



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

**POLIMORFISMO DO GENE *UGT1A1* ASSOCIADO À  
TOXICIDADE EM PACIENTES ONCOLÓGICOS  
TRATADOS COM IRINOTECANO (CPT-11) EM  
BELÉM/PA.**

Jackeline de Sousa Carrera

BELÉM-PA

2015



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

Autora: Jackeline de Sousa Carrera

Orientador: Prof. Dra. Raquel Carvalho Montenegro

**POLIMORFISMO DO GENE *UGT1A1* ASSOCIADO À  
TOXICIDADE EM PACIENTES ONCOLÓGICOS  
TRATADOS COM IRINOTECANO (CPT-11) EM  
BELÉM/PA.**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Oncologia e Ciências Médicas, nível Mestrado, área de concentração: Medicina I, do Núcleo de Pesquisas em Oncologia da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BELÉM-PA

2015

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

Carrera, Jackeline de Sousa, 1984-

Polimorfismo do Gene *UGT1A1* associado à toxicidade em pacientes oncológicos tratados com irinotecano (CPT-11) em Belém/PA/Jackeline de Sousa Carrera; Orientadora, Prof. Dr<sup>a</sup>. Raquel Carvalho Montenegro. — 2015.

47f. :il. ; color. : 30 cm.

Inclui bibliografias.

Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Pará, Núcleo de Pesquisa em Oncologia, Programa de Pós Graduação em Oncologia e Ciências Médicas, Belém, 2015.

1. Neoplasias. 2. Polimorfismo Genético. 3. Farmacogenética. I. Montenegro, Raquel Carvalho, *orient.* II. Título.

CDD - 23. ed. 616.99409815

## **INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES:**

- Universidade Federal do Pará -UFPA

a) Hospital Universitário João de Barros Barreto- HUIBB

b) Núcleo de Pesquisa em Oncologia -NPO/ HUIBB

c) Unidade de Atendimento Oncológico - UNACON/ HUIBB

c) Hospital Ofir Loyola- HOL

## Agradecimentos

À Deus, pelo dom e gosto pelos estudos

À minha família, em especial minha mãe, pelo apoio incondicional  
sempre,

À prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Raquel Montenegro,  
Pelos ensinamentos e por acreditar neste projeto

Às técnicas de enfermagem da Quimioterapia do Hospital Ofir Loyola  
pela colaboração na etapa de coleta,

Ao meu amigo, Antônio Conde, técnico do laboratório do NPO, pelo  
aprendizado na etapa de extração de DNA e demais colaborações sempre  
que precisava,

Ao professor Dr. Ney Santos do Núcleo de Pesquisa em Oncologia pela  
colaboração em ceder algumas amostras ao estudo, assim como seu  
laboratório para realização da extração de DNA.

À pesquisadora Catherine Ingram e Manoel Odorico de Moraes Filho da  
Universidade Federal do Ceará pela parceria durante o desenvolvimento  
do estudo.

Aos oncologistas e pacientes do Hospital Ofir Loyola e João de Barros  
Barreto (UNACON) que sempre foram muito receptivos para com o  
projeto.

	Páginas
<b>SUMÁRIO</b>	
1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Considerações Gerais	12
1.2 Irinotecano (CPT-11) e seu mecanismo de ação	16
1.2.1 Metabolismo	18
1.2.2 Glucuronidação e as UDP-Glucuronosiltransferase (UGTs)	21
1.2.3 Polimorfismo no UGT1A1 <i>versus</i> Toxicidade	23
1.3 Principais protocolos à base de CPT-11	27
2 JUSTIFICATIVA E APLICABILIDADE	30
3 OBJETIVOS	31
3.1 Objetivo geral	31
3.2 Objetivos específicos	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1 Descrição da Casuística	32
4.1.1 Aspectos Éticos	32
4.1.2 População Estudada	32
4.1.3 Características Clínicas-epidemiológicas	33
4.2 Avaliação da Toxicidade	33
4.3 Extração de DNA e Genotipagem do gene UGT1A1*28	34
4.4 Análise Estatística	37
5 RESULTADOS	38
5.1 Descrição da Casuística	38
5.2 Relação entre características Clínico-Epidemiológicas e genótipos	40
5.3 Genotipagem do UGT1A1 e toxicidade	40
6 DISCUSSÃO	43
7 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
APÊNDICE A: Termo de consentimento livre e esclarecido	58
ANEXO	61

## SIGLAS e ABREVIATURAS

<b>CCR</b>	Câncer Colorretal
<b>CPT-11</b>	Irinotecano
<b>CES</b>	Carboxilesterases
<b>DNA</b>	Ácido Desoxiribonucleico
<b>EDTA</b>	ácido etilenodiamino tetra -acético
<b>FOLFOX</b>	Protocolo quimioterápico combinando (fluorouracil bolus+ fluoruracil infusão contínua+ ácido folínico+ Oxaliplatina)
<b>FOLFIRI</b>	Protocolo quimioterápico combinando (irinotecano + fluorouracil bolus+ fluoruracil infusão contínua+ ácido folínico)
<b>5FU</b>	Fluorouracila
<b>FLOX</b>	Protocolo quimioterápico combinando fluorouracil+ leucovorin+Oxaliplatina
<b>IFL</b>	Protocolo quimioterápico combinando irinotecano+fluorouracil(bolus) + leucovorin
<b>PCR</b>	Reação em Cadeia de Polimerase
<b>RAM</b>	Reação Adversa ao medicamento.
<b>SG</b>	Síndrome de Gilbert
<b>SN-38</b>	Metabólito ativo do Irinotecano
<b>TA</b>	Timina-Adenina
<b>UGT</b>	UDP-glucoronosiltransferase
<b>UICC</b>	International Union Against Cancer

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

## Páginas

<b>Figura 1:</b> Distribuição proporcional dos 10 tipos de câncer mais incidentes estimados para o Brasil em 2014, exceto pele não melanoma.	12
<b>Figura 2:</b> Distribuição proporcional dos 10 tipos de câncer mais incidentes estimados para a região Norte do Brasil em 2014, exceto pele não melanoma.	13
<b>Figura 3:</b> Variabilidade de resposta de pacientes com o mesmo diagnóstico e mesma prescrição.	14
<b>Figura 4:</b> Estrutura química do Irinotecano (CPT-11).	16
<b>Figura 5:</b> Ação da Camptotecina e seus derivados sobre o DNA.	17
<b>Figura 6:</b> Representação da via metabólica do irinotecano. O percurso inclui numerosas enzimas de Fase 1 e Fase 2, bem como 4 diferentes membros da família de transportadores ABC.	20
<b>Figura 7:</b> Estrutura da família UGT1A1. Organização genômica dos treze genes UGTs e processamento dos genes UGT1A1.	22
<b>Figura 8:</b> Ilustração da estrutura enzima UGT1A1.	22
<b>Figura 9 :</b> Esquema do gene UGT1A1 que mostra localizações dos polimorfismos de interesse para este estudo em região promotora do exon 1 e no próprio Exon 1.	24



## LISTA DE QUADROS

	Páginas
<b>Quadro 1:</b> Nomenclatura dos alelos comuns do UGT1A1.	24
<b>Quadro 2:</b> Principais estudos sobre polimorfismo do gene UGT1A1 em relação à toxicidade e eficácia do Irinotecano.	26
<b>Quadro 3:</b> Regimes quimioterápicos preferencial e alternativo para o tratamento de CCR	29

## RESUMO

**Introdução:** Estudos e revisões da literatura científica internacional têm reunido dados de suporte para o papel da farmacogenômica na medicina clínica, especificadamente o genótipo UGT1A1\*28 e UGT1A1\*6, como preditores de toxicidade associada à terapia com CPT-11 (irinotecano), devido uma inserção de timina-adenina na região promotora TATAbox do gene UGT1A1 ou um polimorfismo de nucleotídeo único no éxon 1 do mesmo gene, causando menor expressão da enzima UGT1A1 e conseqüentemente menor glucuronidação do fármaco. **Objetivo:** Verificar a ocorrência de polimorfismos na região promotora do gene UGT1A1 e associar a presença destes com a manifestação de toxicidades ao fármaco CPT-11 em pacientes com câncer atendidos em dois Hospitais públicos especializados em oncologia em Belém/PA. **Método:** Os pacientes oncológicos em tratamento à base de CPT-11 foram acompanhados pelo método de acompanhamento farmacoterapêutico quanto a ocorrência de toxicidades. As reações adversas foram avaliadas de acordo com o National Cancer Institute Common Toxicity Criteria for Adverse Events, Version 4.0. O estudo também analisou o material genético dos pacientes, quanto à frequência e distribuição do polimorfismo no gene UGT1A1 por reação em cadeia de Polimerase e sequenciamento. Assim como também puderam ser avaliados os dados clínicos e epidemiológicos dos sujeitos. **Resultados:** Um total de 31 pacientes foram recrutados, a maioria (80,6%) tratados com regime IFL modificado (120mg/m<sup>2</sup> de irinotecano), o gênero mais freqüente foi o feminino (54,8%) e o sítio primário do tumor, predominante, foi o reto (41,9%). Dentre os 27 pacientes que puderam ser genotipados nenhum apresentou polimorfismo no éxon 1 (UGT1A1\*6), mas foram detectados os seguintes alelos quanto ao polimorfismo no promotor TATA do gene, TA5/6 (3,7%), TA6/6 (44,4%), TA6/7 (37%) e TA7/7 (14,8%). Um total de 71 toxicidades foram observados em 25 pacientes. A população estudada encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p=0,135$ ). Nosso estudo não encontrou relação significativa entre as diferentes toxicidades ou RAM's (reações adversas ao medicamento) manifestadas nos pacientes com diferentes números de alelos variantes, porém foi observado que pacientes que tinham dois alelos ou um único alelo variante teve mais intervenções médicas (redução de dose, atraso ou interrupção do tratamento) devido toxicidades, do que pacientes do alelo tipo selvagem ( $p=0,016$ ). **Conclusão:** Os achados deste estudo demonstraram alta frequência de reações adversas ao uso de CPT-11 nos pacientes estudados, mesmo em protocolos de baixa dose, em relação a outros estudos, apesar de não terem apresentado diferença significativa, sugerem a continuidade do mesmo a fim de obter maior tamanho amostral, haja vista que quando a população foi estratificada por frequência de intervenções médicas motivadas por toxicidade, o grupo portador da mutação, heterozigota ou homozigota, apresentou maior taxa de intervenção durante o tratamento, ou seja, esses pacientes podem apresentar toxicidades mais severas que comprometam a continuidade do tratamento.

**Palavras chaves:** Polimorfismo, Irinotecano, gene UGT1A1, câncer, farmacogenética.

## ABSTRACT

**Introduction:** Studies and reviews the international scientific literature have gathered data to support the role of pharmacogenomics in clinical medicine, specifically genotype UGT1A1\*28 and UGT1A1\*6 as predictors of toxicity associated with therapy with CPT-11 (irinotecan), because an insert thymine-adenine in the promoter region of the UGT1A1 gene TATAbox or a single nucleotide polymorphism in exon 1 of the same gene, causing lesser extent UGT1A1 enzyme and hence lower glucuronidation of the drug. **Objective:** To investigate the occurrence of polymorphisms in the promoter region of the UGT1A1 gene and associate their presence with the toxicities of manifestation to CPT-11 drug in cancer patients treated at two public hospitals specialized in oncology in Belém /PA. **Method:** Patients in cancer treatment to CPT-11 base were accompanied by pharmacotherapeutic monitoring method as the occurrence of toxicities. Adverse reactions were assessed according to the National Cancer Institute Common Toxicity Criteria for Adverse Events, Version 4.0. The study also analyzed the genetic material of patients, the frequency and distribution of the polymorphism in the UGT1A1 gene by polymerase chain reaction and sequencing. As they could also be evaluated clinical and epidemiological data of the subjects. **Results:** A total of 31 patients were recruited, the majority (80.6%) treated with modified IFL regimen (120 mg /m<sup>2</sup> CPT-11), the most frequent gender was female (54.8%) and the primary site of the tumor , predominantly, it was the rectum (41.9%). Among the 27 patients could be genotyped none showed polymorphism in exon 1 (UGT1A1 \* 6), but the following alleles were detected as the TATA promoter polymorphism in the gene, TA5/6 (3.7%), TA6/6 (44 , 4%), TA6/7 (37%) and TA7/7 (14.8%). A total of 71 toxicities were observed in 25 patients. The study population is in Hardy-Weinberg equilibrium (P = 0.135). Our study found no significant relationship between the different toxicities manifested in patients with different numbers of variant alleles, but it was observed that patients who had two alleles or a single variant allele had more medical interventions (dose reduction, delay or discontinuation of treatment) due to toxicity than patients in the wild-type allele (p = 0.016). **Conclusion:** The findings of this study showed a high frequency of adverse reactions to CPT-11 use in the studied patients, even low-dose protocols in relation to other studies, although they have not shown significant differences suggest the continuity of the same order to get larger sample size, considering that when the population was stratified by frequency of medical interventions motivated by toxicity, the carrier of the mutation group, heterozygous or homozygous, had higher intervention rate during treatment. Those patients can present toxicities more severe than compromise the continuity of care.

**Key words :** Polymorphism , irinotecan , UGT1A1 gene, cancer , pharmacogenetics .

# 1. INTRODUÇÃO


## 1.1 Considerações gerais

A incidência de câncer no mundo vem aumentando rapidamente nos últimos anos, em decorrência do envelhecimento da população mundial e da crescente exposição a fatores de risco ambientais. A UICC (*International Union Against Cancer*) estima que, em 2030, haverá 27 milhões de novos casos no mundo.

No Brasil, as estimativas para o ano de 2014, também válidas para o ano de 2015, apontam a ocorrência de aproximadamente 576.580 casos novos de câncer no Brasil (Instituto Nacional de Câncer, 2014).

As neoplasias do trato gastrointestinal estão entre as três primeiras mais incidentes no mundo. O câncer colorretal (CCR) é o terceiro mais comum entre os homens e o segundo entre as mulheres, enquanto o câncer gástrico é a quarta neoplasia maligna mais comum e a segunda causa de morte por câncer (GLOBOCAN, 2008).

No Brasil não tem sido diferente, segundo dados do INCA, o câncer mais incidente em homens, depois do câncer de próstata, é o de pulmão, seguido de CCR e câncer gástrico. Nas mulheres brasileiras, depois do Câncer de mama, o CCR tem sido o segundo mais incidente (INCA, 2013; DANAEI *et al.* 2005)(figura 1).

Localização primária	casos	%			Localização primária	casos	%	
Próstata	68.800	22,8%		Homens	Mama Feminina	57.120	20,8%	
Traqueia, Brônquio e Pulmão	16.400	5,4%			Mulheres	Cólon e Reto	17.530	6,4%
Cólon e Reto	15.070	5,0%			Colo do Útero	15.590	5,7%	
Estômago	12.870	4,3%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.930	4,0%	
Cavidade Oral	11.280	3,7%			Glândula Tireoide	8.050	2,9%	
Esôfago	8.010	2,6%			Estômago	7.520	2,7%	
Laringe	6.870	2,3%			Corpo do Útero	5.900	2,2%	
Bexiga	6.750	2,2%			Ovário	5.680	2,1%	
Leucemias	5.050	1,7%			Linfoma não Hodgkin	4.850	1,8%	
Sistema Nervoso Central	4.960	1,6%			Leucemias	4.320	1,6%	

\*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10.

**Figura 1** – Distribuição proporcional dos 10 tipos de câncer mais incidentes estimados para o Brasil em 2014/2015, exceto pele não melanoma. Fonte: Estimativa 2014 – Incidência de Câncer no Brasil (INCA, 2014)

Na região Norte do Brasil, inclusive no Pará, o câncer colorretal e o câncer de estômago estão entre os quatro primeiros mais incidentes, ocorridos em ambos os sexos (Figura 2).

Localização primária	casos	%			Localização primária	casos	%
Próstata	2.480	24,6%	Homens	Mulheres	Colo do Útero	1.890	19,0%
Estômago	900	8,9%			Mama Feminina	1.720	17,3%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	620	6,1%			Estômago	470	4,7%
Cólon e Reto	360	3,6%			Cólon e Reto	430	4,3%
Leucemias	290	2,9%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	400	4,0%
Cavidade Oral	270	2,7%			Glândula Tireoide	290	2,9%
Laringe	240	2,4%			Leucemias	240	2,4%
Linfoma não Hodgkin	200	2,0%			Ovário	220	2,2%
Sistema Nervoso Central	200	2,0%			Corpo do Útero	180	1,8%
Bexiga	190	1,9%			Sistema Nervoso Central	170	1,7%

\*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10.

