



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE PESQUISA EM ONCOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA E CIÊNCIAS
MÉDICAS**

**AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO INDEL NO GENE TYMS
EM ASSOCIAÇÃO A RESPOSTA QUANTO AO USO DE
FLUOROPIRIMIDINAS EM PACIENTES PORTADORES DE
NEOPLASIAS DO TRATO GASTROINTESTINAL**

Danielle Feio da Costa

BELÉM-PA
2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE PESQUISA EM ONCOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA E CIÊNCIAS
MÉDICAS**

**AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO INDEL NO GENE TYMS
EM ASSOCIAÇÃO A RESPOSTA QUANTO AO USO DE
FLUOROPYRIMIDINAS EM PACIENTES PORTADORES DE
NEOPLASIAS DO TRATO GASTROINTESTINAL**

Danielle Feio da Costa

Orientador: Prof. Dr. Ney Pereira
Carneiro dos Santos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Oncologia e Ciências Médicas da Universidade Federal do Pará - UFPA como requisito para obtenção do título de Mestre em Oncologia e Ciências Médicas.

BELÉM-PA
2014

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca do Hospital Universitário João de Barros Barreto HUIBB/UFPa

Costa, Danielle Feio da.

Avaliação do polimorfismo INDEL no gene *TYMS* em associação a resposta quanto ao uso de fluoropirimidinas em pacientes portadores de neoplasias do trato gastrointestinal / Danielle Feio da Costa; orientador, Prof. Dr. Ney Pereira Carneiro dos Santos. — 2014

Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Pará, Núcleo de Pesquisa em Oncologia, Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas, Belém, 2014.

1. Neoplasias gastrointestinal. 2. Trato gastrointestinal. 3. Quimioterapia. 4. Farmacogenética. I. Santos, Ney Pereira Carneiro dos, *orient.* II. Título.

CDD - 23. ed. 616.994

FOLHA DE APROVAÇÃO**Danielle Feio da Costa****Avaliação do polimorfismo INDEL no gene TYMS em associação a resposta quanto ao uso de fluoropirimidinas em pacientes portadores de neoplasias do trato gastrointestinal**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Oncologia e Ciências Médicas da Universidade Federal do Pará - UFPA como requisito para obtenção do título de Mestre em Oncologia e Ciências Médicas.

Aprovada em:

Banca examinadora

Prof. Dr. Ney Pereira Carneiro dos Santos

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. Paulo Pimentel de Assumpção

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

**Ao meu saudoso pai Francisco Feio (*in memoriam*)
presente todos os dias da minha vida.**

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida !

À minha família, em especial a minha amada mãe Célia Feio e a minha madrinha Iza Feio: obrigada por tudo que sou.

Ao meu marido Euler obrigada pelo amor incondicional, lealdade, e a compreensão do tempo extra necessário para a realização deste trabalho.

Aos meus filhos Beatriz e Caio Matheus: vocês são meus grandes estimuladores a ser cada vez melhor. Amo vocês.

Agradeço aos orientadores Paulo Assumpção e Ney Pereira, obrigada pela incansável orientação, aprendizado e amizade.

Aos pacientes dos hospitais Ophir Loyola, Unacon e Saúde da Mulher, que contribuíram imensamente para a realização deste trabalho.

Agradeço à Milene Bechara, Rosana, Mayara, Tayssa pelo tempo gasto, paciência, amizade e bons momentos.

Aos colegas da primeira turma de mestrado em oncologia e ciências médicas: Alayde, Williams, Sandro, Márcia e Mariane.

*“Médicos são homens que prescrevem
remédios sobre os quais pouco sabem, para
curar doenças que conhecem ainda menos
em seres humanos de quem não sabem
nada.”*

Voltaire

RESUMO

AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO INDEL NO GENE TYMS EM ASSOCIAÇÃO A RESPOSTA QUANTO AO USO DE FLUOROPIRIMIDINAS EM PACIENTES PORTADORES DE NEOPLASIAS DO TRATO GASTROINTESTINAL

Introdução: O câncer consiste em um problema de saúde pública mundial, com estimativa de 27 milhões de casos novos e 17 milhões de mortes por câncer no ano de 2030. No Brasil, as estimativas para o câncer no ano de 2014, apontam a ocorrência de aproximadamente 580 mil casos novos. As fluoropirimidinas são usadas nos principais esquemas quimioterápicos direcionados a tumores do trato gastrointestinal. Nos últimos anos muito se tem investigado sobre causas de respostas individuais diferenciadas em relação ao tratamento quimioterápico; dessa forma têm-se buscado uma terapia individualizada que possa maximizar a eficácia dos medicamentos e minimizar os efeitos adversos associados aos fármacos. Objetivamos buscar a associação do INDEL (rs16430) do gene *TYMS* com o padrão de resposta ao tratamento oncológico de fármacos com base em fluoropirimidinas, de maneira a contribuir para o desenvolvimento da medicina personalizada. **Material:** Estudadas 151 amostras de sangue periférico de pacientes oncológicos tratados com fluoropirimidinas, da população da região amazônica brasileira com elevado grau de mistura interétnica. Foi genotipado um polimorfismo INDEL (rs16430) no gene *TYMS* envolvido na resposta ao tratamento com uso de fluoropirimidinas. **Resultados:** A investigação relatou que a maioria dos pacientes tinha doença avançada no momento do diagnóstico; 32,7% receberam tratamento com intenção paliativa; e 22,8% tratamento neoadjuvante. Nossos resultados evidenciam que o polimorfismo INDEL no gene *TYMS* demonstrou ter um efeito de proteção à progressão tumoral ($p=0,033$). Pacientes tratados com fluoropirimidinas que eram homozigotos selvagens (INS/INS) apresentaram uma proteção à progressão tumoral de 24% comparado com outros genótipos desse polimorfismo. As estimativas de ancestralidade genômica global da amostra investigada foram: 62,4% europeia; 25,2% nativo americana e 12,4% africana. Foi possível estabelecer uma correlação inversa entre o aumento da ancestralidade ameríndia e a presença de metástase ($p=0,024$). **Conclusão:** Estudos farmacogenéticos podem proporcionar uma terapia personalizada reduzindo mortalidade por toxicidades e aumentando a eficácia terapêutica, desta forma proporcionando um tratamento oncológico com melhores resultados clínicos.

Palavras-chave: Neoplasias Gastrointestinal; Trato Gastrointestinal; Quimioterapia; Farmacogenética.

ABSTRACT

PHARMACOGENETIC STUDIES CAN PROVIDE A PERSONALIZED THERAPY TOXICITY REDUCING MORTALITY AND IMPROVING THERAPEUTIC EFFICACY, THEREBY PROVIDING A CANCER THERAPY WITH BETTER CLINICAL RESULTS

Cancer is a public health problem worldwide, with an estimated of 27 million new cases and 17 million cancer deaths in 2030. In Brazil, estimates for cancer in 2014, indicate the occurrence of approximately 580 000 new cases. Fluoropyrimidines are used in the main chemotherapy regimens targeted to tumors of the gastrointestinal tract. Recently, much has been investigated on causes of different individual responses to chemotherapy. Thus, it has been sought an individualized therapy that can maximize drug efficacy and minimize adverse effects associated with drugs. We aimed to seek the association of an INDEL polymorphism (rs16430) in *TYMS* gene with the pattern of response to chemotherapy drugs based on fluoropyrimidines, in order to contribute to the development of personalized medicine. We studied 151 samples of cancer patients treated with fluoropyrimidine, from a population of the Brazilian Amazon region with high interethnic admixture. An INDEL polymorphism (rs16430) was genotyped in *TYMS* gene that is involved in the response to treatment using fluoropyrimidines. The research reported that most patients had advanced disease at diagnosis, of which 32.7% were treated with palliative intent, and 22.8% neoadjuvant treatment. Our results show that the INDEL polymorphism in the *TYMS* gene appears to have a protective effect on tumor progression ($p = 0.033$). Patients treated with fluoropyrimidine who were wild homozygous (INS / INS) had a 24% protection to tumor progression compared to other genotypes of this polymorphism. Estimates of global genetic ancestry of the sample investigated were: 62.4% European, 25.2% Amerindian and 12.4% African. It was possible to establish an inverse correlation between the increase of Amerindian ancestry and metastasis ($p = 0.024$). Pharmacogenetic studies can provide a personalized therapy toxicity reducing mortality and improving therapeutic efficacy, thereby providing a cancer therapy with better clinical results.

Keyword: Gastrointestinal neoplasms; Gastrointestinal Tract; Chemotherapy; Pharmacogenetics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Etapas fundamentais da carcinogênese – capacidades adquiridas do câncer.....	14
Figura 2 - Capacidades adquiridas das células tumorais durante os múltiplos passos da carcinogênese	15
Figura 3 - Estimativa do número de casos de câncer para 2014.....	16
Figura 4 - Estimativa 2014 de casos novos no Brasil	17
Figura 5 - Taxa bruta de incidência estimada para 2014 por sexo, Região Norte.	18
Figura 6 - Estrutura química do 5-FU, uracil e timina. Nesta ordem, da esquerda para a direita	24
Figura 7 - Metabolismo de 5-Fluorouracil. 5-FU – 5-Fluorouracil; DPD – diidropirimidina desidrogenase; DHFU - diidrofluorouracil; OPRT – orotato fosforibosiltransferase; PRPP – fosforibosil pirofosfato; FUMP – monofosfato de fluorouridina; FUDP – difosfato de fluorouridina; FUTP – trifosfato de fluorouridina; RR - ribonucleotídeo redutase; FdUMP – monofosfato de fluorodeoxiuridina; FdUDP – difosfato de fluorodeoxiuridina; FdUTP – trifosfato de fluorodeoxiuridina; TS – timidilato sintase; TK – timidina cinase; TP – timidina fosforilase; UP – uridina fosforilase; FUR - fluorouridina; UK – uridina cinase; FUDR - fluorodeoxiuridina.	26
Figura 8 - Esquema representativo da síntese de monofosfato de deoxitimidina (dTMP) a partir do composto monofosfato de deoxiuridina (dUMP). A enzima timidilato sintase (TS) junto ao cofator CH ₂ THF (5,10-metilenotetrahidrofolato) converte dUMP a dTMP que por sua vez gera dTTP (trifosfato de deoxitimidina), componente essencial da molécula de DNA. Figura 3B: Esquema representativo da ação inibitória do metabólito ativo de 5-FU, FdUMP. FdUMP se liga ao sítio ativo da enzima formando um complexo estável com ela e seu cofator, bloqueando a ligação do composto dUMP e a síntese de dTMP e dTTP, impedindo a síntese e/ou o reparo da molécula de DNA.....	27
Figura 9 - Localização do gene TYMS no cromossomo 18	33
Figura 10 -Ilustra a estrutura do gene TYMS e o desequilíbrio de ligação entre os marcadores VNTR e INDEL e os 6 marcadores dos pares de bases.....	35
Figura 11 -Gráfico de pizza que ilustra a distribuição média global das ancestralidades entre as amostras dos pacientes tratados com fluoropirimidinas	43
Figura 12 -Box Plot de relação entre a ancestralidade Ameríndia e a presença ou ausência de metástase	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Vias de administração de agentes antineoplásicos	23
Tabela 2 - Biomarcadores farmacogenômicos contidos em rótulos de medicamentos aprovados pelo FDA.....	31
Tabela 3 - Gene TYMS e seus principais polimorfismos relacionados à metabolização e farmacogenética do 5-FU.	40
Tabela 4 - Características clínico-epidemiológicas dos 151 pacientes tratados com fluorpirimidina*	42
Tabela 5 - Características clínicas- epidemiológicas de pacientes em uso de fluoropirimidinas subagrupados de acordo com a progressão da doença.....	45
Tabela 6 - Caracterização do polimorfismo INDEL no gene TYMS associado a progressão tumoral.....	46

SUMÁRIO

RESUMO	VII
ABSTRACT	IX
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	X
LISTA DE TABELAS	XI
1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Câncer	14
1.2 Epidemiologia do Câncer	15
1.3 Tratamento do câncer	18
1.3.1 QUIMIOTERAPIA	18
1.3.2 HISTÓRICO	19
1.3.3 TIPOS DE QUIMIOTERAPIA	20
1.3.4 VIAS E MÉTODOS DE ADMINISTRAÇÃO DE QUIMIOTERÁPICOS	22
1.3.5 FLUOROURACIL (5-FU)	23
1.3.6 CAPECITABINA (FLUOROPIRIMIDINAS ORAIS)	28
1.4 Farmacogenética	28
1.4.1 FARMACOGENÉTICA APLICADA AO CÂNCER	29
1.5 Marcadores Indel e Câncer	32
1.6 Gene	33
1.6.1 TYMS	33
1.7 CONTROLE GENÔMICO DA ANCESTRALIDADE	35
2 APLICABILIDADE	37
3 OBJETIVOS	38
3.1 Objetivo Geral	38
3.2 Objetivos Específicos	38
4 MATERIAIS E MÉTODOS	39
4.1 Amostras Estudadas	39
4.2 Extração de DNA	39
4.3 Genotipagem dos Polimorfismos	39
4.4 Análises Estatísticas	40
5 RESULTADOS	41
5.1 Caracterização da amostra de pacientes em regime com fluoropirimidinas	41
5.2 Ancestralidade Global da Amostra Investigada	43
5.3 Caracterização de amostras agrupadas em pacientes de acordo com a progressão	

tumoral.....	44
5.4 Associação polimorfismo indel no gene tmys para progressão tumoral.....	46
5.5 Correlação entre a ancestralidade ameríndia e presença metástase.....	46
6 DISCUSSÃO.....	48
6.1 Biomarcador tmys associado a resposta terapêutica ao uso de 5FU.....	48
6.2 Correlação entre ancestralidade genômica ameríndia e resposta a terapia com 5FU	50
7 CONCLUSÃO.....	53
REFERÊNCIAS.....	54

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer

Nos últimos anos as pesquisas na área da oncologia têm recebido atenção especial, principalmente devido ao aumento dos casos de câncer no mundo. Assim, avanços têm sido alcançados pelos pesquisadores nesta área graças ao intenso estudo dispensado. A busca pela compreensão dos mecanismos que levam ao desenvolvimento do câncer e investigações de marcadores genéticos que possam identificar precocemente a doença ou ajudar no tratamento de pessoas que já possuem a enfermidade está entre os mais estudados.

O câncer pode ser definido como uma doença multifatorial, que resulta de interações complexas entre alterações genéticas e fatores ambientais. Desta forma pode se dizer que um único fator ambiental ou apenas uma alteração genética não leva ao desenvolvimento de tumores; são necessárias várias alterações genéticas para que se desenvolva uma neoplasia (HANAHAN; WEINBERG, 2011) (Figura.1).

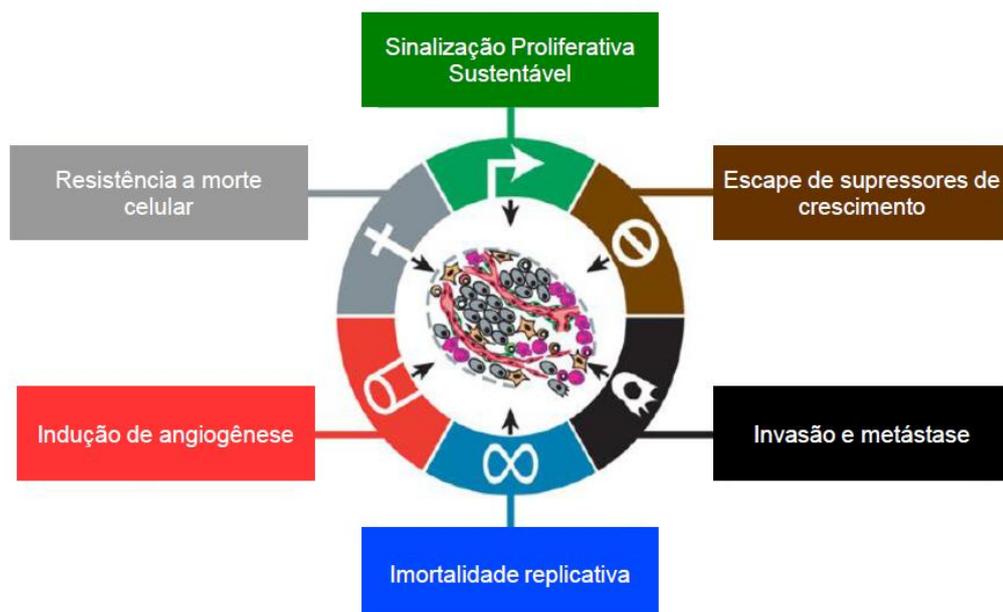


Figura 1 - Etapas fundamentais da carcinogênese – capacidades adquiridas do câncer
 Fonte: Hanahan e Weinberg (2011).

