no INCA no período entre outubro de 2005 a março de 2008

As pacientes foram avaliadas por grupo de variáveis categorizadas e contínuas, tendo sido assinalada a fase do tratamento na qual ela é obtida (tabela 2).

Tabela 2: Descrição das variáveis utilizadas no estudo.

VARIÁVEL	CATEGORIAS	Referências	CONDIÇÃO
Idade: média, desvio padrão, idade mínima, idade máxima	-	-	Pré-operatória
Fluidos peritoneais	< 5000 ≥5000	Vergote et al., 1998	Pré-operatória
Albumina sérica	< 2,5 g/dl ≥2,5 g/dl	Ver texto	Pré-operatória
Citologia peritoneal	Positiva Negativa	FIGO (ANEXO 1)	Pré-operatória
Biópsias peritoneais	Positiva Negativa	FIGO (ANEXO 1)	Pós-operatória
Laparotomia com realização de biópsia tumoral apenas	Sim Não	-	Pós-operatória
Estadiamento	Inicial(estádio I e II) Avançado(III e IV)	FIGO (ANEXO 1)	Pós-operatória
Doença residual	Grosseira(>1 cm) Fina (≤ 1 cm) e zero (avaliação visual)	-	Pós-operatória
Citorredução	Ótima (≤ 2 cm) Sub-ótima(> 2 cm) e irressecável	FIGO (ANEXO 1)	Pós-operatória
Sub-tipo histopatológico	Seroso Mucinoso Células claras Endometrióide SOE*	Ozols et al, 2005	Pós-operatória
Grau de diferenciação histopatológica	I II III SOE*	Ozols et al, 2005	Pós-operatória
Estadiamento em geral	FIGO (ANEXO)	FIGO (ANEXO 1)	Pós-operatória

\* Sem outra especificação

Foi considerada hipoalbuminemia níveis de albumina sérica inferiores a 3 g/dl. Níveis de albumina menores que 3g/dl favorecem a alto risco de complicações em procedimentos cirúrgicos eletivos e níveis de albumina abaixo de 2 g/dl é contra-indicada a realização do procedimento eletivo devido ao risco adicional de fístulas, deiscências e eviscerações (Gibbs et al., 1999; Costa SRP & Lupinacci RA, 2008). Neste estudo foi então estabelecido um ponto de corte correspondente ao ponto médio entre estes dois níveis, ou seja, 2,5g/dl.

As variáveis contínuas CA 125 e VEGF do plasma, do infundíbulo pélvico e fluidos peritoneais foram avaliadas para verificação da Normalidade da distribuição. Também foram submetidas ao teste de Normalidade de Lilliefors. Quando a hipótese nula de Normalidade foi rejeitada, utilizou-se a transformação de Box Cox (Box & Cox, 1964).

Foi também criada uma variável contínua denominada carga de VEGF, representando a quantidade de VEGF em picogramas por cavidade peritoneal. Isto foi obtido multiplicando-se o volume do fluido peritoneal pela concentração do VEGF na amostra. De igual modo, foi verificada a distribuição e aplicado o teste de Normalidade de Lilliefors. Avaliou-se também a transformação de Box Cox.

O CA 125 sofreu três tipos de categorização, visando comparar níveis de citorredução em relação às dosagens do VEGF:

1. um ponto de corte em 330 U/ml , descrita por Arits e colaboradores com sensibilidade de 80% e especificidade de 41,5%; a área sob a curva de 0,576 (p-valor = 0,617), (Arits et al., 2008);
2. um ponto de corte em 500 U/ml, descrita por Gerner e colaboradores com sensibilidade de 62% e especificidade de 83%, p-valor não descrito (Gerner et al., 2005);
3. um ponto de corte em 700 U/ml, para comparação com um ponto de corte mais elevado, proposto pelo autor.

Na análise univariada, foram realizadas as principais estimativas pontuais e avaliação da distribuição das dosagens de VEGF e CA125.

Testes paramétricos foram aplicados. O teste t de Student foi usado para avaliação comparativa de diferenças de média das dosagens de VEGF em relação às variáveis dicotomizadas. No caso de mais de 2 categorias foi utilizada a análise de variâncias. Testes não paramétricos também foram



aplicados, quando indicado, quais sejam, o teste de Mann Whitney para dados com 2 categorias e teste de Kruskal Wallis para variáveis com mais de 2 categorias.

Os mesmos testes foram aplicados para os grupos estratificados de pacientes com ascite e de pacientes com estágio III e IV.

Também foram realizados testes de correlações Pearson e Spearman, para avaliações paramétricas e não paramétricas respectivamente, entre as dosagens de VEGF e:

- Volume tumoral, em centímetros cúbicos, avaliado por método de imagem (ultrassonografia ou tomografia computadorizada);
- Volume dos fluidos abdominais expressa em mililitros;
- CA 125, expresso em unidades por ml (U/ml);
- Albumina sérica expressa em gramas por decilitro (g/dl).

Posteriormente foram avaliadas correlações entre as dosagens de VEGF, incluindo a quantificação de log de carga de VEGF.

Na análise bivariada, o desfecho considerado foi a citorredução dicotomizada em ótima *versus* sub-ótima e irressecável. Inicialmente aplicou-se o modelo de regressão logística simples utilizando algumas variáveis consideradas de valor prognóstico na fase pré-operatória e as dosagens de VEGF.

Todas as variáveis que apresentaram p-valor menor que 0,3 foram consideradas para o modelo final, utilizando o procedimento *step-wise* para seleção de variáveis explicativas. O critério de informação de Akaike (AIC) foi utilizado para escolha do melhor modelo, sendo considerado o melhor aquele que tivesse o menor AIC.

Foram também avaliados modelos de Poisson, log binomial e regressão de Cox para este desfecho.

Também foi testado o modelo de regressão linear simples, tomando como variável resposta o tipo de VEGF com maior p-valor na análise bivariada.

A análise via ROC (*receiving operating characteristic curve*) foi utilizada para a avaliação do melhor modelo probabilístico fornecido pelo procedimento *step-wise*. Foi determinada a área sob a curva e ponto de corte que maximiza os valores da sensibilidade e especificidade. Também foi

calculado o valor preditivo positivo e negativo para o desfecho, além da *odds ratio*.

Para todos os testes aplicados, o p-valor menor que 0,05 foi considerado significativo. Para análise estatística foi utilizado o programa de análise estatística R versão 2.6.0, disponível em [www.r-project.org](http://www.r-project.org), com utilização dos seguintes pacotes: epicalc, xlsReadWrite, nortest, MASS, Design, ROCR.

### 13 RESULTADOS

Durante o período de outubro de 2005 a março de 2008, foram operadas 121 pacientes com massas anexiais ou pélvicas a esclarecer, das quais 50 apresentaram adenocarcinoma de ovário. A tabela 3 mostra os diagnósticos histopatológicos das pacientes operadas. Das 50 pacientes com diagnóstico de adenocarcinoma de ovário, quatro tiveram problemas com a amostra.

Tabela 3: Diagnósticos histopatológicos das pacientes operadas.

<b>Diagnóstico Histopatológico</b>	<b>Nº de pacientes</b>
Adenocarcinoma	50
adenoma/cisto	17
Endometriose	2
Metástase	1
tumor germinativo	7
tumor estromal	13
tumor borderline	10
tumor sincrônico	2
linfoma não Hogking	1
Outros	18
Totais	121

Foram avaliadas 46 pacientes. A média de idade foi 54,28 anos (DP=14,36), variando entre 22 e 83 anos. O estadiamento da FIGO segue de acordo com a tabela 4, onde se observa a maior frequência do estágio IIIC com 19 casos (41,3%).

Tabela 4: Distribuição dos casos de CEO, conforme estadiamento da FIGO.

<b>Estadiamento</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual(%)</b>
IA	6	13,0
IB	1	2,2
IC	6	13,0
IIA	2	4,3
IIB	1	2,2
IIC	1	2,2
IIIB	2	4,3
IIIC	19	41,3
IVA	6	13,0
IVB (fígado)	2	4,3
Total	46	100

O subtipo histopatológico mais frequente foi adenocarcinoma seroso, representado por 27 pacientes, ou seja, 58,7% dos casos (tabela 5).

Tabela 5: Distribuição de acordo com subtipo histopatológico.

<b>TIPOS HISTOPATOLÓGICOS</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>PERCENTUAL(%)</b>
CÉLULAS CLARAS	4	8,70
ENDOMETRIÓIDE	5	10,87
MUCINOSO	6	13,04
SEROMUCINOSO	1	2,17
SEROSO	27	58,70
SOE	3	6,52
TOTAL	46	100

Com relação ao grau de diferenciação celular, 22 pacientes (47,83%) foram classificadas como GIII (tabela 6), constituindo um grupo de tumores mais agressivos e de pior prognóstico.

Tabela 6: Distribuição segundo o grau histopatológico.

<b>GRAU</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>PERCENTUAL(%)</b>
I	12	26,09
II	10	21,74
III	22	47,83
SOE	2	4,35
TOTAL	46	100

O volume tumoral variou de 3 cm<sup>3</sup> a 17.920 cm<sup>3</sup>, com média de 2764,61 cm<sup>3</sup> (DP=3966,95). O volume dos fluidos peritoneais variou do não mensurável, necessitando uso de 150 ml de solução fisiológica para lavado da cavidade, até 8000 ml. A tabela 7 mostra a distribuição dos fluidos peritoneais, onde 36 pacientes (78,3%) apresentaram volume de fluidos peritoneais inferiores a 5000 ml. Em 21,7 dos casos não havia fluidos peritoneais.

Tabela 7: Distribuição segundo as categorias do volume de fluidos peritoneais.

<b>Categorias de fluidos (ml)</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual (%)</b>
<5000	36	78,3
≥ 5000	10	21,7
Totais	46	100

As dosagens da albumina sérica variaram de 1,29 g/dl a 4,44 g/dl, com média de 2,71 g/dl (DP= 0,86). Quando distribuídas em categorias, observamos que 21 pacientes (53%, excluindo as não dosadas) apresentaram albumina sérica maior que 2,5g/dl (tabela 8).

Tabela 8: Distribuição das dosagens de albumina categorizada.

<b>Albumina</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentagem (incluindo pacientes não dosadas)</b>	<b>Percentagem (excluindo não dosadas)</b>
< 2,5g/dl	21	45,7	53,8
≥2,5g/dl	18	39,1	46,2
Não dosada	7	15,2	0,0
Total	46	100,0	100,0

A citologia peritoneal se distribuiu de forma balanceada para as duas categorias (tabela 9).

Tabela 9: Distribuição da citologia peritoneal

<b>Citologia</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual (%)</b>
Negativa	22	47,8
Positiva	24	52,2
Total	46	100,0

Foram avaliadas as distribuições das dosagens do VEGF e CA 125. Todas estas variáveis apresentavam distribuição assimétrica como mostrado na figura 4. Também foi aplicado o teste de Normalidade de Lilliefors, observando-se a rejeição da hipótese nula de Normalidade nestas variáveis mencionadas. Foi realizado o teste de Box Cox para avaliar as melhores transformações, e nestes casos, todas as transformações sugeridas foram a logarítmica (logaritmo natural ou log, APÊNDICE 1).

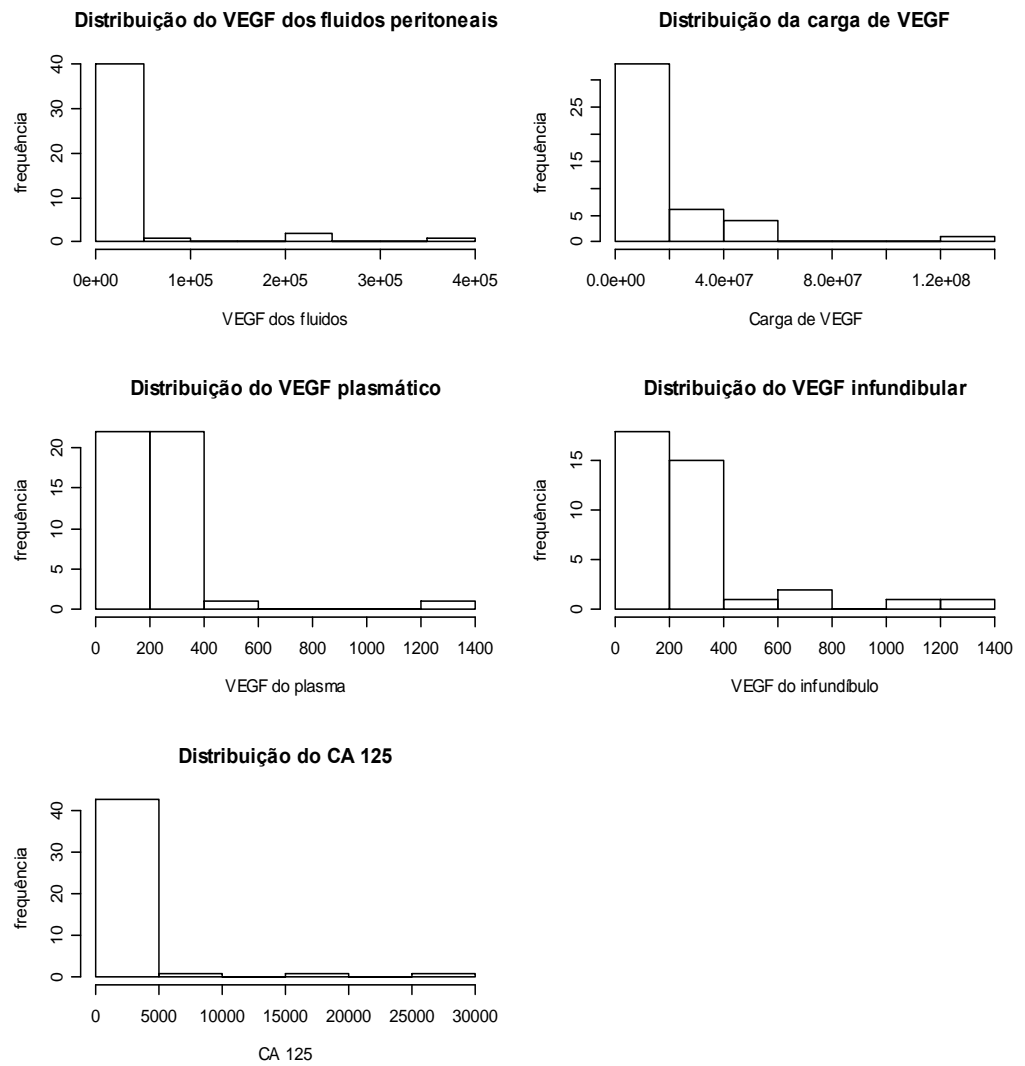


Figura 4: Histogramas das distribuições das dosagens de VEGF e CA 125 antes das transformações.

Logo após as transformações, novos testes de Normalidade foram aplicados e os resultados dos testes e da distribuição são apresentados na tabela 10 e na figura 5.

Tabela 10: Transformações das variáveis das dosagens de VEGF e CA 125.

Variável	Teste de Lilliefors	Tipo de transformação (Box Cox)	Teste de Lilliefors pós-transformação	Êxito em obter distribuição mais simétrica
VEGF dos fluidos	p-valor < 0,001	Logarítmica	p-valor = 0,388	sim
VEGF do plasma	p-valor < 0,001	Logarítmica	p-valor = 0,5476	sim
VEGF do infundíbulo	p-valor < 0,001	Logarítmica	p-valor < 0,001	não
VEGF carga	p-valor < 0,001	Logarítmica	p-valor = 0,04316	não
CA 125	p-valor < 0,001	Logarítmica	p-valor = 0,1823	sim

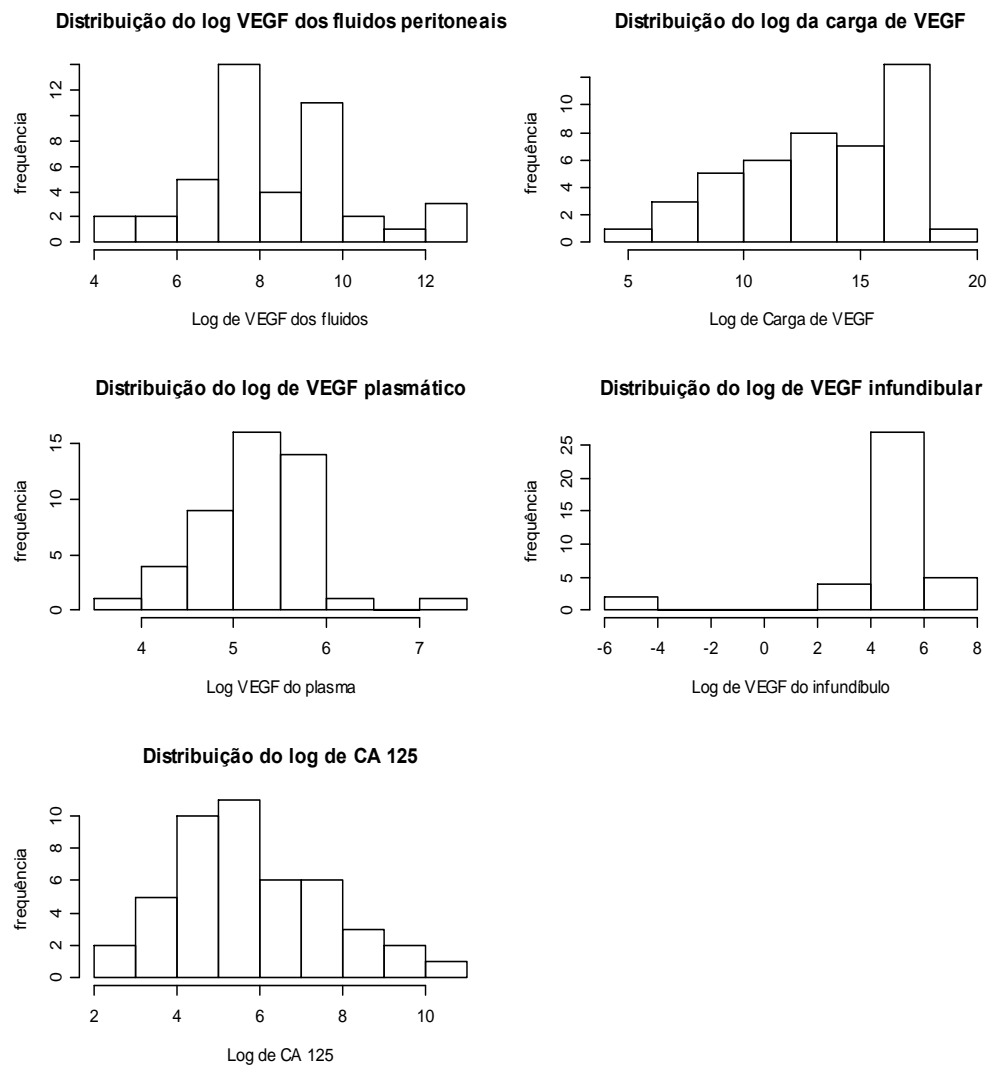


Figura 5: Distribuição das dosagens de VEGF e CA 125 transformados.



Com as transformações, assumimos como apresentando distribuição Normal o log de CA 125, log de VEGF dos fluidos e log de VEGF de plasma. Não foi assumida a distribuição Normal para log de carga de VEGF e log de VEGF de infundíbulo.

O sumário das dosagens de VEGF e CA 125 após a transformação em log é apresentado na tabela 11.

Tabela 11: Dosagens de VEGF por local de coleta em log de pg/ml e CA 125 em log U/ml.

<b>Sumários das transformações (casos)</b>	<b>MÉDIA</b>	<b>MEDIANA</b>	<b>DP</b>	<b>MIN</b>	<b>MAX</b>
LOG DE VEGF PLASMÁTICO (46)	5,25	5,32	0,57	3,83	7,12
LOG DE VEGF INFUNDIBULAR(38)	4,72	5,34	2,39	0	7,14
LOG DE VEGF DOS FLUIDOS PERITONEAIS(44)	8,3	7,92	1,91	4,3	12,8
LOG DE CARGA DE VEGF(44)	13,47	13,81	3,43	5,1	18,62
LOG DE CA 125 (46)	5,79	5,57	1,82	2,10	10,18

A figura 6 revela as diferenças entre as distribuições de log de VEGF segundo suas origens. Observou-se que a mediana com maior valor foi a de log de carga de VEGF, que também mostrou maior dispersão dos dados. Por outro lado, as distribuições de log de VEGF de plasma e infundíbulo foram semelhantes.

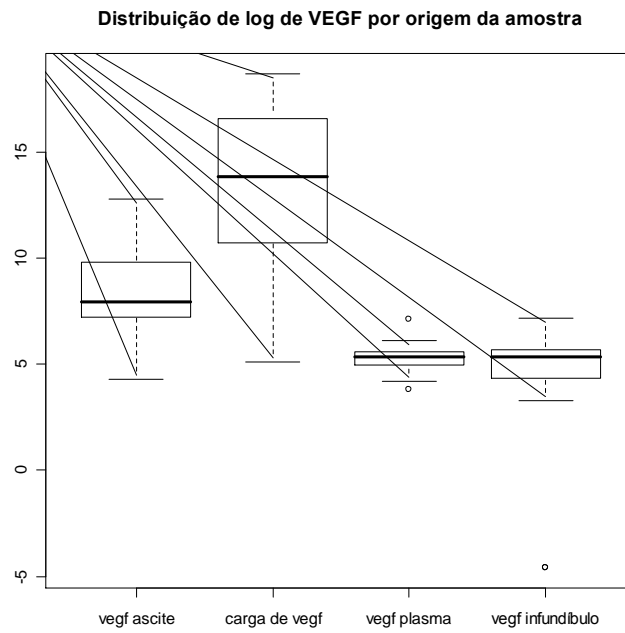


Figura 6: Gráfico de distribuição do log de VEGF por localização primária.

Após a transformação de CA125, realizaram-se três diferentes categorizações para avaliação do percentual de citorredução atingido nos três diferentes níveis do marcados. Desta forma as categorizações ficaram dispostas da seguinte forma: para os valores de log de 330 U/ml (5,79); para log de 500 U/ml (6,21); e para log de 700 U/ml(6,55).

Avaliando a citorredução ótima, esta foi alcançada em 29 pacientes (63%). Porém, em 37% dos casos realizou-se citorredução sub-ótima ou o tumor foi irressecável (tabela 12).

Tabela 12: Distribuição dos casos segundo a citorredução.

<b>Citorredução</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual (%)</b>
Ótima	29	63
Não ótima	17	37
Total	46	100

Quando avaliada a citorredução segundo o ponto de corte de CA 125, observou-se que para CA 125 com ponto de corte em 330 U/ml ( $\log=5,79$ ), a citorredução ótima foi atingida em 20 pacientes (43%), descritos na tabela 13 e figura 7. E para um ponto de corte em 500 U/ml ( $\log=6,21$ ), a citorredução ótima foi obtida em 15 pacientes (32,6%), observados na tabela 14 e figura 8.

Tabela 13: Citorredução para ponto de corte de CA 125 em 330U/ml.

<b>Citorredução (CA 125&lt;330 U/ml)</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual (%)</b>
Ótima	20	43
Não ótima	26	56
Total	46	100

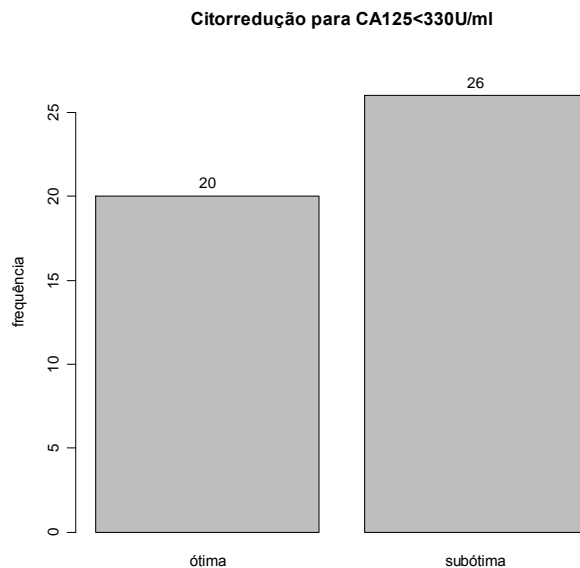


Figura 7: Distribuição da citorredução para ponto de corte de CA 125 em 330 U/ml.

Tabela 14: Citorredução para ponto de corte de CA 125 em 500 U/ml.

<b>Citorredução (CA 125&lt;500U/ml)</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual (%)</b>
Ótima	15	32,6
Não ótima	31	67,4
Total	46	100

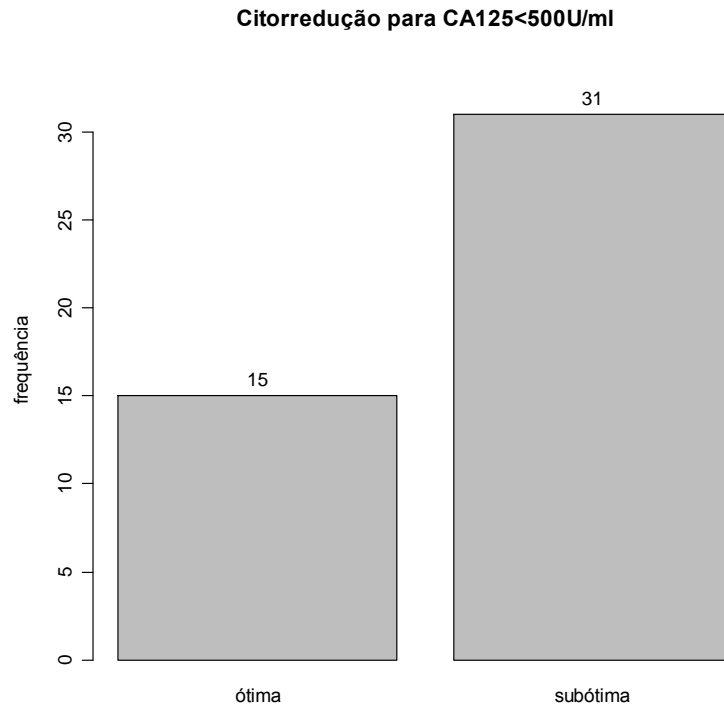


Figura 8: Distribuição da citorredução para ponto de corte de CA 125 em 500 U/ml.

A distribuição de CA 125 para ponto de corte em 700 U/ml (log 6,55) não diferiu da alcançada para ponto de corte em 500 U/ml quanto à obtenção de citorredução ótima.

A distribuição quanto ao estadiamento categorizado em inicial (estágios I e II) e avançado (estágios III e IV) está descrito na tabela 15. O estadiamento mais frequente foi o avançado com 29 casos (63%).

Tabela 15: Distribuição dos casos segundo estadiamento.

<b>Estadiamento</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual (%)</b>
Inicial	17	37
Avançado	29	63
Total	46	100

Doença residual macroscópica zero foi registrada em 24 pacientes (52,2%) e doença residual fina (menor que 1cm de diâmetro) em 6 pacientes (13%). Doença residual grosseira permaneceu em 34,8% dos casos, correspondendo a 16 pacientes. Pacientes com biópsia peritoneal positivas corresponderam a 29 pacientes (63%). Quatro pacientes (8,7%) realizaram apenas biópsia tumoral durante a laparotomia.

Utilizou-se teste t de Student e análise de variâncias, quando se obteve uma distribuição das variáveis assumida como próxima à Normal. Este foi o caso das dosagens do log de VEGF dos fluidos peritoneais, log de VEGF do plasma periférico e log de CA 125. Testes não paramétricos, Mann Whitney e Kruskal Wallis, foram utilizados quando a transformação logrou em obter a distribuição Normal, o que aconteceu com relação a log de carga de VEGF e log de VEGF de infundíbulo. O log da carga de VEGF representou o log do total da glicoproteína em picogramas acumulada por cavidade peritoneal.

Inicialmente foram avaliados, em todas as pacientes, dados obtidos na fase pré-operatória e pós-operatória, através de testes estatísticos comparativos para diferenças de médias (tabela 16). O log de carga de VEGF apresenta um p-valor significativo para as variáveis fluidos peritoneais (maior ou menor que 5000 ml), log de CA 125 em todas as categorizações experimentadas, albumina maior ou menor que 2,5 g/dl, citologia peritoneal (negativa ou positiva). As variáveis envolvidas na fase pré-operatória não apresentaram p-valor significativo para o log de VEGF dos fluidos peritoneais. O p-valor foi significativo para citologia peritoneal em relação ao log de VEGF do plasma e do infundíbulo. Com respeito à albumina categorizada, o infundíbulo também apresentou p-valor significativo. Para esta variável não houve p-valor significativo para log de VEGF dos fluidos e do plasma.

Quando se avaliou o grupo de pacientes que se submeteu à laparotomia para biópsia tumoral apenas o log de VEGF dos fluidos foi o único com p-valor significativo em relação às demais origens do VEGF. Por outro lado, variáveis obtidas no pós-operatório se mostraram com p-valor significativo para log de carga de VEGF em relação às biópsias peritoneais (negativa e positiva), estadiamento (inicial e avançado), doença residual (grosseira contra fina e zero), citorredução (ótima contra subótima e irressecável), grau arquitetural, estadiamento e doença residual não dicotomizados. O log do VEGF

do plasma apresentou p-valor significativo para biópsias peritoneais, estadiamento não dicotomizado e subtipo histológico.

Tabela 16: Resumo dos testes estatísticos aplicados no grupo total de 46 pacientes.

(t= teste t de Student; MH=Mann-Whitney).