**Figura 2** – Distribuição proporcional dos 10 tipos de câncer mais incidentes estimados para a região Norte do Brasil em 2014/2015, exceto pelo não melanoma. Fonte: Estimativa 2014 – Incidência de Câncer no Brasil (INCA, 2014).

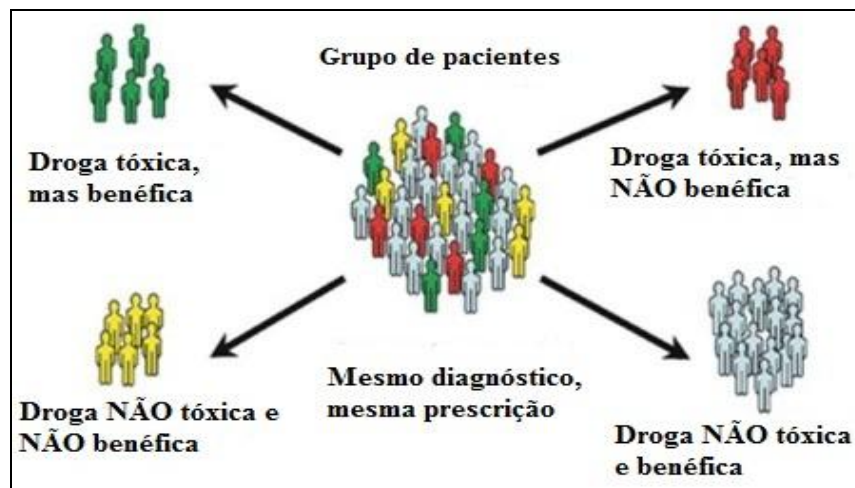
O tratamento do câncer depende, dentre outros fatores, do estágio em que o tumor se encontra. Pacientes com doença irresssecável ou metastática devem usualmente ter o diagnóstico confirmado por biopsia e receber tratamento com quimioterapia sistêmica. Estima-se que pelo menos 60% dos casos necessite de tratamento quimioterápico em algum momento da evolução (SAAD-HOSSNE *et al.* 2005). Além disso, o tratamento exige habilidosa interação de múltiplas modalidades, como a cirurgia e irradiação. Cada uma dessas formas de tratamento tem seus próprios riscos e benefícios. Nem todos os esquemas terapêuticos são apropriados para todos os pacientes, sendo preciso considerar diversos fatores, tais como função renal e hepática, *performance status*, idade, reserva da medula óssea e comorbidades. Além de fatores menos quantificáveis, adesão do paciente ao tratamento, tolerância física e emocional às toxicidades, assim como prováveis riscos e benefícios ao longo prazo (CALABRESI, 2001).

Um dos maiores desafios durante o tratamento oncológico é ajustar a dose a fim de obter um desfecho terapêutico satisfatório, com o mínimo de toxicidade possível. A forma mais comum e simples de ajuste de dose baseia-se na área de superfície corpórea do paciente, somente levando em consideração peso e altura do mesmo. Porém, outras formas, como monitorização farmacocinética e ajuste de dose com base na função renal também são usados e permitem um desfecho mais efetivo (MARTINS *et al* 2013; BAKER *et al* 2002).

Apesar dos esforços para prever o desenvolvimento de complicações, os agente antineoplásicos possuem farmacocinética e toxicidade variáveis para cada paciente. Contudo, as causas dessas variabilidades nem sempre são evidentes, podendo, com freqüência, estar relacionadas com diferenças interpessoais no metabolismo dos fármacos, nas interações medicamentosas e nas reservas da medula óssea (GIBALDI, 1991).

As variações individuais na sensibilidade aos fármacos antineoplásicos ou na capacidade de metabolização dos mesmos podem afetar a eficácia e a segurança de tratamentos quimioterápicos. Estes processos são mediados, principalmente, por genes polimórficos, cujas variações alélicas podem resultar em fenótipos diferentes. A avaliação de correlação entre genótipo e fenótipo é essencial para o estabelecimento de uma terapêutica personalizada, baseada na caracterização de perfis genômicos individuais (REIS, 2006).

A Farmacogenética é a ciência que estuda como esses diferentes fatores genéticos influenciam a variação da resposta ao uso de fármacos (MEYER, 2004; KOO *et al.*, 2006). Esta ciência emergiu na década de 50, quando surgiu a ideia de que fatores genéticos poderiam alterar a farmacocinética e a farmacodinâmica do medicamento. Nesse período, novas técnicas permitiram medidas mais acuradas das atividades enzimáticas, dos metabólitos e conseqüentemente, da resposta aos fármacos (MEYER, 2004; EICHELBAUM *et al.*, 2006) ( figura 3).



**Figura 3-** Variabilidade de resposta de pacientes com o mesmo diagnóstico e mesma prescrição (Fonte: Evans e McLeod. N Engl J Med 2003).

Em 1959, o pesquisador alemão Friedrich Vogel utilizou pela primeira vez o termo “Farmacogenética” (NEBERT *et al.*, 2008), mas somente em 1963, no livro escrito por Kalow, que a Farmacogenética foi definida como estudo da hereditariedade e resposta às drogas (MEYER, 2004; KALOW, 1963).

Devido a limitações técnicas, os primeiros trabalhos de Farmacogenética eram focados em cuidadosas observações de idiossincrasias no fenótipo. No entanto, com o avanço das técnicas moleculares, tornou-se possível a identificação e caracterização de variações específicas no DNA. Os mais importantes alvos da Farmacogenética são os genes que codificam enzimas responsáveis pela farmacocinética e farmacodinâmica dos medicamentos (HINES *et al.*, 2008). Portanto, a estratégia primária da farmacogenética é estudar variações nas sequências em genes com potencial de afetar a resposta aos medicamentos (ENSON *et al.*, 2001).

Atualmente, a medicina clínica tem utilizado a farmacogenética a fim de individualizar a terapia. A finalidade da “medicina personalizada” estende-se às mais diversas especialidades médicas. Mas em nenhuma outra área da medicina o objetivo da terapia individualizada é mais importante e mais crítica do que na área da oncologia (REIS, 2006).

A oncologia está entre as que lidam com as maiores dificuldades no manejo da terapêutica farmacológica, pois esses fármacos exibem, em sua maioria, janelas terapêuticas estreitas, ou seja, as diferenças entre as doses que produzem o efeito antitumoral e as que causam toxicidade são muito pequenas. Portanto, em doses usuais em que precisam ser administrados para obtenção da resposta terapêutica, pode se observar com frequência toxicidade severa (REIS, 2006).

A genotipagem tem sido largamente utilizada como instrumento de predição de um fenótipo, principalmente, no que diz respeito à predição de resposta e toxicidade. Os genes que codificam enzimas metabolizadoras de medicamentos exibem um papel importante devido a sua grande influência na eliminação de xenobióticos (SCHULZ *et al.*, 2009).

Analisar geneticamente um indivíduo e prever sua resposta a um determinado fármaco pode diminuir o risco de resposta indesejável frente ao uso do mesmo. As possibilidades de aplicação da farmacogenética/farmacogenômica são amplas e incluem a identificação de novos alvos terapêuticos, a otimização dos protocolos de farmacologia

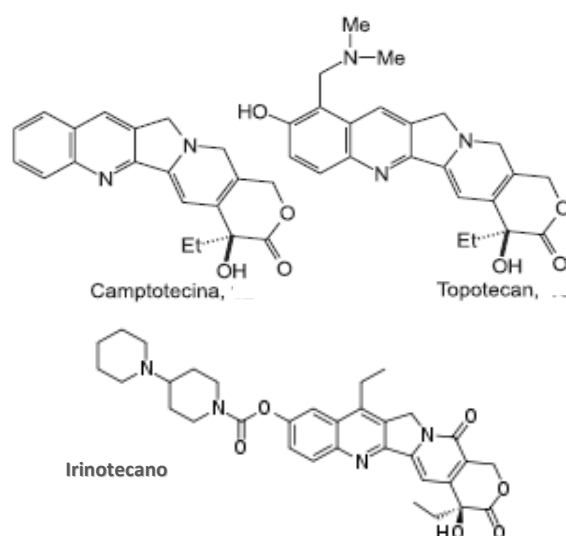
clínica, o desenvolvimento de testes genéticos para a escolha de fármacos, a revisão de esquemas posológicos e o “desenho” individual de fármacos (REIS, 2006).

Frente a esses novos desafios, uma rede nacional de farmacogenética/farmacogenômica foi criada no Brasil (REFARGEN, 2005). Esta rede, formada por pesquisadores distribuídos nas cinco regiões do país, tem como objetivo a criação de um arquivo de dados farmacogenômicos para a população brasileira, a promoção da interação científica entre os membros da rede e o incentivo à pesquisa de fármacos direcionados à genética da população (SUAREZ-KURTZ, 2004).

## 1.2 Irinotecano (CPT-11) e seu mecanismo de ação.

A camptotecina isolada da árvore chinesa *Camptotheca acuminata*, do qual se revelou um agente antineoplásico citotóxico potente cujo alvo é a enzima nuclear Topoisomerase I (KAWATO *et al*, 1991).

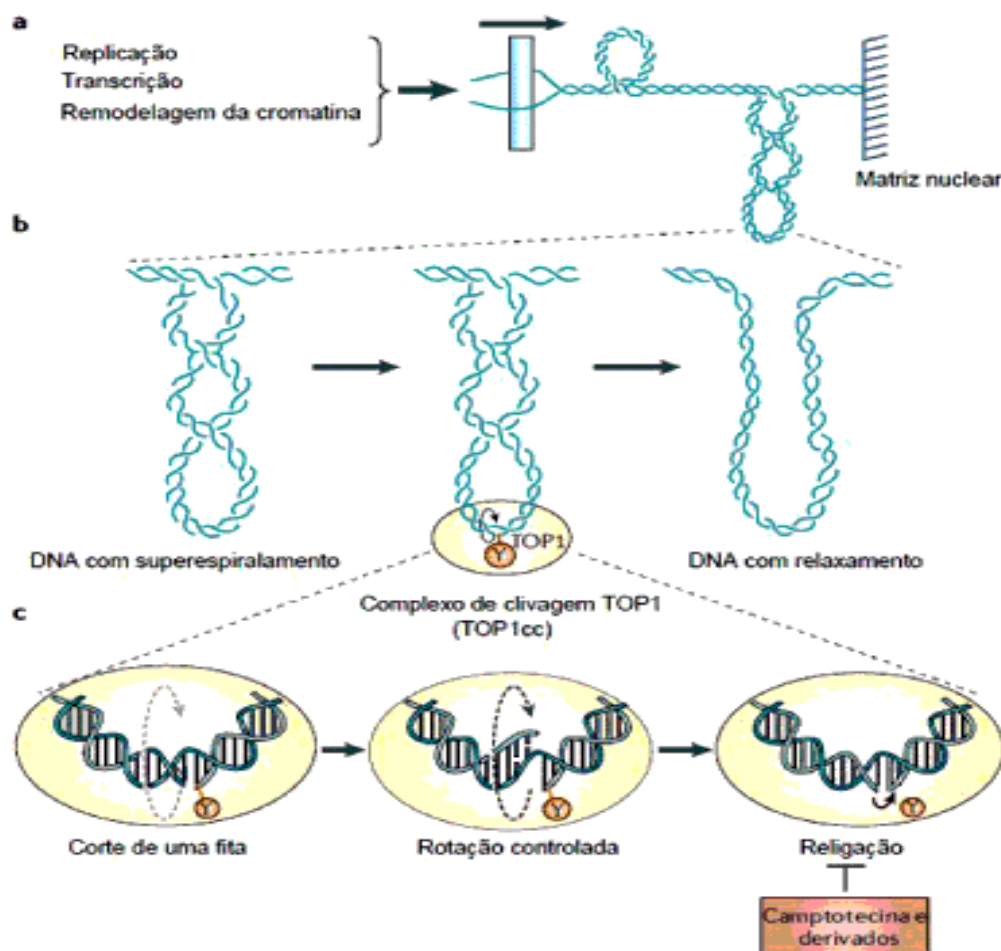
Todas as camptotecinas possuem uma estrutura de cinco anéis fundidos, que começa com um componente de quinolina fracamente básica e termina com um anel de lactona (Figura 4). Os substituintes nos anéis de quinolina A e B podem modular a posição de equilíbrio entre as formas do anel de lactona fechado e as do aberto através de efeitos sobre suas afinidades relativas de ligação às proteínas plasmáticas. Por exemplo, a forma lactona do 7-etil-10-hidroxicamptotensina, o SN-38, o metabólito biologicamente ativo do Irinotecano, liga-se preferencialmente à albumina sérica (BRANDÃO *et al*. 2010).



**Figura 4** – Estrutura química da camptotencina e seus análogos (Burriss III & Fields, 1994).



O principal análogo da camptotecina, o CPT-11, tem como mecanismo de ação, formar o complexo “*DNA-topoisomerase I - SN38*” e interferir na religação da quebra da fita do DNA de forma irreversível. As topoisomerases ou DNA topoisomerases são enzimas que desempenham importante papel nos processos de replicação e empacotamento do DNA. Ela catalisa uma quebra nas moléculas de DNA, mas usa ligações covalentes para fixar essas moléculas que foram quebradas. Existem dois tipos, a Topoisomerase I e a Topoisomerase II. A **Topoisomerase I** produz quebras numa das cadeias do DNA e permite o giro da cadeia quebrada sobre a cadeia intacta. Esta conserva a energia do rompimento da ligação fosfodiéster e depois ela utiliza essa mesma energia para restaurar a ligação e selar a quebra. A **Topoisomerase II** produz quebras nas duas cadeias do DNA, prendem-se às extremidades através de ligações covalentes, passa a dupla cadeia através do corte e sela a quebra (BRANDÃO *et al.* 2010). A camptotecina e seus análogos têm como alvo somente a Topoisomerase tipo I (Figura 5).



**Figura 5** – Ação da Camptotecina e seus derivados sobre o DNA. Adaptada de POMMIER *et al.* 2006.

Uma vez que a DNA topoisomerase I reduz o estresse de torção do DNA superespiralado para que regiões específicas possam sofrer processos como a transcrição, qualquer composto que o inibir estaria, portanto evitando que esses processos vitais ocorressem para a célula. Desta forma este complexo induz a parada do ciclo celular e, por conseguinte a apoptose da célula cancerígena (XU e CALERO, 2002; SMITH *et al*, 2006).