A origem de um tumor ocorre através de várias alterações genéticas e epigenéticas. Essas alterações podem ser aberrações cromossômicas, ganho de função, perda de função, polimorfismos, ocorrendo comprometimento da manutenção da integridade genômica. Segundo Hanahan e Weinberg (2011), os tumores são mais do que massas insulares de proliferação de células cancerosas. Em vez disso, eles são tecidos complexos compostos de múltiplos tipos de células distintas que participam de interações heterotípicas uma com a outra. Assim, a biologia dos tumores já não pode ser entendida simplesmente enumerando as características das células cancerosas, mas sim deve englobar as contribuições do “microambiente do tumor” para tumorigênese. Desta forma, as características das células tumorais englobam autossuficiência quanto ao sinal de crescimento, insensibilidade aos fatores inibitórios, evasão a apoptose, potencial replicativo ilimitado, angiogênese sustentada, reprogramação do metabolismo energético, evasão da vigilância imune, invasão celular e metástase (Figura 2), demonstrando o quão complexa é a doença neoplásica (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

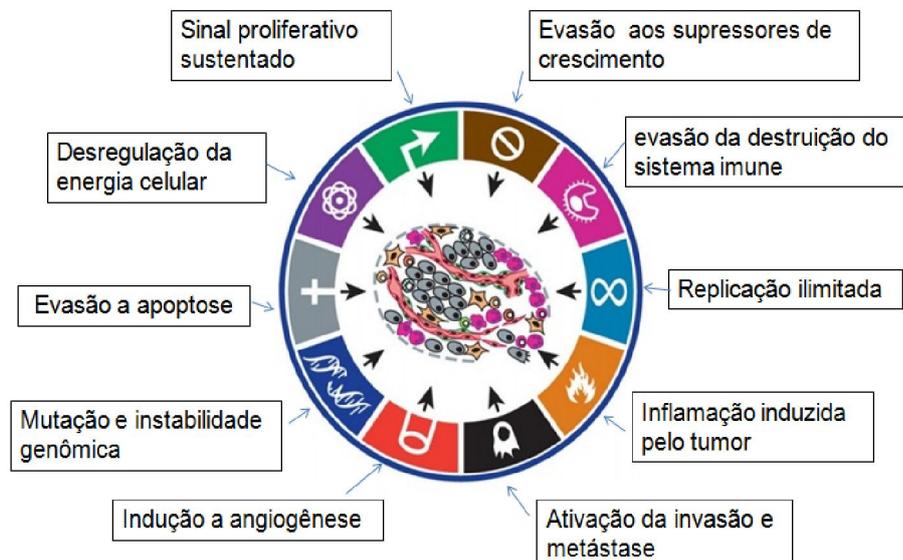


Figura 2 - Capacidades adquiridas das células tumorais durante os múltiplos passos da carcinogênese
Fonte: Hanahan e Weinberg (2011).

1.2 Epidemiologia do Câncer

Nas últimas décadas, o câncer, vem convertendo-se em um evidente problema de

saúde pública mundial. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que, no ano de 2030, podem-se esperar 27 milhões de casos incidentes de câncer, 17 milhões de mortes por câncer e 75 milhões de pessoas vivas, anualmente, com câncer. O maior efeito deste aumento vai incidir em países de baixa e média renda (INSTITUTO..., 2014).

No Brasil, as estimativas da doença para 2014, apontam a ocorrência de aproximadamente 580 mil novas ocorrências de câncer, incluindo os casos de pele não melanoma, reforçando a magnitude do problema no país. O comparativo das estimativas entre 2012 e 2014 demonstra um aumento significativo na incidência de câncer de aproximadamente 62 mil evidenciado na Figura 3. Sem os casos de câncer de pele não melanoma, estima-se um total de 394.450 novos casos. Os tipos mais incidentes serão os cânceres de pele não melanoma, próstata, pulmão, cólon e reto e estômago para o sexo masculino; e os cânceres de pele não melanoma, mama, colo do útero, cólon e reto e glândula tireoide para o sexo feminino. Assim, espera-se para o ano de 2014, 205.114 novos casos para o sexo masculino e 189.336 para o sexo feminino. Confirma-se a estimativa de que o câncer de pele do tipo não melanoma (182 mil novos casos) será o mais incidente na população brasileira, seguido de tumores de próstata (69 mil), mama feminina (57 mil), cólon e reto (33 mil), pulmão (27 mil) e estômago (20 mil).

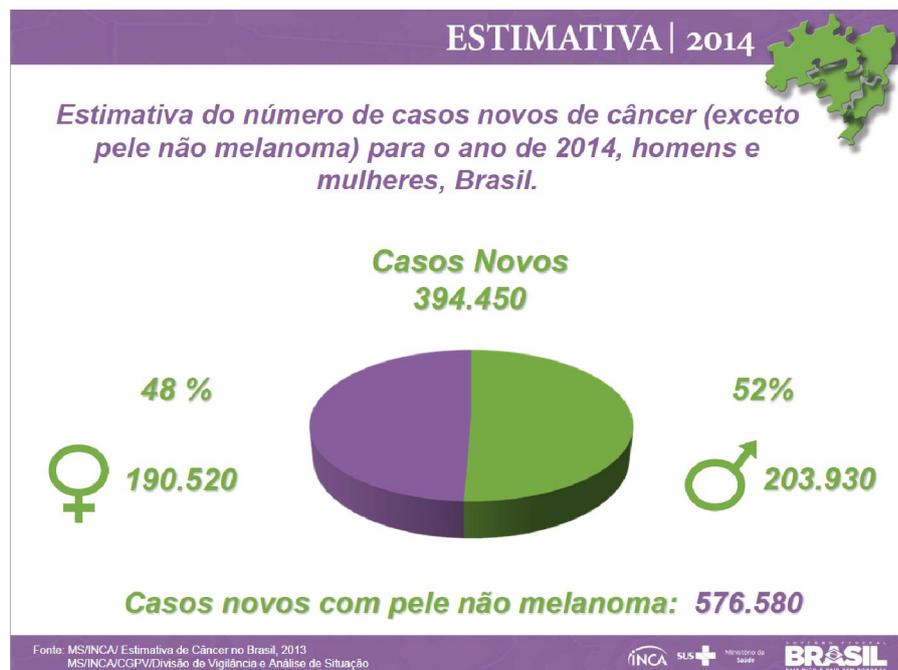


Figura 3 - Estimativa do número de casos de câncer para 2014

Fonte: INCA (2014)

A região de maior incidência em número de casos novos de câncer é a região sudeste com estimativa para 2014 é de 299.730 seguida da região sul com 116.330 novos casos, em terceiro a região nordeste com 99.060, centro oeste com 41.400 e a região norte com 20.020 ocupando o 4º e 5º lugares respectivamente (Figura 4).

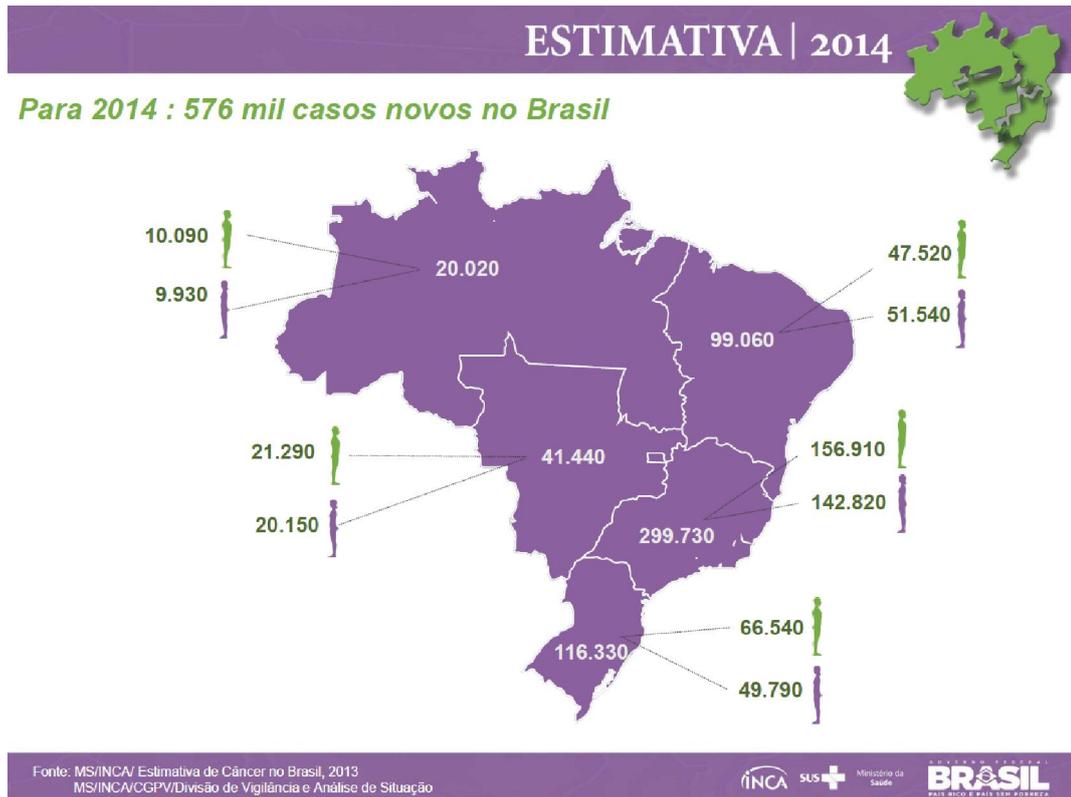


Figura 4 - Estimativa 2014 de casos novos no Brasil
Fonte: INCA (2014)

Para a região Norte a estimativa de novos casos de vários tipos de câncer está descrita na figura 5, onde a neoplasia mais incidente foi próstata para homens com 30 casos/100 mil habitantes, e colo do útero em mulheres com 24 casos/100 mil. Em segundo lugar estômago para homens com 11 casos/100 mil, e mama para mulheres com 21 casos/100 mil. Seguido para mulheres estômago 6 casos/100 mil e homens pulmão 8 casos/100 mil.

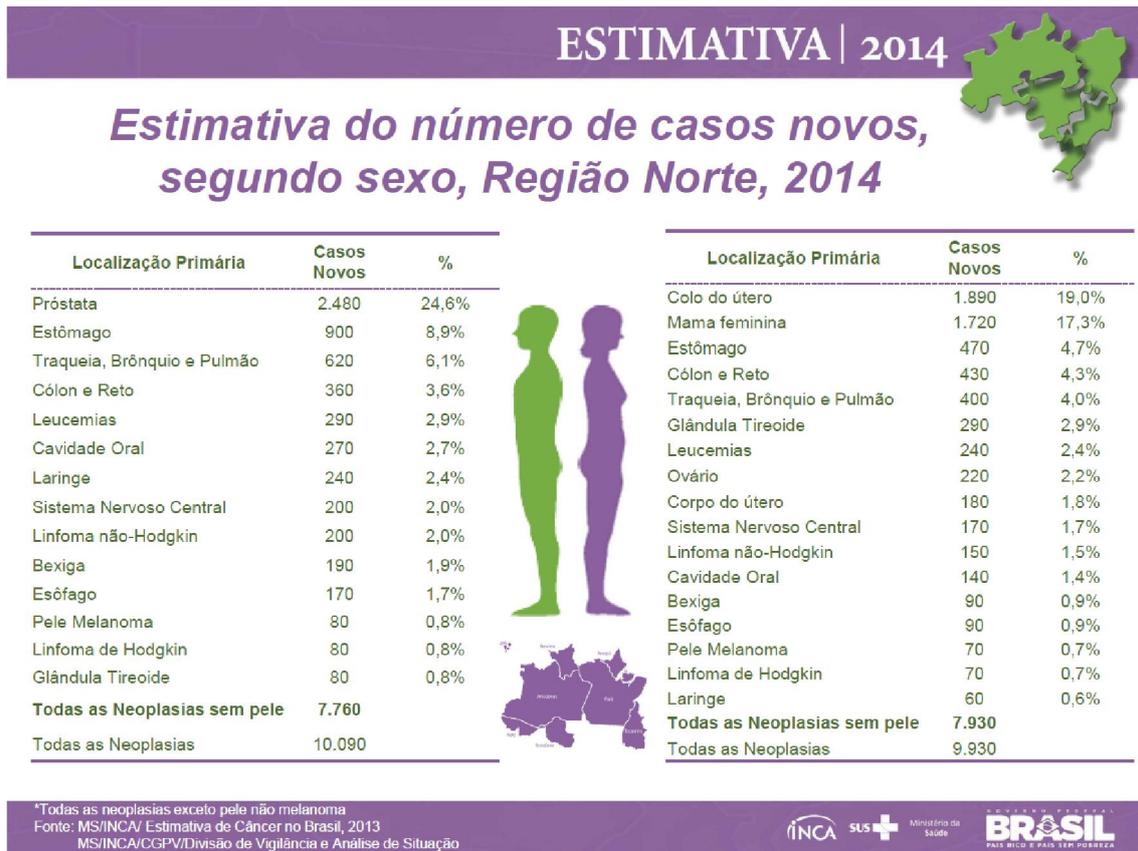


Figura 5 - Taxa bruta de incidência estimada para 2014 por sexo, Região Norte.
Fonte: INCA (2014)

1.3 Tratamento do câncer

Nos últimos anos, os avanços tecnológicos determinaram uma verdadeira revolução no tratamento do câncer. Cirurgia, quimioterapia e radioterapia integram o amplo arsenal na luta contra a doença (STEWART; KLEIHVES, 2003). Na maioria dos casos, o uso combinado de tratamentos proporciona excelentes resultados. O desafio atual para todos os profissionais da área oncológica consiste em encontrar a maneira mais eficaz de tratar a doença com o mínimo de efeitos colaterais para o paciente.

1.3.1 QUIMIOTERAPIA

É a forma de tratamento sistêmico do câncer que usa medicamentos denominados genericamente de “quimioterápicos” (sejam eles quimioterápicos propriamente ditos,

hormonioterápicos, bioterápicos, imunoterápicos, alvoterápicos) que são administrados continuamente ou a intervalos regulares, que variam de acordo com os esquemas terapêuticos (BRASIL, 2011).

A maioria dos quimioterápicos utilizados tem sua dose básica, para efeito antitumoral, que deve ser ajustada para cada doente de acordo com sua superfície corporal. Esta é obtida a partir do peso e da altura do doente (consultando tabela própria) e é expressa em metro quadrado (m^2). Assim, obtida a superfície corporal do doente multiplica-se esta pela dose básica do quimioterápico e se obtém a dose do doente. Porém, alguns quimioterápicos têm dose única, que não se modifica com a superfície corporal do doente, e alguns outros são prescritos por Kg do peso corporal (BRASIL, 2011).

Os quimioterápicos de um esquema terapêutico podem ser aplicados por dia, semana, quinzena, de 3/3 semanas, de 4/4 semanas, 5/5 semanas ou de 6/6 semanas. Quando se completa a administração do(s) quimioterápico(s) de um esquema terapêutico, diz-se que se aplicou um ciclo. Portanto, a QT é aplicada em ciclos que consistem na administração de um ou mais medicamentos a intervalos regulares (BRASIL, 2011).

1.3.2 HISTÓRICO

No início de 1900, o químico alemão Paul Ehrlich discorreu sobre o desenvolvimento de medicamentos para tratar doenças infecciosas. Ele criou o termo “quimioterapia” e definiu-o como o uso de produtos químicos para tratar a doença. Ele também foi a primeira pessoa a documentar a eficácia de modelos animais para examinar uma série de produtos químicos para a sua atividade potencial contra doenças, uma realização que teve ramificações importantes para o desenvolvimento de medicamentos contra o câncer. Em 1908, a utilização por Paul Ehrlich do modelo de coelho para a sífilis, levou ao desenvolvimento de Arsenicais para tratar esta doença (VINCENT et al. 2008).

As quatro primeiras décadas do século 20 foram principalmente dedicadas ao modelo de desenvolvimento. Um grande avanço no desenvolvimento do modelo ocorreu no início de 1910, quando George Clower, de Roswell Park Memorial Institute (RMPI) em Buffalo, Nova York, desenvolveu os primeiros sistemas de tumores transplantáveis em roedores. Este avanço permitiu a padronização de sistemas-modelo e os testes de um maior número de produtos químicos. Esforços significativos foram posteriormente focados em identificar o sistema de

modelo ideal para testes de medicamentos contra o câncer, que depois se tornou um grande impulso da pesquisa para as próximas décadas (VINCENT et al. 2008).

Em 1939, Charles Huggins, com base em uma observação precoce sobre o efeito dos estrógenos sobre o câncer da mama, feitas por Beatson em 1896, tratou homens com câncer de próstata com hormônios e foi capaz de mostrar respostas por diminuições nos níveis de fosfatase ácida (VINCENT et al. 2008).

A história da quimioterapia do câncer começou com a utilização de mostardas nitrogenadas, derivadas de gás venoso, usado em 1943 durante a Segunda Guerra Mundial como um fármaco terapêutico para a doença de Hodgkin e leucemias (GOODMAN et al. 1946). O tratamento com mostardas nitrogenadas visava a utilização da atividade antitumoral dos fármacos através das suas toxicidades (por exemplo, diarreia, leucopenia e estomatite) em seres humanos. Numerosos compostos novos entraram no campo da quimioterapia do câncer para os tumores sólidos, desde então, incluindo mitomicina descoberto por Hata e colaboradores (HATA et al. 1956) e 5-fluorouracil (5-FU) descoberto por Dushinsky, Plevin e Heidelberger (1957; SHIRASAKA et al. 2008).

No período de 1970 a 90, quando foi consolidada a poliquimioterapia, foram desenvolvidos agentes anticancerígenos combinados que diferiram em mecanismo de ação, sem definição da evidência teórica e que facilmente provocavam reações adversas, sendo considerada uma modalidade terapêutica de curto-prazo (SHIRASAKA et al. 2008).

Nas décadas seguintes pôde-se observar um rápido desenvolvimento da quimioterapia anti-tumoral, com a descoberta de novas drogas.

Atualmente, as investigações continuam, pois nenhum dos agentes quimioterápicos satisfaz completamente as exigências, e a preocupação com a eficácia da quimioterapia para o câncer tem emergido. Em consequência, novas modalidades terapêuticas benéficas para os pacientes e uma ampla variedade de estudos nessa área têm surgido em resposta a relevante necessidade.

1.3.3 TIPOS DE QUIMIOTERAPIA

A quimioterapia pode ser feita com a aplicação de um ou mais quimioterápicos. O uso de drogas isoladas (monoquimioterapia) mostrou-se ineficaz em induzir resposta completas ou parciais significativas, na maioria dos tumores, sendo atualmente de uso muito restrito.

A poliquimioterapia é de eficácia comprovada e tem como objetivos atingir populações celulares em diferentes fases do ciclo celular, utilizar a ação sinérgica das drogas, diminuir o desenvolvimento de resistência às drogas e promover maior resposta por dose administrada.