VARIÁVEIS  TESTE	Log de VEGF Dos fluidos (p-valor)	Log de carga do VEGF (p-valor)	Log de VEGF do infundíbulo (p-valor)	Log de VEGF Do plasma (p-valor)
	teste t	MW	MW	teste t
fluidos peritoneais: < ou ≥ 5000 ml	0,87	<b>&lt;0,001</b>	0,14	0,13
log de CA 125 < ou ≥ 5.79	0,84	<b>0,0015</b>	0,50	0,49
log de CA 125 < ou ≥ 6.21	0,27	<b>0,014</b>	0,40	0,52
log de CA 125 < ou ≥ 6.5	0,27	<b>0,014</b>	0,40	0,52
albumina < ou ≥ 2,5g/dl	0,52	<b>0,02</b>	<b>0,004</b>	0,62
citologia peritoneal: negativa ou positiva	0,26	<b>0,001</b>	0,83	<b>0,03</b>
biópsia do tumor apenas: não ou sim	<b>0,02</b>	0,2387	0,23	0,071
biópsias peritoneais: negativa ou positiva	0,33	<b>&lt;0,001</b>	0,52	<b>0,04</b>
Estadiamento inicial ou avançado	0,27	<b>&lt;0,001</b>	0,33	<b>0,01</b>
doença residual: grosseira contra fina e zero	0,38	<b>&lt;0,001</b>	0,31	0,0937
citorredução: ótima contra subótima e irressecável	0,39	<b>&lt;0,001</b>	0,22	0,06
VARIÁVEL	Análise de Variâncias	Kruskal Wallis	Kruskal Wallis	Análise de Variâncias
Doença residual não dicotomizada	0,4	<b>&lt;0,001</b>	0,4	0,16
Grau	0,18	<b>0,01</b>	0,7	0,7
Sub-tipo histopatológico	0,61	0,24	0,53	<b>0,02</b>
Estadiamento não dicotomizado	0,7	<b>0,005</b>	0,15	0,1

Analisando as correlações das dosagens do log de VEGF (tabela 17), observou-se que houve uma fraca correlação positiva com p-valor significativo entre o log de carga de VEGF em relação a volume tumoral e CA 125 (ANEXO 5), porém houve uma forte correlação positiva desta variável com volume dos fluidos não dicotomizado. Houve, por outro lado, uma fraca correlação negativa com p-valor significativo entre log da carga de VEGF e albumina não dicotomizada, enquanto o log de infundíbulo apresentou moderada correlação negativa com albumina (62%). O log do VEGF do infundíbulo também apresenta p-valor significativo para volume de fluidos, embora a correlação seja fraca.

Tabela 17: Resumo dos testes de correlação entre as dosagens de VEGF nas 46 pacientes.

VARIÁVEL Teste	Log do VEGF dos fluidos	Log da carga de VEGF	Log de VEGF do infundíbulo	Log de VEGF do plasma
	Pearson	Spearman	Spearman	Pearson
VOLUME TUMORAL	p-valor= 0,1 (cor=-0,01)	p-valor= <b>0,002</b> (rho= <b>-0,44</b> )	p-valor= 0,7 (rho=0,07)	p-valor= 0,66 (cor=-0,066)
Volume dos fluidos não dicotomizado	p-valor = 0,25 (cor=-0,18)	p-valor < <b>0,001</b> (rho= <b>0,83</b> )	p-valor= <b>0,05</b> (rho = <b>0,32</b> )	p-valor= 0,25 (cor=0,17)
CA 125	p-valor= 0,5 (cor=0.102 )	p-valor < <b>0,001</b> (rho= <b>0,49</b> )	p-valor= 0,11 (rho = 0,28)	p-valor= 0,17 (cor= -0,21)
Albumina não dicotomizada	p-valor= 0,7 (cor= -0,07)	p-valor = <b>0,004</b> (rho= <b>-0,48</b> )	p-valor< <b>0,001</b> (rho= <b>-0,62</b> )	p-valor= 0,28 (cor= -0,18)

Uma vez que o log de carga de VEGF correlacionou-se fortemente com o volume dos fluidos peritoneais, verificou-se o comportamento das mesmas variáveis através da estratificação por pacientes que apresentaram ascite, avaliando-se então um grupo de 25 pacientes.

Neste grupo a citorredução ótima foi alcançada em 11 pacientes (44%). O estadiamento avançado foi encontrado em 21 pacientes (84%). Em relação às citologias peritoneais, 17 pacientes (68%) se apresentaram positivas



para adenocarcinoma e doença residual grosseira foi deixada em 13 ( 52%) destas pacientes. O volume ascítico igual ou maior que 5000 ml ocorreu em 10 pacientes (40%).

Observou-se que o p-valor para as dosagens de VEGF tornou-se não significativo em grande percentual das variáveis (tabela 18). Ascite maior ou menor que 5000 ml apresentou p-valor significativo para log de carga e log de plasma periférico de VEGF. Albumina categorizada em maior ou menor que 2,5 g/ml apresentou p-valor significativo para log de VEGF de ascite e log de carga de VEGF. O p-valor foi significativo para biópsia tumoral apenas para log de VEGF da ascite. Também foram observados p-valores significativos para citorredução ótima e doença residual com relação à carga de VEGF. Não houve p-valores significativos entre as dosagens de VEGF e grau histopatológico, estadiamento não dicotomizado e sub-tipo histológico neste estrato, exceto entre log de plasma periférico e estadiamento não dicotomizado.

Tabela 18: Resumo dos testes estatísticos aplicados no grupo estratificado por ascite.

VARIÁVEL Teste	Log de VEGF da ascite	Log da carga de VEGF	Log de VEGF do infundíbulo	Log de VEGF do plasma
	Teste t (p-valor)	MW (p-valor)	Teste t (p-valor)	Teste t (p-valor)
ascite: < ou $\leq$ 5000	0,49	<b>0,03</b>	0,35	<b>0,04</b>
log de CA 125< ou $\leq$ 5.799	0,75	0,72	0,82	0,28
log de CA 125< ou $\leq$ 6.21	0,2	0,27	0,87	0,43
log de CA 125< ou $\leq$ 6,5	0,2	0,27	0,87	0,43
albumina < ou $\leq$ 2,5g/dl	<b>0,007</b>	<b>0,042</b>	0,06	0,38
Citologia peritoneal: negativa ou positiva	0,57	0,09	0,45	0,32
Biópsia do tumor apenas: não ou sim	<b>0,009</b>	0,33	0,36	0,31
Biópsias peritoneais: negativa ou positiva	0,14	0,06	0,39	0,26
Estadiamento: inicial ou avançado	0,12	0,23	0,26	0,2
Doença residual: grosseira contra fina e zero	0,26	<b>0,03</b>	0,54	0,36
Citorredução: ótima contra subótima e irressecável	0,21	<b>0,01</b>	0,44	0,22
VARIÁVEL	Análise de variâncias	Kruskal Wallis	Kruskal Wallis	Análise de variâncias
Doença residual não dicomizada	0,49	0,09	0,55	0,65
Grau	0,59	0,11	0,82	0,4
Sub-tipo histopatológico	0,93	0,68	0,61	0,69
Estadiamento não dicotomizado	0,91	0,37	0,23	<b>0,01</b>

As correlações do grupo de pacientes que apresentaram ascite (tabela 19) mantiveram-se significativas com relação ao log de carga de VEGF, volume tumoral, volume de ascite não dicotomizada e albumina não dicotomizada. Porém neste estrato nenhum coeficiente apresentou uma forte correlação, ao contrário foram correlações fracas. As correlações consideradas moderadas ocorreram entre log de VEGF de plasma e ascite não dicotomizada e log de VEGF ascítico e de infundíbulo com albumina.

Tabela 19: Testes de correlações em pacientes portadoras de ascite.

VARIÁVEL Teste	Log de VEGF da ascite	Log da carga de VEGF	Log de VEGF do infundíbulo	Log de VEGF do plasma
	Pearson	Spearman	Spearman	Pearson
Volume tumoral	p-valor=0,37 (cor=-0,186)	p-valor= 0,03 (rho=-0,45)	p-valor=0,17 (rho=0,25)	p-valor=0,9 (cor=-0,04)
Volume da ascite não dicotomizada	p-valor=0,65 (cor=-0,095)	p-valor = 0,04 (rho=0,41)	p-valor=0,26 (cor=0,25)	p-valor=0,003 (cor=0,57)
CA 125	p-valor=0,11 (cor=0,33)	p-valor = 0,51 (rho=0,14)	p-valor=0,85 (rho=0,04)	p-valor=0,46 (cor=-0,16)
Albumina não dicotomizada	p-valor=0,005 cor=-0,57	p-valor = 0,025 (rho=-0,47)	p-valor=0,01 (rho=-0,55)	p-valor=0,7663 (cor=0,07)

Foram também aplicados testes estatísticos e de correlações em pacientes com estágios avançados (III e IV). Este estrato é composto por 29 pacientes. Algumas variáveis não puderam ser testadas porque neste estrato determinadas variáveis dicotômicas ficaram comprometidas por falta de casos para comparação. Desta forma, não foram analisadas a utilização de biópsia do tumoral apenas, biópsias peritoneais, estadiamento inicial *versus* avançado.

A análise univariada revelou também a necessidade de transformação logarítmica neste grupo de pacientes, porém as únicas variáveis que não se Normalizaram foi VEGF infundibular e CA 125.

Quando este grupo de pacientes foi analisado a citorredução foi alcançada em 12 pacientes (41,4%) , como apresentado na tabela 20.

Tabela 20: Distribuição de citorredução em pacientes com estádios avançados.

<b>Citorredução nos estádios avançados</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual(%)</b>
Ótima	12	41,4
Sub-ótima	17	58,6
Total	29	100,0

Em relação às citologias peritoneais, 22 pacientes (75%) apresentaram citologias positivas para adenocarcinoma e doença residual grosseira foi deixada em 16 ( 55,2%) destas pacientes. O volume ascítico igual ou maior que 5000 ml ocorreu em 8 pacientes (27,6%).

A análise comparativa de diferença de médias deste estrato apresentada na tabela 21 revelou que, para log de carga de VEGF, o p-valor é significativo para ascite dicotomizada em 5000 ml, em todas as categorias de log de CA 125, doença residual dicotomizada, citorredução dicotomizada e doença residual não dicotomizada. O log do VEGF ascítico não foi significativo em nenhuma das variáveis analisadas, assim como o log do infundíbulo. O log de plasma apresentou p-valor significativo apenas para subtipo histopatológico.

As correlações, dispostas na tabela 22, mostram p-valor significativo para log de carga de VEGF para ascite não dicotomizada e CA 125 não categorizado, porém uma correlação moderada com volume da ascite não dicotomizado e fraca para CA125. A albumina não dicotomizada manteve uma correlação com p-valor significativo para log de infundíbulo da ordem de 50%, considerada moderada.

Tabela 21: Análises estatísticas de pacientes com estádios III e IV.

Variáveis Teste	Log VEGF Ascítico	Log de carga VEGF	Log VEGF Infundíbulo	Log VEGF plasma
	teste t	teste t	MW	teste t
Ascite < ou $\geq$ 5000	p-valor=0,77	p-valor= <b>0,004</b>	p-valor=0,45	p-valor=0,4
Log de CA 125 < 5.79	p-valor=0,83	p-valor= <b>0,03</b>	p-valor=0,28	p-valor=0,52
Log de CA 125 < 6.21	p-valor=0,25	p-valor= <b>0,03</b>	p-valor=0,22	p-valor=0,45
Log de CA 125 < 6.5	p-valor=0,25	p-valor= <b>0,03</b>	p-valor=0,22	p-valor=0,45
albumina < ou $\geq$ 2,5g/dl	p-valor=0,54	p-valor=0,17	p-valor=0,53	p-valor=0,63
citologia peritoneal: negativa ou positiva	p-valor=0,9	p-valor=0,25	p-valor=0,63	p-valor=0,38
Doença residual: Grosseira contra zero e fina	p-valor=0,73	p-valor= <b>0,01</b>	p-valor=0,84	p-valor=0,57
citorrredução: ótima contra sub-ótima e irressecável	p-valor=0,78	p-valor= <b>0,003</b>	p-valor=0,67	p-valor =0,47
<b>VARIÁVEL</b>	<b>Análise de variâncias</b>	<b>Análise de variâncias</b>	<b>Kruskal Wallis</b>	<b>Análise de variâncias</b>
Doença residual não dicotomizada	p-valor=0,23	p-valor= <b>0,03</b>	p-valor=0,86	p-valor=0,69
Grau	p-valor=0,45	p-valor=0,07	p-valor=0,55	p-valor=0,7
Sub-tipo histopatológico	p-valor=0,99	p-valor=0,62	p-valor=0,17	p-valor= <b>0,03</b>

Tabela 22: Testes de correlações em pacientes com estádios III e IV.

VARIÁVEL Teste	Log de VEGF ascítico	Log de carga de VEGF	Log de VEGF do infundíbulo	Log de VEGF de plasma
	Pearson	Pearson	Spearman	Pearson
Volume tumoral	p-valor = 0,25 cor=0,22	p-valor = 0,17 cor=0,28	p-valor = 0,14 cor=0,31	p-valor = 0,92 cor=0,02
Volume da ascite não dicotomizada	p-valor = 0,1 cor=-0,31	p-valor< <b>0,001</b> cor= <b>0,67</b>	p-valor = <b>0,04</b> cor= <b>0,43</b>	p-valor=0,86 cor=0,03
CA 125	p-valor = 0,27 cor=0,22	p-valor= <b>0,02</b> cor= <b>0,43</b>	p-valor = 0,2 cor=0,27	p-valor = 0,26 cor=-0,21
Albumina não dicotomizada	p-valor = 0,56 cor=-0,13	p-valor=0,27 cor=-0,24	p-valor= <b>0,02</b> cor= <b>-0,50</b>	p-value = 0,93 cor=-0,02

Foram também realizados testes de correlações entre as dosagens de VEGF por localização primária, incluindo o log de carga de VEGF, não sendo fornecido p-valor significativo (APÊNDICE 2).

Realizaram-se análises bivariadas através de regressão logística simples com as algumas variáveis pré-operatórias de valor prognóstico de sobrevida e dosagens de VEGF, usando para ambos os casos como desfecho binário a citorredução dicotomizada, considerando-se a citorredução ótima *versus* a sub-ótima e doença irresssecável (APÊNDICE 2). O modelo foi aplicado, utilizando todos os 46 casos observados inicialmente. Os resultados destas análises bivariadas são mostrados na tabela 23. As variáveis que apresentaram p-valor menor que 0,3 foram posteriormente escolhidas para confecção do modelo probabilístico.

Tabela 23 : Resumo das análises bivariadas, através de regressão logística simples.

VARIÁVEL	p-valor análise bivariada	AIC	OR	IC (95%) da OR
CA 125 (contínua)	0,49	69,0	...	...
log de CA 125 <5,79	<0,001	64,3	1,25	0,83; 1,9
log de CA 125 <6,21	<0,001	66,9	1,19	0,77; 1,84
log de CA 125 <6,5	0,03	64,4	1,19	0,77; 1,84
Albumina (contínua)	0,25	59,06	...	...
Albumina < 2,5g	0,18	58,55	1,24	0,66; 2,33
Log.vegf dos fluidos	0,39	65,7	...	...
Log da carga de vegf	<0,001	48,54	...	...
Log.vegf do infundíbulo	0,23	54,1	...	...
Log.vegf do plasma	0,04	65,3	...	...
FLUIDOS (contínua)	0,002	59,5	...	...
Fluidos <ou ≥ 5000 ml	0,01	63,11	0,74	0,45; 1,22

Nesta análise, o modelo logístico simples que forneceu menor AIC foi a citorredução descrita por log de carga de VEGF.

Como observado na tabela 23 a *odds-ratio* (OR) é fornecida para variáveis categorizadas em relação ao desfecho, com seus respectivos intervalos de confiança. O câncer epitelial de ovário é um evento raro, e, portanto a OR é uma estimativa aproximada da razão de risco ou risco relativo (RR). Sendo o desfecho considerado o risco de citorredução ótima, ele é maior para as categorias de CA 125, principalmente para CA 125 com ponto de corte em log de 330 U/ml (6,21). A albumina categorizada oferece um risco de citorredução ótima 1,24 vezes maior para o grupo acima do ponto de corte de 2,5g/dl. Os fluidos peritoneais dicotomizados não forneceram uma OR significativa. Observou-se que os limites inferiores dos intervalos de confiança em todos estes casos são menores que 1 e isto pode estar acontecendo devido ao pequeno número de casos, o que torna a OR não significativa. Portanto, estas OR calculadas não refletem a medida de associação das variáveis categorizadas e citorredução neste estudo.

Foi realizado o procedimento *step-wise* para seleção do melhor modelo probabilístico. Criou-se o modelo vazio com o desfecho binário de citorredução e um vetor com as variáveis da fase pré operatória com p-valor menor que 0,3 na análise bivariada. O relatório do procedimento *step-wise* está descrito no quadro 2.

```

Análise Step-wise
mod.vazio <- glm(banco2$citor ~ 1,
family=binomial(link=logit))

up <- banco2$citor ~ banco2$ca125categorf3 +
as.factor(banco2$alb) + banco2$log.vegfburd +
      banco2$log.vegf.pla + banco2$FLUIDOS +
banco2$fluidcategorf + banco2$ca125categorf2
+banco2$ca125categorf + banco2$CA.
mod.step <- step(mod.vazio, up, direction="both")
Start: AIC=51.08 (modelo vazio)
banco2$citor ~ 1

```

	Df	Deviance	AIC
+ banco2\$log.vegfburd	1	37.173	41.173
+ banco2\$FLUIDOS	1	43.465	47.465
+ banco2\$ca125categorf2	1	46.002	50.002
+ banco2\$fluidcategorf	1	46.509	50.509
<none>		49.082	51.082
+ banco2\$log.vegf.pla	1	47.138	51.138
+ as.factor(banco2\$alb)	1	47.943	51.943
+ banco2\$ca125categorf3	1	47.979	51.979
+ banco2\$ca125categorf	1	47.979	51.979
+ banco2\$CA.	1	49.013	53.013

```

Step: AIC=41.17
banco2$citor ~ banco2$log.vegfburd

```

	Df	Deviance	AIC
<none>		37.173	41.173
+ banco2\$log.vegf.pla	1	35.372	41.372
+ banco2\$ca125categorf2	1	36.737	42.737
+ banco2\$CA.	1	36.848	42.848
+ banco2\$ca125categorf3	1	37.034	43.034
+ banco2\$ca125categorf	1	37.034	43.034
+ as.factor(banco2\$alb)	1	37.055	43.055
+ banco2\$fluidcategorf	1	37.153	43.153
+ banco2\$FLUIDOS	1	37.166	43.166
- banco2\$log.vegfburd	1	49.082	51.082

Quadro 2: Relatório produzido pelo procedimento *step-wise*, utilizando o modelo vazio e as variáveis com p-valor menor que 0,3.

O sumário do *step-wise* sugeriu como melhor modelo probabilístico a citorredução descrita apenas pelo log carga de VEGF, como mostrado no quadro 3. Por este método o modelo forneceu um p-valor de 0.007 com um AIC de 41,17.



```
summary(mod.step)
Deviance Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.4980 -0.8660 -0.3195  0.8521  1.8188
Coefficients:
                Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)      -7.1123     2.5742  -2.763  0.00573
banco2$log.vegfburd  0.4610     0.1698   2.715  0.00663
(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)
    Null deviance: 49.082  on 36  degrees of freedom
Residual deviance: 37.173  on 35  degrees of freedom
AIC: 41.173
```

Quadro 3: Sumário do modelo fornecido pelo procedimento *step-wise*

Porém, fazendo o diagnóstico gráfico do modelo fornecido pelo *step-wise*, observamos na figura 9 que os resíduos não apresentam distribuição Normal e há heterocedasticidade.

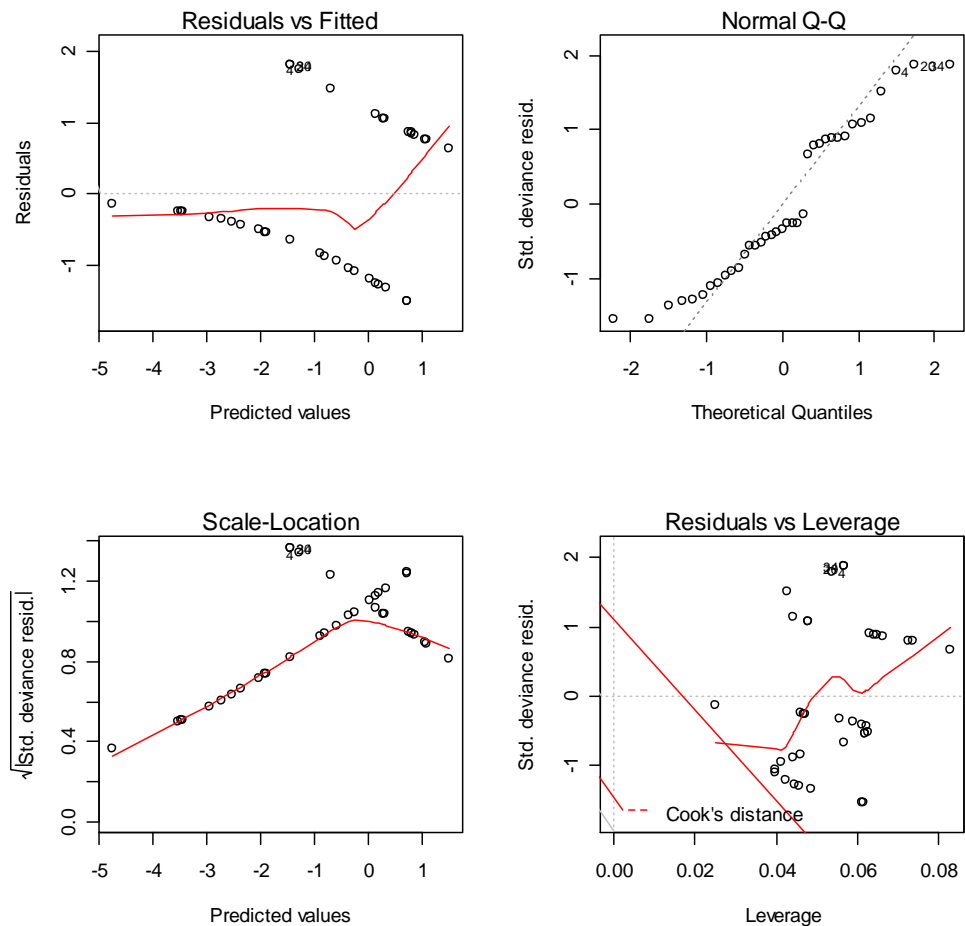


Figura 9: Diagnóstico gráfico dos resíduos fornecidos pelo modelo do *step-wise*.

A Normalidade dos resíduos também foi avaliada através do gráfico quantil-quantil apresentado na figura 10, onde observamos a existência de valores extremos.

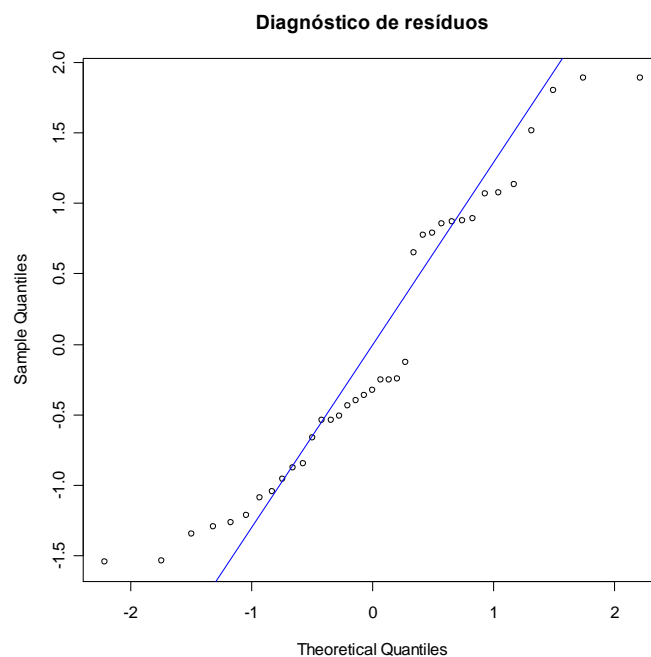


Figura 10: Gráfico quantil-quantil para avaliação da normalidade dos resíduos e valores extremos.

A falta de Normalidade dos resíduos do modelo fornecido pelo procedimento *step-wise* também prejudicou a formulação de modelos alternativos incluindo as demais variáveis, mesmo com a retirada dos valores extremos. A avaliação da colinearidade das variáveis também foi testada,

porém não foi observada entre as variáveis explicativas propostas (APÊNDICE 3) .

Foram testados também o modelo semi-paramétrico de regressão de Cox e Poisson que também apresentaram problemas com o diagnóstico dos resíduos. O modelo log binomial não convergiu (APÊNDICE 3). Um modelo de regressão linear também foi testado, mas neste caso a variável resposta foi o log da carga de VEGF. O procedimento *step-wise* também foi utilizado. De forma semelhante os diagnósticos gráficos do modelo selecionado por este comando revelaram problemas com os resíduos (APÊNDICE 3).

Após todas estas tentativas, foi escolhido como modelo final aquele fornecido pelo *step-wise* para calcular a curva ROC. A área sob a curva (AUC) foi de 0,84, ou seja, isto pode ser interpretado como a probabilidade de em um par de mulheres com CEO selecionadas ao acaso, sendo uma otimamente citorreduzida e outra não, o valor diagnóstico do marcador é maior para as doentes com citorredução ótima (Faraggi & Reiser, 2002). Neste estudo a AUC de 0,84 foi considerada excelente (ANEXO 5).

. A sensibilidade foi em torno de 71,4% e a especificidade em torno de 69,5% a 73,9%, o que aconteceu devido à repetição de valores do desempenho da curva no mesmo nível de sensibilidade.

A curva fornecida pela análise ROC do modelo está representada na figura 11.

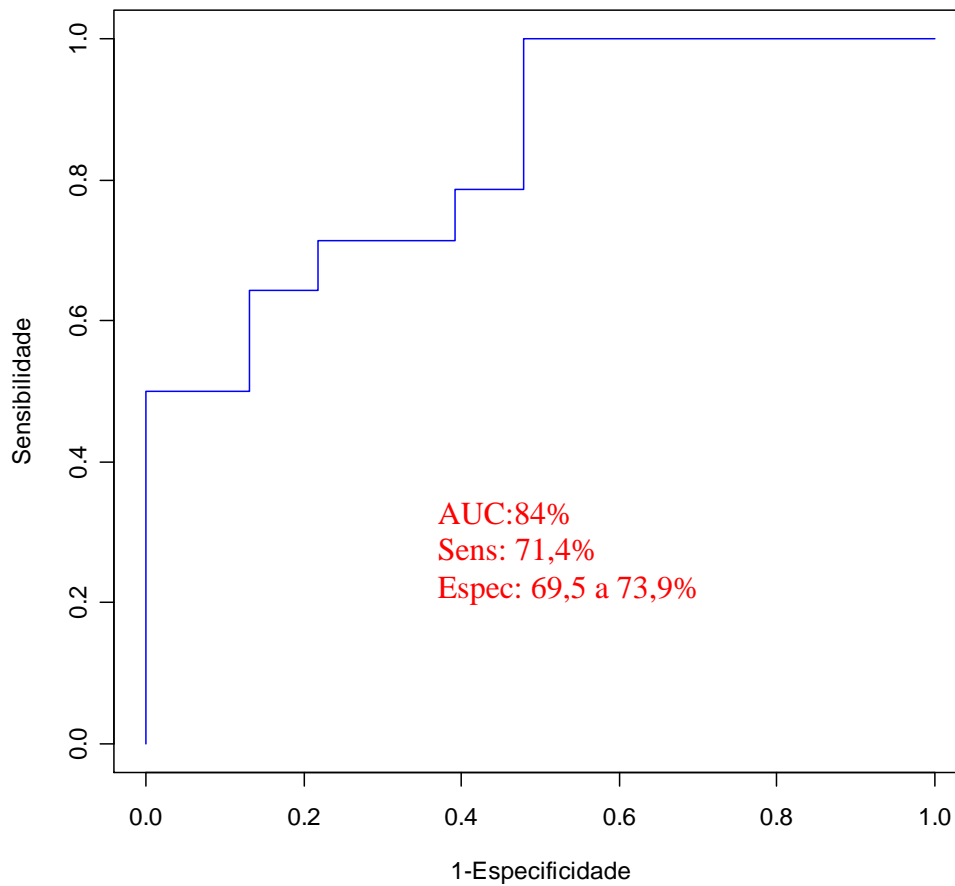


Figura 11:Gráfico da análise ROC, mostrando a sensibilidade *versus* a taxa de falso positivo (1-especificidade).

[AUC=área sob a curva; Sens=sensibilidade;Espec=especificidade]

O gráfico da sensibilidade contra especificidade, mostra o cruzamento de ambas as curvas, onde temos o ponto de corte que nos fornece o melhor desempenho da mesma, com uma probabilidade de discriminação do desfecho pelo marcador log de carga de VEGF de 84%. Ocorreu um *plateau* de sensibilidade devido a dosagens com valores semelhantes de desempenho. Este gráfico pode ser observado na figura 12.

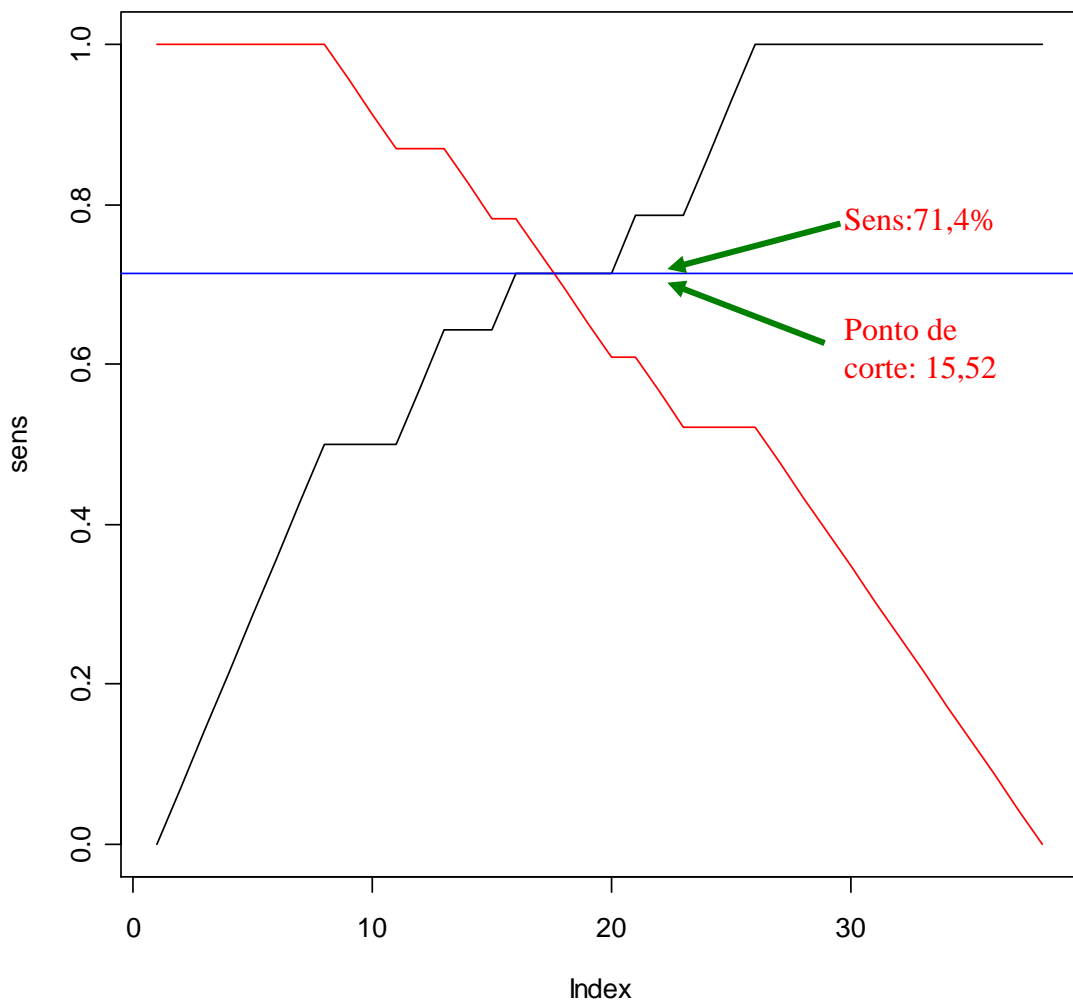


Figura 12: Estabelecimento do ponto de corte ao nível de sensibilidade de 71,4% (linha preta) e especificidade de 69,5 a 73,9% (linha vermelha). A linha azul é referente ao *plateau* de sensibilidade.