### 1.2.1 METABOLISMO

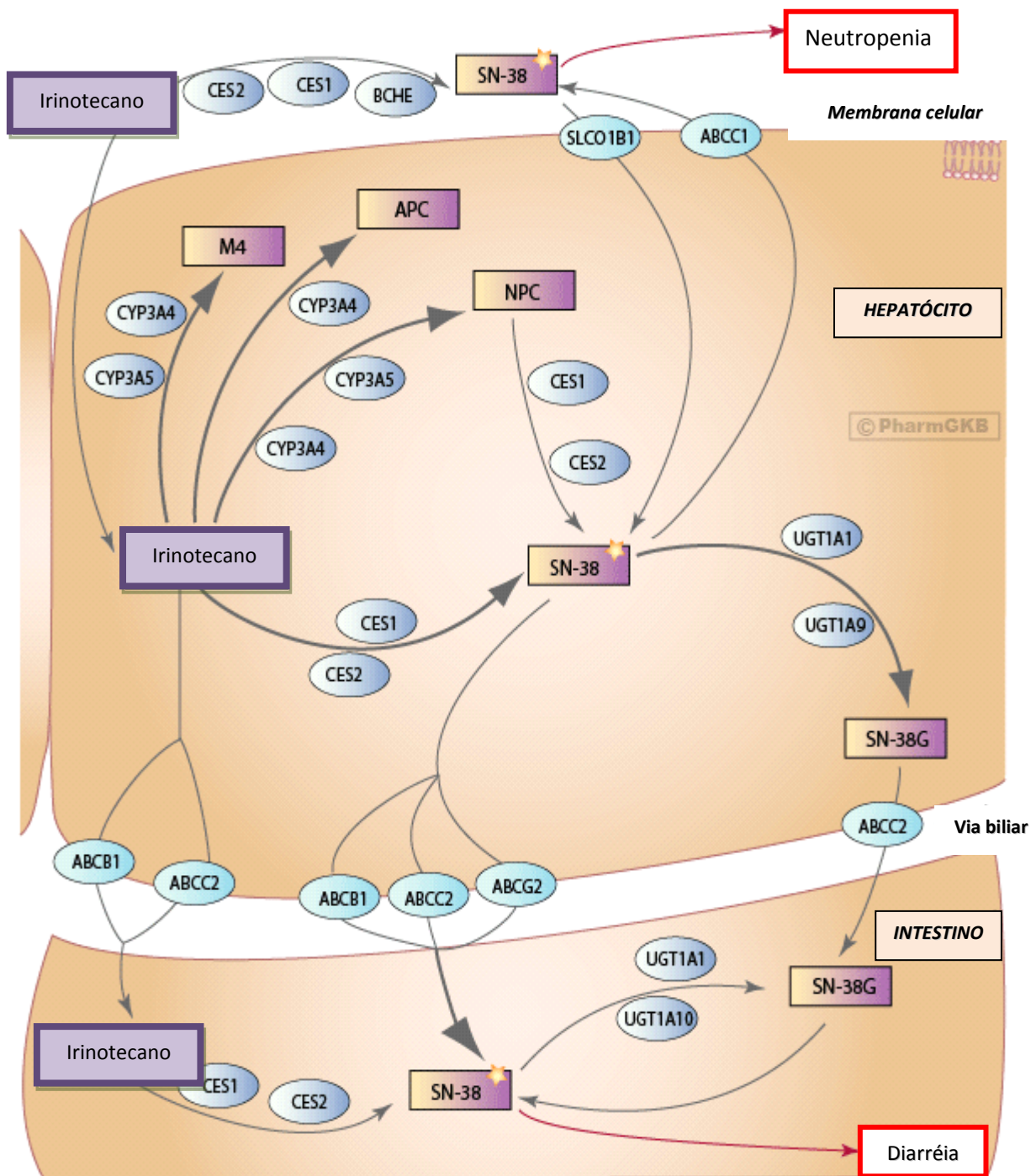
A eficácia do CPT-11 depende da sua ativação por carboxilesterases (CES) para formar o metabólito ativo, SN-38 (WELLS *et al*, 2004; NAGAR *et al*, 2006). O metabolismo do CPT-11 é extremamente complexo e divide-se em Fase I (ativação) e Fase II (inativação/eliminação).

As reações de Fase I do CPT-11 envolvem inúmeras enzimas e transportadores. O CPT-11 sofre ação de CES que hidrolisam a porção carbamato localizada entre a cadeia lateral dipiperidino e a camptotecina para formar, o metabólito ativo SN-38, de 100-1000 vezes mais citotóxico. A conversão para SN-38 ocorre principalmente no fígado, via três CES humanas, CES1A1, CES2 e CES3 com distintas eficiências catalíticas (CES2 > CES1A1 >> CES3) (SMITH *et al*, 2006; SANGHANI *et al*, 2004). A CES2 é a principal enzima envolvida na hidrólise do CPT-11 e além do fígado, têm sido altamente expressa no coração, músculo esquelético, cólon, baço e rins (SANGHANI *et al*, 2004; WU *et al*, 2003). (Figura 05).

A segunda via metabólica de ativação do CPT-11 é através do citocromo P450, no qual sofre oxidação mediada pelo CYP3A4 no anel piperídínico terminal para formar carbonilo-camptotencina (APC) e clivar para formar a carboniloxi-camptotencina (NPC). Ambos, APC e NPC são bem menos citotóxicos (DODDS *et al*, 1998; RIVORY *et al*, 1996). Contudo, as CES podem hidrolizar NPC à SN-38, mas o mesmo não ocorre com APC (SANGHANI *et al*, 2004; DODDS *et al*, 1998; RIVORY *et al*, 1996). O CPT-11 também pode ser convertido novamente a SN-38 pela CES intestinal (AHMED *et al*, 1999) ou por enzimas bacterianas, como por exemplo, a  $\beta$ -glucuronidase (KEHRER *et al*, 2001). A CPT-11 e SN-38 podem sofrer recirculação enterohepática. Todas essas reativações do SN-38 podem induzir a danos na mucosa intestinal e causar toxicidade, o

que justificaria a ocorrência das principais reações adversas, principalmente a diarreia, em pacientes em tratamento com o CPT-11 (CATIMEL *et al*, 1995).

O transporte de CPT-11 e seus metabólitos para fora da célula abrangem vários transportadores incluindo ABCB1 (resistência a multidrogas- MRP1); P-glicoproteína (PgP), ABCC1 (proteína de resistência a multidrogas- MRP1), ABCC2 ou C-MOAT e ABCG2 ou BCRP (SMITH *et al*, 2006). Eles são conhecidos por influenciar no metabolismo do CPT-11 e seus metabólitos devido ao envolvimento deles na absorção intestinal e excreção (SMITH *et al*, 2006). A excreção predominante é pela via fecal (64%), seguido pela renal (32%). O CPT-11 é o componente circulante predominante no plasma, aproximadamente 55% (SLATTER *et al*, 2000) (Figura 5).



**Figura 6** – Representação da via metabólica do irinotecano. A rota metabólica inclui numerosas enzimas de Fase 1 e Fase 2, bem como 4 diferentes membros da família de transportadores. O ABCB1, do cassete de ligação de ATP, subfamília B e membro 1 (MDR/TAP), o ABCC1, subfamília C e membro 1; o ABCC2, do cassete de ligação de ATP, subfamília C e membro 2 (CFTR/MRP), ABCG2, do cassete de ligação de ATP, subfamília G, membro 2; APC, 7-etil-10-[4-N-(5-Acido aminopentanóico)-1-piperidino]-carboniloxicamptotecina; BCHE, Butirilcolinesterase; CES1, carboxilesterase 1; CES2, carboxilesterase 2; CYP3A4, citocromo P450, família 3, subfamília A, polipeptídeo 4; CYP3A5, citocromo P450, família 3, subfamília A, polipeptídeo 5; M4, metabólito desconhecido; NPC, 7-etil-10-[4-(1-piperidino)-1-Amino]-carboniloxicamptotecina; SN-38, 7-Etil-10-hidroxicamptotecina; SN-38G, glicuronídeo de SN-38; UGT1A1, uridina difosfato (UDP) glucuronosiltransferase, família 1, polipeptídeo 1; UGT1A6, UDP glucuronosiltransferase família 1, polipeptídeo A6; UGT1A9, UDP glucuronosiltransferase família 1, polipeptídeo A9; UGT1A10, UDP glucuronosiltransferase família 1, polipeptídeo A10 (THORN *et al*, 2013).

### 1.2.2 GLUCURONIDAÇÃO e as UGTs (UDP- Glucuronosiltransferase).

Outra via metabólica importante para o CPT-11 é a via de glucuronidação do SN-38 no qual este é conjugado ao metabólito inativo, SN-38 glucuronídeo (SN-38G) pelas Uridina Difosfato glicuronosiltransferases (UDP- glucuronosiltransferases ou UGT's), dentre elas, UGT1A1, UGT1A9 e UGT1A7 extra-hepáticas, para eliminar o metabólito ativo (WELLS *et al*, 2004; NAGAR *et al*, 2006; INNOCENT & RATAIN, 2004; PERERA *et al*, 2008; CIOTTI *et al*, 1999; LYER *et al*, 1998).

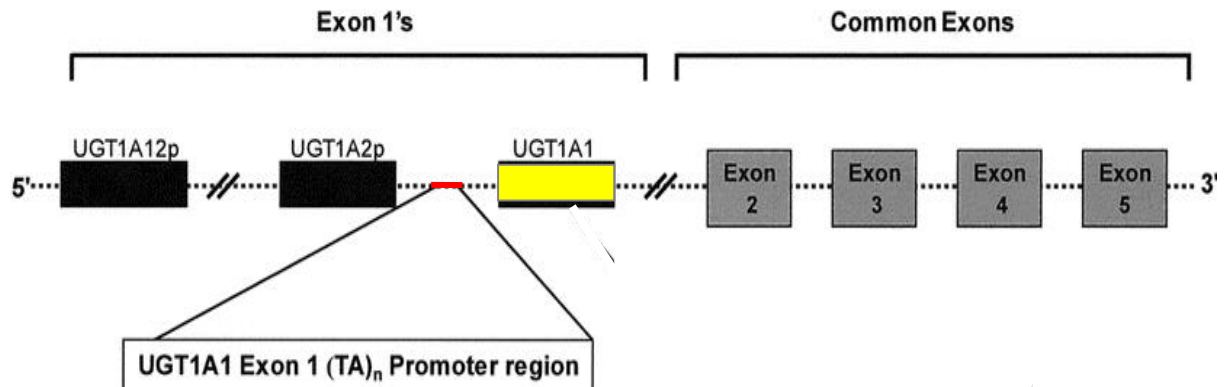
A conjugação implica na transferência de um ácido D-glucurônico a partir de ácido UDP-glucurônico (UDPGlcA) para um grupo receptor, que é frequentemente um fenol e, ocasionalmente, um grupo acil ou um grupo hidroxilo do açúcar (MULDER, 1992). Esta reação geralmente gera derivados polares que são em seguida eliminados na urina e bÍlis. Apesar do fato do SN-38G ser desprovido de atividade citotóxica direta, eles podem ser desconjugados por ação de  $\beta$ -glucuronidases de bactérias presentes no trato digestivo, e desta forma regenerar quantidades significativas do metabólito ativo, no caso, SN-38 (KAWATO, *et al*, 1991).

A UGT é a enzima que cataliza a fase de glucuronidação e estão presentes nas células e nos tecidos, principalmente encontradas nos microsomas hepáticos. São as principais enzimas metabolizadoras de compostos como a bilirrubina.

A nomenclatura das UGT's consiste em um numeral arábico, que representa a família a qual pertence, uma letra, a qual designa a subfamília e um segundo numeral arábico indicando o gene, por exemplo, UGT1A1, é uma UGT da família "1", subfamília "A" do *locus* gênico "1" do braço longo do cromossomo 2 (TUKEY & STRASSBURG, 2000). As UGT's são uma superfamília composta por duas famílias, UGT1 e UGT2 e três subfamÍlias, UGT1A, UGT2A e UGT2B (MACKENZIE *et al*, 1997). O UGT1A codifica 9 proteínas funcionais: UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A5, UGT1A6, UGT1A7, UGT1A8, UGT1A9 e UGT1A10 (LYER *et al*, 1999).

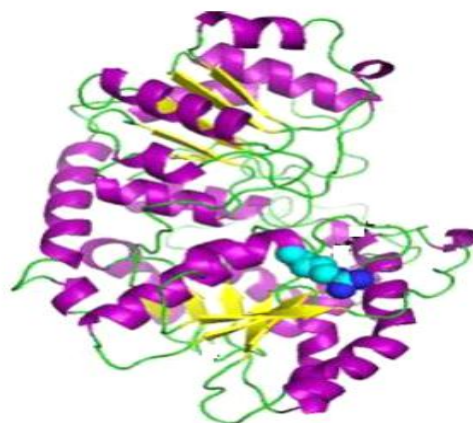
A subfamília "A" apresenta 4 éxons comuns que são transcritos juntamente com o éxon variável. Assim, a família UGT1A apresenta 4 éxons comuns localizados na região C-terminal e 13 éxons variáveis na região N-terminal. O UGT1A1 é o mais próximo em relação aos éxons comuns e o UGT1A12 o mais distante deles, compreendendo aproximadamente, 160kb (figura 7).

Na região que antecede o gene UGT1A1 encontra-se o promotor, no qual é uma região reguladora que está a uma curta distância da extremidade 5' e atua como local de ligação da RNA polimerase, importantes para o início da transcrição do gene UGT1A1.



**Figura 7** - Estrutura da subfamília UGT1A. Organização genômica dos treze éxons da UGT1A. Fonte: Modificado de Innocent e Ratain (2004).

A enzima humana UGT1A1, ilustrada na figura 8, é a enzima predominante e responsável pela conjugação da bilirrubina e do CPT-11, uma vez que essa cataliza a glicuronidação ou conversão da bilirrubina indireta em direta e do SN-38 em SN-38G (RITTER *et al*, 1991; ROSNER *et al*, 2008; BOSMA, 1995; BURCHELL & HUME, 1999; GUILLEMETTE *et al*, 2003). Uma redução parcial na atividade em UGT1A1 causa moderada hiperbilirrubinemia, a chamada síndrome de Gilbert (LYANAGI *et al*, 1998).



**Figura 8** – Ilustração da estrutura tridimensional da enzima UGT1A1 (MONTEIRO, 2012).

A síndrome de Gilbert (SG) é caracterizada fenotipicamente por uma forma de hiperbilirrubinemia indireta e é considerada do ponto de vista hepatológico uma síndrome benigna devido não acarretar uma disfunção hepática crônica ou fibrose. Contudo, há relatos recentes que demonstram a predisposição ao câncer e toxicidades aos fármacos (LANKISCH *et al*, 2006; GUILLEMETTE *et al*, 2000) .

Em um estudo publicado por Gupta *et al*. (1994), a importância do SN-38G foi enfatizado pelo estabelecimento de uma correlação entre um "índice biliar" elevado e a ocorrência de diarreia tardia grave em doentes tratados uma vez por semana com o CPT-11. Este índice é estimado a partir da área sobre a curva (AUC) de CPT-11 e SN-38, dividida pelo AUC do SN-38G. Embora esta observação não fora ainda confirmada por outros estudos, a importância desta via metabólica e a sua possível variabilidade individual levaram a estudar *in vitro* a conversão de SN-38 para SN-38G por microsomas de fígado humano. Foi observado também que a cinética de glucuronidação do SN-38 pode sofrer interferência se co-administrados outros medicamentos com o irinotecano no protocolo de tratamento.

Recentes estudos sugerem que os indivíduos com variação da glucuronidação podem estar predispostos à toxicidade quando submetidos ao tratamento com alguns fármacos, como por exemplo, com o uso do CPT-11 (BURCHELL, 2003).

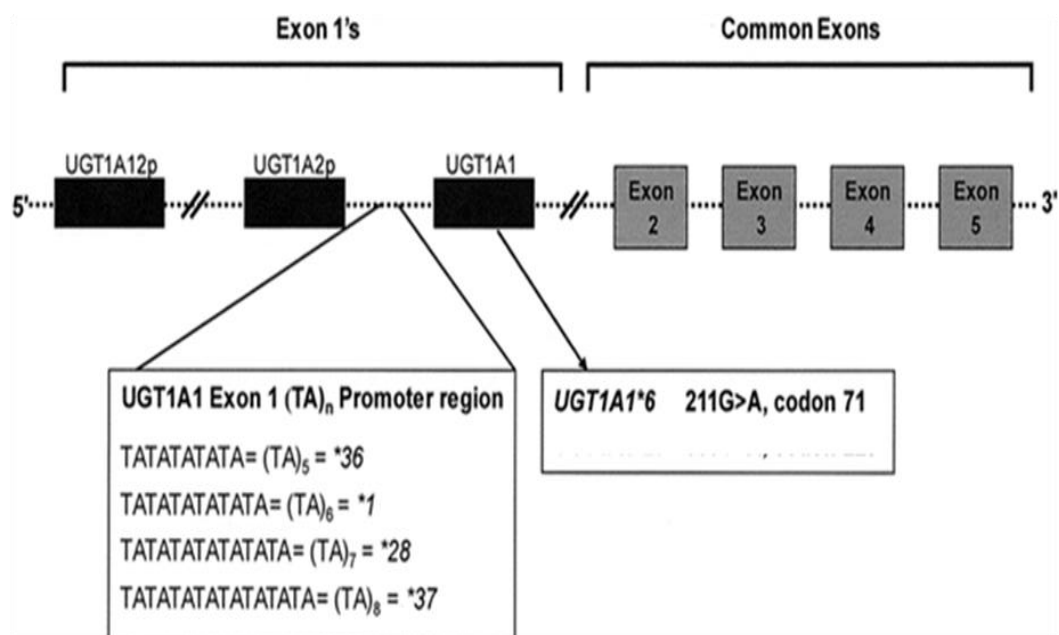
### 1.2.3 POLIMORFISMO NO *UGT1A1* versus TOXICIDADE e EFICÁCIA

Polimorfismos genéticos de uridina difosfato glucuroniltransferase 1A1 (*UGT1A1*) têm sido associado a uma grande variação de respostas entre os pacientes prescritos com irinotecano. Sub-expressão da enzima *UGT1A1* prejudica a conversão do SN-38 a sua forma inativa (SN-38G) e provoca um acúmulo excessivo de SN-38 tóxica (TEH *et al*, 2012).