A quimioterapia pode ser utilizada em combinação com a cirurgia e a radioterapia. De acordo com as suas finalidades, a quimioterapia é classificada em:

a) Quimioterapia paliativa

Está indicada para o controle temporário de sinais e sintomas que comprometem a capacidade funcional do paciente, mas não repercutirá, obrigatoriamente, sobre a sua sobrevida. Independente da via de administração é de duração limitada, tendo em vista a incurabilidade do tumor (estádio IV, doença recidiva ou metastática), que tende a tornar-se progressivo a despeito do tratamento aplicado. De maneira geral, a sua duração varia de 3 a 12 meses (dependendo do tipo tumoral e dependendo do tipo ou intervalo do esquema terapêutico). Porém, ela poderá ser suspensa por toxicidade inaceitável, ou progressão tumoral na vigência da mesma.

b) Quimioterapia neoadjuvante

É a quimioterapia indicada para a redução de tumores localmente avançados (geralmente estádios II ou III), que são, no momento, irressecáveis ou não. Tem a finalidade de tornar os tumores ressecáveis e melhorar o prognóstico do paciente.

Geralmente a duração do tratamento é de 3 a 6 meses, determinada pelo tipo tumoral, toxicidade, resposta objetiva à quimioterapia e pelo plano terapêutico proposto (HOFF et al. 2003).

c) Quimioterapia adjuvante

Define-se como adjuvante a quimioterapia indicada após tratamento cirúrgico curativo, quando o paciente não apresenta qualquer evidência de neoplasia maligna detectável pelo exame físico e exames complementares indicados para o caso. Os pacientes candidatos a este tipo de tratamento são considerados de alto risco, face à capacidade de disseminação de seus tumores, mesmo que já ressecados (em estágio I, II ou III) e já tenham sido submetidos, ou não, à quimioterapia prévia.

O tratamento deve ser iniciado no máximo entre 30 a 60 dias do pós-operatório, e tem por finalidade aumentar o intervalo livre de doença e a sobrevida global dos pacientes. É de longa duração. A duração prevista pode ser cumprida, ou não, dependendo do doente ficar, ou não, sem evidência de doença tumoral em atividade no período de tempo programado.

A quimioterapia adjuvante pode constituir-se, ou não, do mesmo esquema terapêutico

da quimioterapia prévia.

d) Quimioterapia curativa

Define-se este tratamento como o que tem finalidade de curar pacientes com Neoplasias malignas e para os quais a quimioterapia representa o principal tratamento (podendo, ou não, estar associada à cirurgia e radioterapia). As neoplasias que se enquadram neste grupo são aquelas que, pelo conhecimento atual, são passíveis de cura. Este tipo de tratamento, geralmente é de administração oral e venosa (em alguns casos também intratecal), é de duração média (3 a 8 meses) e longa (podendo chegar a 30 meses, em casos de criança de leucemias agudas e linfomas não Hodgkin de alto grau, por exemplo).

A duração do tratamento pode não ser cumprida, uma vez que se pode observar falha do tratamento (o que obriga à mudança de linha terapêutica, se for o caso) ou complicações decorrentes do mesmo (o que não altera o número de meses do planejamento terapêutico global, mas sim o intervalo de tempo em que eles se cumprirão).

1.3.4 VIAS E MÉTODOS DE ADMINISTRAÇÃO DE QUIMIOTERÁPICOS

A prescrição da quimioterapia depende das condições gerais de saúde do paciente e podem ser administradas pelas seguintes vias: regional, local e sistêmica. Na Tabela 1 apresentamos essas vias de administração de agentes antineoplásicos.

a) Regional - O agente é aplicado diretamente em uma artéria ou cavidade, atingindo assim altas concentrações regionais do medicamento e, paralelamente, evitando-se ou minimizando-se a sua ação sistêmica (Ex: intra-vesical, intra-pleural, intra-tecal, intra-pericárdico, intraperitoneal).

b) Sistêmico - O agente isolado ou uma combinação de drogas é administrado com a finalidade de tratar o organismo como um todo. É o método mais utilizado. Ex.: oral, intravenosa, intra-arterial, subcutânea e intra-muscular.

Tabela 1 - Vias de administração de agentes antineoplásicos

VIA	VANTAGENS	DESVANTAGENS	POTENCIAIS COMPLICAÇÕES
Oral	Fácil absorção	Administração inconsistente	Complicações específicas de cada agente
Subcutânea	Fácil administração; Diminuição dos efeitos colaterais	Exige massa muscular e tecido adequado para a absorção	Infecção; Sangramento
Endovenosa	Absorção consistente exigida para agentes vesicantes	Esclerose venosa com o passar do tempo	Infecção; Flebite
Intra-arterial	Aumento da dose para tumores com diminuição dos efeitos colaterais sistêmicos	Requer procedimento cirúrgico para colocação de cateter	Sangramento; Embolia
Intratecal Intraventricular	Níveis mais consistentes da droga no líquido cérebro-espinhal	Requer punção lombar ou colocação cirúrgica de reservatório ou cateter implantável para a administração da droga	Cefaleia; Confusão; Letargia; Náusea e vômito; Convulsões
Intraperitoneal	Exposição direta de metástase intra-abdominais à droga	Requer colocação de cateter de Tenckhoff ou um cateter intraperitoneal implantável tipo port	Dor abdominal; Distensão abdominal; Sangramento íleo; Perfuração intestinal; Infecção.
Intravesical	Exposição direta da superfície da bexiga a droga	Requer inserção do cateter de foley	Infecções do trato urinário, cistite, contratatura da bexiga; Urgência urinária; Reações alérgicas à droga.
Intrapleural	Esclerose da parede de pleura para prevenir a recidiva de derrames pleurais	Requer inserção do dreno de tórax	Dor; Infecção

Fonte: Bender (1997)

1.3.5 FLUOROURACIL (5-FU)

É um antimetabólito que foi sintetizado em 1957 por Heidenberger e colaboradores como o primeiro agente quimioterápico ativo para o câncer gástrico. É composto análogo de uracil e também da timina, que apresenta um átomo de flúor ligado ao carbono 5, em substituição ao átomo de hidrogênio ou ao grupamento metil, característicos destas bases nitrogenadas (Figura 4). Ele entra rapidamente na célula usando o mesmo mecanismo de transporte facilitado da uracil (WOHLHUETER; MCLVOR; PLAGEMANN, 1980;

LONGLEY; HARKIN; JOHNTON, 2003; SAVVA-BORDALO et al. 2010; GHOSH et al. 2012).

Seu principal alvo é a enzima timidilato sintetase (TS), onde catalisa a reação enzimática responsável pela produção de timidilato, precursor essencial na síntese do DNA. O metabólito ativo fluorodeoxiuridina monofosfato (FdUMP) compete com uracil para se ligar à enzima TS e ao cofator folato. A inibição da TS leva a uma diminuição na produção de desoxitimidina monofosfato (dTMP), e também a um acúmulo da desoxiuridina monofosfato (dUMP), na qual é incorporada ao DNA de maneira enganosa na forma de desoxiuridina trifosfato (dUTP), impedindo a síntese, a função e o reparo do DNA. O leucovorin (formiltetrahydrofolato) potencializa a atividade do 5-FU por meio da estabilização da ligação do FdUMP ao TS. A Fluorodeoxiuridina trifosfato (FdUTP) outro metabólito ativo do 5-FU, é incorporado ao DNA interferindo em sua replicação. O metabólito FUTP (fluorouridina-5-trifosfato), é incorporado ao RNA no lugar da uridina trifosfato (UTP), produzindo com isso um RNA falso, com isso interferindo no processamento do RNA e a síntese proteica (HOFF et al. 2003; WOHLHUETER; MCLVOR; PLAGEMANN, 1980; LONGLEY; HARKIN; JOHNTON, 2003; SAVVA-BORDALO et al. 2010).

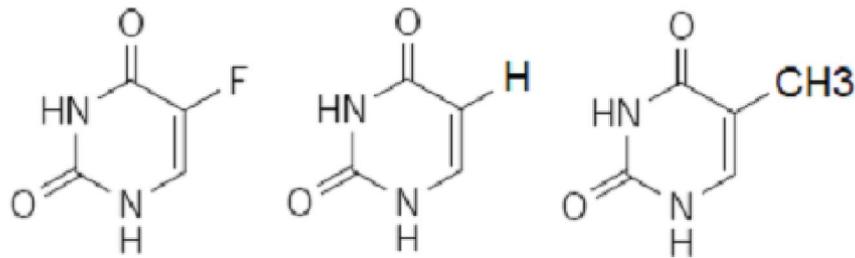


Figura 6 - Estrutura química do 5-FU, uracil e timina. Nesta ordem, da esquerda para a direita
Fonte: Longley, Harkin e Johton (2003).

Os principais mecanismos de resistência relacionados ao 5-FU são: super expressão da enzima TS; diminuição dos níveis do substrato do folato reduzido, que atua como um cofator nas reações mediadas pela TS; diminuição na incorporação dos metabólitos do 5-FU ao DNA ou RNA; aumento da atividade das enzimas de reparo do DNA; aumento das concentrações e da captação pelas células dos nucleosídeos fisiológicos incluindo a timidina; aumento da expressão da enzima DPD e alterações da TS com menor afinidade da ligação ao FdUMP (HOFF et al. 2003; LONGLEY; HARKIN; JOHNTON, 2003).

O 5-FU é usado nos principais esquemas quimioterápicos direcionados ao trato gastrointestinal. E também é utilizado como tratamento em outros tumores, como por exemplo, tumores de mama, ovário, vulva, colo de útero, cabeça e pescoço, pâncreas, basocelular de pele, entre outros. É amplamente distribuído nos tecidos atingindo altas concentrações na mucosa do trato digestivo, medula óssea e fígado. E também penetra em coleções líquidas no terceiro espaço (derrames cavitários), e atravessa a barreira hematoencefálica (HOFF et al. 2003).

Aproximadamente 85% da droga é catabolizada, principalmente pela enzima DPD, que é superexpressa em fígado e tecidos extra-hepáticos, como a mucosa do trato digestivo, leucócitos e rins. Sua excreção é pulmonar (60 a 80%), e também via renal e biliar. Sua concentração plasmática depende tanto da dose quanto da taxa de administração. A forma de infusão tem importância clínica, uma vez que a atividade antitumoral do 5 FU é mais dependente da área sob a curva alcançada que da dose administrada. Diversos estudos clínicos demonstram que o uso de 5U em infusão contínua possui maior atividade tumoral, trazendo benefícios em sobrevida global e menor toxicidades quando é comparado com a forma em bolus.

Cerca de 40% dos pacientes que recebem 5FU apresentam toxicidade grau 3-4, como: reações hematológicas (leucopenia, incluindo neutropenia febril, anemia, e trombocitopenia), reações gastrointestinais (mucosite oral e intestinal, estomatite, diarreia, náuseas e vômitos), sendo menos frequentes toxicidades dermatológicas (perda de cabelo, síndrome mão-pé e pele seca), levando a hospitalizações prolongadas e onerosas, com óbitos por toxicidade aproximando-se de 1% em várias séries (METANALYSIS..., 1998; AMSTUTZ et al. 2011). A toxicidade é mais frequente em mulheres e idosos, mas é de outra forma imprevisível baseado em características clínicas. A mucosite e a diarreia são mais frequentes nos esquemas infusionais, e neutropenia nos em bolus, ou infusões rápidas. Emese são menos frequentes, e que melhoram com bloqueio antiemético. A síndrome mão-pé (eritrodístesia) ocorre com maior frequência nos esquemas de infusões contínuas. Cardiotoxicidade ocorre em 8% dos pacientes, e é revertida após término da infusão do 5-FU (HOFF et al. 2003).

Segundo Craig e Stitzel (2005) e Longley, Harkin e Johnston (2003), o 5-FU é uma droga específica de fase, que atua na fase G1 e na fase S do ciclo celular, inibindo a síntese do RNA ou do DNA respectivamente. Para exercer sua ação tóxica, a droga precisa ser ativada metabolicamente, gerando por reações enzimáticas os compostos trifosfato de fluorouridina (FUTP), monofosfato de fluorodeoxiuridina (FdUMP) ou trifosfato de fluorodeoxiuridina (FdUTP) (LONGLEY; HARKIN; JOHNSTON, 2003).

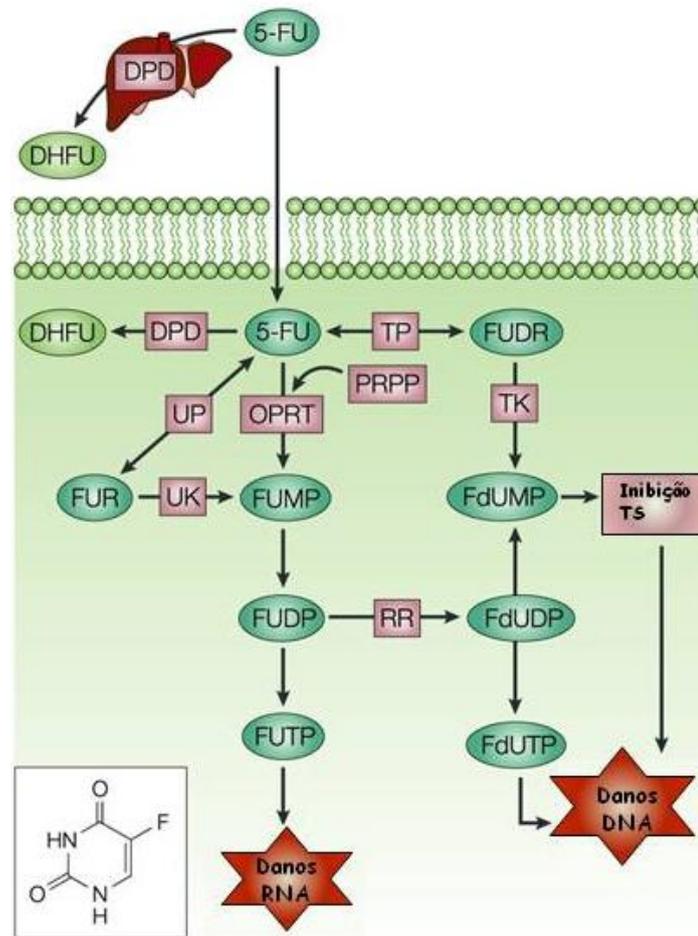


Figura 7 - Metabolismo de 5-Fluorouracil. 5-FU – 5-Fluorouracil; DPD – diidropirimidina desidrogenase; DHFU - diidrofluorouracil; OPRT – orotato fosforibosiltransferase; PRPP – fosforibosil pirofosfato; FUMP – monofosfato de fluorouridina; FUDP – difosfato de fluorouridina; FUTP – trifosfato de fluorouridina; RR - ribonucleotídeo redutase; FdUMP – monofosfato de fluorodeoxiuridina; FdUDP – difosfato de fluorodeoxiuridina; FdUTP – trifosfato de fluorodeoxiuridina; TS – timidilato sintase; TK – timidina cinase; TP – timidina fosforilase; UP – uridina fosforilase; FUR - fluorouridina; UK – uridina cinase; FUDR - fluorodeoxiuridina.

Fonte: Longley, Harkin e Johnston (2003)

O composto FdUDP, formado a partir do FUMP pode ser desfosforilado ou fosforilado, gerando os metabólitos monofosfato de fluorodeoxiuridina (FdUMP) ou trifosfato de fluorodeoxiuridina (FdUTP), respectivamente. FdUMP, um importante metabólito ativo, é capaz de se ligar a enzima timidilato sintase. Esta enzima catalisa a conversão de monofosfato deoxiuridina (dUMP) a monofosfato deoxitimidina (dUTP), fornecendo timidilato para a síntese e reparo do DNA. Ela funciona como um dímero e ambas as subunidades possuem dois sítios de ligação específica sendo um para o dUMP e o outro para a molécula de CH₂THF(5,10-metilenotetrahydrofolato), doadora do grupamento metil necessário para a

produção do timidilato (Figura 3). O composto FdUMP é capaz de se ligar ao sítio de ligação específica do nucleotídeo, formando um complexo ternário estável com a enzima e o CH₂THF, impedindo a ligação do composto dUMP e conseqüentemente a formação do timidilato, essencial na composição do DNA. Esta é uma das vias de ação do 5-FU sobre a síntese do DNA (LONGLEY; HARKIN; JOHNSTON, 2003) (Figura 8).

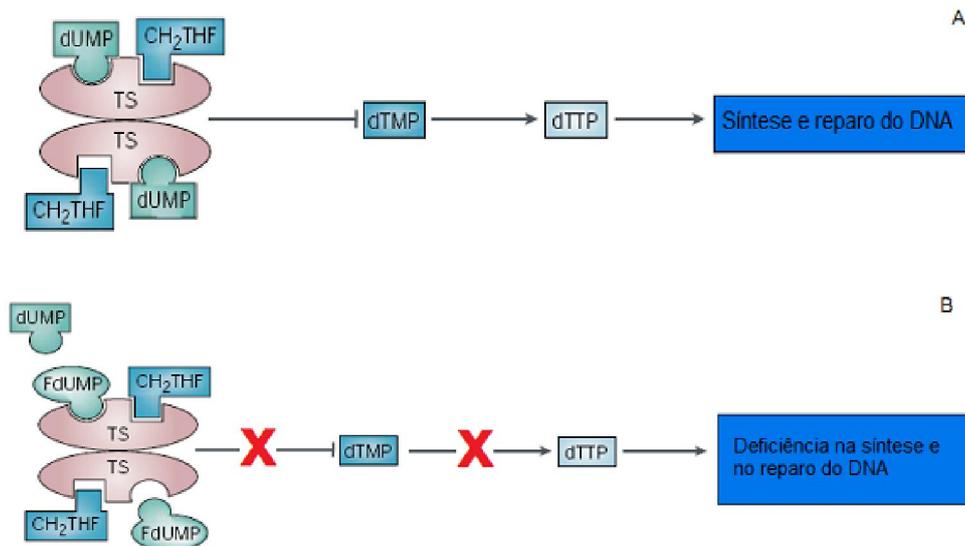


Figura 8 - Esquema representativo da síntese de monofosfato de deoxitimidina (dTMP) a partir do composto monofosfato de deoxiuridina (dUMP). A enzima timidilato sintase (TS) junto ao cofator CH₂THF (5,10-metilenotetrahidrofolato) converte dUMP a dTMP que por sua vez gera dTTP (trifosfato de deoxitimidina), componente essencial da molécula de DNA. Figura 3B: Esquema representativo da ação inibitória do metabólito ativo de 5-FU, FdUMP. FdUMP se liga ao sítio ativo da enzima formando um complexo estável com ela e seu cofator, bloqueando a ligação do composto dUMP e a síntese de dTMP e dTTP, impedindo a síntese e/ou o reparo da molécula de DNA.