O ponto de corte estabelecido para log de carga de VEGF foi de 15,52 log de picogramas para a curva ROC obtida (APÊNDICE 4).

Foi então criado um modelo logístico simples da citorredução ótima descrita pelo ponto de corte do log de carga de VEGF. O p-valor desta regressão logística simples foi 0,001 (quadro 4).

]

```

glm(citor~pont.corte.carg,family=binomial(link=logit))
Deviance Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.4823  -0.5780  -0.5780   0.9005   1.9348

Coefficients:
                Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)      -1.7047     0.5436  -3.136  0.00171
pont.corte.carg   2.3979     0.7385   3.247  0.00117
(Dispersion parameter for binomial family taken to be
1)
    Null deviance: 57.682  on 43  degrees of freedom
Residual deviance: 45.239  on 42  degrees of freedom
(2 observations deleted due to missingness)
AIC: 49.239
Number of Fisher Scoring iterations: 4

```

Quadro 4: Relatório da regressão logística simples da citorredução descrita pelo ponto de carga de VEGF. O p-valor é igual a 0,001.

Foi fornecida a OR de 11(IC 95%= 2,59 a 46,78), ou seja, para pacientes abaixo deste ponto de corte há um risco 11 vezes maior de se obter a citorredução ótima, porém o intervalo de confiança foi de grande amplitude, identificando-se perda de precisão na estimativa pontual, embora a OR tenha sido significativa.

Abaixo do ponto de corte de 15,52 log de picograma de carga de VEGF, a citorredução foi atingida em 22 casos. Neste ponto de corte a proporção de verdadeiro positivo foi de 79%. Setenta e cinco por cento dos casos foram verdadeiros negativos. A proporção de falsos positivos e falsos negativos foram respectivamente 21% e 25%.

Portanto, o valor preditivo positivo foi de 79% e o valor preditivo negativo foi 75% nesta série de casos.

Quando analisada a citorredução para estádios avançados descrita pelo ponto de corte 15,52 log de picograma de carga de VEGF, observou-se um p-valor igual a 0,03 (quadro 5).

```
summary(mcarg<-
glm(citor~as.factor(ponto.de.corte),family=binomial(link=logi
t)))
Deviance Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.6651  -0.9005   0.7585   0.7585   1.4823
Coefficients:
                Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)      -0.6931     0.6124  -1.132   0.2577
(ponto.de.corte)1  1.7918     0.8416   2.129   0.0333
(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)
    Null deviance: 38.243  on 27  degrees of freedom
Residual deviance: 33.271  on 26  degrees of freedom
(1 observation deleted due to missingness)
AIC: 37.271
Number of Fisher Scoring iterations: 4
```

Quadro 5: Análise da citorredução descrita pelo ponto de corte de log de carga de VEGF(15,52) para pacientes em estádios avançados. O p-valor é igual a 0,03.

A *odds ratio* calculada para este estrato é igual a 6 com IC de 1,15-31,23, o que significa dizer que neste estrato para este ponto de corte, pacientes com log de carga de VEGF inferior a 15,52 log de picogramas tem um risco de citorredução ótima 6 vezes maior em relação às pacientes acima deste ponto. O IC persiste amplo, talvez devido à pequena dimensão do grupo estudado e padrão de dispersão dos dados, mesmo após transformação em log.

Abaixo deste corte de log de carga de VEGF a citorredução ótima ocorreu em 8 pacientes ( 67%). Neste estrato, o valor preditivo positivo foi 67% e o valor preditivo negativo foi 75%, com 33% de falso positivo e 25% de falso negativo.



## 14 DISCUSSÃO

O câncer de ovário é uma moléstia devastadora e sua alta letalidade conduz a uma sobrevida de 20% em 5 anos (Ozols et al.,2005). No presente estudo ainda não se pode realizar a curva de sobrevida, devido ao breve tempo de seguimento.

Geralmente a enfermidade se desenvolve quase que exclusivamente na cavidade peritoneal (Mesiano et al., 1998). A citorredução sub-ótima não oferece qualquer vantagem para a sobrevida (Griffiths, 1975; Hoskins et al., 1994), sendo até possível que venha a adicionar risco de morte.

Muitos pesquisadores voltaram sua atenção para o VEGF na década de 1990, embora Dvorak já houvera identificado o fator de permeabilidade vascular desde 1979 (Dvorak et al.,1979).

Há quem defenda o uso de fatores angiogênicos como marcadores tumorais (Rasila et al. 2005; Bamberg & Perret , 2002; Hefler et al., 2006) ou prognósticos (Rudlowski et al., 2006; O'Toole et al.,2007). Porém, ele parece mais representar a atividade tumoral, quando se associam os seus níveis plasmáticos ou ascíticos ao estágio da doença ovariana maligna e principalmente à densidade da microvasculatura tumoral, através de estudos de imuno-histoquímica (Yamamoto et al., 1997).

Vários autores têm feito análises de VEGF pré-operatório em pacientes portadoras de CEO (Yamamoto et al., 1997; Tempfer et al., 1998; Chen et al., 1999; Cooper et al, 2002; Secord et al.,2004; Hefler et al., 2006). Porém observamos que seus testes estatísticos são não paramétricos, sugerindo o mesmo problema de distribuição do VEGF sérico que ocorreu nestes casos estudados, ou apresentaram um pequeno número de casos de uma moléstia rara. Também não foi citado nenhum tipo de transformação de variáveis. A dispersão das dosagens nesses estudos apresentaram também suas diversidades, alguns com pouca dispersão das concentrações do VEGF sérico (Yamamoto et al., 1997; Hefler et al., 2006), outros com grandes dispersões do VEGF sérico (Tempfer et al., 1998; Secord et al.,2004), este último de forma semelhante aos nossos dados.

A dispersão do VEGF da ascite foi grande em alguns estudos (Kraft et al., 1999; Nascimento et al., 2004), porém em outros não (Dong et al.2003; Yabushita et al. 2003). A avaliação das transformações de variáveis não foi citada nos estudos sobre dosagens de VEGF e CEO. No estudo aqui descrito, observou-se também uma grande dispersão, daí a necessidade de fazer uma transformação desta variável, numa tentativa de tornar a distribuição próxima à Normal, permitindo análises paramétricas.

VEGF plasmático ou dos fluidos peritoneais: quem representaria melhor a moléstia que progride dentro da cavidade peritoneal? Não podemos esquecer que ao contrário das neoplasias epiteliais malignas de vísceras abdominais que se iniciam mais profundamente e atingem o peritônio numa fase tardia, CEO e adenocarcinoma de peritônio parecem se iniciar em direto contato ou na superfície peritoneal desde o princípio (Mesiano et al., 1998). Aqui neste estudo, analisaram-se o VEGF dos fluidos peritoneais e o plasma periférico e foi introduzida a análise de duas novas variáveis, o VEGF infundibular e a carga de VEGF.

A ascite é um sinal frequente no câncer de ovário. Quando superior a 5000 ml tem sido indicada como fator de mau prognóstico (Vergote et al., 1998 ). Nesta casuística , o percentual de pacientes com ascite com volume igual ou superior a 5000 ml foi de 21,7%, o que correspondeu a 10 casos. Deve-se levar em consideração que apesar do câncer de ovário ser a causa mais frequente de ascite maligna, ela é de melhor prognóstico que a ascite causada por câncer gastrointestinal e mama (Parsons et al., 1996).

Yoneda e colaboradores observaram que o aumento do volume da ascite leva ao aumento da densidade microvascular nos tecidos tumorais dos carcinomas epiteliais de ovário em ratos, o que é considerado uma superexpressão do VEGF na ascite destes animais (Yoneda et al., 1998). Nos casos aqui estudados, as diferenças de média de concentrações de VEGF no plasma do sangue periférico foram significativas para volume de ascite dicotomizado ao nível de 5000 ml, quando estratificado pelo grupo da ascite, porém não o foram para as concentrações plasmáticas do grupo completo ou estratificado para casos avançados. Não se observaram também diferenças de médias de concentrações para o VEGF ascítico e do infundíbulo. No entanto, quando se analisam as diferenças de média nas três situações (grupo completo,

estratificado por ascite e estratificado por casos avançados), a carga de VEGF mostra sempre diferenças de média significativas para esta variável dicotomizada.

Estudos preliminares revelaram uma correlação linear positiva entre VEGF dos fluidos peritoneais e o volume da ascite (Yabushita et al., 2003; Rudlowski et al., 2006), o que também aconteceu nestes casos estudados, onde a carga de VEGF e o VEGF do infundíbulo foram os que apresentaram uma correlação positiva com os volumes dos fluidos, sendo forte com a carga de VEGF. Esta correlação com a carga de VEGF é mantida, porém de forma moderada em pacientes com estágio avançado.

As correlações entre CA125 e VEGF também foram estudadas por Rudlowski e colaboradores em 2006. Eles observaram que os níveis séricos de VEGF não apresentavam uma correlação linear com os níveis séricos de CA125 (Rudlowski et al., 2006). Estes achados foram concordantes com o estudo de correlação realizado por Yamamoto e colaboradores em 1997. Nos casos aqui estudados, há uma correlação significativa entre a carga de VEGF e CA125, apresentando p-valor significativo para o grupo total de pacientes e para o grupo de pacientes estratificadas por estágio avançado, porém em ambos os casos as correlações foram consideradas fracas.

É importante lembrar que eventos fisiológicos e outras doenças crônico-degenerativas aumentam os níveis de VEGF, como já exposto na introdução deste estudo. O diferencial é que em líquido ascítico de pacientes com CEO, por exemplo, os níveis de VEGF podem atingir altos valores que não são atingidos por outras moléstias (Zebrowski et al., 1999; Dong et al., 2003). Entretanto estes níveis também podem se apresentar baixos em tumores iniciais e bem diferenciados (Yabushita et al., 2003 ; Rudlowskyi et al., 2006). Na série de casos aqui estudada, não foi demonstrado diferenças de médias no VEGF dos fluidos peritoneais tanto para estadiamento dicotomizado quanto para estadiamento não dicotomizado, no grupo total de pacientes e no grupo estratificado por ascite. Hefler e colaboradores não conseguiram demonstrar associação do VEGF sérico e estadiamento (Hefler et al., 2006). Nos casos aqui analisados, houve uma diferença de médias considerada significativa nas concentrações de VEGF no plasma periférico quando se dicotomizou o estadiamento entre inicial e avançado, porém ela é mais significativa para log

de carga de VEGF. Estas diferenças não ocorreram para o grupo estratificado de pacientes portadoras de ascite. Quando analisado o estadiamento sem dicotomização, a carga de VEGF apresentou p-valor significativo no grupo total de pacientes, porém no grupo estratificado pela ascite, o VEGF do plasma foi o único que apresentou p-valor significativo.

A carga tumoral inicial é um dos parâmetros de maior dificuldade de quantificação e vários autores tentaram estimá-la por diversos métodos tanto visuais, como por exames de imagem e análise *post-mortem* de animais de experimentação (Eisenhauer et al.,1997; Messiano et al.,1998; Holtz et al., 2008). No entanto, mesmo com todas as dificuldades na quantificação desta variável, estes mesmos autores tentaram relacioná-la ao desfecho de óbito, sendo sua quantificação realizada de modo subjetivo ou por métodos que não representaram a variável estudada de modo fidedigno. É possível que a carga de VEGF venha a ser um parâmetro quantitativo desta carga tumoral inicial, uma vez que ela apresentou diferenças de médias para estadiamento no grupo total de pacientes.

Estudo prévio não revelou correlação linear entre VEGF sérico e VEGF da ascite (Yamamoto et al., 1997). Os testes de correlações realizados neste estudo entre as dosagens de VEGF por localização primária, incluindo a carga de VEGF, não forneceram p-valor significativo e aparentemente não parece haver algum tipo de relação linear entre estas variáveis.

Quando avaliadas todas as pacientes do estudo, os testes estatísticos sugerem que a doença realmente tem maior expressão na cavidade peritoneal através do total de glicoproteína VEGF colecionada na cavidade e quantificada em log de picogramas por cavidade peritoneal.

Na estratificação de pacientes com ascite, houve perdas da significância do p-valor em quase todas as variáveis estudadas, porém o log de carga de VEGF parece ainda apresentar maior número de variáveis com p-valor significativo. Neste estrato, a variável albumina dicotomizada teve um p-valor maior com o log de VEGF da ascite do que com log de carga de VEGF, embora ambas tenham p-valores significativos.

No estrato de pacientes com estádios avançados, novamente o log de carga de VEGF parece ter muitos p-valores significativos para as variáveis estudadas. O log de VEGF de plasma só foi significativo para o volume

dicotomizado de ascite. Amostras do infundíbulo e ascite não apresentaram diferenças significativas em relação às concentrações de VEGF e as variáveis estudadas.

O desfecho binário de citorredução tem sido abordado de diferentes maneiras pelos autores, afinal a citorredução ótima é o objetivo do cirurgião. Mas o CA 125 tem sido estudado para avaliação de risco deste desfecho. Segundo Gerner pode-se atingir até 77% de citorredução para CA 125 menor que 500 U/ml (Gerner et al., 2001). Porém, neste nível, conseguimos atingir citorredução ótima em 32,6% das pacientes. Outro autor realizou um estudo para ponto de corte de CA 125 em 330 U/ml para pacientes em estádios III/IV e observou um percentual de citorredução ótima de 42,7%. A sensibilidade foi de 80% e especificidade de 41,5%, com uma AUC de 0,57 com p-valor de 0,617 (Arits et al., 2007). A este nível de CA 125 conseguimos alcançar citorredução em 43% das 46 pacientes. Para concluir, Arits e colaboradores questionaram os níveis plasmáticos de CA 125 como preditores de resposta em relação à citorredução. Os dados de CA 125 fornecidos neste estudo em seus dois níveis de categorização apresentaram o p-valor mais significativo na regressão logística simples, porém as OR fornecidas não tiveram significância estatística. O log de carga de VEGF foi a variável de p-valor mais significativo entre as variáveis relacionadas ao VEGF para avaliação de risco para citorredução.

Regressão logística neste estudo foi realizada para o desfecho binário de citorredução ótima e variáveis pré-operatórias (VEGF plasmático, categorias de CA125, fluidos peritoneais, albumina), além da carga de VEGF. Outros modelos probabilísticos foram testados e todos os modelos fornecidos pelo procedimento *step-wise* foram sempre os mesmos, ou seja, citorredução descrita por log de carga de VEGF. Porém os diagnósticos dos resíduos apresentaram problemas, inviabilizando a formulação de um modelo probabilístico. Modelos alternativos também testados apresentaram as mesmas dificuldades com os resíduos. Talvez o que tenha prejudicado a formulação de um modelo probabilístico seja o padrão das distribuições das variáveis estudadas, provavelmente devido ao perfil deste grupo de pacientes.

A área sob a curva para predição da citorredução ótima foi de 0,84 e pode ser considerada como excelente, levando-se em conta ainda a sensibilidade de 71,4% e a especificidade em torno de 69,5% a 73,9%.

O ponto de corte de 15,52 foi utilizado em um novo modelo de regressão logística simples para descrever citorredução, cujo p-valor foi significativo ( $<0,001$ ). A OR fornecida pelo modelo representa uma estimativa não enviesada do risco relativo por se tratar de um evento raro. Neste estudo, o risco de uma citorredução ótima em pacientes com log de carga de VEGF abaixo do ponto de corte é 11 vezes maior do que em pacientes acima do ponto de corte. O intervalo de confiança observado tem uma grande amplitude e isto talvez aconteça também pelo padrão de distribuição das variáveis neste grupo de pacientes.

Para pacientes com ascite em estádios avançados a aplicação do mesmo modelo apresentou um p-valor também significativo (0,03), e produziu uma OR de 6, ou seja, pacientes abaixo do ponto de corte de 15,52 log de carga de eVEGF têm um risco 6 vezes maior de citorredução ótima. Da mesma forma o intervalo de confiança se apresentou amplo, provavelmente pelos mesmos motivos citados anteriormente. Neste ponto de corte e condição de câncer avançado, 41,4% das pacientes obtiveram citorredução ótima. Em contrapartida, o grupo com todas as pacientes atingiu 63% de citorredução ótima.

Com estas observações, vale a pena a pergunta: será que é válida somente a dosagem de VEGF sérico ou ascítico para avaliar prognóstico, risco de recidiva ou resistência a drogas em câncer de ovário como tem feito a maioria dos pesquisadores nesta área?

A carga de VEGF parece não ter sido avaliada anteriormente, já que uma busca bibliográfica não revelou tal abordagem. Mas é interessante imaginar qual seria o valor desta variável e outras tantas possibilidades de sua associação com outros fatores angiogênicos, receptores, genes entre outros.

Do ponto de vista prático, o volume de ascite parece apresentar problemas na sua estimativa, devido ao fato de exames de imagem fornecerem dados que só podem ser avaliados de maneira subjetiva. Autores tem estimado volume ascítico através de cintigrafia com tecnécio<sup>99</sup> utilizando metodologia complexa de estudo de diluição do radionucleotídeo nas efusões

intraperitoneais. Porém o método não tem sido aplicável na prática diária e seu valor é questionável (Nothig et al., 2000). Outra questão a ser avaliada seria o papel da paracentese em pacientes direcionadas à quimioterapia neoadjuvante, já que isto poderia representar uma redução da carga de VEGF.

Ainda um comentário sobre este estudo é que ele apresentou uma boa característica, já que este grupo de pacientes foi operado pelos mesmos cirurgiões oncológicos, o que deu certa uniformidade ao tratamento cirúrgico. Os grandes problemas foram a distribuição assimétrica e dispersão dos dados, além do pequeno número de casos. Porém esta é uma nova proposta de investigação para se avaliar citorredução e aumento de sobrevida em câncer epitelial de ovário.

Em verdade, são necessários estudos com maior número de casos para se estabelecer com maior grau de certeza o valor da carga de VEGF como auxiliar na identificação de pacientes que se beneficiariam da neoadjuvância quimioterápica.

## 15 CONCLUSÕES

O CEO é uma doença maligna de alta letalidade. Desde 1970 o cirurgião assumiu o principal papel no tratamento desta doença, no seu propósito de oferecer máxima citorredução à sua paciente. Porém, atualmente o procedimento cirúrgico vem sendo questionado como primeira abordagem terapêutica para casos de ressecabilidade duvidosa.

O estudo que acabou de ser descrito conduz às seguintes conclusões:

1. Dentre as variáveis relacionadas ao VEGF, a carga de VEGF nos fluidos peritoneais parece ser a variável mais representativa da atividade da doença na cavidade intraperitoneal;
2. A citorredução como desfecho primário é melhor descrita pela carga de VEGF nos diversos modelos probabilísticos testados;
3. A AUC obtida é considerada de excelente poder discriminatório para o desfecho de citorredução;
4. O ponto de corte da carga de VEGF fornecido pela análise ROC estabeleceu o elevado risco relativo da citorredução ótima com um bom valor preditivo positivo e preditivo negativo.



## REFERÊNCIAS

1. Adami HO, Hsieh CC, Lambe M, Trichopoulos D, Leon D, Persson I, Ekblom A and Janson PO: Parity, age at first childbirth, and risk of ovarian cancer. *Lancet* 1994; 344: 1250-1254;
2. Alagoz T, Buller RE, Berman M. What is a normal CA 125 level? *Gynecol Oncol*, 1994; 53(1): 93-98;
3. American Cancer Society: Statistics for 2009. Disponível na URL [http://www.cancer.org/docroot/stt/stt\\_0.asp?from=fast](http://www.cancer.org/docroot/stt/stt_0.asp?from=fast) [ 01 de janeiro de 2010];
4. Arits AHMM, Stoot JEGM, Botterweck AAM, Roumen FJME, Voogd AC. Preoperative serum CA 125 levels do not predict suboptimal cytoreductive surgery in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*, 2008; 18: 621- 628;
5. Armstrong DK, Bundy B, Wenzel L, Huang HQ, Baergen R, Lele S, Copeland LJ, Walker JL, Burger RA: Intraperitoneal cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer. *N Engl J Med*, 2006; 354 (1):34–43;
6. Auersperg N, Maines-Bandiera SL, Dyck HG, Kruk PA: Characterization of cultured human ovarian surface epithelial cells: phenotypic plasticity and premalignant changes. *Lab Invest* 1994; 71: 510-518;
7. Auersperg N, Wong AST, Choi KC, Kang SK, Leung PCK: Ovarian surface epithelium: biology, endocrinology, and pathology. *Endocrin Rev* 2001; 22: 255-288;
8. Bamberg ES, Perret CW. Angiogenesis in epithelial ovarian cancer. *Mol Pathol* 2002; 55:348-359;
9. Bast Jr. RC, Boyer CM, Jacobs I: Cell growth regulation in epithelial ovarian cancer. *Cancer*, 1993; 71: 1597-1601;
10. Blaunstein A, Lee H: Surface cells of the ovary and pelvic peritoneum: a histochemical and ultrastructure comparison. *Gynecol Oncol* 1979; 8: 34-43;
11. Bolis G, Colombo N, Pecorelli S. Adjuvant treatment for early epithelial ovarian cancer: results of two randomized clinical trials comparing cisplatin to no further treatment or phosphate. *Ann Oncol* 1995. 6 (9): 865-866;
12. Borgeest C, Symonds D, Mayer LP, Hoyer PB and Flaws JA: Methoxychlor may cause ovarian follicular atresia and proliferation of the ovarian epithelium in the mouse. *Toxicol Sci* 2002; 68: 473-478;
13. Bouck N, Stellmach V, Hsu Sc. How tumors become angiogenic. *Adv Cancer Research*, 1996; 69:135-174;

14. Box GEP, Cox DR. An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B* 1964; 26:211–243;
15. Brentani MM. Fatores de crescimento em ovário. In: Abrão F, Abrão MS. *Câncer do Ovário*. São Paulo: Roca, 1997; 29- 41;
16. Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Guidi AJ, Dvorak HF. Expression of permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptor in adenocarcinomas of gastrointestinal tract. *Cancer Res*, 1993; 53: 4727-4735;
17. Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Guidi AJ, Dvorak HF. Expression of permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptor in breast cancer. *Hum Pathol*, 1995; 26: 86-91;
18. Brown MR, Blanchete JO, Kohn EC. Angiogenesis in ovarian cancer. *Baillière's Clin Obstet Gynaecol*, 2000. 14(6): 901-918;
19. Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407: 249-257;
20. Chakravarti S, Collins WP, Forecast JD, Newton JR, Oram DH and Studd JW. Hormonal profiles after the menopause. *Br Med J* 1976; 2: 784-787;
21. Chen CA, Cheng WF, Lee CN, Chen TM, Kung CCS, Hsieh FJ, Hsieh CY. Serum vascular endothelial growth factor in epithelial ovarian neoplasm: Correlation with patient survival. *Gynecol Oncol*, 1999; 74: 235-240;
22. Collins JJ, Montali RJ and Manus AG: Toxicological evaluation of 4-vinylcyclohexene. II. Induction of ovarian tumors in female B6C3F1 mice by chronic oral administration of 4-vinylcyclohexene. *J Toxicol Environ Health* 1987; 21: 507-524;
23. Collins PD, Connolly DT, William TJ. Characterization of the increase in vascular permeability induced by vascular permeability factor *in vivo*. *Br J Pharmacol* 1993; 109: 195-199;
24. Colombo N. Randomised Trial of Paclitaxel (PTX) and Carboplatin (CBDCA) Versus a Control Arm of Carboplatin or CAP (Cyclophosphamide, Doxorubicin & Cisplatin): The Third International Collaborative Ovarian Neoplasm Study (ICON3). *Proc Am Soc Clin Oncol*, 2000.19: 1500;
25. Cooper BC, Ritchie JM, Broghammer CLW, Coffin J, Sorosky, Buller RE, Hendrix MJC, Sood AK. Preoperative serum vascular VEGF levels: Significance in ovarian cancer. *Clin Cancer Res*, 2002;8: 3193-3197;
26. Costa SRP, Lupinacci RA. Os benefícios da ressecção anterior baixa em monobloco para o câncer de ovário avançado: dez anos de experiência em um único centro terciário. *Rev bras Coloproct*, 2008;28(2): 160-169;

27. Cramer DW and Welch WR. Determinants of ovarian cancer risk: Inferences regarding pathogenesis. *J Natl Cancer Inst*, 1983; 71: 717-721;
28. Czernobilsky B: Co-expression of cytokeratin and vimentin filaments in mesothelial, granulosa and rete ovarii cells of the human ovary. *Eur J Cell Biol* 1985; 37: 175–190;
29. Dauplat J, Le Bouedec G, Pomel C, Scherer C. Cytoreductive Surgery for advanced stages of ovarian cancer, 2000. *Sem Surg Oncol*, 2000; 19: 42-48;
30. Demdo, AJ, Davy D, Stenwig AE. Prognostic factors in patients with stage I epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol*, 1990; 75: 263- 273;
31. Dong WG, Sun XM, Yu BP, Luo HS, Yu JP. Role of VEGF and CD44v6 in differentiating benign from malignant ascites. *World J Gastroenterol*, 2003;9(11):2596-2600;
32. du Bois A, Luek HJ, Meier W. Cisplatin/ paclitaxel vs. carboplatin/ paclitaxel in ovarian cancer. *Bull Cancer*, 1999; 18: 1374;
33. Duncan MK and Chada KK. Incidence of tubulostromal adenoma of the ovary in aged germ cell-deficient mice. *J Comp Pathol* 1993; 109: 13-19;
34. Dvorak HF, Orenstein NS, Carvalho AC et al. Induction of a fibrin-gel investment: an early event in line 10 hepatocarcinoma growth mediated by tumor-secreted products. *J Immunol* 1979; 122: 166–174.
35. Dvorak MF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol*, 1995; 146:1029-1039;
36. Dyck HG, Hamilton TC, Godwin AK, Lynch HT, Maines-Bandiera SL, Auersperg N: Autonomy of epithelial phenotype in human ovarian surface epithelium: changes with neoplastic progression and with familial history of ovarian cancer. *Int J Cancer* 1996; 69: 429-436;
37. Ehrmann R & Knoth M. Choriocarcinoma: Transfilter stimulation of vasoproliferation in the hamster cheek pouch studied by light and electron microscopy. *J Natl Cancer Inst*, 1968; 41: 1329-1341;
38. Einhorn N, Bast RC, Knapp RC. Preoperative evaluation of serum CA 125 levels in patients with primary epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1986; 67(3): 414-419;
39. Eisenhauer EA, Vermorken JB, van Glabbeke M. Predictors of response to subsequent chemotherapy in platinum pretreated ovarian cancer: a multivariate analysis of 704 patients. *Ann Oncol* 1997; 8: 963–968;
40. Faraggi D, Reiser B. Estimation of the area under the ROC curve. *Statist Med*, 2002; 21: 3093–3106;

41. Fathalla MF: Incessant ovulation- a factor in ovarian neoplasia? *Lancet*, 1971; 2: 163;
42. Ferrara N, Houck KA, Jakeman LB, Winer J, Leung DW. The vascular endothelial factor family of polypeptides. *J Cell Biochem*, 1991;47: 211-218;
43. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenic dependent? *J Natl Cancer Institute*, 1990; 82: 4-6;
44. Gasparini G, Harris AI. Clinical importance of the determination of tumor angiogenesis in breast carcinoma: much more than a prognostic tool. *J Clin Oncol*, 1995; 13: 765-782;
45. Gemer O, Segal S, Kopmar A. Preoperative CA 125 level as a predictor of non optimal cytoreduction of advanced epithelial ovarian cancer. *Act Obst Gynecol Scand*, 2005. 80: 583-585;
46. Gertig DM, Hunter DJ, Cramer DW, Colditz GA, Speizer FE, Willett WC, Hankinson SE: Prospective study of talc use and ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 249-252;
47. Gibbs J, Cull W, Henderson W, Daley J, Hur K, Khuri SF. Preoperative serum albumin level as a predictor of operative mortality and morbidity: Results from the national surgical risk study. *Arch Surg*. 1999;134:36-42;
48. Greenblatt M, Shubik P. Tumor angiogenesis: Transfilter diffusion studies in the hamster by the transparent chamber technique. *J Natl Cancer Inst*, 1968; 41: 111-124;
49. Griffiths CT, Fuller AF. Intensive surgical and chemotherapy management of advanced ovarian cancer. Symposium on Gynecologic Cancer. *Surg Clin North Am*, 1978; 58: 131-142;
50. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000; 100: 57-70;
51. Hefler LA , Zeillinger R, Grimm C, Sood AK, Cheng WF, Gadducci A, Tempfer CB, AR. Preoperative serum vascular endothelial growth factor as a prognostic parameter in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2006; 103: 512–517;
52. Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Gordon GB, Longcope C, Bush TL, Hoffman SC and Comstock GW: Serum gonadotropins and steroid hormones and the development of ovarian cancer. *JAMA* 1995; 274: 1926-1930;
53. Ho SM. Estrogen, progesterone and epithelial ovarian cancer. *Reprod Biol Endocrinol*, 2003. 1(1): 73-84;
54. Holtz DO, Krafty RT, Mohamed-Hadley A, Zhang L, Alagkiozidis I, Leiby B, Guo W, Gimotty PA, Coukos G. Should tumor VEGF expression influence decisions on combining low-dose chemotherapy with

antiangiogenic therapy? Preclinical modeling in ovarian cancer. *J Transl Med* 2008, 6:2-12;