O polimorfismo de *UGT1A1* é responsável pelas grandes diferenças inter-individuais na farmacocinética do irinotecano e risco de toxicidade grave (INNOCENTI *et al*, 2006; HAN *et al*, 2006).

Pelo menos 63 alelos variantes *UGT1A1* têm sido descritos, incluindo as trocas de pares de bases chamadas também de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), mutações por desvio de estrutura, inserções e deleções na região promotora. A maioria está associado com ausência, redução ou inativação da enzima *UGT1A1*, outros estão

associados com o aumento da enzima, e alguns são desconhecidos (INNOCENTI *et al*, 2005). Figura 9.



**Figura 9** - Esquema do gene UGT1A1 que mostra localizações dos polimorfismos de interesse para este estudo em região promotora do exon 1 e no próprio Exon 1. Os primeiros exons são splicing alternativo para exons comuns para produzir isoformas da UGT. Fonte: Modificado de Innocent e Ratain (2004).

O polimorfismo relacionado ao UGT1A1, mais descrito na literatura, é o par de inserção de timina-adenina (TA) no TATAbox da região promotora do gene. O resultado é que a sequência (TA)6TAA do alelo de tipo selvagem, torna-se (TA)7TAA; esta variante tem sido designada como UGT1A1\*28, no qual causa expressão reduzida da enzima e consequentemente, se for homozigota, causa a Síndrome de Gilbert's, causando uma redução de 70 à 80% na glucuronidação da bilirrubina em portadores homozigotos (GAGNÉ *et al*, 2002; JINNO *et al*, 2003; PALOMAKI *et al*, 2009; INNOCENTI *et al*, 2004).

Na literatura também já foram descritos a sequência (TA)8TAA com duas inserções e a (TA)5TAA (UGT1A1 \* 36), com uma deleção, mas são menos comuns e menos rotineiramente testados (LENTZ *et al*, 2005; LYER *et al*, 2002; ROSNER *et al*, 2008). Cada indivíduo apresenta uma combinação de quaisquer dois destes alelos (Quadro 01).



**Quadro 01:** Nomenclatura dos alelos comuns de UGT1A1.

Nome	Proteína	Troca nucleotídica	Exon	Efeitos	Fenótipo	Atividade enzimática		Referência
						<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>	
UGT1A1*1	UGT1A1.1	-	-	Selvagem	-	-	-	Ritter J, 1991
UGT1A1*6	UGT1A1.6	211(G>A)	1	-		<i>Reduzido</i>	<i>Reduzido</i>	Aono S, 1994
UGT1A1*7	UGT1A1.7	1456(T>G)	5	-	CN2	<i>Reduzido</i>	<i>Reduzido</i>	Aono S, 1994
UGT1A1*28	UGT1A1.28	A(TA)7TAA	Promotor	-	Gilbert* *(homozigoto)	<i>Reduzido</i>	<i>Reduzido</i>	Bosma P, 1995

Outro tipo de polimorfismo que podem alterar a glucuronidação da enzima UGT1A1 estão as trocas de pares de bases únicos no exon 1, gerando trocas não sinônimas de aminoácidos. Por exemplo, o UGT1A1 \* 6, onde uma guanina é substituída por uma adenina (211G>A) (BOSMA, 1995; YAMAMOTO *et al*, 1998).

A predição da toxicidade associada ao CPT-11 e eficácia do tratamento tem sido uma área de interesse. Um estudo prospectivo administrou irinotecano a 66 pacientes com doença avançada. Genótipos UGT1A1\*28 e haplótipos que contêm UGT1A1\*28 foram correlacionados com farmacologia do Irinotecano e a ocorrência de toxicidade grave. Pacientes homozigotos para UGT1A1\*28 apresentaram um risco significativamente maior de neutropenia grau IV em comparação com os pacientes heterozigotos do tipo selvagem ou homozigotos. Esses dados apontam mais um exemplo do uso potencial da farmacogenética na quimioterapia do câncer. Reações Adversas, como a diarreia e neutropenia, estão associados com a concentração plasmática de SN-38 e a atividade enzimática de UGT1A (GUPTA *et al*, 1994). Isto pode ocorrer, principalmente, devido expressiva variabilidade interindividual (ANDO, 2000).

O quadro abaixo relaciona os principais estudos sobre polimorfismo do gene UGT1A1 às toxicidades e eficácia do CPT-11 publicados nos últimos anos.

**Quadro 02:** Principais estudos sobre polimorfismo do gene UGT1A1 em relação à toxicidade e eficácia do irinotecano.

AUTOR	ALVO	CONCLUSÃO
<i>Li et al.2014</i>	<i>UGT1A1*28</i> e <i>UGT1A1*6</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Metanálise com 334 pacientes;</li> <li>• Nem o genótipo <i>UGT1A1*28</i> e <i>UGT1A1*6</i> tiveram associação com neutropenia severa. Mas pacientes com 2 alelos ou um alelo variante tiveram mais chance de desenvolver diarreia severa do que pacientes com o genótipo selvagem.</li> </ul>
<i>Xiang &amp; Liu, 2014</i>	<i>UGT1A1*28</i> e <i>UGT1A1*6</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 141 pacientes;</li> <li>• Regime utilizado foi o FOLFIRI 180mg/m<sup>2</sup></li> <li>• Não foi observada associação entre o polimorfismos UGT1A1 e neutropenia grave. Mas houve associação para diarreia Tardia grave associada ao Irinotecano nos pacientes com <i>UGT1A1*28</i> e <i>UGT1A1*6</i>.</li> </ul>
<i>Liu X. &amp; Xu Wei, 2014</i>	<i>UGT1A1*28</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A QT combinada com irinotecano em comparação com 5-FU/LV isolado, demonstrou resposta global e de sobrevida superior.</li> <li>• Neutropenia e diarreia são as principais toxicidades do Irinotecano podendo resultar em redução de dose, suspensão do tratamento ou morte.</li> <li>• O FDA aprovou um teste diagnóstico que identifica o polimorfismo homozigoto no gene UGT1A1*28 de forma que possam administrar doses mais baixas à esses pacientes.</li> </ul>
<i>Eisenhardt et al.2012</i>	<i>UGT1A1*28</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 90,9% de frequência alélica UGT1A1*28 (todos homozigotos).</li> <li>• 60% relataram diarreia severa,</li> <li>• 20% neutropenia e trombocitopenia.</li> </ul>
<i>Hu et al. 2010</i>	<i>UGT1A1*28</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• O genótipo UGT1A1*28/*28 também está associado ao aumento do risco de neutropenia em baixas doses. Porém mais significativo se em alta dose.</li> </ul>
<i>Perera et al. 2008</i>	<i>UGT1A1*28</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• O genótipo UGT1A1*28/*28, homozigoto, diminui em 70% a atividade da enzima.</li> </ul>
<i>Hoskins et al. 2007</i>	<i>UGT1A1*28</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• O aumento da hematotoxicidade é visto quando há polimorfismos associado a doses altas de Irinotecano (&gt;150mg/m<sup>2</sup>).</li> </ul>
<i>Massacesi et al., 2006</i>	UGT1A1	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estudo com 56 pacientes.</li> <li>• Neutropenia grau 3/4 foi relatada em 2% dos ciclos;</li> <li>• Diarreia grau 2–4 em 20% deles.</li> <li>• A Homozigose para seis repetições de TA no promotor do gene UGT1A1 foi o principal fator para diarreia (<math>P &lt; 0.00005</math>), emese (<math>P &lt; 0.0001</math>), e fadiga (<math>P &lt; 0.007</math>).</li> <li>• O <i>Screening</i> para polimorfismo no promotor do UGT1A1 pode ser clinicamente útil para identificação de pacientes para alto risco de desenvolvimento de reações adversas severa.</li> </ul>
<i>Carlini et al, 2005</i>	UGT1A7 e UGT1A9	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estudo com 67 pacientes.</li> <li>• Dados sugerem que UGT1A7 e/ou UGT1A9 podem ser preditores de resposta e toxicidade em pacientes com CCR tratados com capecitabina + irinotecano.</li> <li>• Pacientes com genótipo conferindo baixa atividade de UGT1A7 e/ou genótipo UGT1A9 (dT)9/9 pode ser particularmente susceptível para exibir melhor resposta antitumoral com baixa toxicidade.</li> </ul>

<i>Innocenti et al. 2004</i>	<i>UGT1A1</i> (3279GT, 3156GA, promoter TA indel, 211GA, 686CA)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 66 pacientes.</li> <li>• Genótipo do gene <i>UGT1A1</i> e níveis de bilirrubina total são altamente associados com neutropenia severa, e pode ser usado para identificar pacientes predispostos a toxicidade severa ao Irinotecano.</li> <li>• É necessário mais estudos para comprovar a hipótese da variante &lt;3156G&gt;.</li> <li>• Prevalência de 9,5% de neutropenia severa, sendo de 50% em pacientes 7/7.</li> </ul>
<i>Rouits et al, 2004</i>	Polimorfismo no TATA box e mutações nos genes <i>UGT 1A1 G71R</i> e <i>Y486D</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 75 pacientes</li> <li>• Nenhum G71R e Y486D mutações foram encontradas em nossa população.</li> <li>• Frequências para polimorfismos no TATABox <i>UGT1A1</i> foram: 41% para 6/6, 47% para 6/7 heterozigotos, e de 9% para Gilbert de síndrome de 7/7.</li> <li>• A tolerância ao tratamento diminuiu com o aumento do número de repetições TA com 71% dos pacientes do grupo 7/7 que experimentaram grau 3/4 de toxicidade.</li> <li>• Este método é adequado para a detecção de polimorfismo <i>UGT1A1</i> na prática clínica. Portanto, poderia ajudar a individualizar a dose para otimizar a eficácia e toxicidade limite.</li> </ul>
<i>Marcuello et al, 2004</i>	<i>UGT1A1*28</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 95 pacientes</li> <li>• Os efeitos adversos mais frequentes: astenia (34), diarreia (29) e neutropenia (20).</li> <li>• Diarreia grave (3/4) foi observada em 07/10 homozigóticos (70%) e 15/45 (33%) heterozigotos em comparação com 7/40 (17%) pacientes do tipo selvagem (P=40.005).</li> </ul>
<i>Font et al, 2003</i>	<i>UGT1A1*28</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• O protocolo de tratamento com irinotecano com docetaxel mostrou toxicidade aceitável e melhor prognóstico em pacientes portadores dos genótipos variantes 6/7 e 7/7 do gene <i>UGT1A1</i>, porém essa tendência requer mais validação.</li> </ul>
<i>Innocenti et al. 2001</i>	<i>UGT1A1*28</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• O alelo *28 quando está em heterozigose diminui em 25% a atividade da enzima.</li> </ul>
<i>Ando et al. 2000</i>	<i>UGT1A1*28</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• O <i>UGT1A1*28</i> foi significativamente relacionado à toxicidade severa induzida por Irinotecano, porém <i>UGT1A1*6</i> não foi.</li> </ul>
<i>Ando et al. 1998</i>	<i>UGT1A1*28</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A frequência de <i>UGT1A1*28</i> em caucasianos é &gt; do que em japoneses.</li> </ul>
<i>Yamamoto et al 1998</i>	<i>UGT1A1*6</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• O <i>UGT1A1*6</i> homozigoto ou heterozigoto diminuem a atividade enzimática para 32%.</li> </ul>
<i>Bosma,1995</i> <i>Akaba, 1998</i>	<i>UGT1A1*6</i> <i>UGT1A1*27</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Essas isoformas tem sido encontradas somente em japoneses.</li> </ul>

### 1.3 PRINCIPAIS PROTOCOLOS CLÍNICOS À BASE DE CPT-11

O CPT-11 é amplamente utilizado na prática da oncologia clínica. Pode ser indicado como agente isolado ou em combinação com outros antineoplásicos no tratamento de pacientes em várias neoplasias, dentre elas, câncer de ovário, pequenas células de pulmão, câncer gástrico recorrente ou inoperável e câncer de CCR (GARCIA-CARBONERO *et al.* 2002; ULEIKAN & SWAAN, 2002).

Atualmente constitui o tratamento de escolha para CCR em combinação com fluoropirimidinas (DOUILLARD *et al.*, 2000), ou como agente isolado após fracasso de um esquema com 5-fluoruracila (CUNNINGHAM *et al.*, 1998).

No caso de indicação para o Câncer de Colón e Reto, o Ministério da Saúde aprovou as Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), através da publicação da portaria nº 601 de 26 de junho de 2012. Esta portaria recomenda que a quimioterapia paliativa, aquela indicada para doentes com câncer recidivado inoperável ou com doença no estágio IV ao diagnóstico, utilizem esquemas terapêuticos baseados em fluorpirimidina, associados ou não a oxaliplatina e CPT-11, observando-se características clínicas do doente e condutas adotadas no hospital, por até três linhas de tratamento (BRASIL, 2012).

Os esquemas de quimioterapia sistêmica à base de CPT-11 mais utilizados incluem, regimes preferenciais, FOLFOX ou FOLFIRI e regimes alternativos, IFL dose reduzida, IFL modificado e FLOX nórdico (Quadro 3).

A eficácia e a toxicidade do IRI dependem de fatores biológicos, relacionados à população de pacientes em tratamento e ao tumor; da dosagem; da combinação ou modulação por outras drogas (META-ANALYSIS GROUP IN CANCER, 1998; KÖHNE *et al.* 2003).

As reações adversas mais comuns do Irinotecano consistem em diarreia, que pode ser potencialmente fatal em alguns casos, mielossupressão, e síndrome colinérgica aguda de náuseas, vômitos, mucosite, diarreia e rubor. Foi observada a ocorrência de diarreia de grau 3-4 em até 35% dos pacientes em estudos clínicos preliminares. O Irinotecano, quando administrado em uma dose de 125mg/m<sup>2</sup>, semanalmente, durante 4 a 6 semanas, em associação com 5-fluoruracil (5-FU) e leucovorina, resultou em morte tóxica por diarreia grave e neutropenia.

Um esquema alternativo e mais bem tolerado de administração quinzenal de Irinotecano, na dose de 180mg/m<sup>2</sup>, seja isoladamente ou em associação com 5-FU e Leucovorin (FOLFIRI), foi amplamente adotado na prática clínica dos principais centros de tratamento. A mielossupressão também é comum com irinotecano, ocorre neutropenia de grau 3-4 em 14 a 47% dos pacientes.

**Quadro 3:** Regimes quimioterápicos preferencial e alternativos com CPT-11.

<b>Regimes terapêuticos preferenciais</b>	
mFOLFOX6	O 85mg/m <sup>2</sup> EV em 2hs no D1, LV 400mg/m <sup>2</sup> EV em 2hs D1, e 5-FU 400mg/m <sup>2</sup> EV bolus, seguido de 5-FU 2400mg/m <sup>2</sup> EV em IC por 46 horas no D1 a cada 2 semanas.
FOLFIRI	I 180mg/m <sup>2</sup> EV em 90 min seguido de LV 400mg/m <sup>2</sup> EV em 2hs, seguido por 5-FU 400mg/m <sup>2</sup> EV bolus, e então 5-FU 2400mg/m <sup>2</sup> EV em IC por 46 horas a cada 2 semanas.
<b>Regimes terapêuticos alternativos</b>	
IFL reduzido	I 100mg/m <sup>2</sup> EV em 90 min seguido de LV 20mg/m <sup>2</sup> EV bolus e 5-FU 500mg/m <sup>2</sup> EV bolus, semanalmente por 4 semanas, a cada 6 semanas.
IFL modificado	I 125mg/m <sup>2</sup> EV em 90 min seguido de LV 20mg/m <sup>2</sup> EV bolus e 5-FU 500mg/m <sup>2</sup> EV bolus, semanalmente por 2 semanas, a cada 3 semanas.
FLOX nórdico	O 85mg/m <sup>2</sup> EV no D1, 5-FU 500mg/m <sup>2</sup> EV bolus + LV 60mg/m <sup>2</sup> D1 e D2 a cada 2 semanas.