Fonte: Longley, Harkin e Johnston (2003).

Uma via alternativa de produção de FdUMP é mediada pela enzima timidina fosforilase, que metaboliza o 5-FU em FUDR o qual é convertido em FdUMP pela ação da timidina cinase (LONGLEY; HARKIN; JOHNSTON, 2003) (Figura 3).

Por sua vez, o metabólito ativo FdUTP, gerado a partir da fosforilação do composto FdUDP é incorporado pelo DNA, levando a danos em sua estrutura e resultando em morte celular (LONGLEY; HARKIN; JOHNSTON, 2003) (Figura 7).

Outra via alternativa de degradação do 5-FU é mediada pela enzima uridina fosforilase que converte o 5-FU em fluorouridina, que é metabolizada pela enzima uridina cinase formando o composto FUMP. FUMP segue sua via de metabolização conforme descrito

anteriormente (LONGLEY; HARKIN; JOHNSTON, 2003) (Figura 7).

1.3.6 CAPECITABINA (FLUOROPIRIMIDINAS ORAIS)

É uma fluoropirimidina oral de tumor seletiva que foi desenvolvida com o objetivo de diminuir a toxicidade gastrointestinal associada a 5'-deoxi-5-fluorouridina (5'DFUR). Isto é, corresponde a uma pró-droga do 5-FU que é convertida no componente ativo preferencialmente nas células tumorais devido aos níveis mais altos de timidina fosforilase no tumor. Foi aprovada primeiramente para tumores de colón e reto em 2005.

É absorvida pela mucosa intestinal, sofre três reações enzimáticas: é metabolizada no fígado pela carboxilestase à 5'-deoxi-5fluorocitidina (5'DFCR), que é convertida pela citidina deaminase a 5' DFUR, sobretudo no fígado e tecidos tumorais. Imediatamente o 5'DFUR é metabolizado a 5-FU pela timidina fosforilase expressa nos tecidos tumorais. O 5-FU será então convertido aos metabólitos ativos FdUMP, FUTP e FdUTP, onde exercerão a atividade citotóxica antitumoral (HOFF et al. 2013).

Sua excreção é urinária (95%), tem indicação bem estabelecida no carcinoma colorretal e na neoplasia mamária, tanto na adjuvância quanto na doença metastática. É também utilizado na segunda linha nos tumores pancreáticos e gastroesofágicos, substituindo o 5-FU (HOFF et al. 2003).

A síndrome pé-mão acomete até 55% dos pacientes, a diarreia pode ocorrer, porém é dose limitante. Náuseas e vômitos também são observados, porém são controlados com uso de antieméticos (HOFF et al. 2003).

1.4 Farmacogenética

A farmacogenética por definição refere-se ao estudo das diferenças genéticas em vias metabólicas que podem afetar as repostas de um indivíduo a drogas em termos de efeitos terapêuticos e adversos (KLOTZ, 2007). Diversos fatores tais como: sexo, idade, etnia, fumo, etilismo e variações genéticas podem influenciar na resposta de um paciente ao medicamento (EVANS; JOHNSON, 2001; SADEE; DAÍ, 2005). Assim, a farmacogenética busca estudar como as diferenças genéticas influenciam na resposta a agentes farmacológicos (MEYER, 2004).

A abordagem tradicional da farmacogenética baseia-se em estudar polimorfismos na sequência de DNA de genes que, provavelmente, afetam a resposta aos medicamentos. Portanto, o objetivo dos estudos farmacogenéticos é buscar uma terapia individualizada que possa maximizar a eficácia dos medicamentos e minimizar os efeitos adversos associados aos fármacos (WEINSHILBOUM; WANG, 2004).

A população brasileira é uma das mais heterogêneas do mundo, em consequência de cinco séculos de miscigenação entre três grupos étnicos, os ancestrais, os ameríndios, os europeus e os africanos. Essa heterogeneidade de miscigenação têm implicações importantes no desenho e interpretação de ensaios clínicos farmacogenéticos, na implementação dos princípios de farmacogenética/farmacogenômica (FGx), na prescrição de medicamentos e, ainda, em relação à extrapolação de dados farmacogenéticos obtidos em outras populações. O paradigma populacional em FGx emerge da observação de que a frequência de inúmeros polimorfismos em “farmacogenes” varia amplamente entre as populações (SUAREZ-KURTZ, 2007). Desta forma, investigar a diversidade de polimorfismos farmacogenéticos em grupos miscigenados é importante uma vez que a maioria dos estudos é realizada em populações europeias. As investigações farmacogenéticas em diferentes grupos humanos podem identificar populações que podem se beneficiar de mais de um fármaco, ou identificar efeitos adversos que não são vistos em outras populações (SUAREZ-KURTZ, 2005).

1.4.1 FARMACOGENÉTICA APLICADA AO CÂNCER

Tradicionalmente a terapia do câncer tem como alvo células em divisão no corpo, entretanto as células cancerosas não são as únicas células em divisão, por isso os tratamentos para o câncer tendem a ter muitos efeitos adversos.

A aplicação da farmacogenética na área oncológica é um processo complexo, por que envolve o difícil manejo clínico da quimioterapia aplicada a dois genomas: o do indivíduo (representado por mutações germinativas) e o do tumor (representado por mutações somáticas) este último apresenta um papel crítico na resposta antineoplásica (REIS, 2006; WANG et al. 2011).

A busca por novas estratégias terapêuticas, menos tóxicas e invasivas, evidencia a interface entre a pesquisa e o atendimento clínico. Essa procura é uma tendência global da farmacogenética, que associa o desenvolvimento de esquemas terapêuticos ao perfil genético

dos pacientes. O advento de novos esquemas terapêuticos de agentes de nova geração oferece esperança para melhorar os resultados dos pacientes e os rápidos avanços no campo da genômica apresentam a oportunidade de estabelecer uma nova estratégia de quimioterápico, a medicina personalizada, que permitirá a seleção da terapia ideal e a dose para cada indivíduo com base em perfis moleculares do tumor e do paciente (NISHIYAMA; EGUCHI, 2009).

Nos últimos anos a farmacogenética vem investigando porque alguns pacientes com câncer não respondem bem a certos tipos de quimioterapia e têm alcançado alguns avanços como no caso do HER2 para transtuzumabe em câncer de mama e EGFR para gefitinibe em câncer de pulmão não pequenas células (BURSTEIN et al. 2003; VIANI et al. 2007; WANG et al. 2011). Resultados encorajadores obtidos nestes estudos sugerem que fatores genéticos podem de fato ser os principais determinantes da resposta à droga pelo menos para alguns medicamentos. Isto representa a possibilidade em um futuro próximo de um tratamento personalizado para melhorar a condição individual do paciente. Ao estratificar pacientes de acordo com o seu perfil genético, o objetivo é identificar aqueles que irão se beneficiar de tratamentos disponíveis em termos de máxima resposta e mínima toxicidade (LOH; SOONG, 2011).

É comum que pacientes que recebem quimioterapia apresentem reações adversas a medicamentos (ADRs). Nos Estados Unidos, as ADRs classificam-se entre a 4ª e 6ª causa de morte (LIOU et al. 2007). Muitas vezes as ADRs resultam em risco de vida ou incapacidade significativa que exige internação ou prolongamento da estadia hospitalar existente, o que acaba por aumentar os gastos com saúde.

Atualmente está disponível uma grande variedade de fármacos em que a farmacogenética pode contribuir para o aprimoramento da terapia oncológica, para esses medicamentos a FDA (Food and Drug Administration) recomenda a utilização de testes farmacogenéticos específicos capazes de predizer a resposta do paciente ao medicamento (WANG; MCLEOD; WEINSHILBOUM, 2011). Desta forma, é possível maximizar a eficácia terapêutica e evitar efeitos tóxicos decorrentes da terapia. A FDA recomenda também análises genéticas em alguns genes entre eles o DPYD e TYMS como exame de prognóstico em pacientes oncológicos que deverão ser tratados com 5-FU (www.pharmgkb.com). Variações no gene DPYD estão associadas com o risco aumentado de eventos adversos.

Os polimorfismos genéticos, em especial SNPs (Polimorfismos de Nucleotídeos Únicos) têm sido associado em muitos estudos a genes de metabolização de drogas e a resposta terapêutica (ULRICH; ROBIEN; MCLEOD, 2003; ABRAHAM et al. 2006; STEARNS; RAE, 2008; DANESI et al. 2008). A identificação de genes (e de formas

alternativas desses genes) responsáveis por efeitos adversos em resposta aos fármacos pode ser muito útil no estabelecimento de políticas de saúde pública e no desenho e interpretação de ensaios clínicos (SUAREZ-KURTZ, 2005).

A Tabela 2 demonstra os principais modelos farmacogenéticos aprovados pela FDA utilizados na prática clínica para terapias antineoplásicas.

Tabela 2 - Biomarcadores farmacogenômicos contidos em rótulos de medicamentos aprovados pelo FDA.

MEDICAMENTO	ÁREA TERAPÊUTICA	BIOMARCADOR	SEÇÕES DO RÓTULO
Trióxido de arsênio	oncologia	PML/RAR α	Box de aviso, farmacologia clínica, indicações e utilização, aviso
Brentuximab vedotin	oncologia	CD30	Indicações e posologia, descrição, farmacologia clínica
Busulfan	oncologia	Cromossomo Ph	Estudos clínicos
Capecitabina	oncologia	DPD	Contraindicações, precauções, informações do paciente
Cetuximab	oncologia	EGFR, KRAS	Indicações e posologia, dosagem e administração, avisos e precauções, descrição, farmacologia clínica, estudos clínicos, reações adversas
Cisplatina	oncologia	TPMT	Farmacologia clínica, avisos e precauções
Crizotinib	oncologia	ALK	Indicações e posologia, avisos e precauções, reações adversas, farmacologia clínica, estudos clínicos
Erlotinib	Oncologia	EGFR	Farmacologia clínica
Everolimus	Oncologia	HER2/NEU	Indicações e posologia, avisos e precauções, reações adversas, uso em populações específicas, farmacologia clínica, estudos clínicos
Exemestano	Oncologia	ER &/ PgR receptor	Indicações e posologia, dosagem e administração, farmacologia clínica, estudos clínicos
Fluorouracil	Oncologia	DPD	Contraindicações, precauções, informações do paciente
Fulvestrant	Oncologia	ER receptor	Indicações e posologia, informações de aconselhamento do paciente
Gefitinib	Oncologia	EGFR	Farmacologia clínica
Imatinib	Oncologia	C-kit, cromossomo Ph, PDGFR, FIP1L1-PDGFR α	Indicações e posologia, dosagem e administração, farmacologia clínica, estudos clínicos
Irinotecano	Oncologia	UGT1A1	Dosagem e administração, avisos, farmacologia clínica
Lapatinib	Oncologia	Her2/neu	Indicações e posologia, farmacologia clínica, informações de aconselhamento do paciente

Cont. **Tabela 2** - Biomarcadores farmacogenômicos contidos em rótulos de medicamentos aprovados pelo FDA

MEDICAMENTO	ÁREA TERAPÊUTICA	BIOMARCADOR	SEÇÕES DO RÓTULO
Letrozole	Oncologia	ER &/ PgR receptor	Indicações e posologias, reações adversas, estudos clínicos, farmacologia clínica
Mercaptopurina	Oncologia	TPMT	Dosagem e administração, Contraindicações, Precauções, reações adversas, farmacologia clínica
Nilotinib	Oncologia	Cromosomo Ph, UGT1A1	Indicações e posologia, informações de aconselhamento do paciente, avisos e precauções, farmacologia clínica
Panitumumab	Oncologia	EGFR, KRAS	Indicações e posologia, avisos e precauções, farmacologia clínica, estudos clínicos
Pertuzumab	Oncologia	Her2/neu	Indicações e dosagem, avisos e precauções, reações adversas, estudos clínicos, farmacologia clínica
Rasburicase	Oncologia	G6PD	Boxe de aviso, Contraindicações
Tamoxifeno	Oncologia	ER receptor	Indicações e posologia, precauções, guia de medicação
Tioguanina	Oncologia	TPMT	Dosagem e administração, Precauções, avisos
Tositumomab	Oncologia	CD20 antigen	Indicações e posologia, farmacologia clínica
Trastuzumab	Oncologia	Her2/neu	Indicações e posologia, precauções, farmacologia clínica
Vemurafenib	Oncologia	BRAF	Indicações e posologia, avisos e precauções, farmacologia clínica, estudos clínicos, informações de aconselhamento do paciente

Fonte: FDA (www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm).

1.5 Marcadores INDEL e Câncer

INDEL é uma denominação comumente empregada para designar marcadores genéticos que apresentam variações dos tipos inserção e deleção de pequenos fragmentos de DNA, sendo, portanto, considerados como polimorfismos bialélicos (SANTOS et al. 2010).

Nos últimos anos, polimorfismos de inserção/deleção tem sido o foco de diferentes pesquisas, permitindo valiosas fontes de dados para estudos posteriores e um mapa inicial do INDEL no genoma humano (BASTOS-RODRIGUES; PIMENTA; PENA, 2006; SANTOS et al. 2010).

Inicialmente, foram identificados, na espécie humana, cerca de dois mil polimorfismos do tipo INDEL. Mais recentemente Mills et al. (2006), descreveram um mapa inicial em humanos que contém 415.436 polimorfismos únicos de INDEL.

Marcadores INDEL podem estar presentes em regiões promotoras ou regiões codificadoras de genes relacionados ao sistema de defesa do organismo e podem levar a redução ou eliminação da atividade gênica. Essa redução/eliminação de atividade gênica pode estar relacionada a processos de indução de diferentes tipos de câncer, dependendo do gene envolvido (LIOU et al. 2007; WHIBLEY; PHAROAH; HOLLSTEIN, 2009).

1.6 Gene

1.6.1 TYMS

O gene TYMS está localizado na região 18p11, possui 30kb de tamanho e é composto por sete éxons (KANEDA et al. 1990) (Figura 9).

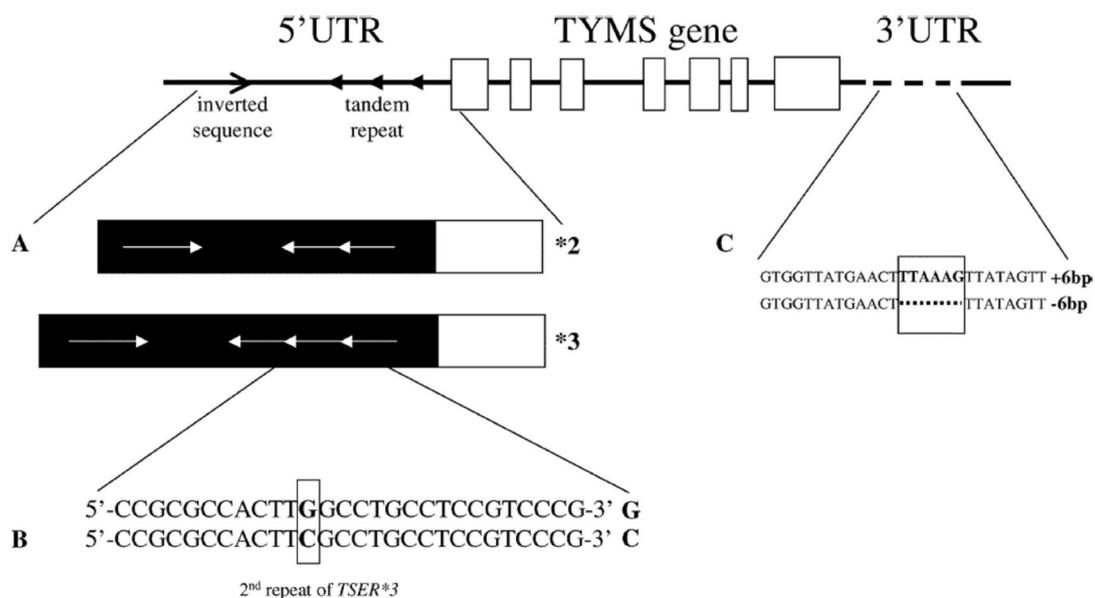


Figura 9 - Localização do gene TYMS no cromossomo 18

Timidilato sintase (TYMS) catalisa a conversão de desoxiuridina monofosfato (dUMP) para desoxitimidina monofosfato (dTMP) e é a única fonte de timidilato intracelular para a síntese de DNA. A inibição da TYMS, que está envolvida na síntese de pirimidina, interrompe a síntese de DNA e retarda a replicação das células cancerosas. TYMS é o principal alvo de 5-FU. 5-FdUMP (5-fluoro-2'-deoxiuridina-5'-monofosfato, um metabólito de 5-FU, inibe TS, o que leva a quebras cromossômicas e morte celular (Nagasubramanian *et al.*, 2003; Rutsum *et al.*, 1997). Muitos estudos mostram que o mRNA de TS e os níveis de proteína estão inversamente relacionados com a resposta clínica (NISHIMURA *et al.* 1999; LEICHMAN *et al.* 1997).