55. Hoskins WJ, McGuire WP, Brady MfF, Homesley HD, Creasman Wt, Bearman M. The effect of diameter of largest residual disease on survival after primary cytoreductive surgery in patients with suboptimal residual epithelial ovarian carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 974-979;
56. Hosmer, Jr, DW & Lemeshow, S. *Applied Logistic Regression*, new York. John Wiley and Sons, 1989;
57. Huntsman D, Resau JH, KlinebergE, Auersperg N: Comparison of c-met expression in ovarian epithelial tumors and normal epithelia of the female reproductive tract by quantitative laser scan microscopy. *Am J Pathol* 1999; 155: 343-348;
58. Ilekis JV, Connor JP, Prins GS, Ferrer K, Niederberger C and Scoccia B: Expression of epidermal growth factor and androgen receptors in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1997; 66: 250-254;
59. Ishimura K, Matsuda H, Tatsumi H, Fujita H, Terada N and Kitamura Y: Ultrastructural changes in the ovaries of Sl/Sl mutant mice, showing developmental deficiency of follicles and tubular adenomas. *Arch Histol Jpn* 1986; 49: 379-389;
60. Jacobs I, Oram D, Fairbanks J, Turner J, Frost C, Grudzinskas DJ. A risk of malignancy index incorporating CA 125, ultrasound and menopausal status for accurate preoperative diagnosis of ovarian cancer. *Br J Obstet Gynecol*, 1990. 97: 922-929.
61. Kacinski BM, Carter D, Mittal K: Ovarian adenocarcinoma express fms-complementary transcripts and fms antigen, often with co-expression of CFS-1. *Am J Pathol* 1990; 137: 135-147;
62. Kang SK, Choi KC, Tai CJ, Auersperg N and Leung PC: Estradiol regulates gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its receptor gene expression and antagonizes the growth inhibitory effects of GnRH in human ovarian surface epithelial and ovarian cancer cells. *Endocrinology* 2001; 142: 580-588;
63. Kantak SS, Kramer RH: E-cadherin regulates anchorage-independent growth and survival in oral squamous cell carcinoma cells. *J Biol Chem* 1998; 273: 16953-16961;
64. Klassen D, Shelley W, Starreveld A. Early stage ovarian cancer: randomized clinical trial comparing whole abdominal radiotherapy, melphalan, and intraperitoneal phosphate: a National Cancer Institute of Canada clinical group report. *J Clin Oncol*, 1988. 6(8): 1254-1263;
65. Kote-Jarai Z, Eeles RA: BRCA1, BRCA2 and their possible function in DNA damage response. *Br J Cancer* 1999; 81: 1099 –1102;

66. Kraft, A., Weindel, K., Ochs, A., Marth, C., Zmija, J., Schumacher, P., Unger, C., Marme, D., and Gastl, G. Vascular endothelial growth factor in the sera and effusions of patients with malignant and nonmalignant disease. *Cancer*, 1999; 85: 178–187;
67. **Kristensen** GB, Tropé C. Epithelial ovarian carcinoma. *Lancet* **1997**; 7: 113– 117;
68. Kuroda H, Mandai M, Konishi I, Yura Y, Tsuruta Y, Hamid AA, Nanbu K, Matsushita K, Mori T. Human chorionic gonadotropin (hCG) inhibits cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells: possible role of up-regulation of insulin-like growth factor-1 by hCG. *Int J Cancer* 1998; 76: 571–578;
69. La Vecchia C, Franceschi S: Oral contraceptives and ovarian cancer. *Eur J Cancer Prev* 1999; 8: 297-304;
70. Lam PM. Vascular endothelial growth factor plays a role more than an angiogenic role in the female reproductive systems. *Fertility and Sterility*, 2005; 84 (6): 1775-1778;
71. Lindgren PR, Backstrom T, Cajander S, Damber MG, Mahlick CG, Zhu D and Olofsson JI: The pattern of estradiol and progesterone differs in serum and tissue of benign and malignant ovarian tumors. *Int J Oncol* 2002; 21: 583-589;
72. Liu Y, Lin L and Zarnegar R: Modulation of hepatocyte growth factor gene expression by estrogen in mouse ovary. *Mol Cell Endocrinol* 1994; 104: 173-181;
73. Markman M, Bundy BN, Alberts DS, 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;19:1001-1007;
74. Maronpot RR: Ovarian toxicity and carcinogenicity in eight recent National Toxicology Program studies. *Environ Health Perspect* 1987; 73: 125-130;
75. Marsden DE, Friedlander M. Current management of epithelial ovarian cancer: a review. *Sem Surg Oncol*, 2000. 19: 11-19;
76. Mesiano S, Ferrara N, Jaffe RB. Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Ovarian Cancer: Inhibition of Ascites Formation by Immunoneutralization. *Am J Pathol*, 1998; 153( 4): 1249-1256;
77. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. CONPREV. Divisão de Informação. Registro de Câncer de Base Populacional. 2000;

78. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2010: Incidência de Câncer no Brasil. 2009. Disponível na URL: [http://www.inca.gov.br/estimativa/2010/index.asp?link=conteudo\\_view.asp&ID=3](http://www.inca.gov.br/estimativa/2010/index.asp?link=conteudo_view.asp&ID=3) [01 de janeiro de 2010]
79. Modan B, Ron E, Lerner-Geva L, Blumstein T, Menczer J, Rabinovici J, Oelsner G, Freedman L, Mashiach S and Lunenfeld B: Cancer incidence in a cohort of infertile women. *Am J Epidemiol* 1998; 147: 1038-1042;
80. Mongensen O. Prognostic value of CA 125 in advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, 1992. 44: 207-212;
81. Mor G, Visintin I, Lai Y, Zhao H, Schwartz P, Rutherford T, Yue L, Bray-Ward P, Ward D: Serum protein markers for early detection of ovarian cancer, 2005. Disponível na URL: <http://www.pnas.org/content/102/21/7677> [01 de janeiro de 2010];
82. Murphy ED and Beamer WG. Plasma gonadotropin levels during early stages of ovarian tumorigenesis in mice of the Wx/Wv genotype. *Cancer Res* 1973; 33: 721-723;
83. Murphy ED. Hyperplastic and early neoplastic changes in the ovaries of mice after genic deletion of germ cells. *J Natl Cancer Inst* 1972; 48: 1283-1295;
84. Nagele F, Petru E, Medl M. Preoperative Ca 125: an independent prognostic factor in patients with stage I epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol*, 1995. 86 (2): 259-262;
85. Nascimento I, Schaer R, Lemaire D, Freire S Paule B, Carvalho S, Meyer R, Schaer-Barbosa H. Vascular endothelial growth factor (VEGF) levels as a tool to discriminate between malignant from nonmalignant ascites. *APMIS*, 2004;112: 585-587;
86. Nash JD, Ozols RF, Smyth JF and Hamilton TC: Estrogen and anti-estrogen effects on the growth of human epithelial ovarian cancer in vitro. *Obstet Gynecol* 1989; 73: 1009-1016;
87. Nothig A, Williams NR, Smith NB, Harding LK. Estimation of ascitic fluid volume using <sup>99</sup>Tc<sup>m</sup> labeled macroaggregated albumin. *Nuc Med Comm*, 2000; 21(12): 1153-1156;
88. Obermair A, Bancher-Todesca D, Bilgi S, Kaider A, Kohlberger P. Correlation of vascular endothelial growth factor expression and microvessel density in cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1997;89: 1212–1217;
89. Oliveira RM, Abrão MS. Marcadores tumorais de ovário. In: Abrão F, Abrão MS (eds). *Câncer do Ovário*. São Paulo: Roca, 1997; 43-50;

90. Osion Ta, Monhanjad D, Carson LF, Ramakrishnan S. Vascular permeability factor gene expression in normal and neoplastic ovaries. *Cancer Res*, 1994; 54: 276-280;
91. O'Toole SA, Sheppard BL, Laios A, O'Leary JJ, McGuinness EPJ, D'Arcy T, J. Bonnar. Potential predictors of chemotherapy response in ovarian cancer— How do we define chemosensitivity? *Gynecologic Oncology* 2007; 104: 345–351;
92. Ozols RF, Bundy BM, Fowler J. Randomized phase III study of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/ paclitaxel in optimal stage III epithelial ovarian cancer: a gynecologic oncology group trial. *Proc Am SOC Clin Oncol*, 1999; 18: 1373;
93. Ozols RF, Bundy BN, Greer BE: A 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: 3194- 3200;
94. Ozols RF, Rubin SC, Thomas GM, Robboy SJ. Epithelial ovarian cancer. In Hoskins WJ, Perez CA, Yong RC, Barakat RR, Markman M, Randall ME (eds). *Principles and Practice of Gynecologic Oncology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005; 825-987;
95. Paiva F. Câncer de ovário no Hospital do Cancer II. Registro Hospitalar de Câncer do HC II, 2004. Comunicação pessoal;
96. Paiva F. Câncer de ovário no Hospital do Cancer II. Registro Hospitalar de Câncer do HC II, 2006. Comunicação pessoal;
97. Papadaki L, Belby JO: The fine structure of the surface epithelium of the human ovarian cancer. *J Cell Sci*, 1977; 8: 445-465;
98. Parker D, Bradley C, Bobgle SM. Serum albumin and CA 125 are powerful predictors of survival in epithelial ovarian cancer. *Br J Obstet Gynecol*, 1994. 101(10): 888-892;
99. Parsons SL, Lang MW, Steele RJC. Malignant ascites [Review]. *Br J Surg* 1996; 83: 6-4;
100. Pascalicchio JC, Fristachi CE, Bertozzi APAP, Baracat FF. Perspectivas futuras do tratamento do câncer de ovário. *Revista da Sociedade Brasileira de Cancerologia*, 2004; 16: 34- 37;
101. Pecorelli S, Ngan HYS, Hacker NF. *Staging Classifications and Clinical Practice Guidelines for Gynaecological Cancers*. Elsevier, 2000;
102. Peluso JJ, Pappalardo A, Hess, SA: Effect of disrupting cell contact on nuclear accumulation of beta catenin and subsequent apoptosis of rat ovarian surface epithelial cell in vitro. *Endocrine* 2000; 12: 295-302;



103. Pereira DL, Martins RG. Quimioterapia em câncer de ovário. In: Figueiredo (ed.). Ginecologia Oncológica. Rio de Janeiro. Revinter, 2004. 189-193;
104. Piver MS, Lele SB, Marchetti DL. The impact of aggressive debulking surgery and cisplatin- based chemotherapy on progression-free survival in stage III and IV ovarian carcinoma. *J Clin Oncol*, 1988. 6: 983- 989;
105. Potter ME, Patridge EE, Hatch KD. Primary surgical therapy of ovarian cancer: how much and when? *Gynecol Oncol*, 1991. 40: 195-200;
106. Rasila KK, Burger RA, Smith H, Lee FC, Verschraegen C. Angiogenesis in gynecological oncology – mechanism of tumor progression and therapeutic targets. *Int J Gynecol Cancer*, 2005: 15: 710-726;
107. Reynolds K, Menon U, Jacobs I. Development and identification of tumor markers. In: Hoskins WJ, Perez CA, Yong RC, Barakat RR, Markman M, Randall ME (eds). *Principles and Practice of Gynecologic Oncology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005; 157-162;
108. Reynolds LP, Grazul-Bilka AT, Redmer DA. Angiogenesis in female reproductive organs: pathological implications. *Int J Exp Pathol*, 2002; 83:151:163;
109. Rose P, Nerenstone S, Brady MF, Clarke- Pearson, Olt G, Rubin SC, Moore DH, Small JM. Secondary Surgical Cytoreduction for Advanced carcinoma. *N Engl J Med*, 2004. 351(24): 2489- 2497;
110. Rosen A, Sevela P, Klein M. A CA 125 score as a prognostic index in patients with ovarian cancer. *Arch Gynecol Obstet* 1990; 247(3): 125-129;
111. Rudlowski C, Pickart AK, Fuhljahn C, Friepoertner T, Schlehe B, Biesterfeld S, Schroeder W. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression in ovarian cancer patients: a long-term follow-up. *Int J Gynecol Cancer*, 2006; 16 (1): 183–189;
112. Rustin GJ, Gennings JN, Nelstrop AE. Use of CA 125 to predict survival of patients with ovarian carcinoma. North Thames Cooperative Group. *J Clin Oncol*, 1989. 7: 1667-1671;
113. Rustin GJ, Nelstropm AE, Tuxen MK. Defining progression of ovarian adenocarcinoma during follow - up according to CA 125: a North Thames Ovary Group Study. *Ann Oncol*, 1996. 7(4): 361-365;
114. Salazar- Martinez E, Lazcano- Ponze EC, Lira- Lira GG, Escudero De Los RP, Salmeron- Castro J, Hernandez- Ávila M. Reproductive factors of ovarian and endometrial cancer risk in a high fertility population in Mexico. *Cancer Res*, 1999. 59: 3658-3662;
115. Santos C. *Estatística Descritiva: Manual de Aprendizagem*, Lisboa. Edições Sílabo, 2007.

116. Secord AA, Sayer R, Snyder SA, Broadwater G, Rodriguez GC, Berchuck A, Blackwell K. The relationship between serum vascular endothelial growth factor, persistent disease, and survival at second look laparotomy in ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 2004; 94: 74-79;
117. Silva EG, Tornos C, Fritsche HAJ, el-Naggar A, Gray K, Ordonez NG, Luna M and Gershenson D: The induction of benign epithelial neoplasms of the ovaries of guinea pigs by testosterone stimulation: a potential animal model. *Mod Pathol* 1997; 10: 879-883;
118. Sims DE, Singh A, Donald A, Jarrell J and Villeneuve DC: Alteration of primate ovary surface epithelium by exposure to hexachlorobenzene: a quantitative study. *Histol Histopathol* 1991; 6: 525-529;
119. Society of Gynecologic Oncologist: Statement Regarding OvaSure™. Jul 2008. Acessível em:  
<http://www.sgo.org/WorkArea/showcontent.aspx?id=1754>
120. Sönmezer M, Gungor M, Ensari A, Ortaç F. Prognostic significance of tumor angiogenesis in epithelial ovarian cancer: in association with transforming growth factor beta and vascular endothelial growth factor. *International Journal of Gynecologic Cancer*, 2004; 14: 82-88;
121. Stoica G, Koestner A and Capen CC: Testicular (Sertoli's cell)-like tumors of the ovary induced by N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) in rats. *Vet Pathol* 1985; 22: 483-491;
122. Sundfeldt K, Piontkewitz Y, Ivarsson K: E-cadherin expression in human epithelial ovarian cancer and normal ovary. *Int J Cancer* 1997; 74: 275-80;
123. Tempfer C, Obermair A, Hefler L, Hausler G, Gitsch G, Kainz C. Vascular endothelial growth factor serum concentrations in ovarian cancer. *Obstet Gynecol*, 1998; 3: 360-363;
124. Trimble, E. NCI Clinical Announcement on Intraperitoneal Chemotherapy in Ovarian Cancer (January 5, 2006). 2006. Disponível na URL :  
[http://ctep.cancer.gov/highlights/20060105\\_ovarian.htm](http://ctep.cancer.gov/highlights/20060105_ovarian.htm) [01 de janeiro de 2010];
125. van der Burg ME, van Lent M, Buyse M. The effect of debulking surgery after induction chemotherapy on the prognosis in advanced epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med*, 1995; 332: 629-634;
126. van Niekerk CC, Rameakers FCS, Hanselaar AGJM, Alderweireldet J, Poels LG: Changes in expression of differentiation markers between normal ovarian cells and derived tumors. *Am J Pathol* 1993; 142: 157-177;
127. Vergote I, De Wever I, Tjalma W: Neoadjuvant chemotherapy or debulking surgery in advanced ovarian carcinoma: a retrospective analysis of 285 patients. *Gynecol Oncol*, 1998; 71: 431-436;

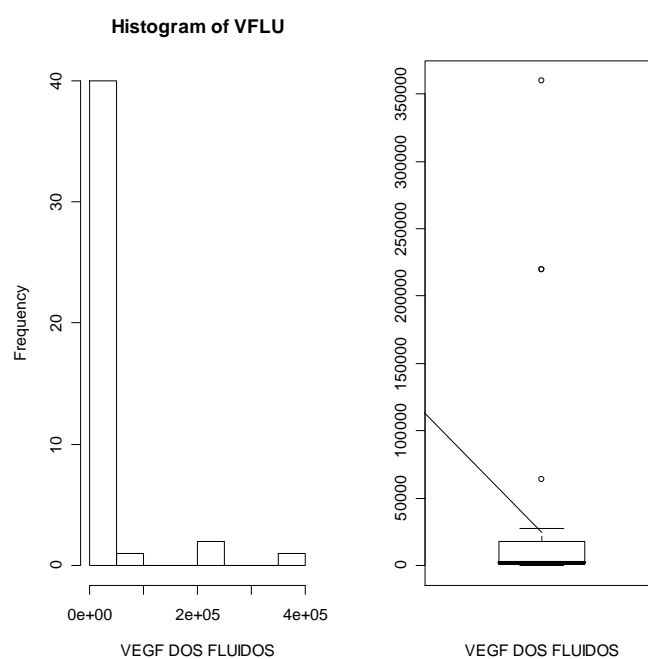
128. Vergote I, De Wever I, Tjalma W, Gramberen VM, Decloedt J, Van Dam P. Interval debulking surgery: an alternative for primary surgical debulking? *Sem Surg Oncol*, 2000; 19: 49-53;
129. Whittemore AS, Harris R and Itnyre J: Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies in the pathogenesis of epithelial ovarian cancer. Collaborative Ovarian Cancer Group. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 1212-1220;
130. Wong AST, Auersperg N: Normal ovarian surface epithelium. *Cancer Treat Res* 2002; 107: 161-183;
131. Wong AST, Pelech SL, Woo MMM: Coexpression of hepatocyte growth factor-Met: an early step in ovarian carcinogenesis? *Oncogene* 2001; 20: 1318-1328;
132. Yabushita H, Shimazu M, Noguchi M, Kishida T, Narumiya H, Sawaguchi K, Noguchi M: Vascular endothelial growth factor activating matrix metalloproteinase in ascitic fluid during peritoneal dissemination of ovarian cancer. *Oncol Rep*, 2003; 10: 89-95;
133. Yager JD: Endogenous estrogens as carcinogens through metabolic activation. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2000: 67-73;
134. Yamamoto S, Konishi I, Mandai M, Kuroda H, Komatsu T, Nanbu K, Sakahara H, Mori T. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in epithelial neoplasms: correlation with clinicopathology and patient survival, and analysis of serum VEGF levels. *Br J Cancer*, 1997; 76(9): 1221-1227;
135. Ye F, Chen HZ, Xie X, Ye DF, Lu WG, Ding ZM. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and ovarian carcinoma cell supernatant activate signal transducers and activators of transcription (STATs) via VEGF receptor-2 (KDR) in human hemopoietic progenitor cell. *Gynecol Oncol*, 2004; 94: 125-133;
136. Yoneda J, Kuniyasu H, Crispens M, Price J, Bucana C, Fidler I. Expression of angiogenesis-related genes and progression of human ovarian carcinomas in nude mice. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 447-454;
137. Young AST, Clement PB, Scully RE: The ovary. In: Sternberg SS, ed. *Diagnostic Surgical Pathology*. New York Raven Press, 1989; 1655-1734;
138. Young RC, Walton LA, Ellenberg SS. Adjuvant therapy in stage I and II epithelial ovarian cancer: results of two prospective randomized trials. *N Engl J Med*, 1990; 322: 1021-1027;
139. Zebrowski BK, Liu W, Ramirez K, Akagi Y, Mills GB, Ellis LM. Markedly elevated levels of vascular endothelial growth factor in malignant ascites; *Ann Surg Oncol*, 1999; 6(4):373-378;

140. Zheng WX, Magid MS, Kramer EE and Chen YT. Follicle-stimulating hormone receptor is expressed in human ovarian surface epithelium and fallopian tube. *Am J Pathol*, 1996; 148: 47-53.
141. Zurawski VR, Orjaseter H, Andersen A. Elevated serum CA 125 levels prior to diagnosis of ovarian neoplasia: relevance for early detection of ovarian cancer. *Int J Cancer*, 1988. 42(5): 677-680.

## APÊNDICE A - Metodologia das transformações das dosagens de VEGF e CA 125

Legenda:  
 Vermelho: comandos no aplicativo R;  
 Verde: comentários;  
 Preto: produto dos testes estatísticos.

```
#observando distribuição do VEGF
par(mfrow=c(1,2))
hist(VFLU,xlab=c("VEGF DOS FLUIDOS")) #assimétrica
boxplot(VFLU,xlab=c("VEGF DOS FLUIDOS")) #outliers
```



```
#avaliando normalidade da distribuição e melhor transformação de VEGF dos fluidos
peritoneais (VFLU):
```

```
library(nortest)
lillie.test(VFLU) #p-value < 2.2e-16(rejeito a hipótese nula de normalidade da
distribuição)
```

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

D = 0.3972, p-value < 2.2e-16

```
#avaliando distribuição gráfica pré-transformação
```

```
par(mfrow=c(1,2))
```

```

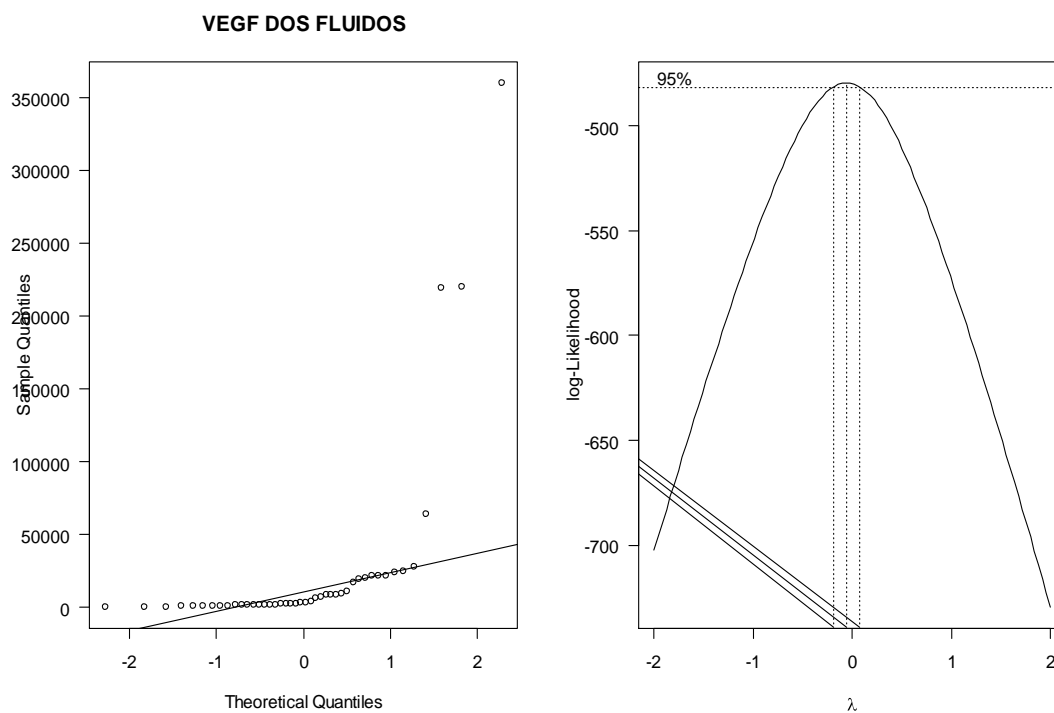
par(las=1)

qqnorm(VFLU,main=c("VEGF DOS FLUIDOS") )

qqline(VFLU )

library(MASS)

```



```

#transformando...

vegfffluid<-lm(VFLU ~1)

boxcox(vegfffluid) #melhor transformação é o log

c<-VFLU

log.vegff<-log(c)

#reavaliando a normalidade do vegf dos fluidos

lillie.test(log.vegff)#p-valor = 0.388 (não rejeito a hipótese nula de
normalidade)

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: log.vegff

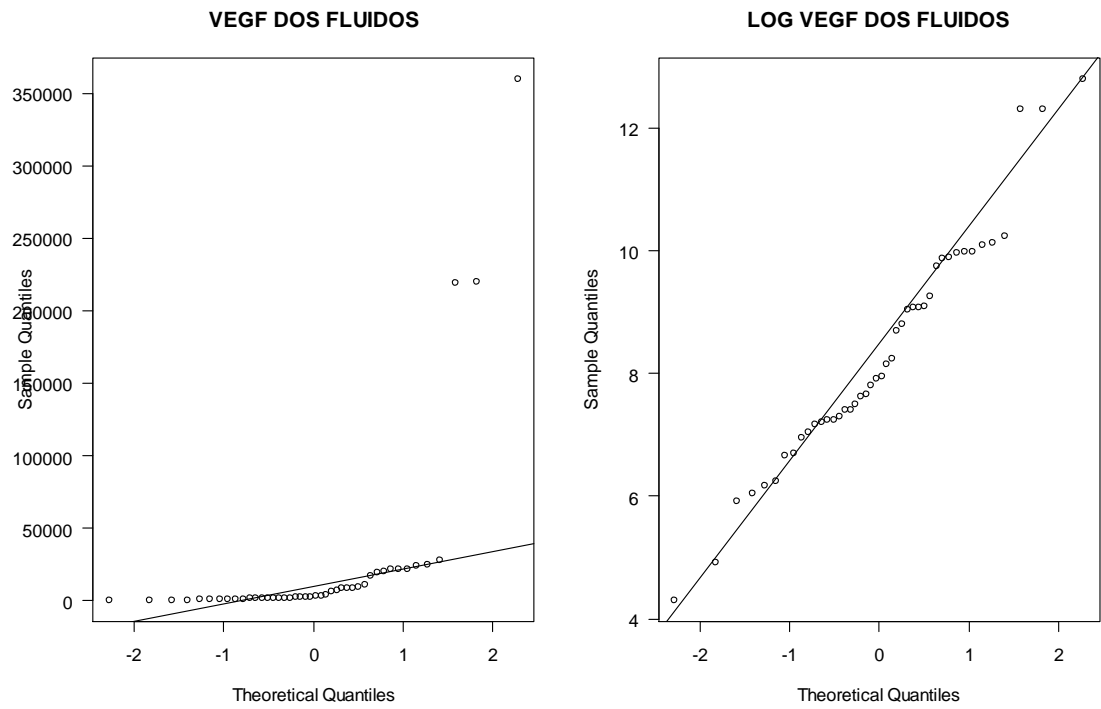
D = 0.0962, p-value = 0.388#avaliando distribuição gráfica pós-transformação

par(las=1)

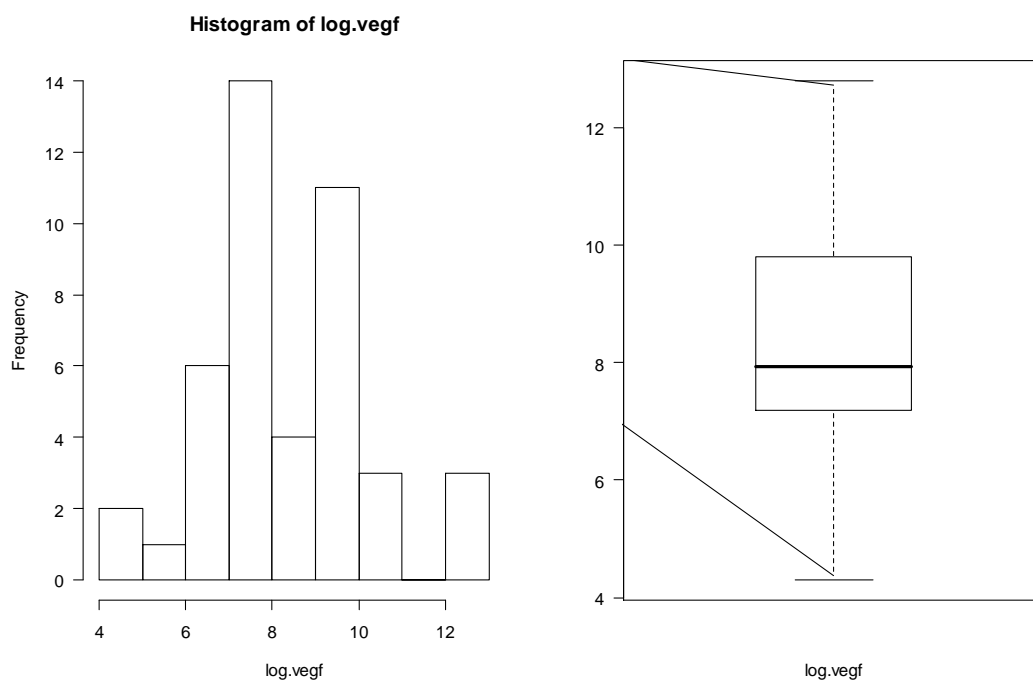
qqnorm(log.vegff,main=c("VEGF DOS FLUIDOS"))

qqline(log.vegff)

```



```
#reavaliando distribuição de log de vegf com transformação
par(mfrow=c(1,2))
hist(log.vegf) #mais simétrica
boxplot(log.vegf,xlab="log.vegf") #sem outliers
```