O: oxaliplatina, LV: leucovorin, 5-FU: fluorouracila, IC: infusão contínua, EV: endovenoso, I: irinotecano  
 Fonte: Adaptada de SBOC, 2013

O irinotecano é mais comumente usado no câncer colorretal avançado. Como tratamento de 1ª linha na doença metastática, o irinotecano é associado a 5-FU e LV, com ou sem bevacizumabe. Além disso, pode ser administrado como terapia de 2ª linha, como agente isolado, ou, em pacientes com tumores tipo selvagem k-ras, pode ser associado a cetuximabe.

Dados brasileiros sobre toxicidades relacionadas ao tratamento quimioterápico para CCR são escassos. Não há dados paraenses sobre polimorfismos no gene UGT1A1 e sua correlação com toxicidades relacionadas ao uso de CPT-11.

## **2 JUSTIFICATIVA E APLICABILIDADE**

A eficácia terapêutica do irinotecano pode ser comprometida pelas reações adversas ao medicamento (RAM), principalmente neutropenia grave e diarreia severa que acabam por limitar a sua utilização (BRANCO *et al.*, 2009). Por isso o conhecimento da frequência das variantes polimórficas da UGT1A1 e sua relação com toxicidade ao uso de irinotecano pode gerar conhecimento com possível utilização para melhorar a aplicação dessa droga.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Detectar polimorfismos no TATA Box do gene *UGT1A1* dos pacientes recrutados que possam ser utilizados como preditivos de toxicidade ao tratamento com Irinotecano.

#### **3.2 Específicos**

- Caracterizar as intervenções médicas e toxicidades/reações adversas medicamentosas quanto à gravidade e quanto à variabilidade intra e interindividual, de forma a seleccionar aqueles possivelmente associados à variabilidade genética;
- Comparar os genótipos dos pacientes tratados com Irinotecano que apresentaram efeitos adversos ao tratamento com o grupo de pacientes que não apresentaram.
- Contribuir para condução de estudos clínicos de tratamento com Irinotecano em medicina personalizada.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Descrição da Casuística

#### 4.1.1 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB) da Universidade Federal do Pará sob o nº CAAE 10137913.3.0000.0017 e nº CAAE 10137913.3.3001.5550 no Hospital Ophir Loyola (HOL) (Anexo).

O estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque (1964) e suas revisões, de Tóquio (1975) e Edinburgo (2000), assim como as regulamentações locais (Resoluções 196/96 e 251/97 do CNS-MS).

#### 4.1.2 POPULAÇÃO ESTUDADA

Realizou-se um estudo transversal com avaliação de dados clínicos e epidemiológicos dos indivíduos incluídos e investigação da ocorrência de polimorfismos no gene UGT1A1.

Os pacientes foram recrutados no Serviço de Referência em Oncologia em Belém do Pará, o Hospital Ofir Loyola (HOL) e Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB) no período de dezembro de 2013 à dezembro de 2014.

Após esclarecimento da natureza e objetivos do projeto, os indivíduos sujeitos da pesquisa e/ ou responsáveis foram convidados a assinarem o termo de consentimento esclarecido (TCLE) e doarem 3 à 5 mL de sangue periférico para investigação do genótipo em questão.

Foram utilizados os seguintes critérios para inclusão e exclusão.

#### Critérios de inclusão:

- Idade maior ou igual a 18 anos;
- Diagnóstico de neoplasia, quer seja o tipo da mesma;
- *Performance Status*: 0 - 2



- Tratamento quimioterápico com CPT-11, que seja em monoterapia ou em politerapia.
- Tratamento realizado nas duas unidades de saúde de referência em Belém/PA (HUJBB e HOL).

Critérios de exclusão:

- Pacientes que não desejaram participar do estudo e não assinaram o TCLE (Apêndice A).
- Idade < 18 anos.
- Pacientes que não estão em tratamento com Irinotecano ou nunca fizeram uso do mesmo, assim como aqueles que abandonaram o tratamento antes de iniciá-lo.
- Serão excluídos também, somente da análise genotípica, aqueles que não puderam doar pelo menos 3 mL de sangue periférico para o estudo.

#### 4.1.3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS

Dados sobre história clínica da doença, seus hábitos, idade, antecedentes, ou qualquer outro fator que possa influenciar no resultado da pesquisa, foram levantados durante entrevistas aos pacientes, através do acompanhamento farmacoterapêutico, quando o mesmo não era possível ou para reforçar os dados coletados na entrevista, a análise de prontuários também era necessária.

Para o acompanhamento farmacoterapêutico, foi elaborado um formulário específico (ANEXO), seguindo o Método Dáder, com algumas adaptações para a realidade da oncologia (DÁDER et al, 2007).

#### 4.1.4 AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE e INTERVENÇÕES MÉDICAS.

A avaliação de toxicidade e intervenções médicas durante os ciclos de quimioterapia foram recuperada de dados dos prontuários dos pacientes e também através de entrevistas com os mesmos.

Para as toxicidades utilizou-se, quando possível, os Critérios de Terminologia Comum para Eventos Adversos versão 4.0 (CTCA Ev 4.0) para os seguintes desfechos:

- **Neutropenia:** foi classificada pelos valores dos neutrófilos, classificados como

0 (normal), 1 (<1600 – 1500), 2 (<1500 – 1000), 3 (<1000 – 500), 4 (<500).

- **Diarréia:** foi mensurada a quantidade de episódios ocorridos em 24 horas, sendo:

0 (ausente), 1 (<4), 2 (4 a 6), 3 (=7) e 4 (risco de vida).

- **Constipação:** segundo relato do paciente, sendo:

0 (ausente), 1 (sintomas ocasionais), 2 (persistente), 3 (evacuação manual) e 4 (obstrução).

- **Mucosite:** segundo exame físico, sendo :

0 (ausente), 1 (eritema), 2 (ulcerações), 3 (ulcerações confluentes) e 4 (necrose tecidual).

- **Náusea:** relato pessoal, sendo

0 (ausente), 1 (perda de apetite), 2 (decréscimo da ingestão), 3 (ingestão oral inadequada), 4 (incapacidade de ingestão).

- **Vômito:** segundo o número de episódios relatados, sendo:

0 (ausente), 1 (1), 2 (2 a 5), 3 (6 ou mais) e 4 (risco de vida).

- **Alopécia:** segundo exame físico, sendo:

0 (ausente), 1 (parcial), 2 (completo).

Quanto às intervenções médicas foram avaliadas o ajuste de dose do CPT-11, o adiamento do ciclo de quimioterapia ou suspensão do mesmo, ocasionado por toxicidade grave durante o tratamento.

#### 4.1.5 EXTRAÇÃO DE DNA E GENOTIPAGEM DO GENE *UGT1A1*\*28

Esta avaliação incide sobre as mutações mais comumente testados, o tipo selvagem (TA) 6TAA sequência promotora designada \*1, e do promotor variante (TA)7TAA, sequência designada *UGT1A1*\*28. Além das sequências (TA)5TAA e (TA)8TAA do promotor e do variante no exon 1, 211 g> A (*UGT1A1*\*6).

Foram coletadas amostras de sangue total em tubo contendo EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético). O material genético foi extraído a partir do sangue total

pelo método convencional com fenol-clorofórmio e precipitação com etanol, conforme descrito por *Sambrook et al* (1989).

A técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction – Reação em Cadeia da Polimerase) foi utilizada, tendo como fita molde o DNA genômico extraído anteriormente.

Foram empregados *primers*:

- UGT-C-F1p(5'– TGTAGATCTTCCTCTCTGGTAACT-3') e;
- UGT-C-R1p(5'-GCTTGCTCAGCATATATCTGGG-3').

Este amplifica a região promotora do gene, além do éxon 1do UGT1A1, gerando um amplicon de 1287bp.

As reações de PCR foram feitas utilizando o termociclador *Eppendorf epgradient S*, programado como se segue:

<b>Componente</b>	<b>Volume (µl)</b>
10 x PCR buffer	2.00
12.5Mm MgCl <sub>2</sub>	2.40
Platinum Taq (5U/µl)	0.04
dNTPs 2mM	2.00
UGT-C-F1p 2µM	2.00
UGT-C-R1P 2µM	2.00
Template DNA (4ng/µl)	2.00
dH <sub>2</sub> O	7.56
<b>Total volume</b>	<b>20.00</b>

Condições de Ciclagem:

**94°C por 1 min**

Seguido por 35 ciclos de :

**94°C por 30 seg**

**57°C por 30 seg**

**72°C por 80 seg**

Em seguida:

**72°C por 5 min**

**4°C ∞**

Após a PCR, 1 ul de cada reação de PCR foi realizada num gel de agarose a 1 % (egPCR - 24.07.2014.jpg ) para verificar a presença de uma única banda com o peso molecular correto (o marcador de DNA utilizado neste gel foi o Invitrogen Ladder 1kb Plus - 0,5µl). Os produtos de PCR individual foram purificado usando Kit de purificação de PCR Qiagen MinElute, e eluída em tampão de T.E, e depois quantificado utilizando um NanoDrop ND -1000 (NanoDrop Technologies , Wilmington, DE EUA). A região promotora foi sequenciada na direção sense usando primer UGT-C-F1P, e na direção antisense em uma reação separada, usando primer UGT-C-R2S (5'-AAGAAGAATACAGTGGGCAGA-3').

Em seguida foi realizada a reação de sequenciamento em 10µl como mostrado abaixo:

<b>Component</b>	<b>Volume (µl)</b>
ABI Big Dye ready reaction mix (Life Technologies)	0.50
5 x sequencing buffer (Life Technologies)	2.00
Oligonucleotide 1.6µM (Invitrogen Life Technoloiges)	1.00
Purified PCR product	1.00
dH <sub>2</sub> O	5.50

A ciclagem térmica ocorreu usando um Eppendorf Master Cycler egradient S, programado como segue:

**96°C por 1 min**

Seguido por 25 ciclos de:

**96°C por 10seg**

**55°C por 5 seg**

**60°C por 4 min**

4°C ∞

A reação de sequenciamento foi precipitada usando o Método de etanol:

- 2.5µl 125mM EDTA foi adicionada em cada reação
- 30µl de etanol 100% foi adicionada a cada reação
- A reação foi misturada vigorosamente e em seguida centrifugada a 4000 rpm (2000 x g) por 45 minutos.

- O sobrenadante foi cuidadosamente removido
- 50µl de etanol 100%l foi adicionado, em seguida a amostra foi centrifugada a 4000rpm (2000 x g) por 15 minutos
- O sobrenadante foi removido, e os *pellets* foram secos ao ar durante 5 minutos.
- Os *pellet's* foram armazenados à -20 ° C até sequenciamento em ar seco durante 5 minutos.

Os sedimentos foram ressuspensos em 10 ul de forma amida Hidi (Life Technologies ) pouco antes do sequenciamento , e foram desnaturadas a 95 ° C durante 1 minuto , em seguida, incubou-se em gelo até à carga num Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer ( Life Technologies ) .

Os cromatogramas foram lidos usando pelo asoftware MEGA v6 ( Tamura K , G Stecher , Peterson D , Filipski A, e Kumar S ( 2013 ) MEGA6 : versão Evolutionary Molecular Genetics Analysis 6.0 Molecular Biology and Evolution .: . 30 2725-2729 ) .

#### 4.1.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

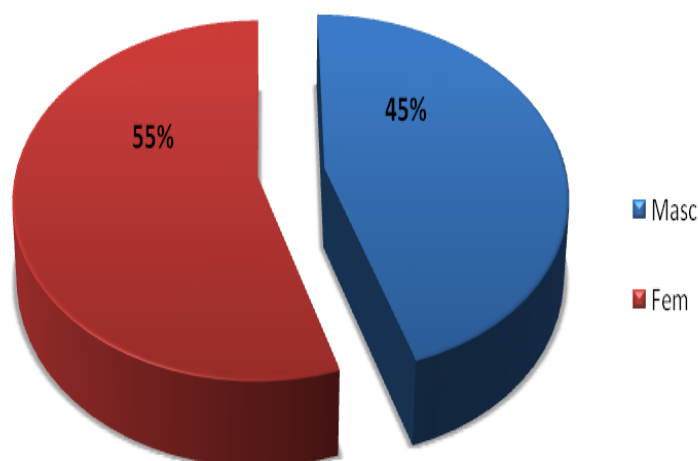
Os dados foram tabulados em planilhas utilizando o programa Microsoft Office Excel 2010® e serão analisados utilizando o programa Bioestat (versão 5.3) nas análises de regressão logística para correlacionar toxicidade, características clínico-epidemiológicas e os marcadores genéticos investigados. Bem como p valor foi obtido pelo Teste Exato de Fisher.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Descrição da casuística

Foram recrutados 31 pacientes no qual obtivemos 100% de adesão ao estudo, no qual todos concordaram assinando um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) aceitando, desta forma, a passar por uma entrevista para preenchimento de um formulário contendo dados sócio-demográficos, clínicos e farmacoterapêutico, bem como, doarem 3mL de sangue periférico para genotipagem e sequenciamento do gene UGT1A1.

Quanto ao gênero dos pacientes recrutados, 17 eram do sexo feminino e 14 do sexo masculino, 54,8% e 45,2%, respectivamente (Gráfico 1). A média de idade foi 51,6, com mínima de 25 e máxima de 76 anos.



**Gráfico 1-** Distribuição entre o sexo Masculino e Feminino nos 31 pacientes oncológicos tratados com Irinotecano.

Os sítios primários do câncer mais frequentes dentre os pacientes estudados eram principalmente no reto, com 41,9% (13/31) seguido por cólon, 32,3% (10/31). Outros tipos como, câncer gástrico, de pulmão, pâncreas e até um caso de rhabdomyosarcoma, somaram 22,6% (7/31).

Quanto à escolaridade a maior predominância foi entre os sujeitos com ensino fundamental incompleto com 39,3% (11/28) dos casos. Quando perguntados sobre sua cor/raça, 46,1% (12/26) responderam que se consideravam pardos, 34,6% (9/26) pretos e somente 19,2% (5/26) se julgavam brancos (Tabela 1).

**Tabela 1-** Características clínico-epidemiológicas dos 31 pacientes oncológicos tratados com Irinotecano – Belém.

<b>Características</b>	<b>n</b>	<b>(%)</b>
<b>Tumor primário</b>		
Reto	13	41,9
Cólon	10	32,3
Outros	7	22,6
S/informação	1	3,2
<b>Escolaridade</b>		
Analfabeto	4	12,9
Ens. Fund incompleto	11	35,5
Ens. Fund completo	2	6,5
Ens. Médio incompleto	5	16,1
Ens. Médio completo	4	12,9
Ensino Superior	2	6,5
<b>Hábito de fumar</b>		
Sim	13	41,9
Não	16	51,6
<b>Hábito de beber</b>		
Sim	14	45,2
Não	15	48,4
<b>Raça/cor</b>		
Branco	5	16,1
Pardo	12	38,7
Moreno	9	29

O uso do quimioterápico CPT-11 se restringiu a pacientes que estavam em estágio mais avançado da doença, estágio IV (100%), ou seja, com metástases. O CPT-11 foi usado em combinação, com outros quimioterápicos em 100% dos casos, sendo o protocolo IFL modificado o mais freqüente com 80,6%, seguido do protocolo combinado com platina (cisplatina) e FOLFIRI, 9,7% (3/31) cada um. Isso explica também a maior freqüência de tratamentos com dose reduzida do CPT-11, 90,3% (Tabela 2).

**Tabela 2-** Características do tratamento quimioterápico em 31 pacientes oncológicos tratados com Irinotecano – Belém.

<b>Característica</b>	<b>Número de pacientes (%)</b>
<b>Regime quimioterápico</b>	
	<b>n=31</b>
IFL modif <sup>1</sup>	25 (80,6)
CPT-11+ CDDP <sup>2</sup>	3 (9,7)
FOLFIRI <sup>3</sup>	3 (9,7)
<b>Dose de CPT-11 (por ciclo*)</b>	
	<b>n=31</b>
<150 mg/m <sup>2</sup> (dose baixa)	28 (90,3)
>150 mg/m <sup>2</sup> (dose alta)	3 (9,7)

<sup>1</sup> IFL: irinotecano + fluorouracil(bolus) + leucovorin

<sup>2</sup> CPT-11+CDDP : irinotecano+ cisplatina

<sup>3</sup> FOLFIRI:irinotecano+ fluorouracil(infusão em bolus e contínua) e ácido folínico.