Os níveis de expressão de TS variam em diferentes tumores, e igualmente a sensibilidade de diferentes tumores varia para a terapia com 5-FU. A expressão de TS é parcialmente controlada por dois polimorfismos. Uma sequência de repetição em tandem (TSER) de 28pb da região 5'UTR não traduzida do gene TYMS é polimórfica, contendo alelos com 2, 3, 4, 5 ou 9 cópias de sequência repetida (WATTERS; MCLEOD, 2003). Alelos com 2 ou 3 cópias são os mais comuns. A presença de 3 cópias conduz a expressão aumentada da proteína TS. A sobrevida de pacientes com câncer colorretal avançado é reduzida se a expressão de TS for elevada.

O polimorfismo de repetição em tandem na 5'UTR da região acentuadora de TYMS (TSER), resultando de 2 (TSER*2) até 9 (TSER*9) cópias de uma sequência repetida de 28pb foi identificada (HORIE *et al.* 1995). Vários estudos têm identificado relações entre o genótipo de TSER (predominantemente TSER*2 e 3*) e a resposta a quimioterapia. Em 50 pacientes tratados com 5-FU para câncer colorretal metastático, uma taxa de resposta de 35% maior foi observada em pacientes TSER*2/TSER*2 em comparação com pacientes TSER*2/TSER*3 e TSER*3/TSER*3 (PULLARKAT *et al.* 2001).

Outro importante polimorfismo identificado por Mandola *et al.* (2003) no gene TYMS descreveu um polimorfismo de 6pb de deleção na região 3'UTR, 447pb acima do códon de parada (rs34489327), que faz uma supressão do sítio de ligação USF-1, levando ao aumento da regulação da expressão de TYMS. Esta supressão está associada a uma diminuição da resposta a quimioterapia de combinação contendo 5-FU (MCLEOD *et al.* 2003). A figura 8 representa a estrutura do gene TYMS evidenciando os dois principais polimorfismos associados a resposta ao tratamento com Fluoropirimidinas.

Segundo Ghosh *et al.* (2012) ambos os polimorfismos estão em desequilíbrio de ligação logo associados ao perfil de resposta ao tratamento com 5FU (figura 10).

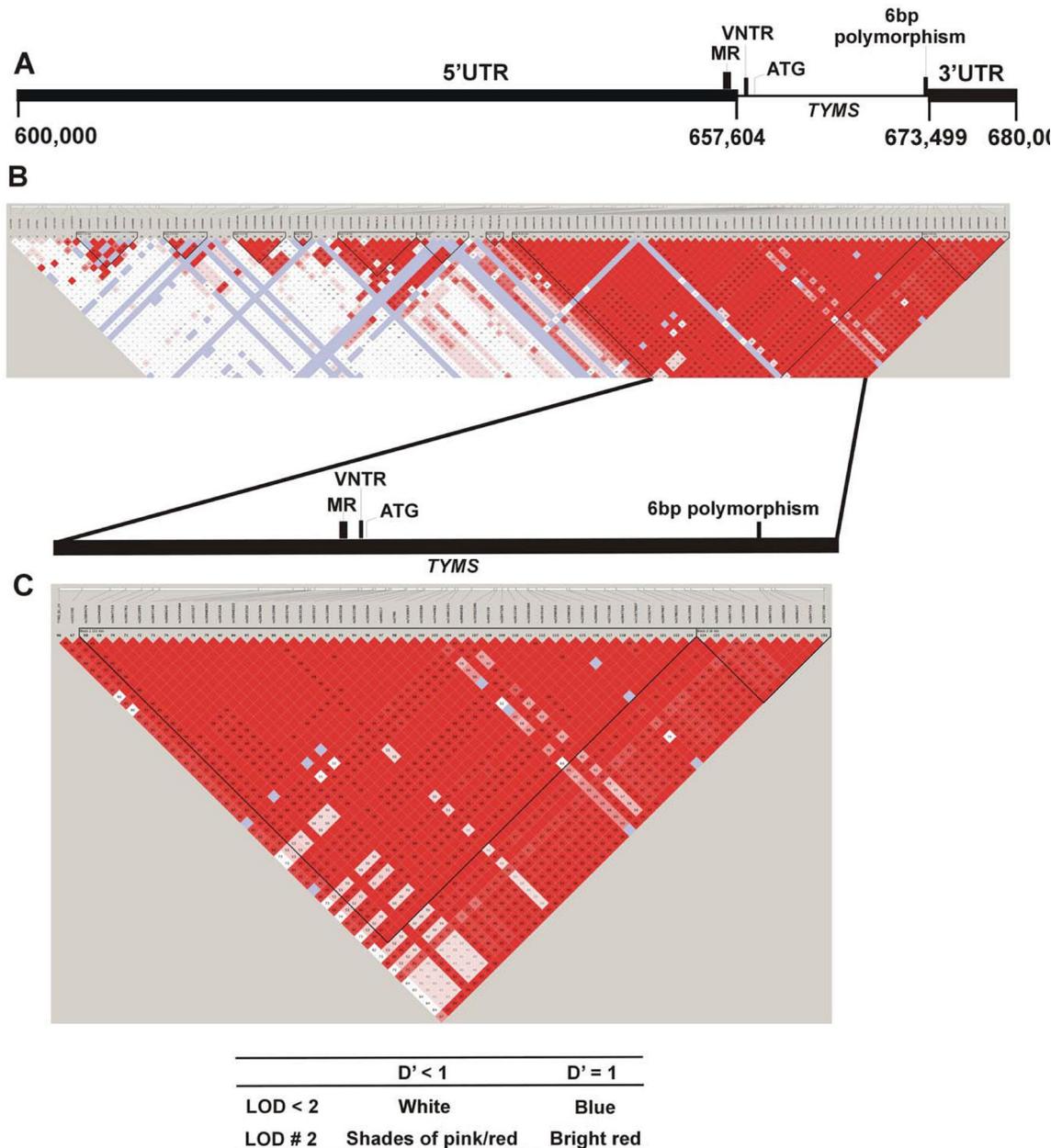


Figura 10 - Ilustra a estrutura do gene *TYMS* e o desequilíbrio de ligação entre os marcadores VNTR e INDEL e os 6 marcadores dos pares de bases.

1.7 CONTROLE GENÔMICO DA ANCESTRALIDADE

A identificação de genes (e formas alternativas desses genes) responsáveis por efeitos adversos em resposta aos fármacos pode ser muito útil no estabelecimento de políticas de saúde pública e no desenho e interpretação de ensaios clínicos. A existência de diferenças inter-étnicas em relação à variabilidade encontrada em genes envolvidos com resposta aos

fármacos, pode ser um fator importante para a interpretação errônea dos resultados (SUAREZ-KUTZ, 2005; DAAR; SINGER, 2005).

O controle genômico é particularmente importante nas amostras que serão investigadas, pois foi estimado na população do Norte brasileiro um elevado grau de subestruturamento populacional que justifica a utilização deste controle em estudos de associação com doenças (SANTOS et al. 2010).

Desta maneira é importante empregar tecnologias capazes de realizar um controle genômico entre casos e controles. Quantificando individualmente a proporção de mistura entre as populações ancestrais, logo corrigir o provável efeito do subestruturamento populacional na amostra investigada.

Uma ferramenta importante que pode ser empregada nestas análises são os Marcadores Informativos de Ancestralidade (MIAs), também chamados de “marcadores população-específicos” (PARRA et al. 2003).

Para atingir o objetivo proposto o presente trabalho utilizará 1INDEL, (inserção/deleção) marcadores informativos de ancestralidade, capazes de se estimar com precisão a mistura individual e global inter-étnica em populações miscigenadas com diferentes grupos étnicos (SANTOS et al. 2010).

2 APLICABILIDADE

Por ser o câncer um problema de saúde pública de ordem mundial, e o estado do Pará apresentar alta incidência e mortalidade desta doença, a busca de esquemas terapêuticos que venham trazer benefícios aos pacientes acometidos desta doença se torna extremamente necessário.

Populações brasileiras nas quais o câncer de mama, colorretal e gástrico é endêmico, como a população paraense, irão se beneficiar com as informações obtidas nesta proposta.

A identificação de indivíduos com maior risco de desenvolver um efeito adverso com base no genótipo melhoraria o aconselhamento e as opções de tratamento, sendo o primeiro passo no desenvolvimento de marcadores de prognóstico para reduzir a incidência desses efeitos, melhorando assim os resultados do tratamento.

O objetivo deste tipo de investigação possibilita elaborar políticas públicas capazes de realizar um tratamento personalizado para o câncer, de maneira a maximizar a eficácia terapêutica e diminuir a toxicidade. Para melhor compreender o efeito desses polimorfismos em genes de metabolização e relacionar a resposta aos fármacos, pesquisas com farmacogenéticas no Brasil devem controlar o efeito da ancestralidade para realizar inferências a respeito do efeito desses polimorfismos no tratamento do câncer.

O desenvolvimento de pesquisas em farmacogenética iniciará uma nova era na medicina. Estabelecendo o conceito de uma terapia individualizada, onde o fármaco certo é administrado na dose certa para o paciente correto também é bastante promissor, pois a redução dos efeitos adversos além de serem alcançadas pela seleção do melhor fármaco e a melhor dose para aqueles pacientes que têm metabolização deficiente, poderá ainda abrir as portas para a pesquisa e o desenvolvimento de novos alvos terapêuticos, que não sejam metabolizados por determinada enzima ou via (FIEGENBAUM; HUTZ, 2006).

O gene TYMS já é amplamente utilizado em prática clínica pelas agências americanas (FDA-food and drug administration) e européia (European Medicines Agency) como exame preditivo de resposta ao tratamento com fluoropirimidinas. A análise molecular do gene TYMS pode auxiliar oncologistas no manejo terapêutico deste fármaco, logo pesquisas que possam estabelecer condutas terapêuticas são de grande importância na prática clínica.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar a variabilidade do polimorfismo presentes no gene TYMS envolvido na farmacogenética do 5-FU, e buscar associação do polimorfismo INDEL no gene TYMS com o padrão de resposta ao tratamento oncológico com os fármacos com base em fluoropirimidina de maneira que possam contribuir para o desenvolvimento de métodos de diagnóstico e prognóstico.

3.2 Objetivos Específicos

- Demonstrar o perfil clinico-epidemiológico dos 151 pacientes tratados com 5-FU;
- Investigar um marcador molecular (INDEL) no gene TYMS que possa ser utilizado como provável exame preditivo de resposta ao tratamento com 5-FU;
- Investigar a associação dos polimorfismos selecionados em uma amostra de 151 pacientes com câncer tratado com 5-FU do Estado do Pará;
- Investigar a associação entre o genótipo do paciente com câncer tratado com 5-FU e os dados clínicos e laboratoriais desses pacientes;
- Investigar a contribuição inter étnica com base nos 60 IAM em pacientes portadores de neoplasias tratados com regime com base em fluoropirimidinas;
- Investigar a correlação dos indicadores de resposta clínicos com o perfil de ancestralidade genômica quanto ao uso de 5-FU.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostras Estudadas

Para realização deste estudo foram coletadas amostras de sangue periférico de 151 pacientes com diagnóstico de câncer que estão em tratamento com o quimioterápico 5-FU e que são atendidos no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB) / Unidade de Alta Complexidade em Oncologia (UNACON) e Hospital Ophir Loyola (HOL), todas essas unidades estão localizadas na cidade de Belém, no Estado do Pará.

Durante o estudo os pacientes foram devidamente esclarecidos a respeito da pesquisa na qual estão participando e solicitados a assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, permitindo o uso de suas alíquotas de sangue e obtenção de seus dados clínicos e epidemiológicos retrospectivos em nível de prontuário atualizado até dezembro de 2013. É importante ressaltar, que antes da coleta de amostras, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética do Hospital Universitário João de Barros Barreto.

4.2 Extração de DNA

O material genético será extraído a partir do sangue total pelo método convencional com fenol-clorofórmio e precipitação com etanol, conforme descrito por Sambrook, Fritsch e Maniatis (1989).

4.3 Genotipagem dos Polimorfismos

Serão genotipados dois importantes polimorfismos no gene TYMS envolvidos na resposta ao tratamento com 5-FU. Um dos polimorfismos investigados é um INDEL que já é utilizado e recomendado na prática clínica pelas agências européia e americana de regulamentação de fármacos, e largamente investigado na literatura especializada na resposta ao tratamento com 5-FU

Os polimorfismo do tipo INDEL e genotipado utilizando uma reação de PCR com

primers específicos para a região de interesse e posterior sequenciamento.

Tabela 3 - Gene TYMS e seus principais polimorfismos relacionados à metabolização e farmacogenética do 5-FU.

GENE	RS	TIPO DE POLIMORFISMO
TYMS	16430	INDEL

4.4 Análises Estatísticas

Os dados serão analisados utilizando-se três programas: O programa Structure v.22 será utilizado para estimar a proporção individual e global de ancestralidade dos pacientes com câncer, tratados com 5-FU de maneira a poder realizar o controle o efeito da ancestralidade genômica entre os indivíduos. O programa SPSS 14.0 será empregado nas análises de regressão logística para os marcadores genéticos investigados (SPSS Ins. Chicago, IL, USA).

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização da amostra de pacientes em regime com fluoropirimidinas

As características epidemiológicas de 151 pacientes inclusos na análise estão listadas na tabela 1. Onde foram avaliados no período de 1 de março de 2013 a 30 de dezembro de 2013. Houve predominância do sexo masculino com 52,7%. Foi observado que a idade média dos pacientes foi de 55,3 anos, variando entre 18 e 86 anos. A localização foi referida em apenas 143 prontuários onde prevaleceu colón e reto com 44,7%, estômago com 39,9% e canal anal com 8,4%. Cerca de 40,5% dos pacientes foram classificados como localmente avançados (estádio III e IV), correspondendo a 40,5% com câncer gástrico e 30,8% com câncer colorretal. O uso de fluoropirimidinas de maneira adjuvante foi observado em 44,6% e 32,7% na forma paliativa. A combinação de fluoropirimidinas com outras drogas citotóxicas foi observada em 46,7% dos pacientes, e em monoterapia em 45%. A administração em bolus (infusão rápida) foi observada em 86,2%, e apenas 13,8% na forma infusional. A média de ciclos observada foi de 5,98, variando entre 1 e 24 ciclos. O perfil de tratamento oncológico se destaca como resultado o tratamento monoterápico com fluoropirimidina associado ao leucovorim (LV-potencializador de 5FU) responsável por 59 pacientes tratados. Os pacientes que não progrediram em uso de fluoropirimidinas em monoterapia foram 52,4%. Em relação ao esquema com poliquimioterapia, ou seja, fluoropirimidinas em combinação com outros fármacos foi observado que 24,3% para combinação de platinas e 9,7% com irinotecano no grupo que não foi observado progressão de doença. Foi observado que a grande maioria dos pacientes apresentava doença avançada no momento do diagnóstico, pois 32,7% receberam tratamento com intenção paliativa e 22,8% intenção neoadjuvante.

Tabela 4 - Características clínico-epidemiológicas dos 151 pacientes tratados com fluorpirimidina*

Característica	Número de pacientes (%/\$)	
Gênero	n=150	
Masculino	79 (52,7)	
Feminino	71 (47,3)	
Idade média (n=139)	55,3 (18-86)	
Tumor primário	n=143	
Gástrico	57 (39,9)	
Cólon e Reto	64 (44,7)	
Canal anal	12 (8,4)	
Outros	10 (7,0)	
Estadiamento	Estômago (n=42)	Cólon e Reto (n=52)
I	2 (4,8)	3 (5,8)
II	9 (21,4)	15 (28,9)
III	14 (33,3)	18 (34,6)
IV	17 (40,5)	16 (30,8)
Tipo de tratamento	n=101	
Adjuvante	45 (44,6)	
Neo-adjuvante	23 (22,8)	
Paliativo	33 (32,7)	
Regime quimioterápico	n=120	
5-FU bolus + leucovorin	54 (45,0)	
5-FU bolus + leucovorin + oxaliplatina [#]	21 (17,5)	
5-FU bolus + irinotecano	10 (8,3)	
5-FU bolus + CDDP	9 (7,5)	
Capecitabina + platina	6 (5,0)	
Nigro modificado	8 (6,7)	
mFOLFOX	4 (3,3)	
ECF	2 (1,7)	
DCF modificado	2 (1,7)	
Outros	4 (3,3)	
Forma de infusão de 5-FU	n=116	
5-FU em bolus	100 (86,2%)	
5-FU infusional	16 (13,8%)	

Observações:

* o número de indivíduos (n) refere-se aos que possuem dados para a referida característica

\$ intervalo de mínimo e máximo quando adequado

[#] engloba os esquemas FLOX modificado e Nordic FLOX

¹ Segundo o TNM do AJCC (2010)

² CDDP – cisplatina

³ platina – cisplatina ou oxaliplatina

⁴ FOLFOX6 – oxaliplatina + leucovorin + 5-FU *bolus* + 5-FU infusional

⁵ ECF – epirrubicina + cisplatina + 5-FU infusional

⁶ DCF modificado – docetaxel + cisplatina + 5-FU

⁷ Teste de Mann White

5.2 Ancestralidade Global da Amostra Investigada

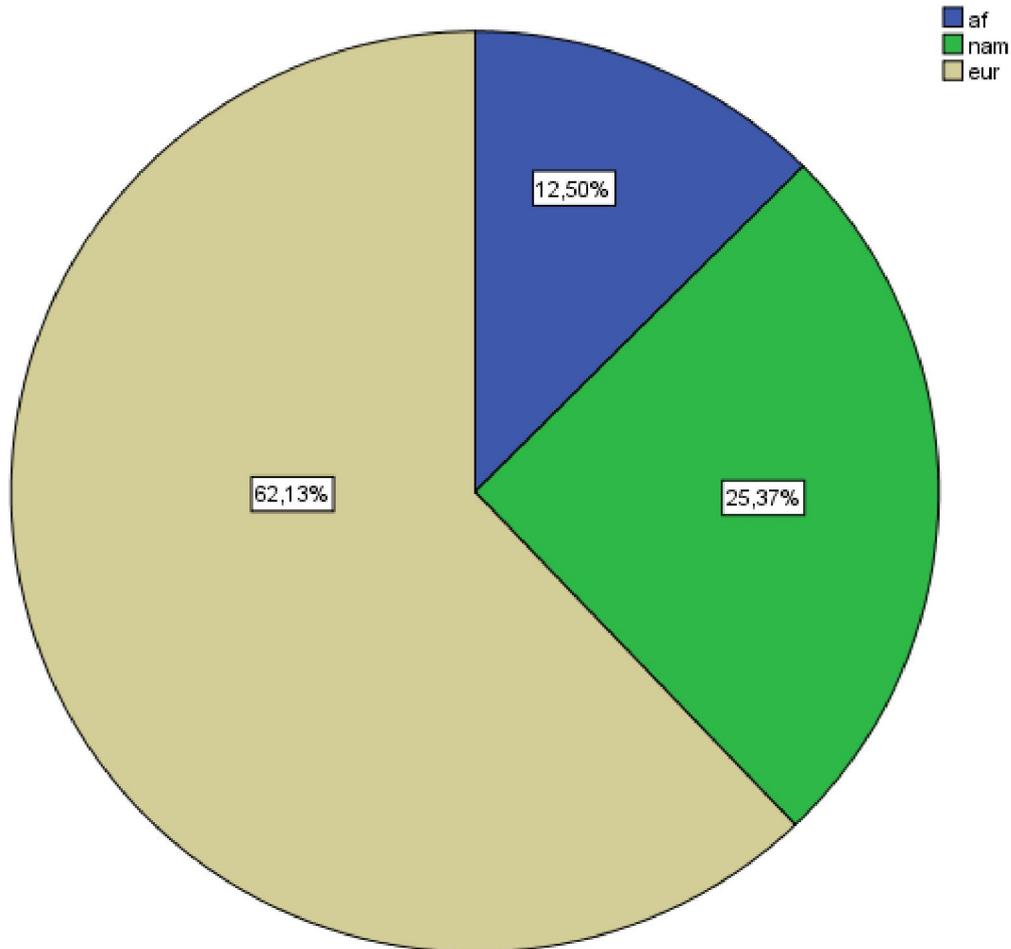


Figura 11 - Gráfico de pizza que ilustra a distribuição média global das ancestralidades entre as amostras dos pacientes tratados com fluoropirimidinas

A figura 11 ilustra a distribuição das ancestralidades entre a amostra investigada. A ancestralidade observada foi 62,4% europeia, 25,2% nativa americana e 12,4% africana na amostra global de pacientes tratados com fluoropirimidinas.