#Após a transformação de VFLU, baseada na distribuição mais simétrica do VFLU, agora nomeada log de VEGF e com aplicação do teste de Normalidade de Lilliefors, resultante na não rejeição da hipótese nula de Normalidade, foi assumida uma distribuição Normal para log de VEGF dos fluidos peritoneais.

```
#avaliando melhor transformação de carga de VEGF (vegfburd)
#Criação de carga de vegf
a<-(FLUIDOS)#volume dos líquidos
b<-(VFLU) #concentração do vegf nos fluidos
lillie.test(vegfburd)      #p-value = 1.219e-10 (rejeito a hipótese nula de
normalidade)

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data:  vegfburd
D = 0.2972, p-value = 1.219e-10 #rejeito a Ho de normalidade

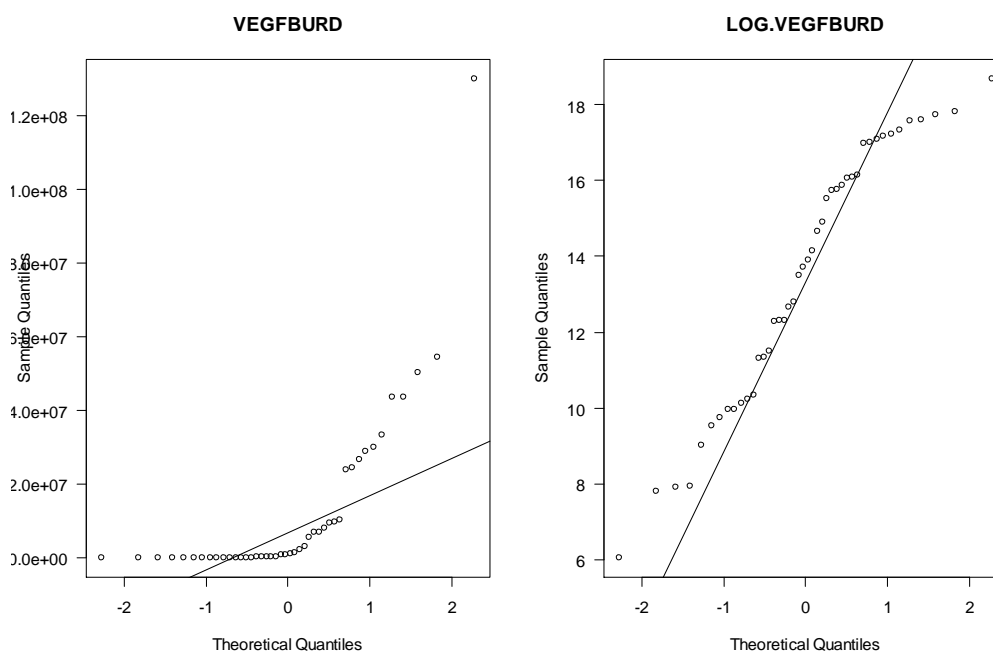
#avaliando distribuição gráfica pré-transformação
par(las=1)
      qqnorm(vegfburd)
qqline(vegfburd)
#transformando...
```



```

ab<-lm(vegfburd~1)
boxcox(ab) #melhor transformação é log
d<-vegfburd
log.vegfburd<-log(d)
#reavaliando a normalidade e log de vegf burd
lillie.test(log.vegfburd) #p-value = 0.04316(p-valor é marginal à normalidade)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: log.vegfburd
D = 0.1349, p-value = 0.04316
#avaliando distribuição gráfica pós-transformação
par(las=1)
qqnorm(log.vegfburd)
qqline(log.vegfburd)

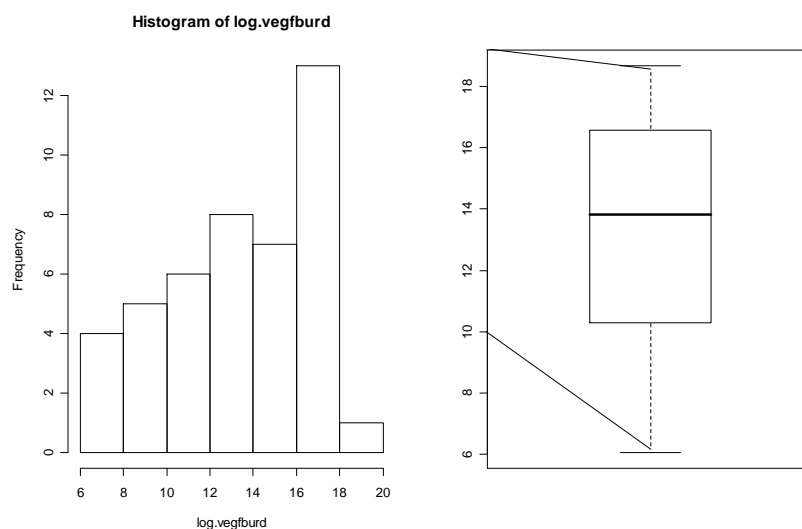
```



```

#reavaliando distribuição de log de vegfburd com transformação
par(mfrow=c(1,2))
hist(log.vegfburd) #não se conseguiu normalizar a distribuição de log.vegfburd
boxplot(log.vegfburd)

```



#Após a transformação de carga de VEGF (vegfburd), baseada na distribuição assimétrica do log de carga de VEGF e com aplicação do teste de Normalidade de Lilliefors, resultante na rejeição da hipótese nula de Normalidade, não pode ser assumida uma distribuição Normal para log de carga de VEGF.

#avaliando normalidade da distribuição e melhor transformação de VEGF do plasma periférico (VPLA).

```
library(nortest)
lillie.test(VPLA) #p-valor = 8.784e-05(rejeito a hipótese nula de normalidade da
distribuição)
```

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data: VPLA

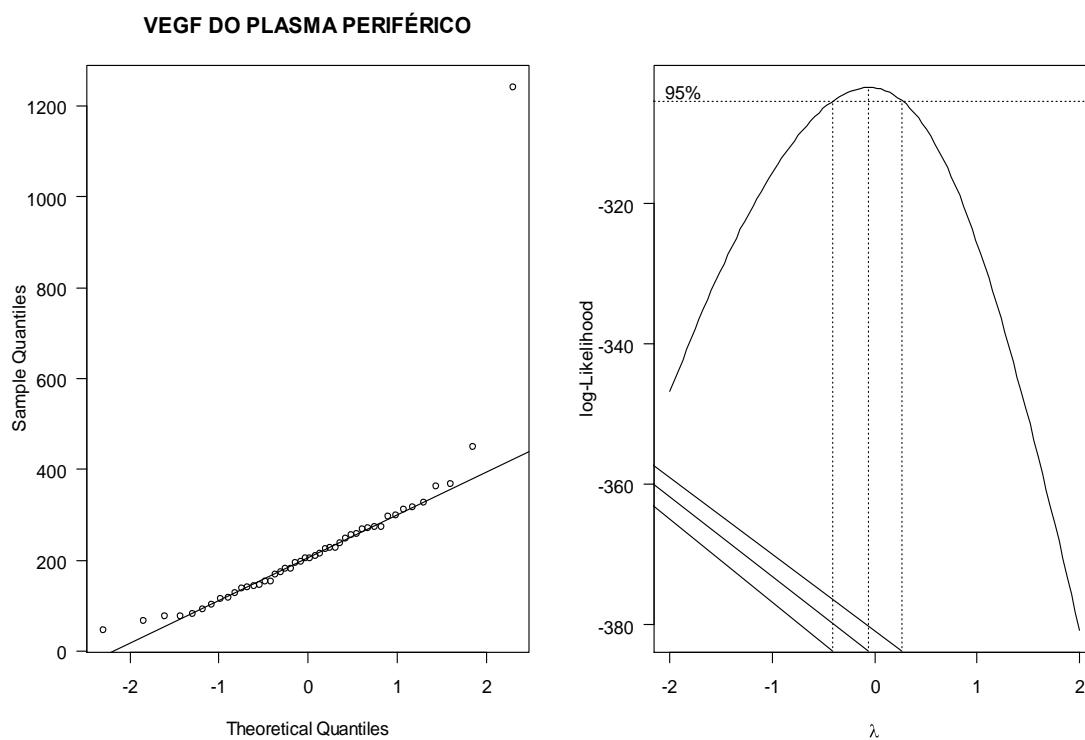
D = 0.1991, p-value = 8.784e-05

#avaliando distribuição gráfica pré-transformação

```
par(mfrow=c(1,2))
par(las=1)
qqnorm(VPLA,main=c("VEGF DO PLASMA PERIFÉRICO") )
qqline(VPLA )
```

#avaliando melhor transformação para VPLA

```
library(MASS)
vegfppla<-lm(VPLA ~1)
boxcox(vegfppla) #melhor transformação é o log
```



```

#reavaliando o teste de normalidade
e<-VPLA
log.vegf.pla<-log(e)
lillie.test(log.vegf.pla) #p-valor= 0.5476(não rejeito a hipótese nula de
normalidade)

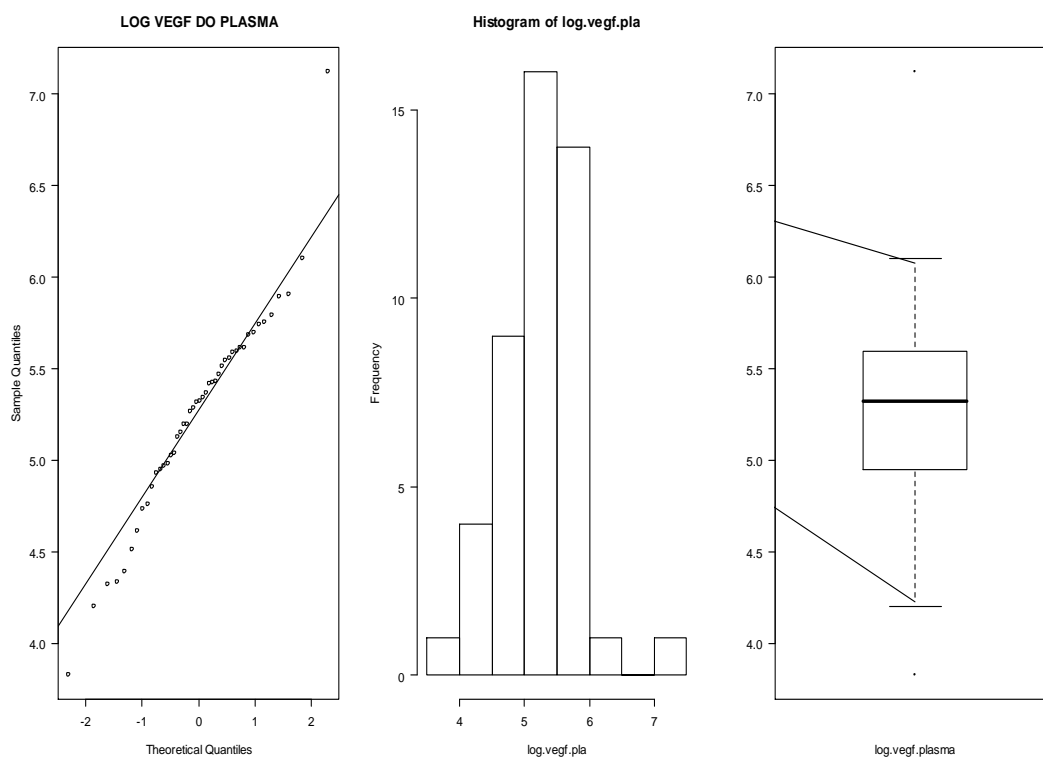
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data:  log.vegf.pla
D = 0.0854, p-value = 0.5476

#avaliando distribuição gráfica pós-transformação
par(mfrow=c(1,2))
par(las=1)
qqnorm(log.vegf.pla,main=c("LOG VEGF DO PLASMA"))
qqline(log.vegf.pla)

#reavaliando distribuição de log de VEGF do plasma com transformação

hist(log.vegf.pla) #mais simétrica
boxplot(log.vegf.pla,xlab="log.vegf.plasma") #sem outliers

```



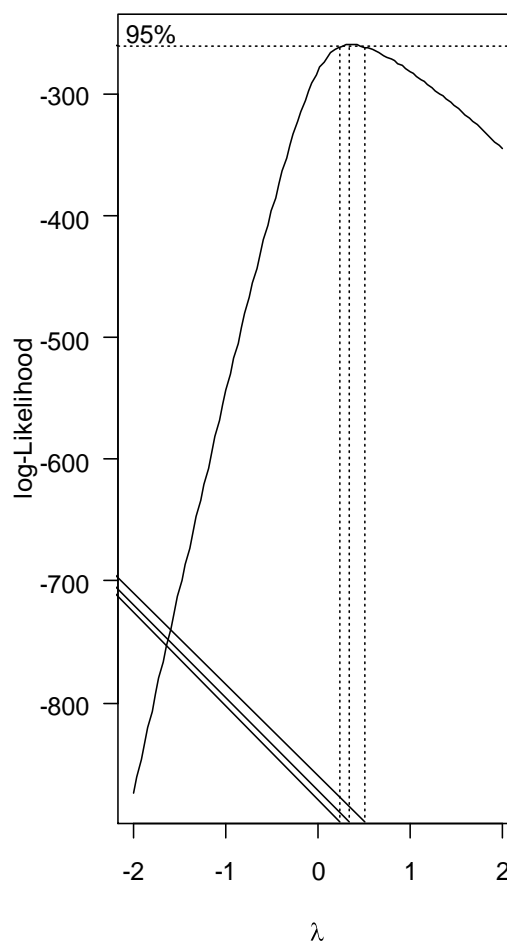
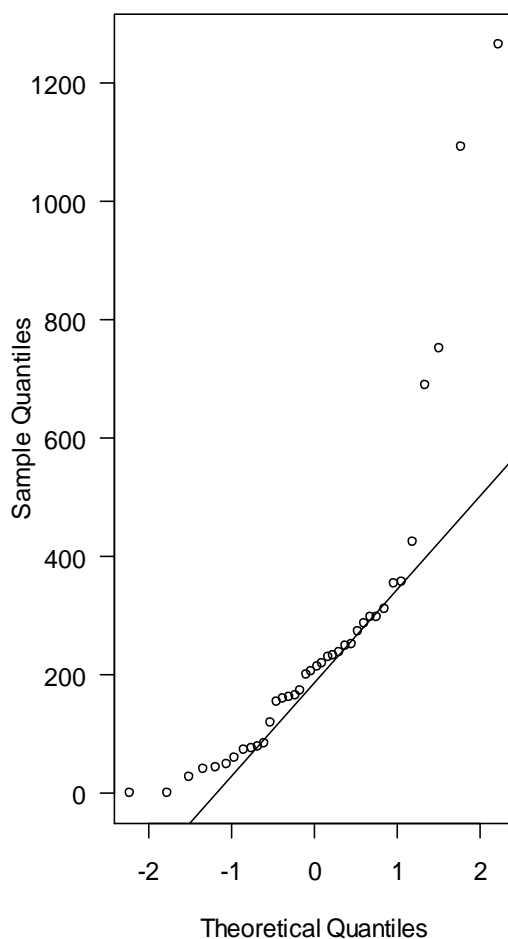
#Após a transformação de VPLA, baseada na distribuição mais simétrica do log de VEGF do plasma e com aplicação do teste de Normalidade de Lilliefors, resultante na não rejeição da hipótese nula de Normalidade, foi assumida uma distribuição Normal para log de VEGF do plasma periférico.

#avaliando normalidade da distribuição e melhor transformação de VEGF do infundíbulo pélvico (VINF)

```
library(nortest)
lillie.test(VINF) #p-value = 5.816e-06
# (rejeito a hipótese nula de normalidade da distribuição)
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: VINF
D = 0.2421, p-value = 5.816e-06
#avaliando distribuição gráfica pré-transformação
par(mfrow=c(1,2))
par(las=1)
qqnorm(VINF,main=c("VEGF DO PLASMA DO INFUNDÍBULO") )
qqline(VINF )
#avaliando transformação
library(MASS)
vegfinf<-lm(VINF ~1)
```

```
summary(vegfinf)
boxcox(vegfinf) #melhor transformação é o log
```

## VEGF DO PLASMA INFUNDIBULAR

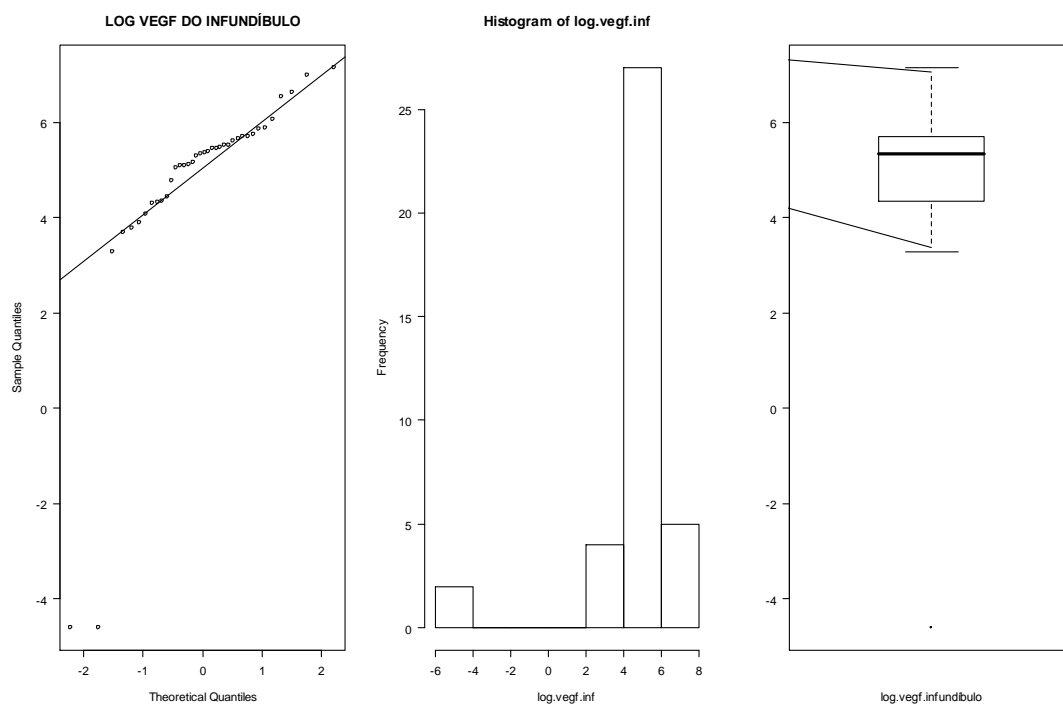


```
#reavaliando o teste de normalidade
f<-VINF
log.vegfinf<-log(f)
lillie.test(log.vegfinf) #p-value = 1.336e-06( rejeito a hipótese nula de
normalidade)

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: log.vegfinf
D = 0.2541, p-value = 1.336e-06

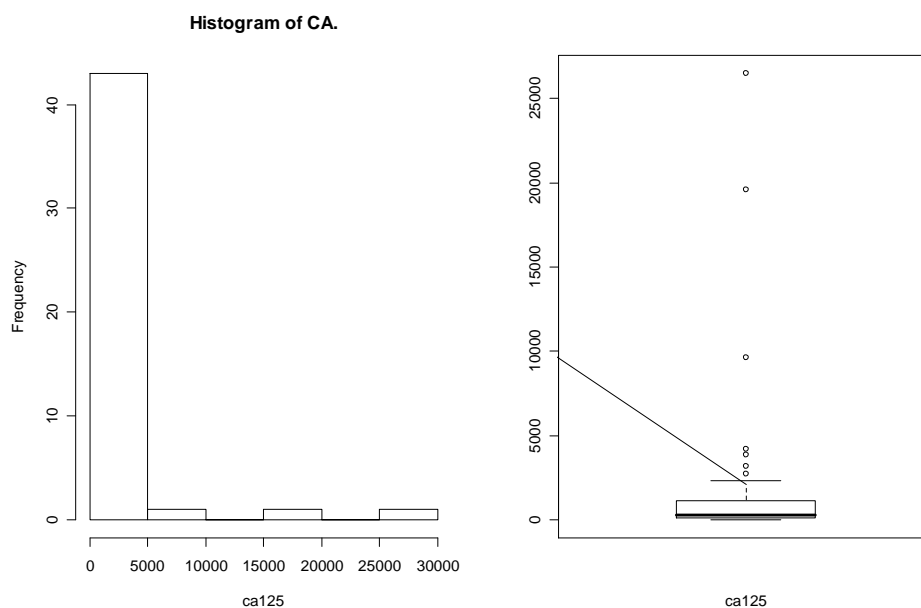
#avaliando distribuição gráfica pós-transformação
par(mfrow=c(1,3))
par(las=1)
qqnorm(log.vegfinf,main=c("LOG VEGF DO INFUNDÍBULO"))
qqline(log.vegfinf)
```

```
#reavaliando distribuição de log de vegf com transformação
hist(log.vegf.inf) #não se conseguiu normalizar
boxplot(log.vegf.inf,xlab="log.vegf.infundíbulo") #sem outliers
```



#Após a transformação de VEGF do infundíbulo pélvico, baseada na distribuição assimétrica do log de VEGF do infundíbulo e com aplicação do teste de Normalidade de Lilliefors, resultante na rejeição da hipótese nula de Normalidade, não pode ser assumida uma distribuição Normal para log de VEGF infundíbulo pélvico.

```
#avaliando distribuição de ca125
par(mfrow=c(1,2))
hist(CA.,xlab=c("ca125"))
boxplot(CA.,xlab=c("ca125"))
```



```

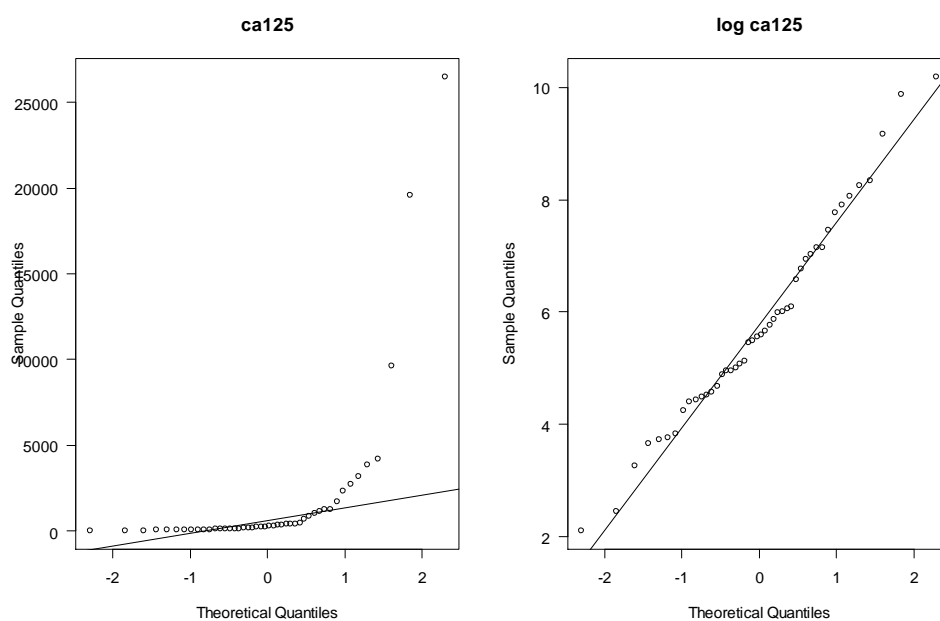
#transformando CA.125
lillie.test(CA.) # p-value = 4.781e-16 (rejeito a hipótese nula de normalidade)
D = 0.3534, p-value = 4.781e-16

#avaliando distribuição gráfica pré-transformação
par(mfrow=c(1,2))
par(las=1)
qqnorm(CA.,main=c("ca125"))
qqline(CA.)
ca125<-lm(CA. ~1)

#avaliando a melhor transformação de ca125
boxcox(ca125) #melhor transformação é o log
e<-CA.
log.ca125<-log(e)

#avaliando a normalidade pós-transformação
lillie.test(log.ca125) #p-value = 0.1823 (não rejeito a hipótese nula de
normalidade)
D = 0.1094, p-value = 0.1823

```

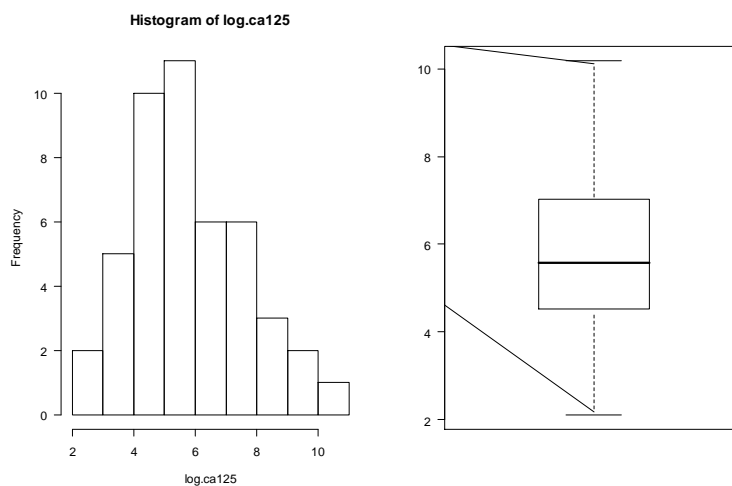


#avaliando distribuição gráfica pós-transformação

```
par(las=1)
```

```
qqnorm(log.ca125,main=c("log ca125"))
```

```
qqline(log.ca125)
```



#Após a transformação de CA125, baseada na distribuição mais simétrica da variável e com aplicação do teste de Normalidade de Lilliefors, resultante na não rejeição da hipótese nula de Normalidade, foi assumida uma distribuição Normal para log de CA125.



## APÊNDICE B - Resumo das correlações entre as amostras de VEGF

```

#testando correlações entre as dosagens de VEGF por origem da amostra
cor.test(log.vegfburd,log.vegf.pla,paired=FALSE,method="spearman")

    Spearman's rank correlation rho
data:  log.vegfburd and log.vegf.pla
S = 11964, p-value = 0.3079
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0
sample estimates:
    rho
0.1568710

cor.test(log.vegfburd,log.vegf,paired=FALSE,method="spearman")

    Spearman's rank correlation rho
data:  log.vegfburd and log.vegf
S = 10866, p-value = 0.1256
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0
sample estimates:
    rho
0.2342495

cor.test(log.vegfburd,log.vegf.inf,paired=FALSE,method="spearman")

    Spearman's rank correlation rho
data:  log.vegfburd and log.vegf.inf
S = 6502.885, p-value = 0.1725
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0
sample estimates:
    rho
0.2291506

cor.test(log.vegf.pla,log.vegf,paired=FALSE)

    Pearson's product-moment correlation
data:  log.vegf.pla and log.vegf
t = -0.1599, df = 42, p-value = 0.8737
alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -0.3192114  0.2742198
sample estimates:
    cor

```

-0.02466886

```
cor.test(log.vegf.pla,log.vegf.inf,paired=FALSE)
```

Pearson's product-moment correlation

data: log.vegf.pla and log.vegf.inf

t = 0.9991, df = 36, p-value = 0.3244

alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0

95 percent confidence interval:

-0.1640495 0.4597887

sample estimates:

cor

0.1642476

```
cor.test(log.vegf.inf,log.vegf,paired=FALSE)
```

Pearson's product-moment correlation

data: log.vegf.inf and log.vegf

t = -1.1294, df = 35, p-value = 0.2664

alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0

95 percent confidence interval:

-0.4822377 0.1453298

sample estimates:

cor

-0.1875194

RESUMO DAS ANÁLISES BIVARIADAS

O desfecho é a citorredução ótima *versus* a subótima e a grosseira.