\*os pacientes foram acompanhados até 8 ciclos de quimioterapia.

## 5.2. Relação entre características clínico-epidemiológicas e os genótipos detectados.

Foi coletado o sangue periférico de 27 (87,1%) dos pacientes recrutados para a investigação quanto aos genótipos, UGT1A1\*28 e UGT1A1\*6. Dos demais pacientes, não foi possível realizar a etapa de coleta sanguínea, pois em alguns casos, não foi possível conseguir acesso venoso, alegaram dores no momento da punção ou abandonaram o tratamento.

Em todos os 27 pacientes houve a investigação dos genótipos, UGT1A1\*6 e UGT1A1\*28. Quanto ao genótipo UGT1A1\*6, o mesmo não foi encontrado em nenhum dos pacientes investigados. Os tipos de alelos variantes detectados encontrados eram aqueles envolvendo o promotor do gene UGT1A1, no qual as frequências foram: 44,4% (12/27) do tipo selvagem TA6/6; 37% (10/27) do alelo heterozigoto TA6/7 e 14,8% (4/27) do genótipo Síndrome de Gilbert, TA7/7 (UGT1A1\*28). Além disso, somente um genótipo TA5/6 (3,7%) foi detectado.

Para estabelecer a relação de equilíbrio de Hardy-Weinberg, foram selecionados os genótipos com suas respectivas frequências: TA6/6 (0,44), TA6/7 (0,37) e TA7/7 (0,14). A população estudada encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p=0,135$ ).

Quanto ao protocolo à que estavam submetidos, 88,8% (24/27) estavam em regime terapêutico de baixa dose de CPT-11 (<150mg/m<sup>2</sup>), 21 pacientes no IFL-modificado (125mg/m<sup>2</sup>) e 03 no Irinotecano + CDDP (80mg/m<sup>2</sup>); enquanto que em regime de alta dose, o FOLFIRI (180mg/m<sup>2</sup>), somente 03 pacientes foram submetidos (Tabela 3).

Em relação a raça/cor dos pacientes estudados, obtivemos uma maior frequência de sujeitos que se consideravam pardos, 40,7% (11/27), seguido por negro/preto, 25,9% (7/27), os demais se consideravam brancos ou não souberam/quiseram opinar. Sua relação quanto aos genótipos não obtiveram diferença significativa.



**Tabela 3** - Características do tratamento quimioterápico segundo o genótipo de 27 pacientes oncológicos tratados com Irinotecano.

	Total	TA5/6	TA6/6	TA6/7	TA7/7
<b>Protocolo</b>					
<i>IFL mod</i>	21	1	8	8	4
<i>Folfiri</i>	3	0	2	1	0
<i>Irino+CDDP</i>	3	0	2	1	0
<b>Dose (mg/m<sup>2</sup>)</b>					
< 150	24	1	10	9	4
>150	3	0	2	1	0
<b>Raça/cor</b>					
<i>Branco</i>	5	0	2	3	0
<i>Pardo</i>	11	0	4	4	3
<i>Negro/Preto</i>	7	1	4	1	1
<i>s/ informação</i>	4	0	2	2	0
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>1</b>	<b>12</b>	<b>10</b>	<b>04</b>

### 5.3 Genotipagem do UGT1A1 e toxicidade.

Dos 27 pacientes que tiveram seus respectivos DNA genotipados, 25 deles (92,6%) manifestaram algum tipo e grau de toxicidade durante o tratamento com Irinotecano. Não foi observada diferença significativa quanto a distribuição das toxicidades globais em relação aos genótipos, sendo que 56% (14/25) dentre os pacientes que tinham o polimorfismo no gene UGT1A1 (TA6/7 ou TA7/7) e 44% (11/25) deles eram do tipo selvagem. O único paciente com genótipo TA5/6 não apresentou nenhum tipo de toxicidade avaliada durante o tratamento com o Irinotecano.

Um total de 71 toxicidades, hematológica (neutropenia) e não-hematológica (diarréia, náuseas, vômitos, alopecia, mucosite, constipação e icterícia) foi manifestado pelos 25 pacientes, sendo que 46,5% (33/71) deles foram classificadas como sendo de grau severo (3-4), no qual 66,6% (22/33) desses eram manifestados por 10 dos 14 pacientes do grupo com o alelo variante, heterozigoto ou homozigoto (UGT1A1\*28).

Quanto às principais toxicidades no uso de Irinotecano, diarréia e neutropenia, observamos que a diarréia foi a toxicidade mais freqüente, em ambos os grupos, de grau leve (1-2) e grau severo (3-4), mesmo não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Enquanto que a neutropenia teve uma freqüência maior no grupo de gravidade severa.

**Tabela 4** – Correlação entre toxicidades e o polimorfismo UGT1A1 em pacientes tratados com CPT-11.

Toxicidades e Gravidade		Genótipos			OR <sup>1</sup> (IC95%)	p-valor
		TA6/6	TA6/7	TA7/7		
Neutropenia (n= 6)	Grau 1-2 (n = 2)	1 (50%)	0 (0%)	1 (50%)	0,455 (0,068-3,043)	0,65
	Grau 3-4 (n = 4)	1 (25%)	2 (50%)	1 (25%)		
Diarréia (n= 20)	Grau 1-2 (n = 11)	6 (54,5%)	2 (18%)	3 (27%)	0,900 (0,172-4,699)	1,00
	Grau 3-4 (n = 9)	3 (33,3%)	5 (55,5%)	1(11,1%)		
Vômitos (n= 11)	Grau 1-2 (n = 6)	3 (50%)	1 (16,6%)	2 (33,3%)	1,125 (0,236-5,371)	1,00
	Grau 3-4 (n = 5)	2 (40%)	2 (40%)	1 (20%)		
Náuseas (n= 11)	Grau 1-2 (n = 5)	4 (80%)	0 (0%)	1 (20%)	1,543 (0,329-7,226)	0,70
	Grau 3-4 (n = 6)	2 (33,3%)	2 (33,3%)	2 (33,3%)		
Constipação (n= 02)	Grau 1-2 (n = 2)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	*	*
	Grau 3-4 (n = 0)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)		
Mucosite (n= 11)	Grau 1-2 (n = 7)	2 (28,6%)	4 (57%)	1 (14,3%)	0,593 (0,122-2,887)	0,69
	Grau 3-4 (n = 4)	2 (50%)	2 (50%)	0 (0%)		
Alopécia (n= 8)	Grau 1-2 (n = 5)	3 (60%)	1 (20%)	1 (20%)	1,167 (0,213-5,802)	0,48
	Grau 3-4 (n = 3)	1 (33,3%)	2 (66,6%)	0 (0%)		
Icterícia (n= 2)	Grau 1-2 (n = 0)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1,111 (0,942-1,445)	1,00
	Grau 3-4 (n = 2)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)		

<sup>1</sup> Análise utilizada foi regressão logística múltipla usando como covariáveis as ancestralidades, interrupção e redução de dose por toxicidade.

\*não foi possível computar devido nenhum paciente ter apresentado grau 3- 4 pra correlacionar.

Apesar de não observarmos diferença quanto aos grupos de genótipos em relação ao grau de toxicidades, quando analisamos os genótipos em relação às intervenções médicas advindas de toxicidades, observamos diferença estatística entre os grupos, uma vez que 64,3% (11) dos 14 pacientes com o genótipo UGT1A1\*28, heterozigoto ou homozigoto, tiveram suas doses iniciais reduzidas de 10 à 25% durante o tratamento, ou tiveram o tratamento interrompido ou adiado por causa de toxicidades severas(Grau 3-4). Enquanto que somente 02 pacientes do genótipo selvagem TA6/6 tiveram um desses tipos de intervenção médica durante o tratamento (**Tabela 5**).

**Tabela 5** – Distribuição dos genótipos quanto à frequência de intervenções médicas durante o tratamento com Irinotecano (CPT-11).

Genótipo (n)	Intervenção Médica		p-valor <sup>1</sup>	OR <sup>1</sup>
	Presente (15)	Ausente (12)		
<b>UGT1A1*28</b>				
<i>Ausência do alelo 7</i> (13)	4	9		
<i>Presença do alelo 7</i> (14)	11	3	<b>0.016</b>	<b>12</b> (1.58 - 21.08)

<sup>1</sup> Análise utilizada foi regressão logística múltipla usando como covariáveis as intervenções durante o tratamento, interrupção e/ou redução de dose por toxicidade.

## 6. DISCUSSÃO

Muitos estudos relataram sobre a relação do polimorfismo no gene *UGT1A1* e a toxicidade ao Irinotecano (CPT-11) sugerindo que o *UGT1A1\*28* é significativamente associado com a toxicidade induzida pelo Irinotecano (STRASSBURG *et al*, 2008; EISENHARDT *et al*, 2012; INNOCENT *et al*, 2004; ).

O presente estudo verificou a detecção e distribuição do polimorfismo no promotor do gene *UGT1A1*, quanto à presença do variante *UGT1A1\*28* (TA7/7); e o SNP no éxon 1, quanto à presença do variante *UGT1A1\*6* em pacientes com câncer em uso de CPT-11, assim como a relação das toxicidades manifestadas pelos sujeitos da pesquisa com a presença ou ausência do genótipo variável e as intervenções médicas diante de toxicidades de grau severo (3-4).

Quanto à distribuição entre os gêneros da população estudada, foi encontrada uma frequência maior do sexo feminino, 54,8% (17/31), sobre o masculino. Os resultados encontrados estão de acordo com os publicados por outros estudos brasileiros, por EISENHARDT e colaboradores, em 2012, e por SOUZA, em 2009, no qual estimaram, respectivamente, 63,3% e 54% para o sexo feminino.

Todos os sujeitos estudados estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg, apresentando  $p=0,135$ . Dessa forma, não há fatores agindo para afetar as frequências gênicas das populações estudadas, o que demonstra que nossa população é homogênea (BEIGUELMAN, 2008).

Em relação à frequência dos alelos estudados, foi detectado somente o polimorfismo no promotor do gene *UGT1A1* nos pacientes em estudo. Os resultados estimados em nosso trabalho foram maiores do que descritos em literaturas recentes. Nosso estudo estimou uma frequência do alelo TA7/7 (Síndrome de Gilbert) de 14,8%. Enquanto que no ano de 2014, LI e colaboradores, e TZIOTOU e colaboradores, estimaram uma frequência de 2,4% e 8,7% respectivamente, para o alelo TA7/7 (Li M, *et al*, 2014; TZIOTOU *et al*, 2014). Essa taxa em nossa população, apesar de não ter apresentado diferença significativa, mostra-se relevante apesar do baixo número de sujeitos estudados. Em um estudo semelhante e com número de apenas 25 amostras, não obtiveram nenhum alelo TA7 (YUN *et al*, 2014).

Constata-se que existe uma variabilidade considerável nas frequências do genótipo 7/7 e do alelo 7 nos diferentes estudos, mesmo quando ocorrem dentro do mesmo país. Isso pode ser explicado, principalmente pelo número total de indivíduos estudados que

variam muito entre os estudos, desde 07 até 1760 pacientes (YAMAMOTO *et al*, 1998; HU ZY *et al*, 2010). Além disso, outro fator que deve ser levado em consideração é a forma de estratificação do grupo, no qual muitos artigos estudam indivíduos com determinadas patologias, principalmente as que também condicionam hiperbilirrubinemia, que poderão influenciar a prevalência no gene *UGT1A1* (MORIYA *et al*, 2014; SOUZA, 2009; KÖHNE *et al*, 2003; GUILLEMETTE *et al*, 2000; YAMAMOTO *et al*, 1998). No caso do nosso estudo os pacientes só foram estratificados quanto ao uso do Irinotecano, independente da neoplasia que acometiam os mesmos.

Apesar de não ter apresentado diferença estatisticamente significativa, é importante ressaltar que a predominância do esquema IFL modificado, também denominado IFL alternativo, em nosso estudo, regime de dose baixa (dose <150mg/m<sup>2</sup>), deve-se a origem dos pacientes estudados, que eram somente do serviço público de saúde, no qual o esquema FOLFIRI geralmente é evitado, devido a necessidade de internação dos pacientes para infusão mais prolongada, no qual nem sempre há leitos disponíveis para os mesmos.

A maioria dos nossos pacientes, 77,7%, faziam uso do esquema IFL modificado com doses de 125 mg/m<sup>2</sup> e ainda assim apresentaram frequência de toxicidade semelhante ao estudo de EISENHARDT *et al*. (2012) realizado no Sul do Brasil (92,3% versus 90,9) onde a maioria faziam doses acima de 150mg/m<sup>2</sup>. Embora a relação entre os genótipos *UGT1A1* e toxicidades ao Irinotecano tem sido amplamente relatadas nos últimos anos, a maioria deles incluem pacientes em uso de doses altas, geralmente no esquema FOLFIRI que é o esquema preferencial, principalmente fora do Brasil (ANDO *et al*, 2000, MARCUELLO *et al*, 2004; XIANG & LIU, 2014). Por outro lado, outros artigos têm focado também suas investigações sobre pacientes em uso de doses baixas de Irinotecano, no qual não tem demonstrado diferença significativa entre as toxicidades observadas entre os grupos com ou sem polimorfismo no gene *UGT1A1* (SUGIYAMA *et al*, 2010; HU ZY *et al*, 2010; HOSKINS *et al*, 2007). Hoskins e colaboradores, em 2007, têm relatado que o Irinotecano quando administrado em doses menores que 180mg/m<sup>2</sup>, os portadores da variante *UGT1A1*\*28 não manifestam toxicidade hematológica aumentada (HOSKINS *et al*, 2007). Outro estudo, uma meta-análise contendo 1760 pacientes, relacionou a diarreia induzida por CPT-11, e mostrou que ambos, variantes homozigotos e heterozigotos para *UGT1A1*\*28 tinham risco aumentado de diarreia tardia, mas que

esta tendência não era significativa quando a dose de CPT-11 era de 125mg/m<sup>2</sup> (HU ZY *et al*, 2010).

Quando confrontados com as toxicidades intoleráveis, graus 3-4, os oncologistas tipicamente reduzem a dose, atrasam ou interrompem o tratamento, temporariamente ou definitivamente, o que pode diminuir a duração do tratamento e afetar a sobrevivência livre de progressão e sobrevivência global dos doentes (BRASIL, 2012; XU *et al*, 2013). Apesar de não obtermos diferença significativa quando relacionamos os genótipos encontrados em relação ao grau de toxicidades manifestadas, leve/moderada (1-2) e severa (3-4), o mesmo não ocorreu quando correlacionamos os genótipos às intervenções médicas durante o tratamento com CPT-11, no qual obtivemos  $p = 0,016$ , o que sugere que pacientes com o genótipo mutante, heterozigoto ou homozigoto, apresentam maior risco de toxicidades de Grau 3-4 e portanto maior número de intervenções médicas, do que aqueles não portadores da mutação, levando à prejuízo no seu tratamento e necessidade de reajuste de dose e monitoramento mais rigoroso quanto às reações adversas. Além disso, esse resultado sugere também que possa ter havido uma deficiência em algumas das fontes de informações em relação às toxicidades, como por exemplo, prontuários médicos com omissão de dados sobre a classificação do mesmo.

As principais intervenções foram a redução de dose e adiamento da quimioterapia, devido principalmente por diarreia tardia. Uma análise retrospectiva de 100 pacientes com CCR, no qual 52 deles experimentaram diarreia severa (grau 3 ou 4), tiveram algum tipo de intervenção no regime terapêutico-redução de dose, adiamento na terapia, ou interrupção do tratamento, (ARBUCKLE *et al*, 2000). Uma análise de dois ensaios patrocinados pelo Instituto Nacional do Câncer dos E.U.A, relatou que a diarreia induzida pela quimioterapia pode estar associada com um aumento substancial do risco de morte precoce entre pacientes tratados com o regime IFL (SALTZ *et al*, 2001). Um estudo francês, com 30 pacientes em tratamento com o regime FOLFIRI, também apresentou casos de intervenção médica durante o tratamento, redução de dose em 02 casos, mas nesse caso o motivo foi toxicidade hematológica, e 03 pacientes que tiveram os ciclos de quimioterapia adiada (GUION-DUSSERE *et al*, 2015).