5.3 Caracterização de amostras agrupadas em pacientes de acordo com a progressão tumoral

A tabela 2 evidencia dados clínicos e epidemiológicos de 147 pacientes portadores de neoplasia em regime com fluoropirimidinas estruturados em grupos de acordo com a progressão tumoral (13 pacientes) e sem progressão (134 pacientes). A variável gênero não foi significativa ($P= 1,0$) para a resposta tumoral avaliada pela presença ou ausência de progressão. A média de idade apresentou uma diferença de cerca de 5 anos para o grupo que progrediu o tumor, contudo esta variável não foi significativa. Todos os pacientes que obtiveram resposta clínica não apresentaram progressão tumoral, essa variável demonstrou-se consideravelmente significante ($P= 0,006$). Foi considerada doença estável os pacientes que não progrediram e não obtiveram resposta sendo 58% entre os pacientes que não progrediram. A resposta radiológica apesar de ter seguido o mesmo padrão que a resposta clínica em relação a não progressão, não foi significativa (0,098) de acordo com a análise dos dados. Ausência de significância para resposta radiológica se deve a lacunas nos prontuários dos pacientes envolvidos na pesquisa. O perfil de tratamento oncológico se destaca como resultado o tratamento monoterápico com fluoropirimidina associado ao leucovorin (LV-potencializador de 5FU) responsável por 59 pacientes tratados. Os pacientes que não progrediram em uso de fluoropirimidinas em monoterapia foram 52,4%. Em relação ao esquema com poliquimioterapia, ou seja, fluoropirimidinas em combinação com outros fármacos foi observado que 24,3% para combinação de platinase 9,7% com irinotecano no grupo que não foi observado progressão de doença. No status vital foi observados que 19 pacientes que evoluíram ao óbito no decorrer do tratamento, sendo que 84,2% apresentaram progressão de doença. A maioria dos pacientes que não apresentaram progressão de doença foi tratada de maneira adjuvante representando 90,9%. O tratamento com intenção paliativa mostrou que 25 pacientes representando 78% não apresentaram progressão, ou seja, doença estável. Com relação à forma neoadjuvante de tratamento sistêmico 100% dos pacientes analisados apresentavam doença estável sem progressão.

Os valores médios de ancestralidade genômica não foram significativamente diferentes nos grupos com relação à progressão tumoral.

Tabela 5 - Características clínica- epidemiológicas de pacientes em uso de fluoropirimidinas subgrupados de acordo com a progressão da doença

Características	Progressão: Sim(N = 13)	Progressão: Não(N = 134)	P values
Gênero			
Feminino	5(45,5)	64(47,8)	1,000
Masculino	6(54,5)	70(52,2)	
Idade	59±9,72968	54,86±13,29	0,278
Resposta Clínica			
Presente	0,00	25(41,7)	0,006
Ausente	11(100)	35(58,3)	
Resposta radiológica			
Presente	0(0,0)	12(15)	0,098
Ausente	11(100)	36(75)	
Tratamento			
5FU+LV	5(38,5)	54(52,4)	
5FU+Irinotecano	1(7,7)	10(9,7)	0,116
5FU+Platina	7(53,8)	25(24,3)	
Outros	0(0,0)	14(13,6)	
Tipo de tratamento			
Adjuvante	4(9,1)	40(90,9)	
Neoadjuvante	0(0,0)	23(100,0)	0,154
Paliativo	7(21,9)	25(78,1)	
Status Vital			
Vivos	8(6,2)	120(93,8)	0,154
Óbito	3(15,8)	16(84,2)	
Ancestralidade Africana	0,176±0,299	0,122±0,155	0,493
Ancestralidade Européia	0,601±0,303	0,618±0,228	0,994
Nativo-americana	0,221±0,221	0,258±0,202	0,502

¹ Número (Porcentagem) por categoria ; Média ± desvio para dados quantitativos.

5.4 Associação polimorfismo INDEL no gene TYMS para progressão tumoral

Tabela 6 - Caracterização do polimorfismo INDEL no gene TYMS associado a progressão tumoral.

Características	Progressão: Sim (N = 12)	Progressão: Não (N = 130)	P values	OR IC(95%)
Ins/Ins	1(8,3)	20(15,4)		
Del/Ins	4(33,3)	61(46,9)	*0,033	0,245 95%IC(0,067-0,895)
Del/Del	7(58,3)	49(37,7)		

*regressão logística avaliou o efeito do homocigoto. Inserção para progressão da doença.

*o modelo de regressão logístico múltiplo utilizado considerou como co-variáveis as ancestralidades, resposta clínica e resposta radiológica.

¹ Número (Porcentagem) por categoria; Média \pm desvio para dados quantitativos.

A tabela 6 evidencia a distribuição dos genótipos observados nos estudos subestruturados em pacientes com e sem progressão. Podemos destacar um efeito de proteção significativo ($P = 0,033$). O polimorfismo INDEL no gene *tyms* demonstrou ter um efeito de proteção à progressão tumoral avaliada clinicamente. Pacientes tratados com fluoropirimidinas que eram homocigotos selvagens (Ins/Ins) apresentaram uma proteção à progressão tumoral de 24 % comparado com outros genótipos destes polimorfismos.

5.5 Correlação entre a ancestralidade ameríndia e presença metástase

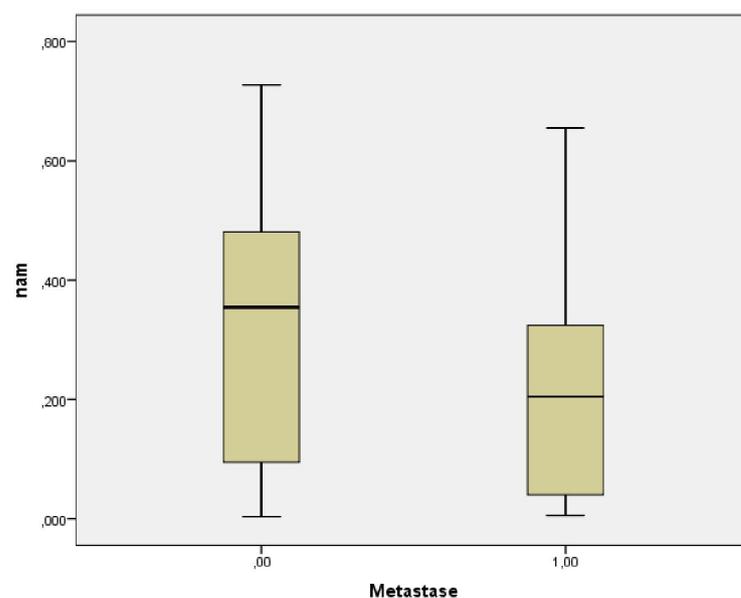


Figura 12 - Box Plot de relação entre a ancestralidade Ameríndia e a presença ou ausência de metástase

A figura 12 ilustra um box plot dos valores quantitativos da ancestralidade nativo americana subgrupando os pacientes no regime com fluoropirimidinas de acordo com a presença ou ausência de metástase. Os valores médios obtidos foram de cerca de 20% no grupo de pacientes que evoluíram para metástase e 30% no grupo sem esta progressão tumoral. A análise das medias apresenta uma correlação significativa ($P = 0,024$) entre a redução da ancestralidade Nativo americana e presença de metástase.

6 DISCUSSÃO

6.1 Biomarcador TYMS associado a resposta terapêutica ao uso de 5FU

Nas últimas décadas, o câncer, vem convertendo-se em um evidente problema de saúde pública mundial. A *World Health Organization* (WHO) estimou que, no ano 2030, podem-se esperar 27 milhões de casos incidentes de câncer, 17 milhões de mortes por câncer e 75 milhões de pessoas vivas, anualmente, com câncer (WORLD..., 2009). O maior efeito desse aumento vai incidir em países de baixa e média renda (INSTITUTO..., 2011).

As fluoropirimidinas são consideradas um dos principais fármacos utilizados no tratamento do câncer no mundo (HOFF et al. 2003). Contudo, diferentes estudos em múltiplos centros em oncologia relatam variações inter étnicas e interindividuais na terapêutica deste fármaco.

A aplicação da farmacogenética na área oncológica é um processo complexo, por que envolve o difícil manejo clínico da quimioterapia aplicada a dois genomas: o do indivíduo (representado por mutações germinativas) e o do tumor (representado por mutações somáticas) este último apresenta um papel crítico na resposta antineoplásica (REIS, 2006; WANG; MCLEOD; WEINSHILBOUM, 2011).

A busca por novas estratégias terapêuticas, menos tóxicas e invasivas, evidencia a interface entre a pesquisa e o atendimento clínico. Essa procura é uma tendência global da farmacogenética, que associa o desenvolvimento de esquemas terapêuticos ao perfil genético dos pacientes.

O advento de novos esquemas terapêuticos com agentes químicos de nova geração oferece nova esperança para melhorar os resultados de tratamento entre pacientes. De forma convergente, os rápidos avanços no campo da genômica funcional tem permitido estabelecer novas estratégias de quimioterapia, que permitem a escolha do fármaco ideal, na dose adequada, para cada indivíduo, tomando por base os perfis moleculares do paciente (tanto de células normais como de células tumorais, dependendo do caso), o que se descreve comumente como a medicina personalizada (NISHIYAMA; EGUCHI, 2009).

Nos últimos anos muito se tem investigado sobre causas de respostas individuais diferenciadas em relação ao tratamento quimioterápico. Hoje é possível identificar avanços significativos no conhecimento das interações entre polimorfismos presentes em determinados

genes e a resposta individual ao tratamento com drogas específicas. Este é o caso dos polimorfismos do gene HER2 e o tratamento com trastuzumab em câncer de mama, bem como o de polimorfismos do gene EGFR e o tratamento com gefitinib, em câncer de pulmão de não pequenas células (BURSTEIN et al. 2003; VIANI et al. 2007; WANG et al. 2011). Resultados obtidos nestas investigações sugerem que fatores genéticos podem, de fato, serem considerados os principais determinantes da resposta à droga, pelo menos para alguns medicamentos.

Esses avanços representam a possibilidade de, em um futuro próximo, oferecer um tratamento personalizado (com fármaco adequado em dose exata) que pode melhorar a condição clínica e sobrevida do paciente, que seja eficiente em termos de máxima resposta e mínima toxicidade (LOH; SOONG, 2011).

É comum que pacientes que recebem quimioterapia apresentem reações adversas a medicamentos (ADRs). Nos Estados Unidos, as ADRs classificam-se entre a 4ª e 6ª causa de morte (LIOU et al. 2007). Muitas vezes as ADRs resultam em risco de vida ou incapacidade significativa que exige internação ou prolongamento da estadia hospitalar existente, o que acaba por aumentar os gastos com saúde.

Atualmente está disponível uma grande variedade de fármacos que e podem contribuir para o aprimoramento da terapia oncológica e que tem aproveitamento clínico diferenciado em relação à presença de polimorfismos genéticos conhecidos. Para esses medicamentos a FDA (Food and Drug Administration) recomenda a utilização de testes farmacogenéticos específicos capazes de prever a resposta do paciente ao medicamento (WANG et al. 2011). Esta é uma tentativa de maximizar a eficácia terapêutica e evitar efeitos tóxicos decorrentes da terapia.

Um dos genes mais importantes para farmacogenética oncológica relacionado a resposta terapêutica é o gene TYMS que codifica uma enzima chamada de timidilato sintetase (TS) que participa na metabolização das fluoropirimidinas (HOUTSMA; GUCHELAR; GELDERBLUM, 2010; WALTHER et al. 2009; LI; BLUTH, 2011). O gene TYMS possui dois polimorfismos que são recomendados pelas agências americana e europeia FDA e agência europeia que regulamentam terapias como biomarcadores preditores de resposta clínica a terapia com 5FU (<http://www.pharmgkb.org/>).

O objetivo da presente dissertação foi investigar um polimorfismo INDEL no gene TYMS buscando associar este biomarcador com o variável padrão de resposta em pacientes oncológicos tratados com fluoropirimidinas. A expectativa é de que o projeto possa colaborar no estabelecimento da medicina personalizada em nosso país.

Nossos resultados demonstram que pacientes homocigotos selvagens para o polimorfismo INDEL na região 3'UTR em regime de fluoropirimidinas apresentam proteção a progressão tumoral com cerca de 25%.

Um meta-análise nos estados unidos que avaliou diferentes terapias com base em fluoropirimidinas identificou os polimorfismos INDEL e o VNTR na região 5'UTR no gene TYMS como sendo os biomarcadores mais importantes na predição de resposta a sobrevida livre de progressão em pacientes com câncer colorretal metastático.

Outros trabalhos realizados no mundo demonstraram um benefício na utilização do biomarcador INDEL na predição de resposta terapêutica em pacientes em uso de 5FU (HOUTSMA; GUCHELAR; GELDERBLOM, 2010; SHAHROKNI; RAJBI; SAIF, 2009) definido segundo Gosh et al. (2012) que o polimorfismo INDEL investigado esta em desequilíbrio de ligação com o polimorfismo VNTR na região 5'UTR, logo é razoável supor que o efeito clinico observado no estudo possa sofrer influencia do polimorfismo VNTR de 28 pb não investigado no projeto .

Outros estudos não puderam encontrar associação significativa para nosso polimorfismo relacionado resposta terapêutica (GUSELLA et al. 2011).

Nosso estudo corrobora com as recomendações de agências especializadas em oncologia mundiais que utilizam o marcador molecular INDEL no gene TYMS na pratica clinica.

A pressuposição de realização da medicina personalizada utilizando exames preditivos de risco a terapia são de fundamental importância na oncologia, pois a ausência de resposta e as toxicidade muitas vezes são fatais em pacientes portadores de neoplasia. Logo, estudos em farmacogenética podem auxiliar oncologistas clínicos em uma terapia individualizada evitando mortalidade e redução de custos na terapia.

6.2 Correlação entre ancestralidade genômica ameríndia e resposta a terapia com 5FU

A estratificação populacional em estudos caso-controle é uma das responsáveis por grande parte das associações falso-positivas (PRITCHARD; ROSENBERG, 1999), pois diferenças genéticas entre grupos étnicos muitas vezes levam a diferença na resposta ao tratamento. A população brasileira apresenta uma origem tri-étnica, com europeus, africanos e ameríndios, contribuindo para a sua constituição genética. Além dos grupos formadores

originais do período colonial, o Brasil recebeu nos séculos XIX e XX imigrantes de várias partes do mundo (SALZANO; BORTOLINI, 2002). Nesse ponto, a aplicabilidade da farmacogenética no Brasil torna-se diferenciada, pois os modelos farmacogenéticos atuais não são aplicáveis às populações com alto grau de miscigenação (SUAREZ-KURTZ et al. 2007).

Dependendo da região geográfica do Brasil, o processo de miscigenação entre as três subpopulações ancestrais ocorreu de forma muito diferenciada. É praticamente consenso entre pesquisadores que em todo o território brasileiro a contribuição de genes (autossômicos) europeus é maior do que a dos outros grupos étnicos. Também é aceito comumente que a contribuição de genes ameríndios é maior nas populações da região Norte e que a de genes africanos é maior na região Nordeste e que no Sul do país a contribuição de genes europeus é a mais elevada (CALLEGARI-JACQUES et al. 2003).