#ca125(contínuo)

```
summary(mdes1<-glm(citor~CA.),family=binomial(link=logit)) #pvalor=0.486
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.6272	-0.3519	-0.3506	0.6353	0.6484

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	3.502e-01	7.746e-02	4.520	4.61e-05 ***
CA.	1.046e-05	1.490e-05	0.702	0.486

(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 0.2408790)

Null deviance: 10.717 on 45 degrees of freedom

Residual deviance: 10.599 on 44 degrees of freedom

AIC: 69.018

```

Number of Fisher Scoring iterations: 2

#categorias de ca125
#log de ca125 <6.5 (700 U/ml)
summary(mdes1b<-glm(citor~as.factor(ca125categorf)),family=binomial(link=logit))
#pvalor= 0.0279

Deviance Residuals:
      Min       1Q   Median       3Q      Max
-4.359e-01 -4.359e-01 -9.283e-18  5.641e-01  5.641e-01

Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)          0.21795    0.09582   2.275  0.0279
as.factor(ca125categorf). 0.30823    0.13551   2.275  0.0279
(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 0.2179487)

Null deviance: 10.7174  on 45  degrees of freedom
Residual deviance:  9.5897  on 44  degrees of freedom
AIC: 64.417

Number of Fisher Scoring iterations: 2

#OR e IC(95%)
beta <- coef(mdes1b)
se.beta <- sqrt(diag(summary(mdes1b)$cov.unscaled))
or <- exp(beta)
liminf <- exp(beta-1.96*se.beta)
limsup <- exp(beta+1.96*se.beta)
data.frame("Odds_ratio"=or,"LI_IC95"=liminf,"LS_
IC95"=limsup)
              Odds_ratio  LI_IC95 LS_.IC95
(Intercept)          1.509575 1.1091516 2.054558
as.factor(ca125categorf).L  1.187481 0.7679182 1.836279

#log de ca125 <5.79 (330 U/ml)
summary(mdes1c<-glm(citor~as.factor(ca125categorf2)),family=binomial(link=logit))
#p-valor=0.0261

Deviance Residuals:
      Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.5500 -0.2308 -0.2308  0.4500  0.7692

Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)          38    0.06934   5.630 1.18e-06

```

```

as.factor(cal25categorf2) 0.22573    0.09806    2.302    0.0261
(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 0.2173951)
  Null deviance: 10.7174  on 45  degrees of freedom
Residual deviance:  9.5654  on 44  degrees of freedom
AIC: 64.3
Number of Fisher Scoring iterations: 2
#OR e IC(95%)
beta <- coef(mdes1c)
se.beta <- sqrt(diag(summary(mdes1c)$cov.unscaled))
or <- exp(beta)
liminf <- exp(beta-1.96*se.beta)
limsup <- exp(beta+1.96*se.beta)
data.frame("Odds_ratio"=or,"LI_IC95"=liminf,"LS_
IC95"=limsup)

```

	Odds_ratio	LI_IC95	LS_.IC95
(Intercept)	1.477549	1.1039650	1.977554
as.factor(cal25categorf2).L	1.253238	0.8298755	1.892578

```

#log de cal25<6.21 (500 U/ml)
summary(mdes1d<-glm(citor~as.factor(cal25categorf3)),family=binomial(link=logit))
#p-value=0.114
Deviance Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.5333 -0.2903 -0.2903  0.4667  0.7097
Coefficients:

```

	Estimate	Std. Error	t	value
Pr(> t )				
(Intercept)	0.41183	0.07542	5.460	2.08e-06
as.factor(cal25categorf3).L	0.17183	0.10666		1.611

```

0.114
(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 0.2300098)
  Null deviance: 10.717  on 45  degrees of freedom
Residual deviance: 10.120  on 44  degrees of freedom
AIC: 66.894
Number of Fisher Scoring iterations: 2
#OR e IC(95%)
beta <- coef(mdes1d)
se.beta <- sqrt(diag(summary(mdes1d)$cov.unscaled))
or <- exp(beta)
liminf <- exp(beta-1.96*se.beta)

```

```

limsup <- exp(beta+1.96*se.beta)
data.frame("Odds_ratio"=or,"LI_IC95"=liminf,"LS_
IC95"=limsup)

Odds_ratio  LI_IC95 LS_.IC95
(Intercept)                1.509575 1.1091516 2.054558
as.factor(cal25categorf3) .L  1.187481 0.7679182 1.836279
#albumina
#albumina continúa
summary(mdes2<-glm(citor~ALBUMINA),family=binomial(link=logit)) #pvalor= 0.2494

Deviance Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.5265 -0.3755 -0.2785  0.5274  0.7647

Coefficients:
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)    0.67749    0.26231   2.583   0.0139 *
ALBUMINA      -0.10785    0.09216  -1.170   0.2494

(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 0.2405767)

    Null deviance: 9.2308  on 38  degrees of freedom
Residual deviance: 8.9013  on 37  degrees of freedom
(7 observations deleted due to missingness)

AIC: 59.06

Number of Fisher Scoring iterations: 2

#albumina categorizada (2,5 g/dl)
summary(mdes3<-glm(citor~as.factor(alb)),family=binomial(link=logit))
#pvalor=0.1792

Deviance Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.5000 -0.2857 -0.2857  0.5000  0.7143

Coefficients:
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)         0.2857    0.1063   2.687   0.0107
as.factor(alb)1     0.2143    0.1565   1.369   0.1792

(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 0.2374517)

    Null deviance: 9.2308  on 38  degrees of freedom
Residual deviance: 8.7857  on 37  degrees of freedom
(7 observations deleted due to missingness)

AIC: 58.55

```

Number of Fisher Scoring iterations: 2

```
#OR e IC(95%)
beta <- coef(mdes3)
se.beta <- sqrt(diag(summary(mdes3)$cov.unscaled))
or <- exp(beta)
liminf <- exp(beta-1.96*se.beta)
limsup <- exp(beta+1.96*se.beta)
data.frame("Odds_ratio"=or,"LI_IC95"=liminf,"LS_
IC95"=limsup)

              Odds_ratio  LI_IC95 LS_.IC95
(Intercept)      1.330712  0.8676275  2.040962
as.factor(alb)1    1.238977  0.6601541  2.325310

#log.vegf dos fluidos
summary(mdes4<-glm(citor~log.vegf),family=binomial(link=logit)) #p-valor=0.392
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.5155	-0.3508	-0.3141	0.5885	0.7713

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.08343	0.33235	0.251	0.803
log.vegf	0.03378	0.03907	0.865	0.392

(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 0.2381853)

Null deviance: 10.182 on 43 degrees of freedom

Residual deviance: 10.004 on 42 degrees of freedom

(2 observations deleted due to missingness)

AIC: 65.693

Number of Fisher Scoring iterations: 2

```
#log.vegfburd (carga de VEGF)
```

```
summary(mdes5<-glm(citor~log.vegfburd),family=binomial(link=logit)) #p-valor=
```

3.91e-05

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.65231	-0.32134	-0.04798	0.32222	0.73381

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	-0.74301	0.24827	-2.993	0.00462 **
log.vegfburd	0.08205	0.01785	4.596	3.91e-05 ***

(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 0.1612975)

```

Null deviance: 10.1818 on 43 degrees of freedom
Residual deviance: 6.7745 on 42 degrees of freedom
(2 observations deleted due to missingness)
AIC: 48.541
Number of Fisher Scoring iterations: 2
#log.vegf.pla (plasma periférico)
summary(mdes6<-glm(citor~log.vegf.pla),family=binomial(link=logit)) #p-valor=
0.0447
Deviance Residuals:
      Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.4971 -0.3880 -0.2426  0.5275  0.8652
Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  -0.9567     0.6456  -1.482  0.1455
log.vegf.pla  0.2527     0.1223   2.066  0.0447 *
(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 0.2220302)
      Null deviance: 10.7174 on 45 degrees of freedom
Residual deviance:  9.7693 on 44 degrees of freedom
AIC: 65.27
#Number of Fisher Scoring iterations: 2
#log.vegf.inf(plasma infundibular)
summary(mdes7<-glm(citor~log.vegf.inf),family=binomial(link=logit)) #p-valor=
0.233
Deviance Residuals:
      Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.3899 -0.3433 -0.3029  0.6282  0.7211
Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  0.13168     0.16980   0.776  0.443
log.vegf.inf 0.03900     0.03217   1.212  0.233
(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 0.2191256)
      Null deviance: 8.2105 on 37 degrees of freedom
Residual deviance: 7.8885 on 36 degrees of freedom
(8 observations deleted due to missingness)
AIC: 54.097
Number of Fisher Scoring iterations: 2
#FLUIDOS (continuo)
summary(mdes8<-glm(citor~FLUIDOS),family=binomial(link=logit)) #p-valor=0.00202
Deviance Residuals:

```

```

      Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.7813 -0.1968 -0.1884  0.3881  0.8116

Coefficients:

            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) 1.884e-01  8.544e-02  2.205  0.03276 *
FLUIDOS      8.471e-05  2.580e-05  3.283  0.00202 **
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 0.1956484)

    Null deviance: 10.7174  on 45  degrees of freedom
Residual deviance:  8.6085  on 44  degrees of freedom
AIC: 59.451

Number of Fisher Scoring iterations: 2

#fluidcategorf(fluidos categorizados em maior ou menor que 5000)

summary(mdes9<-glm(citor~as.factor(fluidcategorf),family=binomial(link=logit))

#p-valor= 0.0138

Deviance Residuals:

      Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.7000 -0.2778 -0.2778  0.3000  0.7222

Coefficients:

            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)          0.48889    0.08227   5.943 4.1e-07
as.factor(fluidcategorf).L 0.29856 0.11634   2.566  0.0138
(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 0.2118687)

    Null deviance: 10.7174  on 45  degrees of freedom
Residual deviance:  9.3222  on 44  degrees of freedom
AIC: 63.115

Number of Fisher Scoring iterations: 2

#OR e IC(95%)

beta <- coef(mdes9)

se.beta <- sqrt(diag(summary(mdes9)$cov.unscaled))

or <- exp(beta)

liminf <- exp(beta-1.96*se.beta)

limsup <- exp(beta+1.96*se.beta)

data.frame("Odds_ratio"=or,"LI_IC95"=liminf,"LS_
IC95"=limsup)

            Odds_ratio  LI_IC95 LS_.IC95
(Intercept)          1.6305035 1.1486392 2.314514
as.factor(fluidcategorf).L 0.7418886 0.4520463 1.217572

#RESUMO DA ANÁLISE BIVARIADA

```



## APÊNDICE C - Modelos estatísticos testados

```

#modelagem

#modelo logístico

#1° tratar os NA

#inserindo no banco soldoc variáveis pré operatórias com p-valor < 0.30 e
retirando os valores faltantes

soldoc <- cbind(soldoc,citor) )#desfecho citorredução

soldoc <- cbind(soldoc,cal25categorf3)

soldoc <- cbind(soldoc,cal25categorf2)

soldoc <- cbind(soldoc,cal25categorf)

soldoc <- cbind(soldoc,alb)

soldoc <- cbind(soldoc,fluidcategorf)

#criando um banco sem NA

banco2 <- soldoc[!is.na(citor) & !is.na(cal25categorf3) & !is.na(alb) &
!is.na(log.vegburd)
      & !is.na(log.vegf.pla) & !is.na(FLUIDOS) & !is.na(fluidcategorf) &
!is.na(cal25categorf2)
      & !is.na(cal25categorf) & !is.na(CA.),]

#obs:vegf.pla incluído por citação na literatura
###Análise Step-wise

mod.vazio <- glm(banco2$citor ~ 1, family=binomial(link=logit))

up <- banco2$citor ~ banco2$cal25categorf3 + as.factor(banco2$alb) +
banco2$log.vegburd +
      banco2$log.vegf.pla + banco2$FLUIDOS + banco2$fluidcategorf +
banco2$cal25categorf2 +
      banco2$cal25categorf + banco2$CA.

mod.step <- step(mod.vazio, up, direction="both")

Start: AIC=51.08

banco2$citor ~ 1


```

	Df	Deviance	AIC
+ banco2\$log.vegburd	1	37.173	41.173
+ banco2\$FLUIDOS	1	43.465	47.465
+ banco2\$cal25categorf2	1	46.002	50.002
+ banco2\$fluidcategorf	1	46.509	50.509
<none>		49.082	51.082

```

+ banco2$log.vegf.pla      1  47.138 51.138
+ as.factor(banco2$alb)   1  47.943 51.943
+ banco2$scal25categorf3  1  47.979 51.979
+ banco2$scal25categorf   1  47.979 51.979
+ banco2$CA.              1  49.013 53.013

```

Step: AIC=41.17

banco2\$citor ~ banco2\$log.vegfburd

	Df	Deviance	AIC
<none>		37.173	41.173
+ banco2\$log.vegf.pla	1	35.372	41.372
+ banco2\$scal25categorf2	1	36.737	42.737
+ banco2\$CA.	1	36.848	42.848
+ banco2\$scal25categorf3	1	37.034	43.034
+ banco2\$scal25categorf	1	37.034	43.034
+ as.factor(banco2\$alb)	1	37.055	43.055
+ banco2\$fluidcategorf	1	37.153	43.153
+ banco2\$FLUIDOS	1	37.166	43.166
- banco2\$log.vegfburd	1	49.082	51.082

`summary(mod.step)` #escolheu para modelo final citor descrita por log.vegfburd

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.4980	-0.8660	-0.3195	0.8521	1.8188

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-7.1123	2.5742	-2.763	0.00573 **
banco2\$log.vegfburd	0.4610	0.1698	2.715	0.00663 **

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

Null deviance: 49.082 on 36 degrees of freedom

Residual deviance: 37.173 on 35 degrees of freedom

AIC: 41.173

Number of Fisher Scoring iterations: 5

#OR e IC (95%)

```
beta <- coef(mod.step)
```

```
se.beta <- sqrt(diag(summ$cov.unscaled))
```

```
or <- exp(beta)
```

```
liminf <- exp(beta-1.96*se.beta)
```

```

limsup <- exp(beta+1.96*se.beta)
z <- beta / se.beta

pvalor <- (1 - pnorm(abs(z), mean=0, sd=1, lower.tail = TRUE, log.p =
FALSE)) * 2

data.frame("Odds_ratio"=or,"Z"=z,"p-
valor"=pvalor,"LI_IC95"=liminf,"LS_IC95"=limsup)

```

	Odds_ratio	Z	p.valor	LI_IC95	LS_IC95
(Intercept)	0.0008150044	-2.762930	0.005728511	5.247612e-06	0.1265780
banco2\$log.vegfburd	1.5857169687	2.714917	0.006629239	1.136777e+00	2.2119539

```

#modelos logísticos alternativos
summary(glm1<-glm(banco2$citor ~ banco2$log.vegfburd + banco2$log.vegfburda +
banco2$cal25categorf2+ as.factor(banco2$alb)+
banco2$fluidcategorf, family=binomial(link=logit)))

```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.8872	-0.6872	-0.2028	0.8180	2.0236

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-14.26000	6.66468	-2.140	0.0324 *
banco2\$log.vegfburd	0.51047	0.22563	2.262	0.0237 *
banco2\$log.vegfburda	1.19579	0.94798	1.261	0.2072
banco2\$cal25categorf2.L	0.27911	0.62839	0.444	0.6569
as.factor(banco2\$alb)1	-0.03669	0.93186	-0.039	0.9686
banco2\$fluidcategorf.L	0.44215	0.76445	0.578	0.5630

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

# Null deviance: 49.082 on 36 degrees of freedom

Residual deviance: 34.875 on 31 degrees of freedom

AIC: 46.875

Number of Fisher Scoring iterations: 5

```

logistic.display(glm1,crude.p.value=TRUE)

```

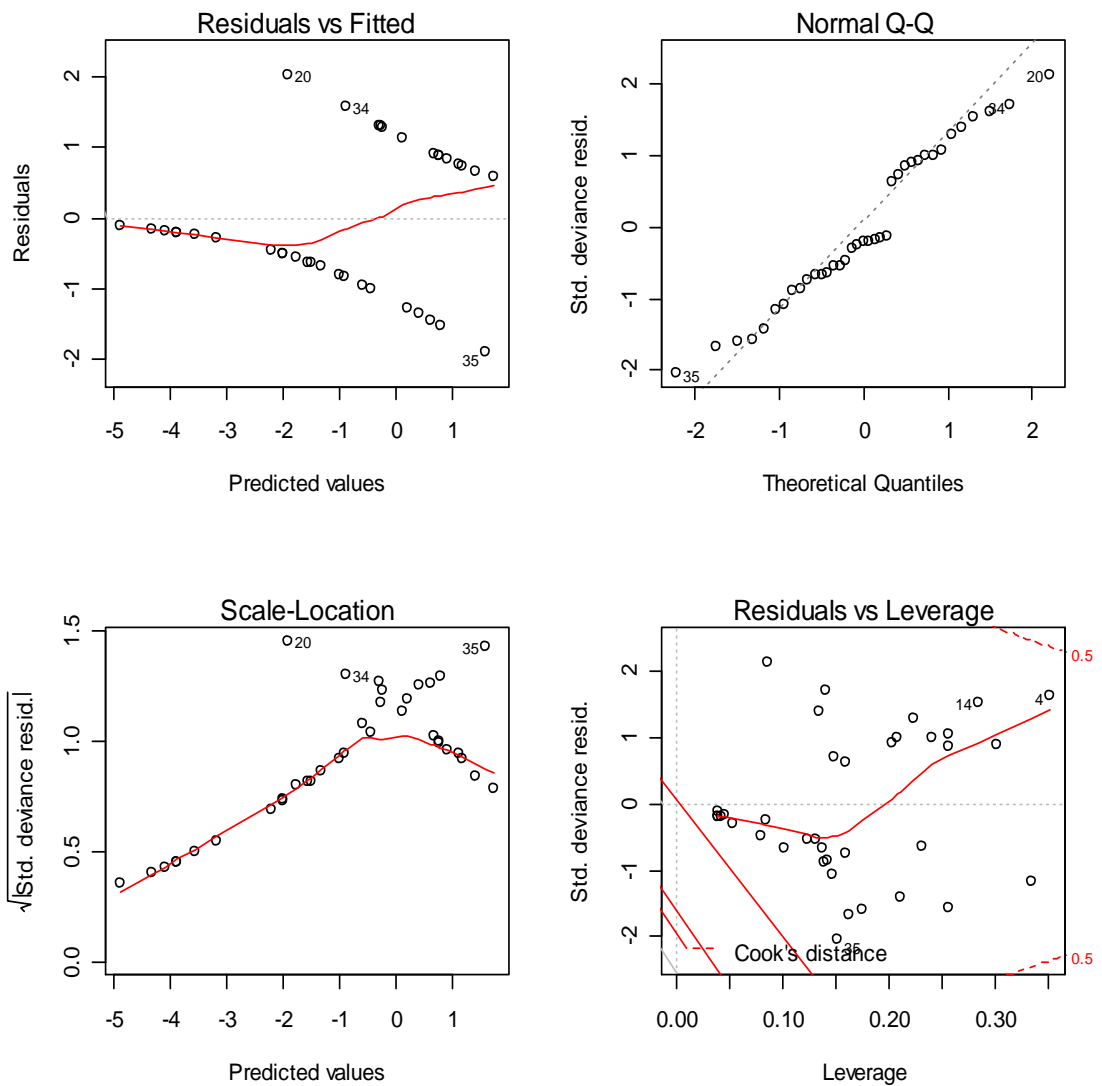
	#OR	lower95ci	upper95ci	Pr(> Z )
banco2\$log.vegfburd	1.6660685	1.0706188	2.592692	0.02367335
banco2\$log.vegfburda	3.3061648	0.5157080	21.195571	0.20716136
banco2\$cal25categorf2.L	1.3219492	0.3857672	4.530063	0.65692685

```
as.factor(banco2$alb) 1 0.9639774 0.1551898 5.987844 0.96859546
banco2$fluidcategorf.L 1.5560510 0.3477953 6.961839 0.56299948
```

```
#diagnósticos gráficos
```

```
par(mfrow=c(2,2))
```

```
plot(glm1)
```



```
#problemas com resíduos
```

```
#t ndo colinearidade entre as variáveis
```

```
vif(glm1) #não há colinearidade
```

```
log.vegfburd log.vegf.pla ca125categorf2 alb fluidcategorf.
```

```
1.578006
```

```
1.162310
```

```
1.123627
```

```
1.253730
```

```
1.409043
```

```

#testando iterações

summary(glm2<-glm(banco2$citor ~ banco2$log.vegfburd + banco2$log.vegfburda+
banco2$cal25categorf2*as.factor(banco2$alb)+
banco2$fluidcategorf, family=binomial(link=logit)))

Deviance Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.9384 -0.6781 -0.2101  0.8023  1.9489

Coefficients:
                Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)      -14.21227    6.71097  -2.118  0.0342 *
banco2$log.vegfburd    0.53081    0.24090   2.203  0.0276 *
banco2$log.vegfburda  1.14104    0.96659   1.180  0.2378
banco2$cal25categorf2.L  0.05494    0.94628   0.058  0.9537
as.factor(banco2$alb)1 -0.12467    0.98386  -0.127  0.8992
banco2$fluidcategorf.L  0.42534    0.77133   0.551  0.5813
banco2$cal25categorf2.L:as.factor(banco2$alb)1  0.40860    1.29785  0.315
0.7529

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

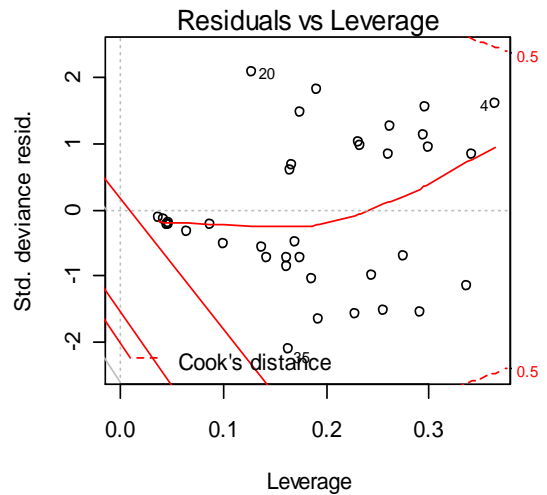
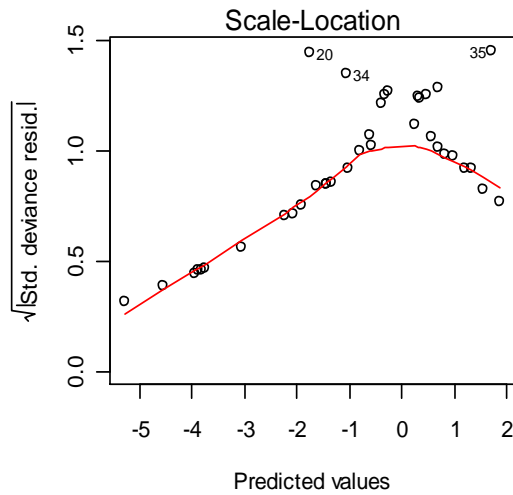
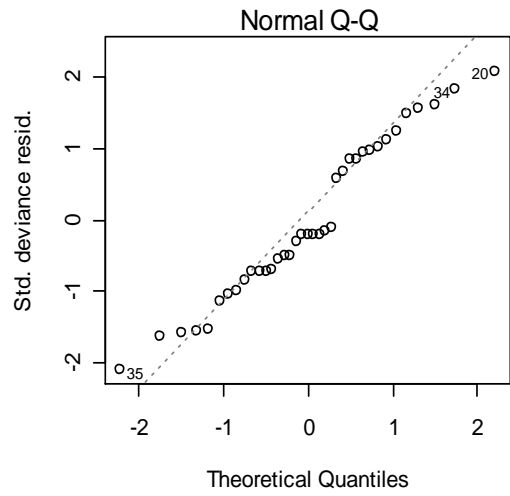
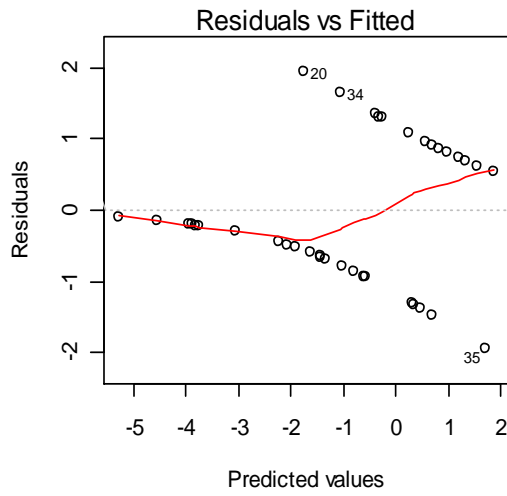
Null deviance: 49.082 on 36 degrees of freedom
#Residual deviance: 34.775 on 30 degrees of freedom
AIC: 48.775
Number of Fisher Scoring iterations: 5

logistic.display(glm2,crude.p.value=TRUE)

                OR lower95ci upper95ci Pr(>|Z|)
banco2$log.vegfburd    1.7003165 1.0604181  2.726355 0.0275607
banco2$log.vegfburda  3.1300352 0.4707418 20.812089 0.2378097
banco2$cal25categorf2.L  1.0564739 0.1653426  6.750450 0.9537043
as.factor(banco2$alb)1  0.8827851 0.1283481  6.071842 0.8991633
banco2$fluidcategorf.L  1.5301151 0.3374157  6.938778 0.5813323
banco2$cal25categorf2.L  1 1.5047109 0.1182289 19.150607 0.7528910
:as.factor(banco2$alb)

#diagnósticos gráficos
par(mfrow=c(2,2))
plot(glm2)

```



```
summary(glm3<-glm(banco2$citor ~ banco2$log.vegfburd * as.factor(banco2$alb) +
banco2$log.vegfp.la+ banco2$cal25categorf2 +
banco2$fluidcategorf, family=binomial(link=logit)))
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.9258	-0.6539	-0.2248	0.7980	2.0054

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-13.5774	7.0424	-1.928	0.0539 .
banco2\$log.vegfburd	0.4595	0.2901	1.584	0.1132
as.factor(banco2\$alb)1	-1.7236	6.5681	-0.262	0.7930
banco2\$log.vegfp.la	1.2019	0.9505	1.264	0.2061

```

banco2$scal25categorf2.L          0.3247    0.6536    0.497    0.6193
banco2$fluidcategorf.L           0.4266    0.7681    0.555    0.5787
banco2$log.vegfburd:as.factor(banco2$alb)1  0.1120    0.4295    0.261    0.7942

```

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

Null deviance: 49.082 on 36 degrees of freedom

Residual deviance: 34.805 on 30 degrees of freedom

AIC: 48.805

Number of Fisher Scoring iterations: 5

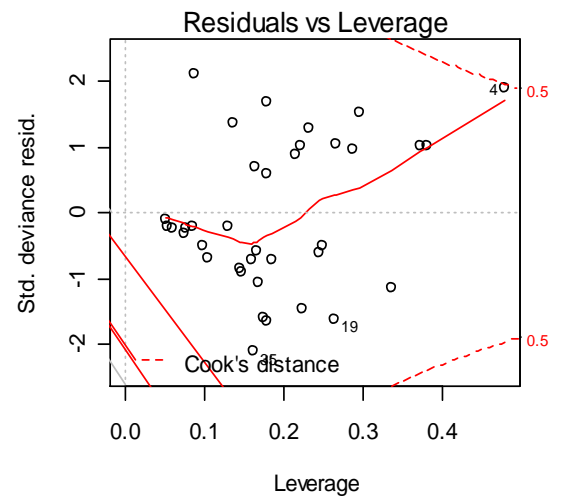
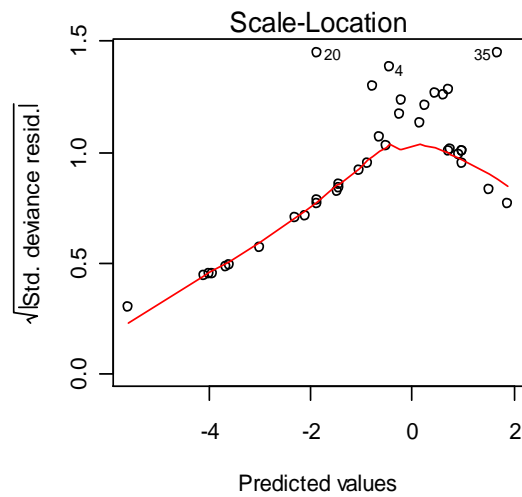
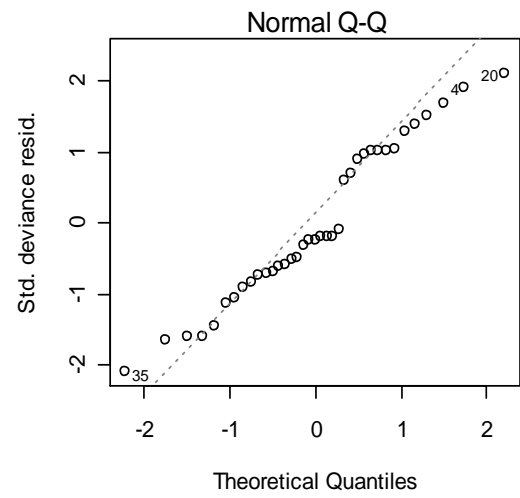
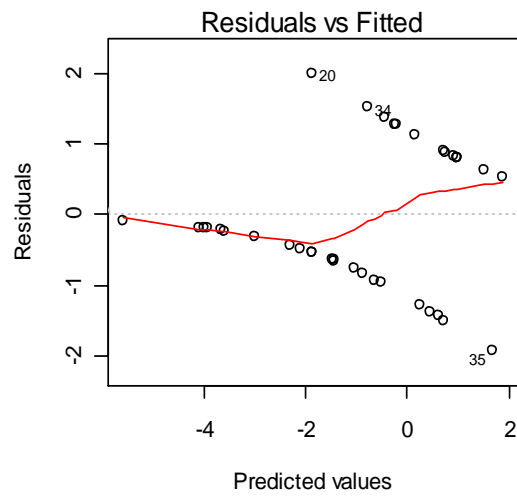
```
logistic.display(glm3)
```

	OR	lower95ci	upper95ci	Pr(> Z )
banco2\$log.vegfburd	1.5832589	0.8966406535	2.795667	0.1132196
as.factor(banco2\$alb)1	0.1784187	0.0000004578	69535.215381	0.7929947
banco2\$log.vegf.pla	3.3262986	0.5163255170	21.428850	0.2060519
banco2\$scal25categorf2.L	1.3835843	0.3843218472	4.980996	0.6193417
banco2\$fluidcategorf.L	1.5319788	0.3399650714	6.903530	0.5786651
banco2\$log.vegfburd:	1.1185422	0.4820253245	2.595583	0.7942193
as.factor(banco2\$alb)1				

```
#diagnósticos gráficos
```

```
par(mfrow=c(2,2))
```

```
plot(glm3)
```

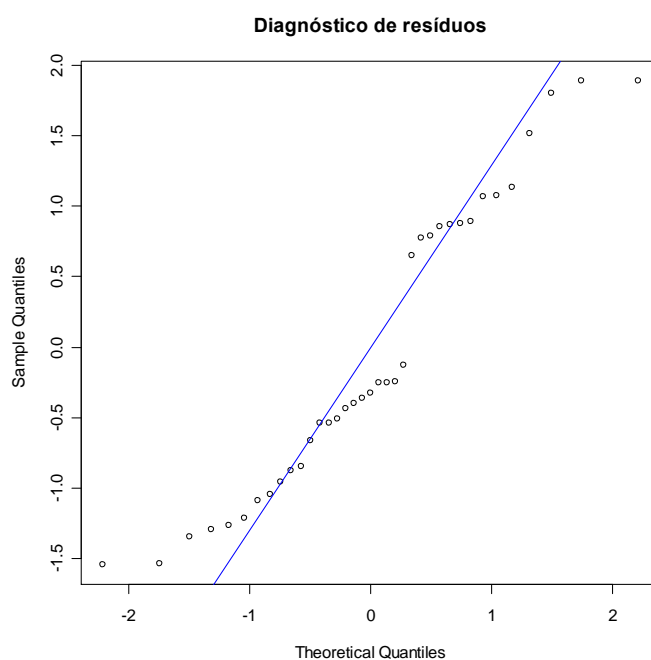


```
#diagnóstico de normalidade dos resíduos do modelo do step-wise
```

```
rt <- rstudent(mod.step)
```

```
qqnorm(rt,main=c("Diagnóstico de resíduos"));qqline(rt,col="blue")
```





```
#identificando os outliers
```

```
sort(log.vegfburd)
```

```
[1] 5.106836 7.803027 7.906934 7.943161 9.028818 9.530153 9.750511
9.955226 9.968552 10.230494 10.343501
[12] 11.061399 11.301891 11.331924 11.496991 12.298344 12.299813 12.308228
12.657992 12.793497 13.507166 13.718711
[23] 13.916014 14.157415 14.661742 14.902545 15.527256 15.744985 15.769377
15.886208 16.074032 16.096450 16.147468
[34] 16.986973 17.005709 17.101370 17.178494 17.218717 17.323373 17.587126
17.592456 17.733003 17.812350 18.682312
```

```
j <- log.vegfburd[log.vegfburd < 16 | log.vegfburd >17.5]
```

```
sort(rt)
```

```
19 35 15 21 9 31 13
32 36 7 24
-1.5425513 -1.5381720 -1.3481437 -1.2916858 -1.2668772 -1.2163455 -1.0915967 -
1.0457209 -0.9536865 -0.8781167 -0.8431764
37 28 1 33 10 30 6
17 8 12 2
-0.6622674 -0.5403290 -0.5368544 -0.5097002 -0.4355167 -0.4006910 -0.3631817 -
0.3242757 -0.2531122 -0.2510178 -0.2451035
23 25 11 18 22 5 14
3 27 16 29
```