Diante disso, recentemente, um grupo canadense publicou um consenso sobre a prevenção e manejo da diarreia induzida por quimioterapia, no qual ressalta a importância de se avaliar trocas genéticas a nível molecular a fim de identificar risco de toxicidade

com agentes quimioterápicos, citando como exemplo, o *screening* do polimorfismo na enzima UGT (MAROUN *et al*, 2015).

A pesquisa do polimorfismo UGT1A1\*28 tem potencial para colaborar na direção do tratamento, sobretudo, quando o paciente é tratado com fármacos metabolizadas pelo UGT1A1, por exemplo, o CPT-11. O gene UGT1A1 exerce importante função na glicuronidação do SN-38. A evolução de sua diversidade gênica e a definição dos haplótipos ilustra a complexidade do entendimento desse gene.

Em razão de todos esses fatores envolvidos, a Síndrome de Gilbert não deve ser considerada de natureza irrelevante. O desenvolvimento de técnicas de diagnóstico molecular aumentarão a rastreabilidade de grupos de pacientes mais susceptíveis à toxicidades severas e intervenções médicas ao longo do tratamento oncológico.

## 7. CONCLUSÃO

No presente estudo, foi possível concluir que:

- Não foi detectado em nenhum dos pacientes investigados, o genótipo variante UGT1A1\*6 no SNP do éxon 1 do gene UGT1A1. Somente o polimorfismo no promotor do Gene fora detectado.
- Mesmo quando tratada com CPT-11 de baixa dose os pacientes em estudo apresentaram alta frequência de toxicidade (92,3%) em relação aos já descritos na literatura.
- Apesar de não podermos afirmar que o polimorfismo UGT1A1\*28 tenha sido o único fator preditivo de toxicidade ao CPT-11 nos pacientes em estudo, uma vez que não obtivemos significância estatística em nossa amostragem. Outros fatores devem ser estudados para identificar pacientes em risco de toxicidade grave, bem como analisar um número maior de pacientes para uma melhor análise.
- No entanto, o alelo TA6/7 e TA7/7 parecem influenciar na severidade das toxicidades, haja vista que em relação a frequência de intervenções médicas - redução de dose, atraso e/ou interrupção do tratamento- motivadas por toxicidade severas (grau 3 e 4) tenha ocorrido principalmente nesses genótipos no qual foi significativa estatisticamente,  $p=0,016$ .
- O método de Acompanhamento Farmacoterapêutico mostrou-se útil e complementar à análise de prontuários, haja vista que a maioria destes encontra-se com omissão de dados sobre toxicidade. Além disso, esta metodologia pode ser mais uma ferramenta para orientações farmacêuticas quanto ao tratamento e às toxicidades do mesmo à esses pacientes, que na maioria dos casos, possuem baixa escolaridade como no caso dos nossos pacientes em estudo.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED F. *et al.* *In vitro* activation of irinotecan to SN-38 by human liver and intestine. **Anticancer Res.** n.19(3A):2067–71,1999.
- AKABA K. *et al.* Neonatal hyperbilirubinemia and mutation of the bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase gene: a common missense mutation among Japanese, Koreans and Chinese. **Biochem Mol Biol Int.** v.46, p. 21– 26, 1998.
- ANDO Y. *et al.* The UGT1A1\*28 allele is relatively rare in a Japanese population. **Pharmacogenetics**, v.8, p.357-360, 1998.
- ANDO Y. *et al.* Polymorphisms of UDP glucuronosyltransferase gene and irinotecan toxicity: a pharmacogenetic analysis. **Cancer Res**, v.60, p. 6921-6, 2000.
- AONO S. *et al.* Identification of defect in the genes for bilirubin UDP-glucuronosyl-transferase in a patient with Crigler-Najjar syndrome type II. **Biochem Biophys Res Commun.** n.197, p. 1239–44, 1993.
- ARBUCKLE R.B., HUBER S.L., ZACKER C. The Consequences of Diarrhea Occurring During Chemotherapy for Colorectal Cancer: A Retrospective Study. **The Oncologist**;5:250-259.2000.
- BAKER, S.D., VERWEIJ, J., ROWINSKY, E.K., DONEHOWER, R.C., SCHELLENS, J.H.M., GROCHOW, L.B., SPARREBOOM, A. A. **Role of Body Surface Area in Dosing of Investigational Anticancer Agents in Adults, 1991–2001.** Journal of the National Cancer Institute, v. 24, p. 1883-1888, 2002.
- BEINGUELMAN, B. Genética de populações humanas. (on line)2008. Disponível em <http://www.sbg.org.br>.
- BOSMA PJ. *et al.* The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. **N Engl J Med.** v. 333 n.18, p.1171-1175, 1995.
- BRANDAO, Hugo N. et al . Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Quím. Nova**, São Paulo , v. 33, n. 6, p. 1359-1369, 2010 .
- BRASIL, Ministério da Saúde.Portaria nº 601 de 26 de Junho de 2012 – Aprova as diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Câncer de Cólon e Reto. Nº 124 – 28/06/12 – Seção 1 p. 213.

- BRANCO CC. *et al.* UGT1A1, UGT1A6 and UGT1A7 Genetic Analysis Repercussion for Irinotecan Pharmacogenetics in the São Miguel Island Population (Azores, Portugal). **Mol Diagn Ther.** V.13, n 4, p.261-68, 2009.
- BURCHELL, B & HUME, R. Molecular genetic basis of Gilbert's syndrome. **J Gastroenterol Hepatol.** v.14, n.10, p. 960-6, 1999.
- BURCHELL B. Genetic variation of human UDP-glucuronosyltransferase: implications in disease and drug glucuronidation. **Am J pharmacogenomics.** v. 3, n.1, p.37-52, 2003.
- BURRIS HÁ & FIELDS SM. Topoisomerase I inhibitors: An overview of the camptothecin analogs. **Hem/onc Clin of Nort Amer.Texas.** v. 2, p. 333-355, 1994.
- CALABRESI, P; CHABNER, B.A. Quimioterapia das doenças neoplásicas. In: GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S. **As bases farmacológicas da terapêutica.** New York: McGraw Hill. p. 1035-1039, 2001.
- CARLINI LE, *et al.* UGT1A7 and UGT1A9 polymorphisms predict response and toxicity in colorectal cancer patients treated with capecitabine/irinotecan. **Clin Cancer Res.**v.11, p.1226-1236, 2005.
- CATIMEL G, *et al.* Phase I and pharmacokinetic study of irinotecan (CPT-11) administered daily for three consecutive days every three weeks in patients with advanced solid tumors. **Ann Oncol.** v.6, n.2, p.133–140, 1995.
- CIOTTI M, *et al.* Glucuronidation of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38) by the human UDP-glucuronosyltransferases encoded at the UGT1 locus. **Biochem Biophys Res Commun.**v. 260, n.1, p.199–202, 1999.
- CUNNINGHAM D, *et al.* Randomised trial of irinotecan plus supportive care versus supportive care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer. **The Lancet,** v. 352, p.1413-18,1998.
- DÁDER MJF, HERNÁNDEZ DS, CASTRO MMS. Método Dáder. **Guía de seguimiento farmacoterapéutico.** 3.ed. Granada: S.C.And. Granada; 2007.
- DODDS HM, *et al.* Identification of a new metabolite of CPT-11 (irinotecan): pharmacological properties and activation to SN-38. **J Pharmacol Exp Ther.** v. 286, n.1, p.578–83,1998.
- DOUILLARD JY, *et al.* Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. **The Lancet,** v. 355, p.1041-1047, 2000.
- EICHELBAUM M, *et al.* Pharmacogenomics and individualized drug therapy. **Annu Ver Med.** v. 57, p.119-137, 2006.

- EISENHARDT MF, *et al.* Estudo de polimorfismos do gene UGT1A1 e associação com reações adversas ao irinotecano: um estudo piloto. **Rev Bras de Oncol Clín.**v. 7, n° 26, 2012.
- ENSON HM, *et al.* Pharmacogenetics: The Therapeutic drug monitoring of the future? **Clin pharmacokinet**; v.40, n.11, p. 783-802, 2001.
- FONT A, *et al.* Weekly regimen of irinotecan/docetaxel in previously treated non-small cell lung cancer patients and correlation with uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1) polymorphism. **Invest New Drugs.** v. 21, n. 435– 443, 2003.
- GAGNÉ JF, *et al.* Common human UGT1A polymorphisms and the altered metabolism of irinotecan active metabolite 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin(sn-38). **Mol Pharmacol** v. 62, p.608-617, 2002.
- GARCIA-CARBONERO R & SUPKO IG. Current perspectives on the clinical experience, pharmacology and continued development of the camptothecins. **Clin Cancer Res** v.8. p. 641-661, 2002.
- GIBALDI, M. **Biopharmaceutics ans Pharmacokinetics.** 4.ed. p.234-271, Philadelphia: Lea & Fabiger, 1991.
- GLOBOCAN 2008. Disponível em: URL: <http://globocan.iarc.fr/factsheets/populations/factsheet.asp?uno=900>. Acessado Mai 23, 2011.
- GOODMAN & GILMAN. **The Pharmacological Basis Of Therapeutics**, 11º Ed.Artmed. Seção IX. Cap 51.pág. 884-87.2010.
- GUION-DUSSERE JF *et al.* FOLFIRI bevacizumab in metastatic intrahepatic cholangiocarcinoma.**World J Gastroenter.** V 21 (7), p. 2096-2101.2015.
- GUILLEMETTE C. Pharmacogenomics of human UDP-glucuronosyltransferase enzymes. **Pharmacogenomics J.** v.3, n. 136-158, 2003.
- GUILLEMETTE C, *et al.* Genetic polymorphisms in uridine diphospho-glucuronosyltransferase 1A1 and association with breast cancer among African Americans. **Cancer Res.**n.60, p. 950–956, 2000.
- GUPTA E *et al.* Metabolic fate of irinotecan in humans: correlation of glucuronidation with diarrhea. **Cancer Res**, v.S4, p.3723-3725, 1994.
- GUPTA E, *et al.* Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of the topoisomerase inhibitor irinotecan in cancer patients. **J Clin Oncol**, v.15, p.1502–10, 1997.

- HINES R.N, *et al.* Regulatory polymorphisms and their contribution to interindividual differences in the expression of enzymes influencing drug and toxicant disposition. **Drug metab Ver.** 40 v. 2, p. 263-301, 2008.
- HOSKINS JM, *et al.* UGT1A1\*28 Genotype and Irinotecan-Induced Neutropenia: Dose Matters. **JNC**; v. 99, p.1290-5, 2007.
- Hu ZY, Yu Q, Zhao YS. Dose-dependent association between UGT1A1\*28 polymorphism and irinotecan-induced diarrhoea: a meta-analysis. **Eur J Cancer.** 2010;46(10):1856–1865.
- INNOCENTI F, *et al.* Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1 A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan. **J clin Oncol**; v.22, n.8, p.1382-1388, 2004.
- INNOCENTI F. UGT1A1 genotyping in patients undergoing treatment with irinotecan. **Clin Adv Hematol Oncol**; 3(11): 843-4. 2005.
- INNOCENTI F, VOKES EE, RATAIN MJ. Irinogenetics: What is the right star? **J Clin Oncol**; 24: 2221–4. 2006.
- Instituto Nacional do Câncer (Brasil).estimativa 2014: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro. INCA; p.98. 2014.
- JEMAL A, *et al.* Cancer Statistics, 2008. **CA Câncer J Clin.** Atlanta, v. 58, n.2, p.71-96, 2008.
- KALOW W. Pharmacogenetics: Heredity and the Response to Drugs. **Arch Intern Med.**v.112(2): 288-289;1963.
- KAWATO Y, *et al.* Intracelular roles of SN-38, a metabolite of the camptothecin derivative CPT-11, in the antitumor effect of CPT-11. **Cancer Res** v. 51, p. 4187-4191, 1991.
- KÖHNE CH, *et al.* Irinotecan is active in chemo-naïve patients with metastatic gastric cancer: a phase II multicentric Trial. **British Journal of Cancer.** v.89, p. 997–1001, 2003.
- KOO S H & LEE EI. Pharmacogenetics approach to therapeutics. **Clin Exp. Pharmacol physiol.** v.33,n. 5-6, p.525-532, 2006.
- KEHRER DF, *et al.* Modulation of irinotecan-induced diarrhea by cotreatment with neomycin in cancer patients. **Clin Cancer Res.**v.7, n. 5, p.1136–41, 2001.

- JINNO H, *et al.* Glucuronidation of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38), an active metabolite of irinotecan (CPT-11), by human UGT1A1 variants, G71R, P229Q, and Y486D. **Drug Metab Dispos** n.31, p.108-113, 2003.
- LANKISCH TO, *et al.* Gilbert's disease and atazanavir: from phenotype to UDP-glucuronosyltransferase haplotype. **Hepatology**.n. 44, p. 1324–1332, 2006.
- LENTZ F, *et al.* Pharmacogenomics of fluorouracil, irinotecan, and oxaliplatin in hepatic metastases of colorectal cancer: clinical implications. **Am J Pharmacogenomics**. v.5, n.1, p. 21-33, 2005.
- Li M, *et al.*: Clinical significance of UGT1A1 gene polymorphisms on irinotecan-based regimens as the treatment in metastatic colorectal cancer. **OncoTargets and Therapy**; V. 7, p.1653-61.China.2014.
- LYER L, *et al.*: UGT1A1\*28. Polymorphism as a determinant of irinotecan disposition and toxicity. **Pharmacogenomics J**; v.2, n.1, p. 43-47, 2002.
- IYER L, HALL D, DAS S, MORTELL MA, RAMIREZ J, KIM S *et al.* Phenotype–genotype correlation of in vitro SN-38 (active metabolite of irinotecan)and bilirubin glucuronidation in human liver tissue withUGT1A1 promoter polymorphism. **Clin Pharmacol Ther** 1999; 65:576–582.
- LYER L, *et al.* Genetic predisposition to the metabolism of irinotecan (CPT-11). Role of uridine diphosphate glucuronosyltransferase isoform 1A1 in the glucuronidation of its active metabolite (SN-38) in human liver microsomes. **J Clin Invest.**, v.101,n.4,p.847–54,1998.
- LYANAGI T, *et al.* Biochemical and molecular aspects of genetic disorders of bilirubin metabolism. **Biochim Biophys Acta** v.1407, p. 173-184, 1998.
- YAMAMOTO K, *et al.* Contribution of two missense mutations (G71R and Y486D) of the bilirubin UDP glycosyltransferase (UGT1A1) gene to phenotypes of Gilbert's syndrome and Crigler-Najjar syndrome type II. **Biochim Biophys Acta**. v.1406, p. 267-73, 1998a.
- YAMAMOTO K, *et al.* Bamba T. Analysis of bilirubin uridine 5'-diphosphate (UDP)-glucuronosyltransferase gene mutations in seven patients with Crigler-Najjar syndrome type II. **J Hum Genet**. v. 43, p.111-114, 1998b.
- YUN F *et al.* Uridine diphosphate glucuronide transferase 1A1\*28 gene polymorphism and the toxicity of irinotecan in recurrent and refractory small cell lung cancer. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**.v.10.n.7:195-200.2014.