A existência de diferenças inter-étnicas, em relação à variabilidade encontrada em genes envolvidos com a resposta aos fármacos, pode ser um fator importante para a interpretação errônea dos resultados (SUAREZ-KURTZ, 2005; DAAR; SINGER, 2005). Em investigações do tipo caso-controle, os resultados podem ser mal interpretados em função da existência de uma estratificação populacional não identificada, entre os dois grupos investigados. Esse fato é particularmente importante quando as investigações são realizadas em populações miscigenadas, em um passado relativamente recentemente (como é o caso do processo de formação da maioria da população brasileira). Logo, controlar o efeito da etnicidade é importante, principalmente em populações que historicamente apresentam elevados graus de mistura interétnica, como a amostra investigada.

Somado à complexas interações Interétnica na formação da população base de nosso estudo temos o fato que a flupiridinas são considerados fármacos etnicamente dependentes, logo apresentam um perfil de toxicidade variado nas populações mundiais .

As estimativas de ancestralidade global da amostra investigada foram: 62,4% europeia, 25,2% nativo americana e 12,4% africana. Essas estimativas são similares a população do Norte do Brasil (SANTOS et al. 2010). Logo nossos dados não podem apontar diferenças significativas com relação à ancestralidade global entre pacientes envolvidos no projeto e a população de que compõe esta amostragem.

Contudo quando segregamos nossa amostra de acordo com a presença de metástase observamos uma alteração nas estimativas de ancestralidade ameríndia entre os grupos. Sendo observado diferença entre os valores dos médios entorno de 10% para pacientes que desenvolveram e não desenvolveram metástase. Logo podemos observar uma correlação significativa ($P = 0,024$) entre a redução da ancestralidade Nativo americana e presença de

metástase.

Uma publicação recente de Fejerman et al. (2013) buscaram associação entre a ancestralidade genômica e a resposta em terapias para câncer de mama. Neste estudo os resultados evidenciaram uma clara correlação entre o aumento da ancestralidade nativo americana e ausência de resposta as terapias para o câncer de mama.

Trabalhos na literatura especializada já documentaram que as fluoropirimidinas apresentam um perfil de toxicidade variável de acordo com a etnicidade, sendo considerado um fármaco “eticamente dependente” (CHUAH et al. 2010; WANG; MCLEOD; WEINSILBOUM, 2011; SUAREZ-KUTZ, 2005). Nosso trabalho sustenta a hipótese que uma importante variável de resposta representada pela presença de metástase pode sofrer influência da variação nas estimativas de ancestralidade genômica ameríndia.

Devemos destacar que poucos trabalhos na literatura mundial investigaram até o momento a correlação entre ancestralidade genômica e a resposta ou toxicidade a diferentes terapias (FEJERMAN et al. 2013). Contudo é comum relatos em vários trabalhos na literatura o emprego do conceito de “fármaco etnicamente dependente”. Nosso trabalho é pioneiro em demonstrar que existe correlação entre a composição inter-étnico individual nativo América e a presença de metástase na terapêutica com fluoropirimidinas.

7 CONCLUSÃO

Concluimos que o polimorfismo INDEL no gene TYMS é um importante biomarcador preditor de resposta a terapia com fluoropirimidinas. Os pacientes homocigotos selvagens (Ins/Ins) apresentaram uma proteção à progressão tumoral de 24% comparado com outros genótipos destes polimorfismos. Este achado corrobora com as recomendações de agências especializadas em oncologia mundiais que utilizam o marcador molecular INDEL no gene TYMS na prática clínica.

Nesta investigação foi possível estabelecer uma correlação inversa entre o aumento da ancestralidade ameríndia e o desenvolvimento de metástase.

O presente estudo contribui no estabelecimento de bases metodológicas e científicas para o desenvolvimento da medicina personalizada.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, J. et al. Pharmacogenetics of cancer chemotherapy. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1766, n. 2, p. 168-83, 2006.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA (ANVISA). **Definições em Pesquisa Clínica**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 14 jun. 2012.
- AJANI, J. A. et al. Phase I pharmacokinetic study of S-1 plus cisplatin in patients with advanced gastric carcinoma. **J Clin Oncol.**, v. 23, n. 28, p. 6957-65, 2005.
- AMSTUTZ, U. et al. Research article Dihydropyrimidine dehydrogenase gene variation and severe 5-fluorouracil toxicity : a haplotype assessment. **Pharmacogenomics**, v. 10, n. 6, p. 931-44, Jun. 2009.
- ANDREASSI, M. G. et al. Genetic polymorphisms in XRCC1, OGG1, APE1 and XRCC3 DNA repair genes, ionizing radiation exposure and chromosomal DNA damage in interventional cardiologists. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of mutagenesis**, v. 666, n. 1-2, p. 57-63, Jun. 2009.
- ARIYOSHI, N.; SAWAMURA, Y.; KAMATAKI, T. A novel single nucleotide polymorphism altering stability and activity of CYP2a6. **Biochem Biophys Res Commun.**, v. 281, n. 3, p. 810-4, Mar. 2001.
- BAKER, S. D. et al. Phase I and pharmacological study of oral 5-fluorouracil on a chronic daily schedule in combination with the dihydropyrimidine dehydrogenase inactivator eniluracil, **J Clin Oncol.**, v. 18, n. 4, p. 915-26, Feb. 2000.
- BASTOS-RODRIGUES, L.; PIMENTA, J. R.; PENA, S. D. J. The Genetic Structure of Human Populations Studied Through Short Insertion-Deletion Polymorphisms. **Ann Hum Genetics**, v. 70, pt. 5, p. 658-5, 2006.
- BENDER, C. Implicações da quimioterapia para a enfermagem. In: CLARK, J. C.; Mc GEE, R. F. **Enfermagem oncológica: um currículo básico**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997. p. 325-35.
- BENDER, C. Implicações da quimioterapia para a enfermagem. In: **Enfermagem Oncológica: um currículo básico**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997. p. 325-35.
- BENHAMOU, S.; SARASIN, A. ERCC2 /XPD gene polymorphisms and lung cancer: a HuGE review. **Am J Epidemiol.**, v. 161, n. 1, p. 1-14, 2005.
- BENHAMOU, S.; SARASIN, A. ERCC2/XPD gene polymorphisms and cancer risk. **Mutagenesis**, v. 17, n. 6, p. 463-9, 2002.
- BERGER, S. H.; HAKALA, M. T Relationship of dUMP and FdUMP pools to inhibition of thymidylate synthase by 5-fluorouracil. **Mol Pharmacol.**, v. 25, n. 2, p. 303-9, Mar. 1984.
- BISHOP, D. K. et al. XRCC3 is required for assembly of Rad51 complexes in vivo. **J Biol Chem.**, v. 273, n. 34, p. 21482-8, Aug. 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de bases técnicas da oncologia – SIA/SUS:** Sistema de Informações Ambulatoriais. Brasília, DF: MS. 2011. p. 110.

BRASIL. **Resolução RDC número 39, 05 de junho de 2008.** Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2008. (Seção 1: 106).

BRENNEMAN, M. A. et al. XRCC3 is required for efficient repair of chromosome breaks by homologous recombination. **Mutat Res.**, v. 459, n. 2, p. 89-97, Mar. 2000.

BURSTEIN, H. J. et al. Trastuzumab and vinorelbine as first-line therapy for HER2-overexpressing metastatic breast cancer: multicenter phase II trial with clinical outcomes, analysis of serum tumor markers as predictive factors, and cardiac surveillance algorithm. **J Clin Oncol.**, v. 21, n. 15, p. 2889-95, Aug. 2003.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. et al. Historical Genetics: Spatiotemporal Analysis of the Formation of the Brazilian Population. **Am J Hum Biol.**, v. 15, n. 6, p. 824-34, Nov./Dec. 2003.

CHOI, Y. J. et al. Biophysical characterization of the interaction domains and mapping of the contact residues in the XPF-ERCC1 complex. **J Biol Chem.**, v. 280, n. 31, p. 28644-52, Aug. 2005.

CORNETTA, T. et al. DNA damage repair and genetic polymorphisms: assessment of individual sensitivity and repair capacity. **Int J Radiat Oncol Biol Phys.**, v. 22, n. 2, p. 537-45, Oct. 2006.

CRAIG, C. R.; STITZEL, R. E. **Farmacologia moderna com aplicações clínicas.** 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

CUSTÓDIO, A.; CALLES, A.; PÉREZ-SEGURA, P. Response to erlotinib in recurrent glioblastoma multiforme showing coexpression of EGFRvIII and PTEN. **Clin Transl Oncol.**, v. 12, n. 4, p. 310-4, Apr. 2010.

DAAR, S. A.; SINGER, P. A. Pharmacogenetics and geographical ancestry: implications for drug development and global health. **Nat Rev Genet.**, v. 6, n. 3, p. 241-6, Mar. 2005.

DABHOLKAR, M. et al. Messenger RNA levels of XPAC and ERCC1 in ovarian cancer tissue correlate with response to platinum-based chemotherapy. **J Clin Invest.**, v. 94, n. 2, p. 703-8, Aug. 1994.

DAIGO, S. et al. A novel mutant allele of the CYP2A6 gene (CYP2A6*11) found in a cancer patient who showed poor metabolic phenotype towards tegafur. **Pharmacogenetics**, v. 12, n. 4, p. 299-306, Jun. 2002.

DANESI, R. et al. Pharmacogenetics in oncology. **Eur J Clin Pharmacol.**, v. 6, p. 74-8, 2008.

DAVIES, S. M. et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and outcome of chemotherapy in childhood acute myeloid leukemia. **J Clin Oncol.**, v. 19, p. 1279-87, 2001.

DEVITA, V. T.; CHU, E. A history of cancer chemotherapy. **Cancer Res.**, v. 68, n. 21, p. 8643-53, 2008.

DIASIO, R. B. Clinical implications of dihydropyrimidine dehydrogenase on 5-FU pharmacology. **Oncology**, v. 15, n. 1, p. 21-6, Jan. 2001. Supplement.

DIASIO, R. B.; HARRIS, B. E. Clinical pharmacology of 5-fluorouracil. **Clin. Pharmacokinet.**, v. 16, p. 215-37, 1989.

DUSHINSKY, R.; PLEVEN, E.; HEIDELBERGER, C. The synthesis of 5-fluoropyrimidines. **J Am Chem Soc.**, v. 79, n. 16, p. 4559-60, 1957.

EVANS, W. E.; JOHNSON, J. A. Pharmacogenomics: the inherited basis for interindividual differences in drug response. **Ann Rev Genomics Hum Genet.**, v. 2. p. 9-39, 2001.

EZER, R. et al. Identification of glutathione S-transferase (GST) polymorphism in brain tumors and association with susceptibility to pediatric astrocytomas. **J of Neuro-Oncology.**, v. 59, p. 123-34, 2002.

EZZELDIN, H.; DIASIO, R. B. Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency, a pharmacogenetic syndrome associated with potentially life-threatening toxicity following 5-fluorouracil administration. **Clin Colorectal Cancer**, v. 4, p. 181-9, 2004.

FEJERMAN, L. et al. Genetic ancestry and risk of mortality among U.S Latinas with breast cancer. **Am Association Cancer Res.**, p. 7243-53, 2013.

FERNANDEZ-SALGUERO, P. et al. A genetic polymorphism in coumarin 7-hydroxylation: sequence of the human CYP2A genes and identification of variant CYP2A6 alleles. **Am J Hum Genet.**, v. 57, p. 651-60, 1995.

FIEGENBAUM, M.; HUTZ, M. H. Pharmacogenetic of lipid-lowering drugs. In: **SIMPÓSIO FARMACOGENÉTICA**, 39., 2006, p. 543-53.

FUJITA, K. Cytochrome P450 and anticancer drugs. **Curr Drug Metab.**, v. 7, p. 23-37, 2006.

GODAI, T. et al. Identification of colorectal cancer patients with tumors carrying the TP53 mutation on the codon 72 proline allele that benefited most from 5-fluorouracil (5-FU) based postoperative chemotherapy. **BMC Cancer**, v. 9, p. 420, 2009.

GOODMAN, L. S. et al. Nitrogen mustard therapy: use of methyl-bis (h-chloroethyl) amine hydrochloride and tris (hchloroethyl) amine hydrochloride for Hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia, and certain allied and miscellaneous disorders. **JAMA**, v. 132, p. 126-32, 1946.

GOSH, S. et al. Analysis of polymorphisms and haplotype structure of the human thymidylate synthase genetic region: a tool for Pharmacogenetic studies. **PLoS ONE**, 2012. Disponível em:

<<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0034426>>. Acesso em 21 nov. 2013.

GOTO, Y. et al. A novel single-nucleotide polymorphism in the 3' untranslated region of the human dihydrofolate reductase gene with enhanced expression. **Clin Cancer Res.**, v. 7, p. 1952-6, 2001.

GUSELLA, M. et al. Predictors of survival and toxicity in patients on adjuvant therapy with colorectal cancer. **Br J Cancer**, v. 100, n. 10, p. 1549-57, May 2009.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646-74, 2011.

HATA, T. et al. Mitomycin, a new antibiotic from Streptomyces. **J Antib.**, v. 9, n. 4, p. 141-6, 1956.

HOFF, P. M. et al. Phase I study with pharmacokinetics of S-1 on an oral daily schedule for 28 days in patients with solid tumors. **Clin Cancer Res.**, v. 9, p. 134-42, 2003.

HOFFMAN, S. M. et al. Organization and evolution of the cytochrome P450 CYP2A-2B-2F subfamily gene cluster on human chromosome 19. **J Mol Evol.**, v. 41, n. 6, p. 894-900, 1995.

HOLLSTEIN, M. et al. P53 mutations in human cancers. **Science**, v. 253, p. 49-53, 1991.

HORIE, N. et al. Functional analysis and DNA polymorphism of the tandemly repeated sequences in the 5'-terminal regulatory region of the human gene for thymidylate synthase. **Cell Struct Funct.**, v. 20, p. 191-7, 1995.

HOUTSMA, D.; GUCHELAR, H. J.; GELDERBLUM, H. Pharmacogenetics in oncology: a promising field. **Curr Pharm Des.**, v. 16, n. 2, p. 155-63, 2010.

HUANG, S. M.; TEMPLE, R. Is this the drug or dose for you? Impact and consideration of ethnic factors in global drug development, regulatory review, and clinical practice. **Clin Pharmacol Ther.**, v. 84, p. 287-94, 2008.

HYAMA, T. et al. Genetic polymorphism and head and neck cancer risk (Review). **Inter J Oncol.**, v. 32, p. 945-73, 2008.

IARMACOVAI, G. et al. Genetic Polymorphism and micronucleus formation: A review of the literature. **Mutat Res.**, v. 658, n. 3, p. 215-33, Mar./Apr. 2008.

ICHIKAWA, W. et al. Simple combinations of 5-FU pathway genes predict the outcome of metastatic gastric cancer patients treated by S-1. **Int J Cancer**, v. 119, n. 8, p. 1927-33, 2006.

IKEDA, K. et al. Bioactivation of tegafur to 5-fluorouracil is catalyzed by cytochrome P-450 2A6 in human liver microsomes in vitro. **Clin Cancer Res**, v. 6, p. 4409-15, 2000.

INNOCENTI, F.; RATAIN, M. J. Update on pharmacogenetics in cancer chemotherapy. **Eur J Cancer**, v. 38, p. 639-44, 2002.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). 2012. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>>. Acesso em: 15 jul. 2012.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Estimativa 2012**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2012. 118 p.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Estimativa 2014**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2014.

JACOBSEN, N. R. et al. XRCC3 polymorphisms and risk of lung cancer. **Cancer Lett.**, v. 213, p. 67-72, 2004.

JIAO, L. et al. XRCC2 and XRCC3 gene polymorphism and risk of pancreatic cancer. *Am J Gastroenterol.*, v. 103, n. 2, p. 360-7, Feb. 2008.

JOHNSON, M. R. et al. Life-threatening toxicity in a dihydropyrimidine dehydrogenase-deficient patient following treatment with topical 5-fluorouracil. **Clin Cancer Res.**, v. 5, n. 8, p. 2006-11, 1999.

KANEDA, S. Structural and functional analysis of the human thymidylate synthase gene. **J Biol Chem.**, v. 265, p. 20277-84, 1990.

KARRAN, P. DNA double strand break repair in mammalian cells. **Curr Opin Genet Dev.**, v. 10, p. 144-50, 2000.

KAWAHARA, M. et al. Phase II study of S-1, a novel oral fluorouracil, in advanced non-small-cell lung cancer. **Br J Cancer**, v. 85, p. 939-43, 2001.

KITAJIMA, M. et al. The relationship between 5-fluorouracil sensitivity and single nucleotide polymorphisms of the orotate phosphoribosyl transferase gene in colorectal cancer. **Oncol Rep.**, v. 15, n. 1, p. 161-5, 2006.

KIYOTANI, K. et al. Decreased coumarin 7-hydroxylase activities and CYP2A6 expression levels in humans caused by genetic polymorphism in CYP2A6 promoter region (CYP2A6*9). **Pharmacogenetics**, v. 13, p. 689-95, 2003.

KLOTZ, U. The role of pharmacogenetics in the metabolism of antiepileptic drugs: pharmacokinetic and therapeutic implications. **Clin Pharmacokinet**, v. 46, p. 271-9, 2007.

KOBAYAKAWA, M.; KOJIMA, Y. Tegafur/gimeracil/oteracil (S-1) approved for the treatment of advanced gastric cancer in adults when given in combination with cisplatin: a review comparing it with other fluoropyrimidine-based therapies. **OncoTargets and Therapy**, v. 4, p. 193-201, 2011.

KOIZUMI, W. et al. S-1 plus cisplatin versus S-1 alone for first-line treatment of advanced gastric cancer (SPIRITS trial): a phase III trial. **Lancet Oncol.**, v. 9, n. 3, p. 215-21, 2008.

LEICHMAN, C. G. et al. Quantitation of intratumoral thymidylate synthase expression predicts for disseminated colorectal cancer response and resistance to protracted-infusion fluorouracil and weekly leucovorin. **J Clin Oncol.**, v. 15, p. 3223-9, 1997.