```

-0.1315860  0.6501485  0.7753916  0.7875926  0.8526083  0.8697579  0.8764066
0.8892443  1.0669672  1.0711475  1.1335533
      26      4      20      34
1.5137893  1.8024904  1.8854162  1.8874213
outliers <- banco2[rt < -1.3 | rt > 1.88,c("log.vegfburd")]
k <- setdiff(banco2$log.vegfburd,outliers)
lillie.test(k) #p-valor=0.1573; não rejeito a Ho de normalidade

#novo banco sem os 5 outliers
banco3 <- banco2[rt >= -1.3 & rt < 1.88,]
lillie.test(banco3$log.vegfburd) #p-valor = 0.1933

#criando novo mod vazio sem os outliers
mod.vazio2<-glm(banco3$citor~1,family=binomial(link=logit))
up2 <- banco3$citor ~ banco3$ca125categorf3 + as.factor(banco3$alb) +
banco3$log.vegfburd + banco3$log.vegf.pla + banco3$FLUIDOS + banco3$fluidcategorf +
banco3$ca125categorf2 +banco3$ca125categorf + banco3$CA.

mod.step2 <- step(mod.vazio2, up2, direction="both")

Start:  AIC=44.34
banco3$citor ~ 1

              Df Deviance   AIC
+ banco3$log.vegfburd  1  21.513 25.513
+ banco3$FLUIDOS      1  32.619 36.619
+ banco3$fluidcategorf 1  35.696 39.696
+ as.factor(banco3$alb) 1  38.191 42.191
+ banco3$ca125categorf2 1  38.191 42.191
+ banco3$log.vegf.pla  1  39.733 43.733
<none>                42.340 44.340
+ banco3$ca125categorf3 1  40.632 44.632
+ banco3$ca125categorf  1  40.632 44.632
+ banco3$CA.           1  42.301 46.301

Step:  AIC=25.51
banco3$citor ~ banco3$log.vegfburd

              Df Deviance   AIC
+ banco3$log.vegf.pla  1  16.896 22.896

```

<none>		21.513	25.513
+ as.factor(banco3\$alb)	1	20.725	26.725
+ banco3\$ca125categorf3	1	20.755	26.755
+ banco3\$ca125categorf	1	20.755	26.755
+ banco3\$ca125categorf2	1	20.809	26.809
+ banco3\$CA.	1	21.270	27.270
+ banco3\$fluidcategorf	1	21.303	27.303
+ banco3\$FLUIDOS	1	21.405	27.405
- banco3\$log.vegfburd	1	42.340	44.340

Step: AIC=22.9

banco3\$citor ~ banco3\$log.vegfburd + banco3\$log.vegf.pla

	Df	Deviance	AIC
+ banco3\$FLUIDOS	1	12.917	20.917
+ as.factor(banco3\$alb)	1	13.371	21.371
<none>		16.896	22.896
+ banco3\$CA.	1	16.610	24.610
+ banco3\$ca125categorf3	1	16.769	24.769
+ banco3\$ca125categorf	1	16.769	24.769
+ banco3\$ca125categorf2	1	16.884	24.884
+ banco3\$fluidcategorf	1	16.892	24.892
- banco3\$log.vegf.pla	1	21.513	25.513
- banco3\$log.vegfburd	1	39.733	43.733

Step: AIC=20.92

banco3\$citor ~ banco3\$log.vegfburd + banco3\$log.vegf.pla + banco3\$FLUIDOS

	Df	Deviance	AIC
+ banco3\$fluidcategorf	1	9.890	19.890
<none>		12.917	20.917
+ as.factor(banco3\$alb)	1	11.753	21.753
+ banco3\$ca125categorf2	1	12.794	22.794
+ banco3\$ca125categorf3	1	12.840	22.840
+ banco3\$ca125categorf	1	12.840	22.840
+ banco3\$CA.	1	12.882	22.882
- banco3\$FLUIDOS	1	16.896	22.896
- banco3\$log.vegf.pla	1	21.405	27.405
- banco3\$log.vegfburd	1	31.987	37.987

Step: AIC=19.89

```
banco3$scitor ~ banco3$log.vegfburd + banco3$log.vegf.pla + banco3$FLUIDOS +
  banco3$fluidcategorf
```

	Df	Deviance	AIC
<none>		9.890	19.890
- banco3\$fluidcategorf	1	12.917	20.917
+ banco3\$cal25categorf2	1	9.622	21.622
+ as.factor(banco3\$alb)	1	9.728	21.728
+ banco3\$cal25categorf3	1	9.815	21.815
+ banco3\$cal25categorf	1	9.815	21.815
+ banco3\$CA.	1	9.889	21.889
- banco3\$FLUIDOS	1	16.892	24.892
- banco3\$log.vegf.pla	1	20.474	28.474
- banco3\$log.vegfburd	1	31.909	39.909

```
#novo modelo
```

```
summary(glm.mod<-glm( banco3$scitor ~ banco3$log.vegfburd
+banco3$log.vegf.pla+banco3$FLUIDOS,family=binomial(link=logit)))
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.873322	-0.209734	-0.002229	0.147699	1.962487

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-57.964778	25.163497	-2.304	0.0212 *
banco3\$log.vegfburd	2.209895	0.966072	2.288	0.0222 *
banco3\$log.vegf.pla	5.296704	2.631344	2.013	0.0441 *
banco3\$FLUIDOS	-0.000948	0.000617	-1.536	0.1244

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

Null deviance: 42.340 on 31 degrees of freedom

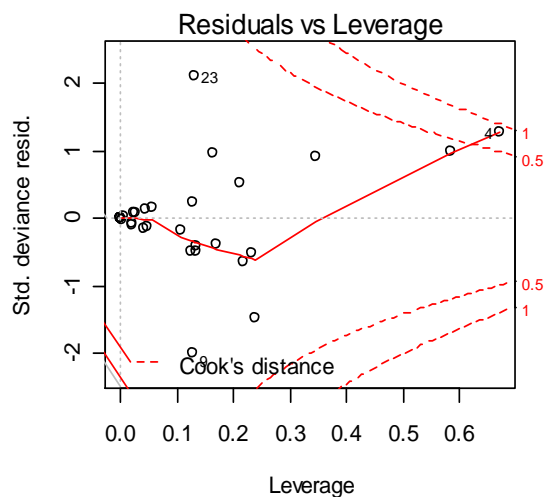
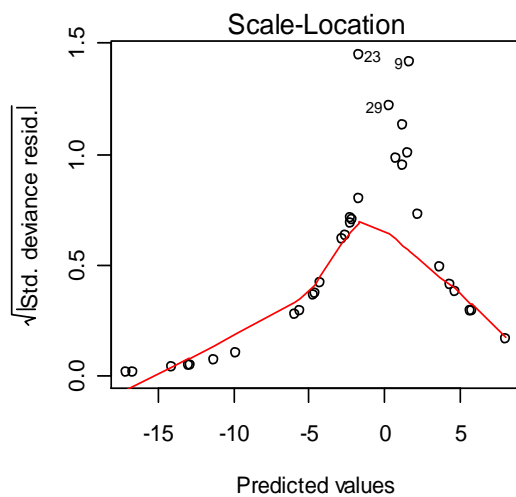
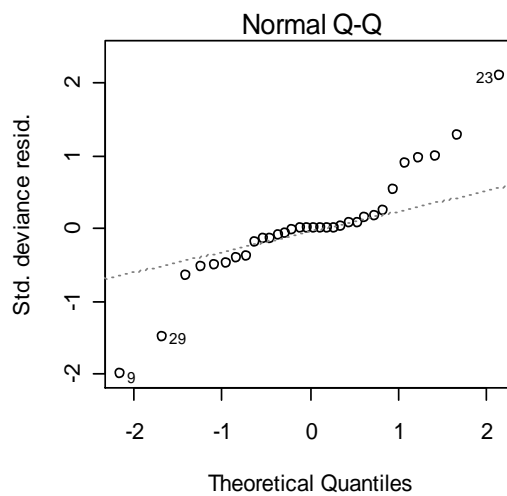
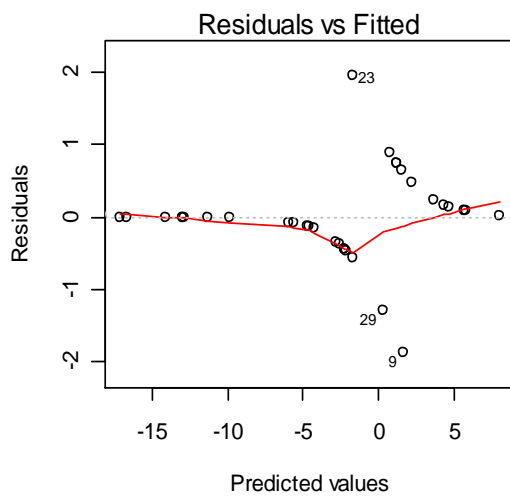
Residual deviance: 12.917 on 28 degrees of freedom

AIC: 20.917

Number of Fisher Scoring iterations: 8

```
par(mfrow=c(2,2))
```

```
plot(glm.mod)
```



```
#detectando outliers da variável log.vegf.pla
summary(glm2.mod<-glm(banco3$scitor ~ banco3$log.vegf.pla
, family=binomial(link=logit)))
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.2325	-0.9937	-0.7101	1.1289	1.8983

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-6.8941	4.2222	-1.633	0.103
banco3\$log.vegf.pla	1.2205	0.7976	1.530	0.126

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

```

Null deviance: 42.340 on 31 degrees of freedom
Residual deviance: 39.733 on 30 degrees of freedom
AIC: 43.733
Number of Fisher Scoring iterations: 4

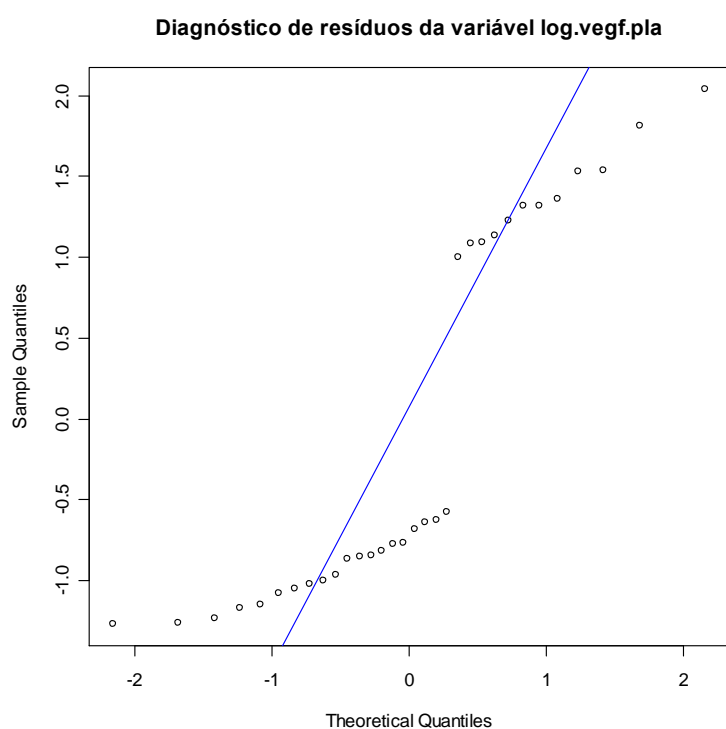
```

```
rt2 <- rstudent(glm2.mod)
```

```

qqnorm(rt2,main=c("Diagnóstico de resíduos da variável
log.vegf.pla"));qqline(rt2,col="blue")

```



```

sort(rt2)
29      10      25      20      2      9      1      32
30      8      21
-1.2682317 -1.2582800 -1.2340497 -1.1674003 -1.1499112 -1.0807587 -1.0486513 -
1.0240492 -0.9987964 -0.9654147 -0.8628157
      31      27      28      18      16      12      13
6      7      19      15
-0.8532716 -0.8448664 -0.8144437 -0.7761370 -0.7672430 -0.6834509 -0.6424032 -
0.6229446 -0.5788789 0.9979241 1.0833486
      4      24      5      26      3      23      22
11      17      14

```

```

1.0910153 1.1359573 1.2281048 1.3156814 1.3192427 1.3604656 1.5344984
1.5403007 1.8167902 2.0401347

```

```
outliers3 <- banco3[rt2 < -1.23 | rt2 > 1.5,c("log.vegf.pla")]
```

```
banco4 <- banco3[rt2 > -1.23 & rt2 < 1.5,]
```

```
lillie.test(banco4$log.vegfburd) # p-value = 0.2622
```

```
#novo step para banco4
```

```
mod.vazio3<-glm(banco4$citor~1,family=binomial(link=logit))
```

```

up3 <- banco4$citor ~ banco4$cal25categorf3 + as.factor(banco4$alb) +
banco4$log.vegfburd + banco4$log.vegf.pla + banco4$FLUIDOS + banco4$fluidcategorf +
banco4$cal25categorf2 +banco4$cal25categorf + banco4$CA.

```

```
mod.step3 <- step(mod.vazio3, up3, direction="both")
```

```
Start: AIC=33.34
```

```
banco4$citor ~ 1
```

	Df	Deviance	AIC
+ banco4\$log.vegf.pla	1	14.887	18.887
+ banco4\$log.vegfburd	1	19.526	23.526
+ banco4\$FLUIDOS	1	22.055	26.055
+ banco4\$fluidcategorf	1	25.020	29.020
+ banco4\$cal25categorf2	1	26.641	30.641
<none>		31.343	33.343
+ as.factor(banco4\$alb)	1	29.706	33.706
+ banco4\$cal25categorf3	1	30.218	34.218
+ banco4\$cal25categorf	1	30.218	34.218
+ banco4\$CA.	1	30.980	34.980

```
Step: AIC=18.89
```

```
banco4$citor ~ banco4$log.vegf.pla
```

	Df	Deviance	AIC
+ banco4\$log.vegfburd	1	6.964	12.964
+ banco4\$FLUIDOS	1	8.622	14.622
+ banco4\$cal25categorf2	1	8.941	14.941
+ banco4\$fluidcategorf	1	11.751	17.751
<none>		14.887	18.887
+ banco4\$cal25categorf3	1	14.745	20.745
+ banco4\$cal25categorf	1	14.745	20.745

```

+ banco4$CA.          1  14.770 20.770
+ as.factor(banco4$alb) 1  14.885 20.885
- banco4$log.vegf.pla  1  31.343 33.343

```

Step: AIC=12.96

```
banco4$scitor ~ banco4$log.vegf.pla + banco4$log.vegfburd
```

	Df	Deviance	AIC
<none>		6.9638	12.9638
+ banco4\$scal25categorf2	1	6.4310	14.4310
+ banco4\$fluidcategorf	1	6.4689	14.4689
+ as.factor(banco4\$alb)	1	6.7023	14.7023
+ banco4\$CA.	1	6.9254	14.9254
+ banco4\$FLUIDOS	1	6.9377	14.9377
+ banco4\$scal25categorf3	1	6.9390	14.9390
+ banco4\$scal25categorf	1	6.9390	14.9390
- banco4\$log.vegfburd	1	14.8868	18.8868
- banco4\$log.vegf.pla	1	19.5263	23.5263

```
#novo modelo
```

```
summary(glm.mod2<-glm(      banco4$scitor      ~      banco4$log.vegf.pla      +
banco4$log.vegfburd,family=binomial(link=logit)))
```

```
glm(formula = banco4$scitor ~ banco4$log.vegf.pla + banco4$log.vegfburd,
     family = binomial(link = logit))
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.76416	-0.16456	-0.01663	0.07186	1.54877

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-60.2062	33.8172	-1.780	0.0750 .
banco4\$log.vegf.pla	9.2294	6.1259	1.507	0.1319
banco4\$log.vegfburd	0.7240	0.4385	1.651	0.0988 .

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

Null deviance: 31.3435 on 24 degrees of freedom

Residual deviance: 6.9638 on 22 degrees of freedom



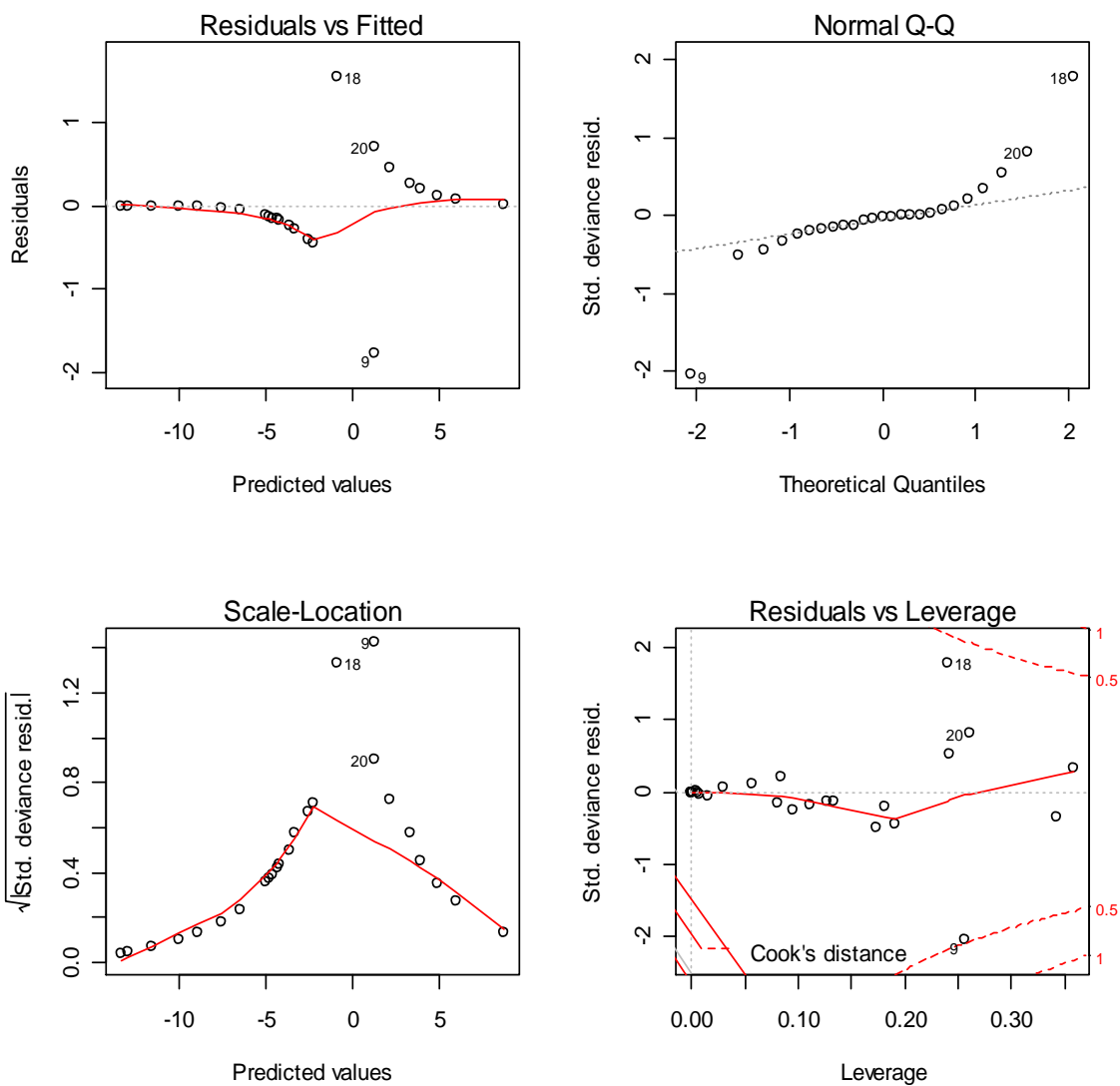
AIC: 12.964

Number of Fisher Scoring iterations: 8

```
#diagnósticos gráficos
```

```
par(mfrow=c(2,2))
```

```
plot(glm.mod2)
```



#não consegui normalizar resíduos, talvez pela distribuição do log de carga de VEGF. O que pode contribuir para isto é que a doença muito frequentemente se apresenta em fase muito avançada e sempre o histograma de distribuição desta variável será assimétrico para a direita.

```
#regressão de Poisson
```

```
summary(mod.poi <- glm(formula = banco2$scitor ~ banco2$log.vegfburd, family =
poisson) )
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.1595	-0.7412	-0.3915	0.3210	1.3153

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-5.0269	1.8773	-2.678	0.00741 **
banco2\$log.vegfburd	0.2722	0.1171	2.325	0.02008 *

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

Null deviance: 27.212 on 36 degrees of freedom  
Residual deviance: 19.796 on 35 degrees of freedom  
AIC: 51.796

Number of Fisher Scoring iterations: 5

```
#OR e IC (95%)
```

```
beta <- coef(mod.poi)
```

```
se.beta <- sqrt(diag(summ$cov.unscaled))
```

```
or <- exp(beta)
```

```
liminf <- exp(beta-1.96*se.beta)
```

```
limsup <- exp(beta+1.96*se.beta)
```

```
z <- beta / se.beta
```

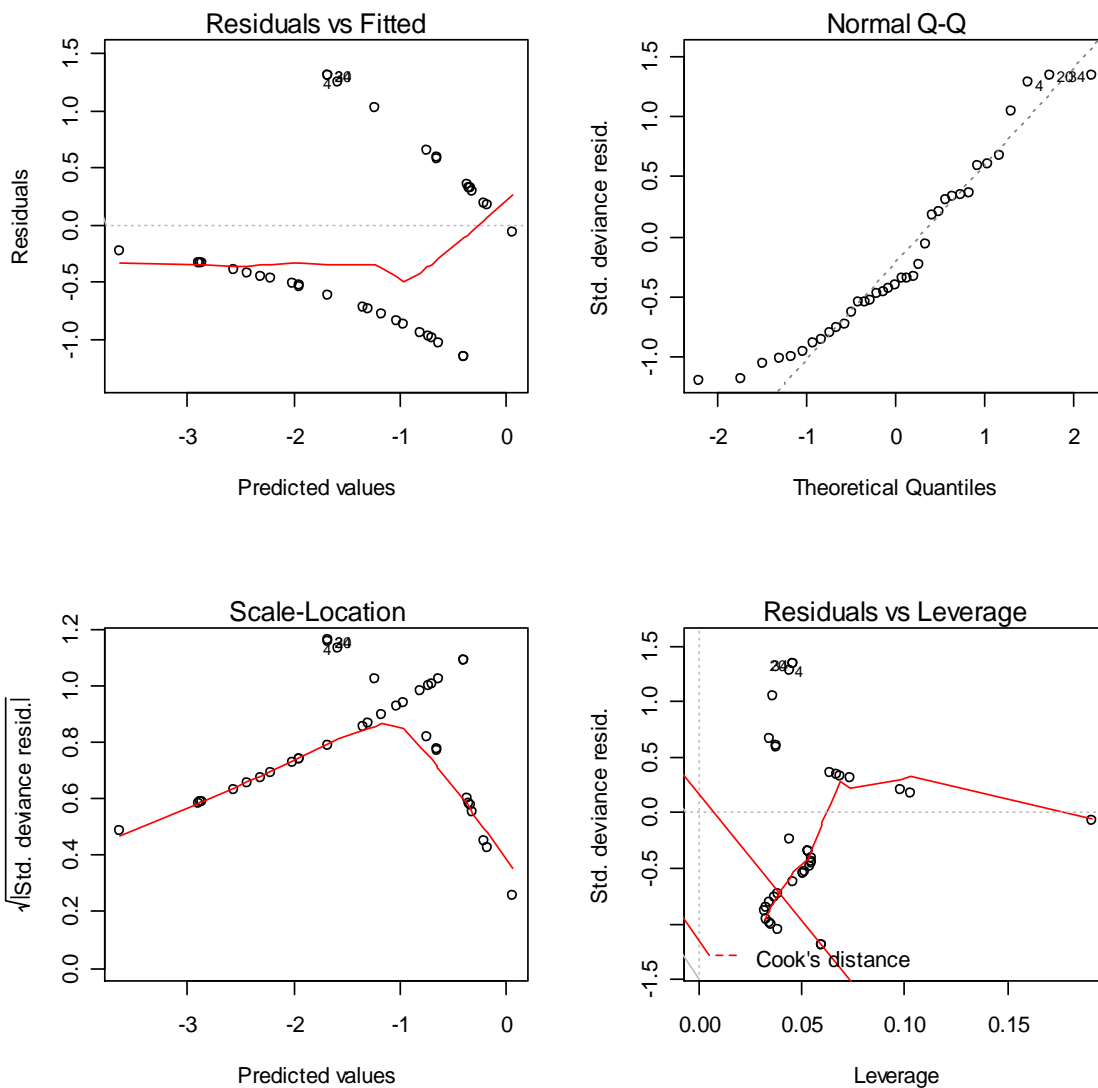
```
pvalor <- (1 - pnorm(abs(z), mean=0, sd=1, lower.tail = TRUE, log.p = FALSE)) * 2
```

```
data.frame("Odds_ratio"=or, "Z"=z, "p-valor"=pvalor, "LI_IC95"=liminf, "LS_IC95"=limsup)
```

```
par(mfrow=c(2,2))
```

	Odds_ratio	Z	p.valor	LI_IC95	LS_IC95
(Intercept)	0.006558993	-2.677808	0.00741056	0.0001655347	0.2598875
banco2\$log.vegfburd	1.312910724	2.324847	0.02008012	1.0436505626	1.6516396

```
plot(mod.poi)
```



```

#regressão de cox
#tempo constante= 30(arbitrário)
tempo <- rep(30,length(banco2$log.vegf.pla))
banco2$tempo <- tempo

cox.mod <- coxph(Surv(banco2$tempo,banco2$citor) ~ banco2$log.vegfburd,
method="breslow")

summary(cox.mod)

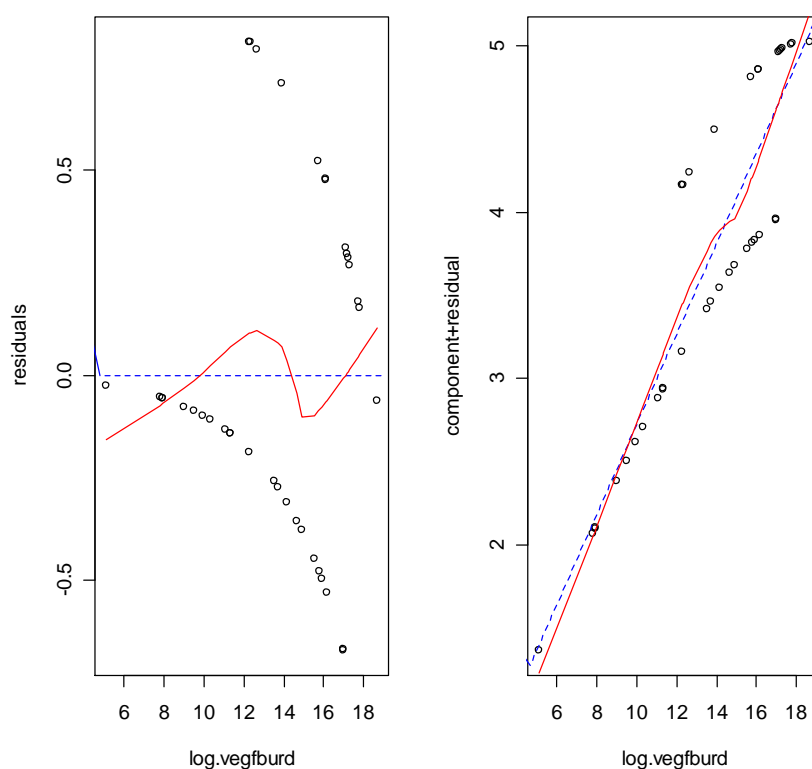
#diagnóstico gráfico
par(mfrow=c(1,2))
res.cox <- residuals(cox.mod, type="martingale")
X <- as.matrix(banco2[,c("log.vegfburd")])
plot(X[,1], res.cox, xlab="log.vegfburd", ylab="residuals")

```

```

abline(h=0, lty=2,col="blue")
lines(lowess(X[,1], res.cox, iter=0),col="red")
b <- coef(cox.mod) # regression coefficients
# partial-residual plots
plot(X[,1],          b*X[,1]          +          res.cox,
     xlab="log.vegfburd",ylab="component+residual")
abline(lm(b*X[,1] + res.cox ~ X[,1]), lty=2,col="blue")
lines(lowess(X[,1], b*X[,1] + res.cox, iter=0),col="red")

```



```

####regressão log-binomial
#não convergiu
mod.logbin<-glm(formula=banco2$citor~banco2$log.vegfburd,family
= binomial(link = log),start = c(0.2, 0.05))

#modelos de regressão linear para novo desfecho: log de carga de
vegfbur como variável resposta

mod.vazio.lm <- lm(banco2$log.vegfburd ~ 1)

```

```

up.lm <- (banco2$log.vegfburd ~ banco2$FLUIDOS +
as.factor(banco2$scitor) + as.factor(banco2$fluidcategorf) +
banco2$ALBUMINA +as.factor( banco2$cal25categorf2) +
as.factor(banco2$alb) )

```

```
mod.step.lm <- step(mod.vazio.lm, up.lm, direction="both")
```

```
Start: AIC=92.78
```

```
banco2$log.vegfburd ~ 1
```

	Df	Sum of Sq	RSS	AIC
+ banco2\$FLUIDOS	1	214.15	216.14	69.30
+ as.factor(banco2\$scitor)	1	113.50	316.79	83.45
+ as.factor(banco2\$fluidcategorf)	1	100.66	329.63	84.92
+ banco2\$ALBUMINA	1	67.19	363.10	88.50
+ as.factor(banco2\$cal25categorf2)	1	65.60	364.69	88.66
+ as.factor(banco2\$alb)	1	42.16	388.13	90.97
<none>			430.29	92.78

```
Step: AIC=69.3
```

```
banco2$log.vegfburd ~ banco2$FLUIDOS
```

	Df	Sum of Sq	RSS	AIC
+ as.factor(banco2\$scitor)	1	29.26	186.87	65.92
+ as.factor(banco2\$alb)	1	24.81	191.32	66.79
+ banco2\$ALBUMINA	1	21.31	194.83	67.46
+ as.factor(banco2\$cal25categorf2)	1	14.26	201.88	68.78
<none>			216.14	69.30
+ as.factor(banco2\$fluidcategorf)	1	8.86	207.27	69.76
- banco2\$FLUIDOS	1	214.15	430.29	92.78