- LI, J.; BLUTH, M. H. Pharmacogenomics of drug metabolizing enzymes and transporters: implications for cancer therapy. **Pharmacogenomics Pers Med.**, v. 4, p. 11-33, 2011.
- LIOU, S. Y. et al. Economic burden of haematological adverse effects in cancer patients: a systematic review. **Clin Drug Investig.**, v. 27, p. 381-96, 2007.
- LIU, G. et al. Patient preferences for oral versus intravenous palliative chemotherapy. **J Clin Oncol.**, v. 15, p. 110-5, 1997.
- LOH, M.; SOONG, R. Challenges and pitfalls in the introduction of pharmacogenetics for cancer. **Ann Acad Med Singapore**, v. 40, n. 8, p. 369-74, 2011.
- LONGLEY, D. B. et al. 5-Fluorouracil: Mechanisms of Action and Clinical Strategies. **Nat Rev Cancer**, v. 3, n. 5, p. 330-8, 2003.
- LU, S. et al. Glutathione S-transferase P1 Ile105Val polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis involving 34,658 subjects. **Breast Cancer Research Treat.**, v. 125, n. 1, p. 253-9, 2011.
- LU, Z.; ZHANG, T.; DIASIO, R. B. Dihydropyrimidine dehydrogenase activity in human peripheral blood mononuclear cells and liver population characteristics, newly identified deficient patients, and clinical implication in 5-fluorouracil chemotherapy. **Cancer Res.** v. 53, p. 5433-8, 1993.
- MAEHARA, Y. S-1 in gastric cancer: a comprehensive review. **Gastric Cancer**, v. 6, n. 1, p. 2-8, 2003. Supplement.
- MALAIYANDI, V. et al. Impact of CYP2A6 genotype on pretreatment smoking behaviour and nicotine levels from and usage of nicotine replacement therapy. **Mol Psychiatry**, v. 11, p. 400-9, 2006.
- MANDOLA, M. V. et al. A novel single nucleotide polymorphism within 5' tandem repeat polymorphism of the thymidylate synthase gene abolishes USF-1 binding and alters transcriptional activity. **Cancer Res.**, v. 63, p. 2898-904, 2003.
- MANUGUERRA, M. et al. XRCC3 and XPD/ERCC2 Single Nucleotide Polymorphisms and the risk of cancer: A HuGE review. **Am J Epidemiol.**, v. 164, p. 297-302, 2006.
- MARSH, S. Thymidylate synthase pharmacogenetics. **Investigational New Drugs**, v. 23, n. 6, p. 533-7, 2005.
- MATTISON, L. K.; JOHNSON, M. R.; DIASIO, R. B. A comparative analysis of translated dihydropyrimidine dehydrogenase cDNA; conservation of functional domains and relevance to genetic polymorphisms. **Pharmacogenetics**, v. 12, p. 133-44, 2002.
- MATULLO, G. et al. XRCC1, XRCC3, XPD gene polymorphism, smoking and (32) P-DNA adducts in a sample of healthy subjects. **Carcinogenesis**, v. 22, p. 1437-45, 2001.
- MCLEOD, H. L. et al. Nomenclature for human DPYD alleles. **Pharmacogenetics**, v. 8, p.

455-9, 1998.

MCLEOD, H. L. et al. Pharmacogenetic analysis of systemic toxicity and response after 5-fluorouracil (5FU)/CPT-11, 5FU/oxaliplatin (oxal), or CPT-11/oxal therapy for advanced colorectal cancer. **Proc Am Assoc Clin Oncol.**, v. 22, p. 252, 2003.

MEINSMA, R. et al. Human polymorphism in drug metabolism: mutation in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene results in exon skipping and thymine uracilurea. **DNA Cell Biol.**, v. 14, n. 1, p. 1-6, 1995.

METANALYSIS GROUP IN CANCER (1998). Efficacy of intravenous continuous infusion of fluorouracil compared with bolus administration in advanced colorectal cancer. **J Clin Oncol.**, v. 16, n. 1, p. 301-8, 1998.

METZGER, R. et al. ERCC1 mRNA levels complement thymidylate synthase mRNA levels in predicting response and survival for gastric cancer patients receiving combination cisplatin and fluorouracil chemotherapy. **J Clin Oncol.**, v. 16, p. 309-16, 1998.

MEYER, U. A. Pharmacogenetics: five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. **Nature**, v. 5, p. 669-76, 2004.

MILANO, G.; MCLEOD, H. L. Can dihydropyrimidine dehydrogenase impact 5-fluorouracil-based treatment? **Eur J Cancer**, v. 36, p. 37-42, 2000.

MILES, J. S. et al. Identification of the human liver cytochrome P-450 responsible for coumarin 7-hydroxylase activity. **Biochem J.**, v. 267, p. 365-71, 1990.

NAGASUBRAMANIAN, R.; INNOCENTI, F.; RATAIN, M. J. Pharmacogenetics in cancer treatment. **Ann Rev Med.**, v. 54, p. 437-52, 2003.

NAKAJIMA, M. et al. Comprehensive evaluation of variability in nicotine metabolism and CYP2A6 polymorphic alleles in four ethnic populations. **Clin Pharmacol Ther.**, v. 80, n. 3, p. 282-97, 2006.

NAKAJIMA, M. et al. Novel human CYP2A6 alleles confound gene deletion analysis. **FEBS letters**, v. 569, n. 1-3, p. 75-81, 2004.

NIEDERNHOFER, L. J. et al. The structure-specific endonuclease ERCC1-XPF is required to resolve DNA interstrand cross-link-induced double-strand breaks. **Mol Cell Bio.**, v. 24, p. 5776-87, 2004.

NISHIMURA, R. et al. Thymidylate synthetase levels as a therapeutic and prognostic predictor in breast cancer. **Anticancer Res.**, v. 19, p. 5621-6, 1999.

NISHIYAMA, M.; EGUCHI, H. Pharmacokinetics and pharmacogenomics in gastric cancer chemotherapy. **Adv Drug Deliv Rev.**, v. 61, n. 5, p. 402-7, 2009.

NUNOYA, K. I. et al. A new deleted allele in the human cytochrome P450 2A6 (CYP2A6) gene found in individuals showing poor metabolic capacity to coumarin and (+)-cis-3,5-dimethyl-2-(3-pyridyl) thiazolidin-4-one hydrochloride (SM-12502). **Pharmacogenetics**, v.

8, p. 239-49, 1998.

OSAWA, K. Gene polymorphisms and Chemotherapy in Non-small Cell Lung cancer. **Chin J Lung Cancer**, v. 12, p. 837-40, 2009.

PARRA, F. C. et al. Color and genomic ancestry in Brazilians. **Genet.**, v. 100, p. 177-82, 2003.

PESTANA, J. M. O.; CASTRO, M. C. R.; PEREIRA, W. Pesquisa Clínica e Farmacovigilância. **Prática Hospitalar**, v. 8, n. 44, mar./abr. 2006.

POCOCK, S. J. **Clinical trials: a practical approach**. Chichester: Wiley, 1983.

PRITCHARD, J. K.; ROSENBERG, N. A. Use of unlinked genetic markers to detect population stratification in association studies. **Am J Hum Genet.**, v. 65, p. 220-8, 1999.

PULLARKAT, S. et al. Thymidylate synthase gene polymorphism determines response and toxicity of 5-U chemotherapy. **Pharmacogenomics J.**, v. 1, p. 65-70, 2001.

RAUNIO, H. et al. Immunochemical and catalytical studies on hepatic coumarin 7-hydroxylase in man, rat and mouse. **Biochem Pharmacol.**, v. 37, p. 3889-95, 1988.

REIS, M. Farmacogenética aplicada ao câncer. **Quimioterapia individualizada e especificidade molecular**, v. 39, n. 4, p. 577-86, 2006.

RIDGE, S. A. et al. Dihydropyrimidine dehydrogenase pharmacogenetics in Caucasian subjects. **Br J Clin Pharmacol.**, v. 46, p. 151-6, 1998.

ROOS, A. I. D. et al. Genetic polymorphisms in GSTM1, P1, T1, and CYP2E1 and the risk of adult brain tumors. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 12, p. 14-22, 2003.

RUTSUM, Y. M. et al. Thymidylate synthetase inhibitors in cancer therapy: direct and indirect inhibitors. **J Clin Oncol.**, v. 15, p. 389-400, 1997.

RYBERG, D. et al. Genotypes of Glutathione transferase M1 and P1 and their significance for lung DNA adduct levels and cancer risk. **Carcinogenesis**, v. 18, n. 7, p. 1285-9, 1997.

SADEE, W.; DAI, Z. Pharmacogenetics/genomics and personalized medicine. **Hum Mol Genet.**, v. 14, R207-14, 2005.

SALZANO, F. M.; BORTOLINI, M. C. **The evolution and genetics of Latin American populations**. Cambridge, UK: Cambridge University, 2002.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2. ed. New York: Cold Spring Harbor, 1989. 1626 p.

SANTOS, N. P. C. et al. Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48 insertion-deletion ancestry informative markers panel. **Human Mutation**, v. 31, p. 184-90, 2010.

- SAVVA-BORDALO, J. et al. Promoter methylation and large intragenic rearrangements of DPYD are not implicated in severe toxicity to 5-fluorouracil-based chemotherapy in gastrointestinal cancer patients. **BMC Cancer**, v. 10, p. 420, 2010.
- SCHMIDT, M. J. Human Safety in clinical research. **Applied Clinical Trials**, p. 40-7, Jul. 2001.
- SCHOEDEL, K. et al. Ethnic variation in CYP2A6 and association of genetically slow nicotine metabolism and smoking in adult Caucasians. **Pharmacogenetics**, v. 14, n. 9, p. 615-26, 2004.
- SHAHROKNI, A.; RAJBI, M. R.; SAIF, M. W. Toxicity and Efficacy of 5-Fluororacil and capecitabine in a patient with TYMS gene polymorphism: A challenge or a dilemma? **Clinical Colorectal Cancer**, v. 8, p. 231-234, 2009.
- SHIRASAKA, T. Development history and concept of an oral anticancer agent S-1 (TS-1): its clinical usefulness and future vistas. **Jap J Clin Oncol.**, v. 39, n. 1, p. 2-15, 2009.
- SHIRASAKA, T. et al. Antitumor activity of 1 M tegarur- 0.4 M 5-chloro-2,4-dihydroxypyridine-1 M potassium oxonate (S-1) against human colon carcinoma orthotopically implanted into nude rats. **Cancer Res.**, v. 56, p. 2602-6, 1996.
- SHIRASAKA, T.; SHIMAMOTO, Y.; FUKUSHIMA, M. Inhibition by oxonic acid of gastrointestinal toxicity of 5-fluorouracil without loss of its antitumor activity in rats. **Cancer Res.**, v. 53, p. 4004-9, 1993.
- SHIROTA, Y. et al. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. **J Clin Oncol.**, v. 19, p. 4298-304, 2001.
- SINGH, M. et al. Association of genetic polymorphisms in glutathione S-transferases and susceptibility to head and neck cancer. **Mutation Research.**, v. 638, p. 184-94, 2008.
- SMITH, T. R. et al. Polymorphisms of XRCC1 and XRCC3 genes and susceptibility to breast cancer. **Cancer Letters.**, v. 190, p. 183-90, 2003.
- SOUSSI, T.; BEROUD, C. Assessing TP53 status in human tumours to evaluate clinical outcome. **Nat Rev Cancer**, v. 1, p. 233-40, 2001.
- SPIPKER, B. **Guide to clinical trials**. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 2000.
- STEARNS, V.; RAE, J. M. Pharmacogenetics and breast cancer endocrine therapy: CYP2D6 as a predictive factor for tamoxifen metabolism and drug response. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 10, p. 34, 2008.
- STERPONE, S.; COZZI, R. Influence of XRCC1 genetic polymorphisms on Ionizing Radiation-Induced DNA damage and Repair. **Journal of Nucleic Acids**, v. 2010, 2010.
- STEWART, B. W.; KLEIHUES, P. Cancer management. In: _____. **World cancer report**.

France: IARC Press, 2003. p. 271-301.

SUAREZ-KURTZ, G. et al. Self-reported skin color, genomic ancestry and the distribution GST polymorphisms. **Pharmacogenetics and Genomics**, v. 17, p. 765-71, 2007.

SUAREZ-KURTZ, G. Pharmacogenomics in admixed populations. **Trends Pharmacol Sci.**, v. 26, n. 4, p. 196-201, 2005.

SUCHI, M. et al. Molecular cloning of the human UMP synthase gene and characterization of point mutations in two hereditary orotic aciduria families. **Am J Hum Genet.**, v. 60, n. 3, p. 525-39, 1997.

SUH, Y.; VIJG, J. SNP discovery in associating genetic variation with human disease phenotypes. **Mutant Res.**, v. 573, n. 1-2, p. 41-53, 2005.

SWEENEY, C. et al. Association between survival after treatment for breast cancer and glutathione S-transferase P1 Ile105Val polymorphism. **Cancer Res.**, v. 60, p. 5621-4, 2000.

SYAMALA, V. S. et al. Influence of germline polymorphisms of GSTT1, GSTM1, and GSTP1 in familial versus sporadic breast cancer susceptibility and survival. **Familial Cancer**, v. 7, n. 3, p. 213-20, 2008.

TAYLOR, J. G. et al. Using genetic variation to study human disease. **Trends Molecular Medicine**, v. 7, n. 11, p. 507-512, 2001.

TEBBS, R. S. et al. Correction of chromosomal instability and sensitivity to diverse mutagens by a cloned cDNA of the XRCC3 DNA repair gene. **Proceedings National Academy Science USA**, v. 92, p. 6354-8, 1995.

TEW, K. D. Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance. **Cancer Res.**, v. 54, p. 4313-20, 1994.

THACKER, J.; ZDZIEBICKA, M. Z. The XRCC genes: expanding roles in DNA double-strand break repair. **DNA Repair**, v. 3, p. 1081-90, 2004.

TUCHMAN, M. et al. Familial pyrimidinemia and pyrimidinuria associated with severe fluoro-uracil toxicity. **N Engl J Med.**, v. 313, p. 245-9, 1985.

ULRICH, C. M.; ROBIEN, K.; MCLEOD, H. L. Cancer pharmacogenetics: polymorphisms, pathways and beyond. **Nat Rev Cancer**, v. 3, p. 912-20, 2003.

VAN GENNIP, A. H. et al. Inborn errors of pyrimidine degradation: clinical, biochemical and molecular aspects. **J Inherit Metab Dis.**, v. 20, p. 203-13, 1997.

VAN KUILENBURG, A. B. et al. Beta-alanine and beta-aminoisobutyric acid levels in two siblings with dihydropyrimidinase deficiency. **Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.**, v. 27, n. 6, p. 825-9, Jun. 2008.

VIANI, G. A. et al. Adjuvant trastuzumab in the treatment of her-2-positive early breast cancer: a meta-analysis of published randomized trials. **BMC Cancer**, v. 7, p. 153, 2007.

- WALTHERS, A. et al. Genetic prognostic and predictive markers in colorectal cancer. **Nat Rev Cancer**, 9, n. 7, p. 489-96, 2009.
- WAN, J.; SANCHEZ, D. D. Antioxidant enzyme induction: A new protective approach against the adverse effects of diesel exhaust particles. **Inhalation Toxicology**, v. 19, n. 1, p. 177-82, 2007.
- WANG, L.; MCLEOD, H. L.; WEINSHILBOUM, R. M. Genomics and drug response. **The New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 12, p. 1144-53, 2011.
- WANG, N. et al. An investigation on the polymorphisms of two DNA repair genes and susceptibility to ESCC and GCA of high-incidence region in northern China. **Molecular Biology Rep.**, v. 36, p. 357-64, 2009.
- WARNECKE-EBERZ, U. et al. High specificity of quantitative excision repair cross-complementing 1 messenger RNA expression for prediction of minor histopathological response to neoadjuvant radiochemotherapy in esophageal cancer. **Clin Cancer Res.**, v. 10, p. 3794-9, 2004.
- WATTERS, J. W.; MCLEOD, H. L. Cancer pharmacogenomics: current and future applications. **Biochim Biophys Acta**, v.1603, p. 99-111, 2003.
- WEI, X. et al. Molecular basis of the human dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency and 5-fluorouracil toxicity. **J Clin Invest.**, v. 98, p. 610-5, 1996.
- WEINSHILBOUM, R. M.; WANG, L. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: development, science, and translation. **Annu Rev Genomics Hum Genet.**, v. 7, p. 223-45, 2006.
- WEINSHILBOUM, R.; WANG, L. Pharmacogenomics: Bench to Bedside. **Nature Reviews**, v. 3, p. 739-48, 2004.
- WHIBLEY, C.; PHAROAH, P. D.; HOLLSTEIN, M. P53 polymorphisms: cancer implications. **Nat Rev Cancer**, v. 9, p. 95-107, 2009.
- WILDING, C. S. et al. DNA repair gene polymorphisms in relation to chromosome aberration frequencies in retired radiation workers. **Mutation Res.**, v. 570, p. 137-45, 2005.
- WINSEY, S. L. et al. A variant within the DNA repair gene XRCC3 is associated with the development of melanoma skin cancer. **Cancer Res.**, v. 60, p. 5612-6, 2000.
- WOHLHUETER, R. M.; MCIVOR, R. S.; PLAGEMANN, P. G. Facilitated transport of uracil and 5-fluorouracil, and permeation of orotic acid into cultured mammalian cells. **J Cell Physiol.**, v. 104, p. 309-19, 1980.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **World Cancer Report 2008**. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2009.
- YAMANO, S.; TATSUNO, J.; GONZALEZ, F. J. The CYP2A3 gene product catalyzes coumarin 7-hydroxylation in human liver microsomes. **Bio-Chemistry**, v. 29, p. 1322-9,

1990.

YOSHIDA, R. et al. Effects of polymorphism in promoter region of human CYP2A6 gene (CYP2A6*9) on expression level of messenger ribonucleic acid and enzymatic activity in vivo and in vitro. **Clin Pharmacol Ther.**, v. 74, p. 69-76, 2003.

YOUNG, I. D. **Genética médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.