```
Step: AIC=65.92
```

```
banco2$log.vegfburd ~ banco2$FLUIDOS + as.factor(banco2$scitor)
```

	Df	Sum of Sq	RSS	AIC
+ banco2\$ALBUMINA	1	18.05	168.83	64.16
+ as.factor(banco2\$alb)	1	17.92	168.95	64.19
<none>			186.87	65.92
+ as.factor(banco2\$cal25categorf2)	1	7.80	179.08	66.35
+ as.factor(banco2\$fluidcategorf)	1	6.45	180.42	66.62
- as.factor(banco2\$scitor)	1	29.26	216.14	69.30

```
- banco2$FLUIDOS                1    129.92 316.79  83.45
```

```
Step: AIC=64.16
```

```
banco2$log.vegfburd ~ banco2$FLUIDOS + as.factor(banco2$scitor) + banco2$ALBUMINA
```

	Df	Sum of Sq	RSS	AIC
+ as.factor(banco2\$cal25categorf2)	1	9.686	159.140	63.978
<none>			168.826	64.164
+ as.factor(banco2\$fluidcategorf)	1	6.991	161.835	64.599
- banco2\$ALBUMINA	1	18.046	186.872	65.922
+ as.factor(banco2\$alb)	1	0.974	167.852	65.950
- as.factor(banco2\$scitor)	1	26.001	194.827	67.464
- banco2\$FLUIDOS	1	104.855	273.681	80.039

```
Step: AIC=63.98
```

```
banco2$log.vegfburd ~ banco2$FLUIDOS + as.factor(banco2$scitor) +
banco2$ALBUMINA + as.factor(banco2$cal25categorf2)
```

	Df	Sum of Sq	RSS	AIC
+ as.factor(banco2\$fluidcategorf)	1	9.313	149.827	63.747
<none>			159.140	63.978
- as.factor(banco2\$cal25categorf2)	1	9.686	168.826	64.164
+ as.factor(banco2\$alb)	1	0.682	158.458	65.819
- as.factor(banco2\$scitor)	1	19.264	178.404	66.206
- banco2\$ALBUMINA	1	19.937	179.077	66.345
- banco2\$FLUIDOS	1	85.241	244.381	77.849

```
Step: AIC=63.75
```

```
banco2$log.vegfburd ~ banco2$FLUIDOS + as.factor(banco2$scitor) +
banco2$ALBUMINA + as.factor(banco2$cal25categorf2) +
as.factor(banco2$fluidcategorf)
```

	Df	Sum of Sq	RSS	AIC
<none>			149.827	63.747
- as.factor(banco2\$fluidcategorf)	1	9.313	159.140	63.978

```

- as.factor(banco2$cal25categorf2) 1 12.008 161.835 64.599
+ as.factor(banco2$alb) 1 3.563 146.264 64.856
- as.factor(banco2$scitor) 1 16.300 166.127 65.568
- banco2$ALBUMINA 1 20.838 170.666 66.565
- banco2$FLUIDOS 1 68.020 217.847 75.596

summary(mod.step.lm)

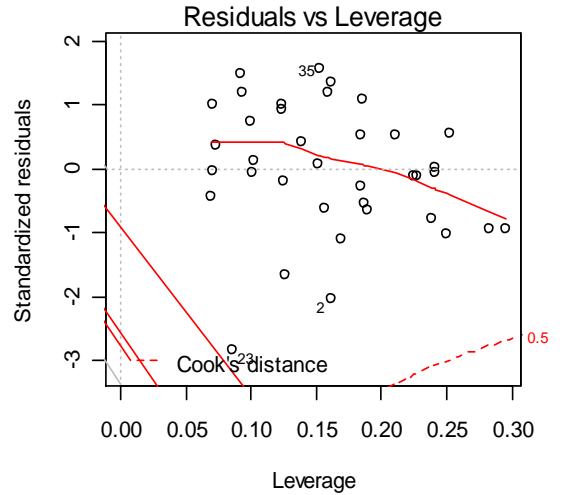
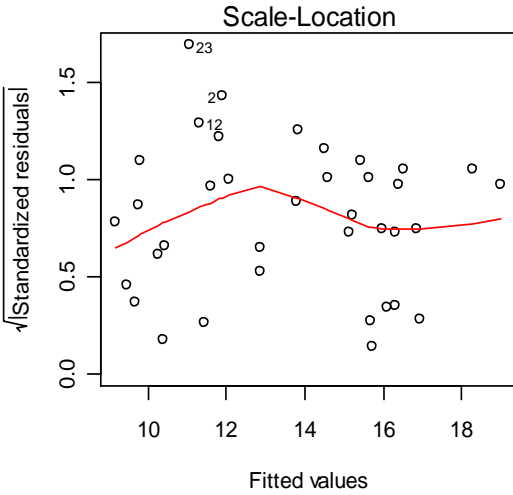
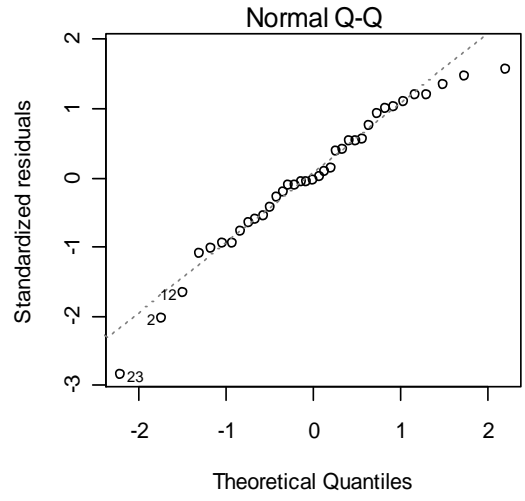
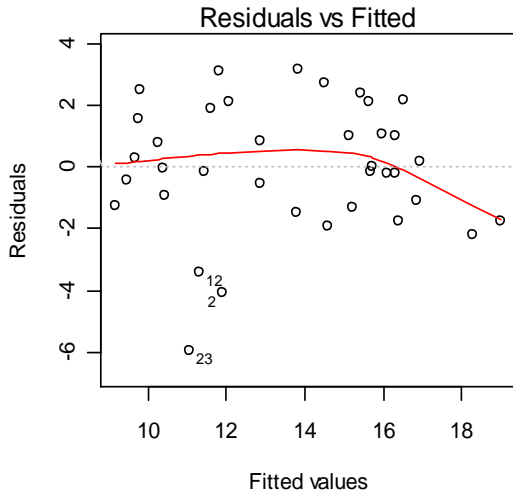
Residuals:
Min 1Q Median 3Q Max
-5.97100 -1.23191 -0.06512 1.55756 3.17895

Coefficients:
Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) 12.7380844 1.6336996 7.797
8.48e-09 ***
banco2$FLUIDOS 0.0009431 0.0002514 3.751
0.000725 ***
as.factor(banco2$scitor)1 1.5262478 0.8310955 1.836
0.075901 .
banco2$ALBUMINA -0.9060791 0.4363663 -2.076
0.046235 *
as.factor(banco2$cal25categorf2).L 0.8746427 0.5549025 1.576
0.125129
as.factor(banco2$fluidcategorf).L 1.4725647 1.0608523 1.388
0.175004

Residual standard error: 2.198 on 31 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.6518, Adjusted R-squared: 0.5956
F-statistic: 11.61 on 5 and 31 DF, p-value: 2.253e-06

par(mfrow=c(2,2))
plot(mod.step.lm)

```





#Os modelo de Poisson e Cox também foram testados para o mesmo desfecho de citorredução ótima, ambos com problemas de resíduos. O modelo log binomial não convergiu.

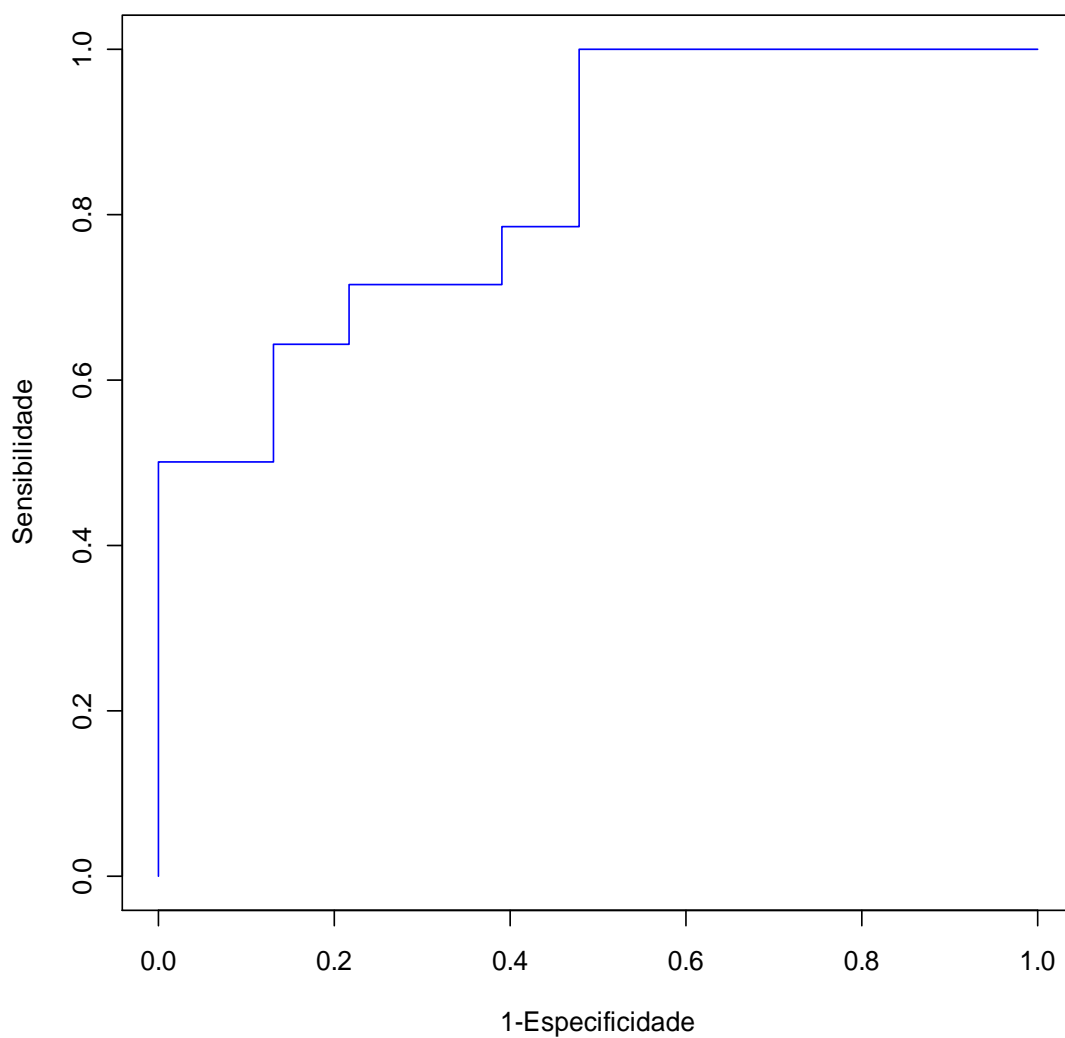
O modelo de regressão linear foi também tentado tendo por variável resposta a variável contínua log de vegfburd, e também apresentou problemas com os resíduos. Portanto foi abandonada a modelagem dos dados e partiu-se para o estudo isolado do modelo final fornecido pelo step-wise da regressão logística citorredução descrita por log de vegfburd para avaliar o valor preditivo para citorredução ótima. A partir de então utilizou-se o modelo binomial fornecido pelo step-wise para obter a área sob a curva e o ponto de corte, além de sensibilidade e especificidade.

## APÊNDICE D - Curva ROC, sensibilidade e especificidade

```

#curva ROC
library(ROCR)
pred <- prediction(fitted(mod.step),banco2$citor)
perf <- performance(pred,"tpr","fpr")
auc <- performance(pred,"auc")
auc
An object of class "performance"
Slot "x.name":
[1] "None"
Slot "y.name":
[1] "Area under the ROC curve"
Slot "alpha.name":
[1] "none"
Slot "x.values":
list()
Slot "y.values":#fornece a area sob a curva
[[1]]
[1] 0.8354037
#área sob a curva=0,84,ou seja,84% da probabilidade do marcador vegfburd
identificar entre duas doentes a que foi citorreduzida otimamente.
par(mfrow=c(1,2))
plot(perf,col="blue",ylab="Sensibilidade",xlab="1-Especificidade")

```



```
#calculando a sensibilidade e a especificidade
```

```
perfl <- performance(pred,"sens")
```

```
perl
```

```
An object of class "performance"
```

```
Slot "x.name":
```

```
[1] "Cutoff"
```

```
Slot "y.name":
```

```
[1] "Sensitivity"
```

```
Slot "alpha.name":
```

```
[1] "none"
```

Slot "x.values":

```

[[1]]
      25      11      18      22      5
14
      Inf  0.817710715  0.750228058  0.743310640  0.705658943  0.695538642
0.691597467
      3      19      35
0.683962310 0.674352609 0.672452899
      15      27      16      21      9      29
31
0.582308517 0.576576829 0.574051597 0.552754652 0.539403998 0.536608936
0.511577190
      13      32      36
0.439868076 0.412723823 0.357730054
      26      7      24      4      20      34
37
0.332583282 0.312708207 0.292138958 0.218143373 0.191890444 0.191289586
0.191184865
      28      1      33
0.131485854 0.129912668 0.117885636
      10      30      6      17      8      12
2
0.087577103 0.074713036 0.061886602 0.049750655 0.030762047 0.030267941
0.028893043
      23
0.008510746

```

Slot "y.values":

```

[[1]]
      [1] 0.00000000 0.07142857 0.14285714 0.21428571 0.28571429 0.35714286 0.42857143
0.50000000 0.50000000 0.50000000
      [11] 0.50000000 0.57142857 0.64285714 0.64285714 0.64285714 0.71428571 0.71428571
0.71428571 0.71428571 0.71428571
      [21] 0.78571429 0.78571429 0.78571429 0.85714286 0.92857143 1.00000000 1.00000000
1.00000000 1.00000000 1.00000000

```

```
[31] 1.00000000 1.00000000 1.00000000 1.00000000 1.00000000 1.00000000 1.00000000
1.00000000
```

```
Slot "alpha.values":
```

```
list()
```

```
sens <- perf1@"y.values"[[1]] #para slots (similar ao $)
```

```
perf2 <- performance(pred, "spec")
```

```
perf2
```

```
An object of class "performance"
```

```
Slot "x.name":
```

```
[1] "Cutoff"
```

```
Slot "y.name":
```

```
[1] "Specificity"
```

```
Slot "alpha.name":
```

```
[1] "none"
```

```
Slot "x.values":
```

```
[[1]]
```

```

                25          11          18          22          5
14
      Inf  0.817710715  0.750228058  0.743310640  0.705658943  0.695538642
0.691597467
      3      19      35
0.683962310 0.674352609 0.672452899
      15      27      16      21      9      29
31      0.582308517 0.576576829 0.574051597 0.552754652 0.539403998 0.536608936
0.511577190
      13      32      36
0.439868076 0.412723823 0.357730054
      26      7      24      4      20      34
37      0.332583282 0.312708207 0.292138958 0.218143373 0.191890444 0.191289586
0.191184865
      28      1      33
0.131485854 0.129912668 0.117885636
```

```

                10          30          6          17          8          12
2
    0.087577103  0.074713036  0.061886602  0.049750655  0.030762047  0.030267941
0.028893043
                23
    0.008510746

```

```

Slot "y.values":
[[1]]
 [1] 1.00000000 1.00000000 1.00000000 1.00000000 1.00000000 1.00000000 1.00000000
1.00000000 0.95652174 0.91304348
 [11] 0.86956522 0.86956522 0.86956522 0.82608696 0.78260870 0.78260870 0.73913043
0.69565217 0.65217391 0.60869565
 [21] 0.60869565 0.56521739 0.52173913 0.52173913 0.52173913 0.52173913 0.47826087
0.43478261 0.39130435 0.34782609
 [31] 0.30434783 0.26086957 0.21739130 0.17391304 0.13043478 0.08695652 0.04347826
0.00000000

```

```
Slot "alpha.values":
```

```
list()
```

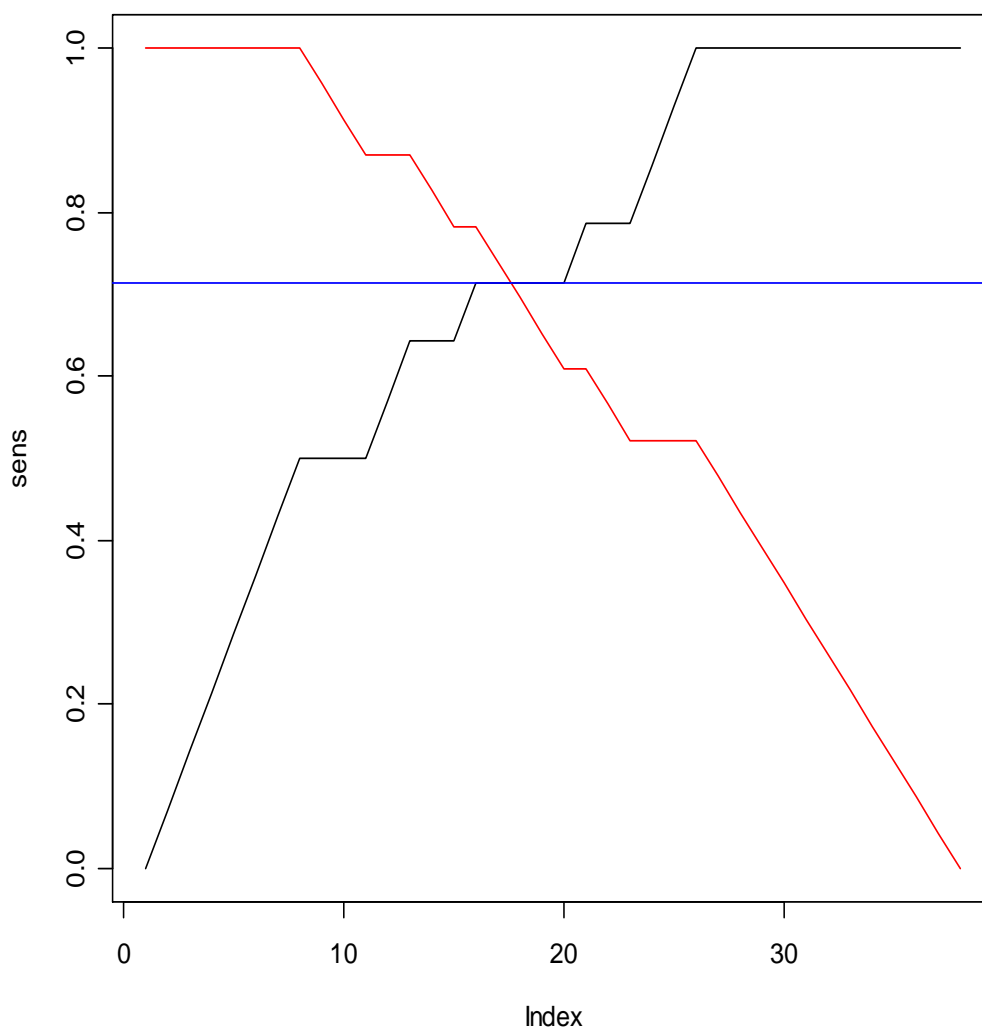
```
spec <- perf2@"y.values"[[1]]
```

```
plot(sens,type="l")
```

```
lines(spec,col="red")
```

```
#o ponto de corte está na sensibilidade de 0,714
```

```
#que corresponde a especificidade em torno de 0,695 a 0,739
```



```
#Tabelas de classificação do modelo final escolhido pelo step-wise
#ponto de corte 0.5
pi <- fitted.values(mod.step)
corte.5 <- ifelse(pi > 0.5, 1, 0)
table(corte.5, banco2$citor)

corte.5 0 1
        0 17 4
        1 6 10

#pressupostos do mod. final (mod.step)
#ponto de corte 0.714: valores para sensibilidade: linhas 13,29,31
banco2[c(13,31,29),c("citor","log.vegfburd")]

citor log.vegfburd
18    0    14.90255
37    0    15.52726
```

```
35      1      15.74499
```

```
#ponto de corte 0.714: valores para especificidade: linhas 13, 31,32
banco2[c(13,31,32),c("citor","log.vegfburd")]
```

```
citor log.vegfburd
```

```
18      0      14.90255
```

```
37      0      15.52726
```

```
39      0      14.66174
```

```
#o ponto de corte é 15.52726 (registro numero 31 do banco2)
```

```
pont.corte.carg<-ifelse(log.vegfburd<15.53,0,1)
```

```
summary(mcarg<-
```

```
glm(citor~as.factor(pont.corte.carg),family=binomial(link=logit)))
```

```
Deviance Residuals:
```

	Min	1Q	Median	3Q	Max
	-1.4823	-0.5780	-0.5780	0.9005	1.9348

```
Coefficients:
```

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-1.7047	0.5436	-3.136	0.00171 **
as.factor(pont.corte.carg)1	2.3979	0.7385	3.247	0.00117 **

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

```
Null deviance: 57.682 on 43 degrees of freedom
```

```
Residual deviance: 45.239 on 42 degrees of freedom
```

```
(2 observations deleted due to missingness)
```

```
AIC: 49.239
```

```
Number of Fisher Scoring iterations: 4
```

```
#avaliando citorredução por ponto de corte
```

```
tab1(citor,sort.group ="pont.corte.carg",missing=FALSE)
```

```
citor :
```

	Frequency	Percent	Cum. percent
0	29	63	63
1	17	37	100
Total	46	100	100



```

#estágios avançados
ponto.de.corte<-ifelse(log.vegfburd<15.53,0,1)
summary(mcarg<-glm(citor~as.factor(ponto.de.corte),family=binomial(link=logit)))
Deviance Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.6651 -0.9005  0.7585  0.7585  1.4823
Coefficients:
                Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)          -0.6931     0.6124  -1.132  0.2577
as.factor(ponto.de.corte)      1  1.7918     0.8416  2.129

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)
    Null deviance: 38.243  on 27  degrees of freedom
Residual deviance: 33.271  on 26  degrees of freedom
    (1 observation deleted due to missingness)
AIC: 37.271
Number of Fisher Scoring iterations: 4

#OR e IC(95%)
beta <- coef(mcarg)
se.beta <- sqrt(diag(summary(mcarg)$cov.unscaled))
or <- exp(beta)
liminf <- exp(beta-1.96*se.beta)
limsup <- exp(beta+1.96*se.beta)
data.frame("Odds_ratio"=or,"LI_IC95"=liminf,"LS_
IC95"=limsup)

```

	Odds_ratio	LI_IC95
LS_.IC95		
(Intercept)	0.5	0.1505595 1.660473
as.factor(ponto.de.corte)1	6.0	1.1527778 31.228916

```

#avaliando citorredução por ponto de corte
tab1(citor,sort.group ="ponto.de.corte",missing=FALSE)
citor :

```

	Frequency	Percent	Cum. percent
0	12	41.4	41.4
1	17	58.6	100.0
Total	29	100.0	100.0

```
#AVALIANDO VALOR PREDITIVO

valpred <- table(citor,as.factor(pont.corte.carg))
vppos <- valpred[1,1] / (valpred[1,1] + valpred[1,2])
vpneg <- valpred[2,2] / (valpred[2,1] + valpred[2,2])

vppos
[1] 0.7857143

vpneg
[1] 0.75

prop.table(valpred,1)

citor      0      1
  0 0.7857143 0.2142857
  1 0.2500000 0.7500000
```

**ANEXO A - Carcinoma de ovário: nomenclatura da figo, 1988**

<b>Estádio I: Tumor limitado aos ovários</b>	<p><b>I-a:</b> Comprometimento de somente um ovário, sem ascite citologicamente positiva para células tumorais, sem vegetações externas e cápsula intacta;</p> <p><b>I-b:</b> Ambos os ovários comprometidos; sem ascite citologicamente positiva para células tumorais, sem vegetações externas e cápsula intacta;</p> <p><b>I-c:</b> IA ou IB, mas com vegetações externas ou cápsula rota em um ou ambos os ovários, ou ascite com células malignas ou lavado peritoneal positivo para células tumorais.</p>
<b>Estádio II: Tumor envolve um ou ambos os ovários e tem extensão para a pelve</b>	<p><b>II-a:</b> Extensão ou metástase para útero e/ou trompas;</p> <p><b>II-b:</b> Extensão a outras estruturas pélvicas;</p> <p><b>II-c:</b> IIa ou IIb com ascite com células malignas ou lavado peritoneal positivo para células tumorais; tumor na superfície em um ou ambos os ovários ou cápsula rota;</p>
<b>Estádio III: Implantes peritoneais fora da pelve e/ou linfonodos retroperitoneais ou inguinais positivos. Tumor é limitado à pelve verdadeira, mas com extensão histologicamente comprovada para intestino delgado ou omento;</b>	<p><b>III-a:</b> Metástases microscópicas além da pelve ou extensão microscópica para intestino delgado ou mesentério histologicamente comprovada. Linfonodos negativos.</p> <p><b>III-b:</b> Metástases macroscópicas além da pelve, porém nenhuma maior de 2 cm de diâmetro; Linfonodos negativos.</p> <p><b>III-c:</b> Implantes abdominais maiores de 2 cm de diâmetro e/ou linfonodos positivos.</p>
<b>Estádio IV: Metástases à distância</b>	<p>Se há derrame pleural, deve ser pesquisada citologia positiva para malignidade como comprovação de estágio IV.</p> <p>Implantes de cápsula hepática por si só não são consideradas estágio IV.</p>

## ANEXO B – Família dos fatores de crescimento (Brentani, 1997)

<b>Família</b>	<b>Fonte</b>
<b>Família do fator de crescimento epidérmico</b>	
Fator de crescimento epidérmico	Células epiteliais (CE)
Fator transformante de crescimento alfa(TGF-alfa)	CE
Anfirregulina (AP)	CE
Fator de crescimento Sewannoma derivado (SDGF)	Células de Schwann (CS)
Gp 30	Células de carcinoma da mama
Cripto	Células de teratocarcinoma
Fator do crescimento vírus vacínia	Vírus vacínia
<b>Família heparina</b>	
Fator de crescimento do fibroblasto (ácido) (a FGF)	Ubíquo (U)
Fator de crescimento do fibroblasto (básico) (b FGF)	Células embrionárias
Oncoproteína int-2 (FGF-3)	Fibroblastos (F)
Oncoproteína hst (FGF-4)	F
Fator de crescimento de fibroblasto-5 (FGF-5)	F
Fator de crescimento de ceratinócito (KGF)	Ceratinócitos
Fator de crescimento vascular endotelial (VEGF)	Células endoteliais
<b>Família dos fatores de crescimento plaqueta-derivados</b>	
Fator de crescimento plaqueta-derivado (PDGF)	Células mesenquimais, plaquetas
Oncoproteína viral v-sis	Vírus de Sarcoma de símio
<b>Família dos fatores de crescimento insulina-símile</b>	
Fator de crescimento insulina-símile I (IGF I)	U
Fator de crescimento insulina-símile II (IGF II)	U
<b>Família do fator de crescimento do nervo</b>	
Fator de crescimento nervotrófico (NGF)	CS, neurônios
Fator neurotrófico cérebro-derivado (BDNF)	Neurônios, células da glia
Neurotrofina-3 (NT-3)	Múltiplas células (ME)
<b>Família dos fatores transformantes de tumor-beta</b>	
Fator transformante de tumor beta 1, 2, 3, 4	U
<b>Família hematopoiética</b>	
Eritropoietina	Rim, fígado
Interleucinas(IL 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7)	Células T
Fator estimulante de colônia macrófágica (M-CSF)	ME
Fator estimulante de colônia granulocítica (G- CSF)	ME
Fator estimulante de colônia macrófágica e granulocítica (GM-CSF)	ME

**ANEXO C - Causas de aumento de CA 125 (Oliveira e Abrão, 1997).**

<b>Benignas</b>	<b>Malignas</b>
Endometriose	Carcinoma epitelial de ovário
Doença inflamatória pélvica	Tumores de células germinativas
Leiomioma	Tumores do estroma gonadal
Adenomiose	Adenocarcinoma de endométrio
Gravidez ectópica	Adenocarcinoma cervical
Doença hepática	Carcinoma tubário
Pancreatite	Tumor mulleriano misto
Peritonite	Tumor das vias biliares
Insuficiência renal	Tumores hepáticos
Cirrose hepática	Carcinoma de pâncreas
Gavidez (1º trimestre)	Carcinoma de mama
Tuberculose	Carcinoma de colon
Menstruação	Carcinoma de pulmão

**ANEXO D** - Classificação dos tumores malignos epiteliais de ovário (OMS, 2003)

<b>TIPO HISTOLÓGICO</b>	<b>Sub-tipos</b>
Seroso	Adenocarcinoma seroso
Mucinoso	Adenocarcinoma, Tipo intestinal, tipo endocervical
Endometrióide	Adenocarcinoma, Adenoacantoma, Carcinoma Adenoescamoso, Adenosarcoma, Adenofibroma maligno, Sarcoma estromal endometrial, Carcinosarcoma, Sarcoma indiferenciado
Células claras	Adenocarcinoma
Células transicionais	Tumor de Brenner maligno, carcinoma de células transicionais( não Brenner)
Carcinoma de células escamosas	
Tumores epiteliais malignos mistos.	
<b>Carcinomas indiferenciados</b>	

**ANEXO E** - Tabela dos coeficientes de correlações (Santos, 2007).

<b>Coeficiente de correlação (x)</b>	<b>Correlação</b>
$x=1$	Perfeita positiva
$0,8 \leq x < 1$	Forte positiva
$0,5 \leq x < 0,8$	Moderada positiva
$0,1 \leq x < 0,5$	Fraca positiva
$0 < x < 0,1$	Ínfima positiva
0	Nula
$-0,1 < x < 0$	Ínfima negativa
$-0,5 < x \leq -0,1$	Fraca negativa
$-0,8 < x \leq -0,5$	Moderada negativa
$-1 < x < -0,8$	Forte negativa
$x=-1$	Perfeita negativa

Tabela para diagnóstico de modelo baseado na AUC (Hosmer & Lemeshow, 1989).

<b>AUC</b>	<b>Diagnóstico</b>
$AUC = 0,5$	Modelo sem poder discriminatório
$0,7 \leq AUC < 0,8$	Discriminação aceitável
$0,8 \leq AUC < 0,9$	Discriminação excelente
$AUC \geq 0,9$	Discriminação extraordinária