- MARCUELLO E, *et al.* UGT1A1 gene variations and irinotecan treatment in patients with metastatic colorectal cancer. **Br J Cancer** 2004;91:678–682.
- MAROUN J.A *et al.* Prevention and management of chemotherapy-induced diarrhea in patients with colorectal cancer: a consensus statement by the Canadian Working Group on Chemotherapy-Induced Diarrhea. **Current Oncology**. V. 14 (1), p. 13-20.2015.
- MASSACESI C, *et al.* Uridine diphosphate glucuronosyl transferase 1A1 promoter polymorphism predicts the risk of gastrointestinal toxicity and fatigue induced by irinotecan-based chemotherapy. **Cancer**. v.106, p.1007–1016, 2006.
- MARTINS C G; WAGNER S C; Li R. **Individualização Farmacocinética das Doses de 5-Fluoruracil no Câncer Colorretal**.Revista Brasileira de Cancerologia 2013; 59(2): 271-280.
- MACKENZIE PI, *et al.* The UDP-glucuronosyltransferase gene superfamily: recommended nomenclature up date based on evolutionary divergence. **Pharmacogenetics**. V.7, p. 255-269, 1997.
- MEYER U.A. Pharmacogenetics-five decades of therapeutics lessons from genetic diversity. **Nat ver genet**; v.5, p. 669-676, 2004.
- MIYA T, *et al.* Factors affecting the pharmacokinetics of CPT-11: the body mass index, age and sex are independent predictors of pharmacokinetic parameters of CPT-11. **Invest New Drugs**. v.19, p. 61–7, 2001.
- MORIYA H, *et al.* Association between the low-dose irinotecan regimen-induced occurrence of grade 4 neutropenia and genetic variants of *UGT1A1* in patients with gynecological cancers. **Oncology letters**. 7: 2035-2040, 2014.
- MULDER, GJ. Glucuronidation and its role in regulation of biological activity of drugs. **Annu.Rev. Pharmacol. Toxicol**. v.32, p. 2549, 1992.
- NAGAR S & BLANCHARD RL. Pharmacogenetics of uridine diphosphoglucuro-nosyltransferase (UGT) 1A family members and its role in patient response to irinotecan. **Drug Metab Rev**; v.38, p. 393-409, 2006.
- NEBERT D.W, *et al.* From human genetics and genomics to pharmacogenetics and pharmacogenomics:past lessons, future directions. **Drug metab**. v. 40, n. 2, p.187-224, 2008.
- PERERA MA, *et al.* Pharmacogenetic testing for uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1 polymorphisms: are we there yet? **Pharmacotherapy**. v.28, n.6, p.755-68, 2008.

- PERERA M.A et al. The missing association: sequencing-based discovery of novel SNPs in VKORC1 and CYP2C9 that affect warfarin dose in African Americans. **Clin Pharmacol Ther.** v. 89, n.3, p. 408-15, 2011.
- POMMIER, Y. Topoisomerase I inhibitors: camptothecins and beyond. **Nat. Rev. Cancer**, v.6, p. 789, 2006.
- REFARGEN. Rede Nacional de FArmacogenetica/farmacogenomica. Disponivel em: url:<http://www.refargen.org.br/2005>.
- RITTER JK. *et al.* Cloning of two human liver bilirubin UDP-glucuronosyl transferase c DNAs with expression in COS-1 cell. **J. boil Chem**; v.266, p. 1043-1047,1991.
- RIVORY LP, RIOU JF, HAAZ MC, et al. Identification and properties of a major plasma metabolite of irinotecan (CPT-11) isolated from the plasma of patients. **Cancer Res.** 1996; 56(16):3689–94.
- ROSNER GL, PANETTA JC, INNOCENTI F, RATAIN MJ (2008) Pharmacogenetic pathway analysis of irinotecan. **Clin Pharmacol Ther** 84: 393-402.
- ROTHENBERG ML, *et al.* A multicenter, phase II trial of weekly irinotecan (CPT-11) in patients with previously treated colorectal carcinoma. **Cancer.** 85:786–95;1999.
- ROUITS E, *et al.* Relevance of different UGT1A1 polymorphisms in irinotecan-induced toxicity: a molecular and clinical study of 75 patients. **Clin Cancer Res.** v.10, p.5151–5159, 2004.
- SAAD-HOSSNE R. *et al.* Estudo retrospectivo de pacientes portadores de cancer colorretal atendidos na Faculdade de Medicina de Botucatu no período de 2000-2003. **Rev Bras Coloproct**, v. 25, p. 31-37, 2005.
- SANGHANI SP, *et al.* Hydrolysis of irinotecan and its oxidative metabolites, 7-ethyl-10-[4-N-(5-aminopentanoic acid)-1-piperidino] carbonyloxycamptothecin and 7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-amino]-carbonyloxycamptothecin, by human carboxylesterases CES1A1, CES2, and a newly expressed carboxylesterase isoenzyme, CES3. **Drug Metab Dispos.**v.32, n.5, p. 505–11, 2004.
- SALTZ L B et al. Irinotecan plus Fluorouracil and Leucovorin for Metastatic Colorectal Cancer. **The New England Journal of Medicine.** V. 343.n 13:905-914.2000.

- STRASSBURG C P et al. Gilbert's Syndrome and Irinotecan Toxicity: Combination with UDP-Glucuronosyltransferase 1A7 Variants Increases Risk. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 2008;17(3). March 2008.
- SCHULZ C , BOECK S, HEINEMANN V, STEMMLER HJ. UGT1A1 genotyping: a predictor of irinotecan-associated side effects and drug efficacy? **Anticancer Drugs**. Nov; 20(10):867-79. 2009.
- SLATTER JG, et al. Pharmacokinetics, metabolism, and excretion of irinotecan (CPT-11) following I.V. infusion of [(14)C]CPT-11 in cancer patients. **Drug Metab Dispos**. v.28, n.4, p. 423–33, 2000.
- SMITH NF, et al. Pharmacogenetics of irinotecan metabolism and transport: an update. **Toxicol In vitro**. v. 20, n.2, p.163–75, 2006.
- SOEPENBERG O, et al. Phase I pharmacokinetic, food effect, and pharmacogenetic study of oral irinotecan given as semisolid matrix capsules in patients with solid tumors. **Clin Cancer Res**, v.11, p.1504 –1511, 2005.
- SOUSA TMM. Frequência do alelo UGT1A1\*28 (Síndrome de Gilbert) em pacientes portadores de hepatite crônica C e em controles sadios. **Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção de título de Mestre em Ciências**. São Paulo, 2009.
- SUAREZ-KURTZ G. Pharmacogenomics in admixed population: The Brazilian pharmacogenetics/pharmacogenomics network-Refargen. **Pharmacogen J**. v. 4, p.347-348, 2004.
- SUGIYAMA T et al. The UGT1A1\*28 genotype and the toxicity of low-dose irinotecan in patients with advanced lung cancer. **Oncol Res**. 18(7): 337-42. 2010.
- THORN CF, et al. Irinotecan pathway. PharmGKB website. Disponível em: [HTTP://www.pharmgkb.org/do/serve?objId=PA2001](http://www.pharmgkb.org/do/serve?objId=PA2001) HYPERLINK "http://www.pharmgkb.org/do/serve?objId=PA2001&-objCls5Pathway"& HYPERLINK "http://www.pharmgkb.org/do/serve?objId=PA2001&-objCls5Pathway"-objCls5Pathway. Acessado em Novembro 12, 2013.
- TOFFOLI G, et al. The role of UGT1A1\*28 polymorphism in the pharmacodynamics and pharmacokinetics of irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer. **J Clin Oncol**. v.24, p. 3061–3068, 2006.
- TUKEY RH, et al. Human UDP-glucuronosyltransferase: metabolism, expression and disease. **Annu Rev pharmacol toxicol**.v.40, p. 581- 616, 2000.
- TUKEY RH, et al. Pharmacogenomics of human UDP-glucuronosyltransferase and irinotecan toxicity. **Mol. Pharmacology**. v.62, p. 446-450, 2002.



- TZIOTOU M et al. Polymorphisms of uridine glucuronosyltransferase gene and irinotecan toxicity: low dose does not protect from toxicity. **E cancer medical science**. 8: 428.2014.
- ULUKAN H & SWAAN PW. Camptothecins: a review of their chemotherapeutic. **potential drugs**. v. 62, n.14, p. 2039 – 2057, 2002.
- XIANG LIU et al. Association between UGT1A1\*28 polymorphisms and Clinical Outcomes of Irinotecan-Based Chemotherapies in Colorectal Cancer: A Meta-Analysis in Caucasians. **PLoS one**.v.8.n.3.2013.
- XU Y & VILLALONA-CALERO MA. Irinotecan: mechanisms of tumor resistance and novel strategies for modulating its activity. **Ann Oncol**. v.12, p.1841-51, 2002.
- Xu JM, WANG Y, et al. Severe irinotecan-induced toxicity in a patient with *UGT1A1\*28* and *UGT1A1\*6* polymorphisms. **World J Gastroenterol**. 2013 Jun 28; 19(24): 3899–3903.
- WELLS PG, *et al*. Glucuronidation and the UDP-glucuronosyltransferase in health and disease. **Drug Metabolism Disposition**. v.32, n.3, p.281-90, 2004.
- WU MH, et al. Characterization of multiple promoters in the human carboxylesterase 2 gene. **Pharmacogenetics**. v.13, n.7, p. 425–35, 2003.

- **APÊNCICE A**

Projeto de Pesquisa: "Investigação de Polimorfismos de genes relacionados ao metabolismo de antineoplásicos"  
Nº no estudo: \_\_\_\_\_

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidada a participar de um projeto de pesquisa para estudar as causas de falha e/ou toxicidades durante o tratamento do câncer.

A sua participação é VOLUNTÁRIA. Não haverá qualquer prejuízo se você não quiser participar. Seu tratamento atual não será modificado. Você não pagará nada, mas também não receberá recompensa ou qualquer forma de pagamento por sua participação. Você pode desistir de participar a qualquer momento, você só precisa avisar um dos pesquisadores e não precisa explicar os motivos da desistência.

Para poder participar você deve assinar este TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO e preencher o FORMULÁRIO DE CADASTRO.

#### **OBJETIVO DO ESTUDO**

Saber se diferenças genéticas podem influenciar a resposta e o perfil de toxicidades ao tratamento do câncer.

#### **PROCEDIMENTOS DO ESTUDO**

Caso você concorde em ser VOLUNTÁRIO deste estudo, precisaremos usar células do seu sangue para estudar seu DNA (código genético). Também precisaremos entrevistar você para saber seus hábitos de vida. Para analisar seu DNA, uma amostra de sangue de 5ml (um tubo pequeno), será obtida durante procedimentos de rotina, sendo colhida por profissional treinado, da seguinte forma: uma agulha será introduzida em uma veia sua, uma amostra de sangue será retirado e, logo em seguida, a agulha será retirada da veia. Todos os cuidados serão tomados, de forma a tornar mínimos os riscos de infecção, contaminação, sangramento e dor. Os dados do seu prontuário médico e exames laboratoriais também serão consultados.

#### **RISCO E BENEFÍCIOS**

O estudo em questão não oferece riscos adicionais à sua saúde e o seu tratamento será exatamente o mesmo caso você concorde ou não em participar. A coleta de sangue apresenta os mesmos riscos de qualquer punção venosa para exames laboratoriais. Todos os cuidados serão tomados, de forma a tornar mínimos os riscos.

Não está previsto benefício imediato pra você. As conclusões deste estudo poderão contribuir para a melhoria de tratamentos futuros, diminuindo a ocorrência de efeitos colaterais durante o tratamento do câncer.

#### **CARÁTER CONFIDENCIAL DOS REGISTROS**

Além da equipe de saúde que cuidará de você, seus registros médicos poderão ser consultados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e pela equipe de pesquisadores. Seu nome não será revelado, ainda que seus dados sejam usados para ensino ou para divulgação científica.

*Hospital Universitário João de Barros Barreto – Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/HUJBB/UFPA  
Rua dos Mundurucus, 4487 - Guamá CEP. 66.073-000 Belém / Pará - Brasil Fone/Fax: (91)3201 6754/ PABX:  
(91)3201 6600 Ramal: 6754 E-mail: cepujbb@yahoo.com.br*

## GARANTIA DE ESCLARECIMENTOS

Nós estimulamos você e seus familiares a fazer perguntas a qualquer momento do estudo. Neste caso, por favor, ligue para a pesquisadora do estudo, Farm. Jackeline Carréra, no telefone (91) 3201- 6770.

Li as informações acima e entendi o propósito deste estudo assim como os benefícios e riscos potenciais da participação no mesmo. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, por intermédio deste, dou livremente meu consentimento para participar neste estudo.

Entendo que não receberei compensação monetária por minha participação neste estudo.

Entendo que a minha amostra poderá ser usada para outros estudos que tragam benefícios a saúde humana.

Eu recebi uma cópia assinada.

\_\_\_\_\_ / /

(Assinatura do Paciente)

dia mês ano

\_\_\_\_\_ / /

(Assinatura de testemunha, se necessário)

dia mês ano

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste estudo ao paciente indicado acima e/ou pessoa autorizada para consentir pelo paciente.

\_\_\_\_\_ | / /

(Assinatura da pessoa que obteve o consentimento)

dia mês ano

\_\_\_\_\_ / /

**Pesquisador:** Jackeline de S. Carréra CRF 3496 / / dia mês ano

Rod. 40Hrs, nº37, apto 405, bl.bela.

Coqueiro – Ananindeua/PA

(91)3201-6770

## **ANEXO**

**FICHA DE ACOMPANHAMENTO FARMACOTERAPÊUTICO DO PACIENTE**

DADOS DO PACIENTE		
Matrícula:	Idade:	Data do Recrutamento: _____/_____/____
Paciente:		
Data de Nascimento: _____/_____/____	Sexo: ( )F ( )M	
Procedência:		
Telefone:	CPF:	
<b>Ocupação:</b> (1) do lar (2) comércio (3) limpeza (4) Rural (5) autônomo (6) Aposentado/pensionista (7) outros _____ (9)s/informação		
<b>Escolaridade:</b> (1) analfabeto (2) 1º incompleto (3) 1º completo (4) 2º incompleto (5) 2º completo (6) Superior incompleto (7) Superior completo (9)s/informação		
<b>Hábito de fumar:</b> (1) não (<100 cigarros/dia) (2) Sim (>100cigarros na vida e permanecem fumando) (3) ex-fumantes.		
<b>Consumo de álcool:</b> (1) todos os dias (2) 3 a 4 vezes/Semana (3) Nos fins de semana (4) raramente (5) nunca		
<b>Alergia à medicamentos:</b> (1) não (2)Sim, Qual(is): _____		
<b>Na sua opinião, qual é a sua cor ou raça?</b> (1)Branca (2)Amarela (3)Parda (4)Indígena (5)Preta (6) Outros: _____		
AVALIAÇÃO FARMACOTERAPÊUTICA		

Diagnóst:			Estadiamento:		
Data do Diagnóstico: ____/____/____			Sexo: ( )F ( )M		
Médico:			CRM:		
Peso(Kg):	Altura(cm):	SC(m²):	Performance Status (P.S):		
HISTÓRICO MÉDICO					
<b>Tratamentos Anteriores:</b> (1)RXT Quant.total recebida: _____ (2)Cirurg. (3)QT: _____ (4) Terapia alternativa : _____ (5)sem tratamento anterior: _____					
<b>Antecedente Familiar de câncer:</b> (1)não (2)sim Tipo de câncer 1: _____ Parentesco 1: _____ Tipo de câncer 2: _____ Parentesco 2: _____ Tipo de câncer 3: _____ Parentesco 3: _____					
<b>Comorbidades:</b> (1)Sim (2)Não <b>Uso de medicamentos:</b> (1)Sim (2)Não (1)HAS Qual? _____ (2)METAB Qual? _____ (3)GASTRINT Qual? _____ (4)INSREN Qual? _____ (5)ARTICUI Qual? _____ (6)PSIC Qual? _____ (7)HEMATO Qual? _____ (8)Outros: Qual? _____ Qual? _____ Qual? _____ Qual? _____					
EXAMES					
Exames Laboratoriais:					
<i>Data</i>					
ALT					
AST					
Hb					

**FICHA DE ACOMPANHAMENTO FARMACOTERAPÊUTICO DO PACIENTE**

Neutr					
Linf					
Leuc					
Plaq					
Creat					
TSH					
Outros Exames laboratoriais:					
<b>Data</b>	<b>Tipo de exame</b>	<b>Valores encontrados</b>			
Outros Exames laboratoriais:					
<b>Data</b>	<b>Tipo de Exame</b>	<b>Valores encontrados</b>			

**Observação:** Apresentou alterações significativas nos valores laboratoriais? Quais? \_\_\_\_\_

3.3 Exames de imagem:  
 Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
 Exame: \_\_\_\_\_  
 Laudo: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
 Exame: \_\_\_\_\_  
 Laudo: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
 Exame: \_\_\_\_\_  
 Laudo: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
 Exame: \_\_\_\_\_  
 Laudo: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Controle de Quimioterapia EV:		
Ciclo/Dia	Data	Medicação/Dose
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	

	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	
	___/___/___	

TOXICIDADE				
Ciclo	Consulta de Oncologia			
	Sem graduação	0	1-2	3-4

Controle de Quimioterapia VO:						
Ciclo	Data	Medic.	Lote	Val.	Nº comp.	Ass.

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Investigação de polimorfismos de genes relacionados ao metabolismo de antineoplásicos

**Pesquisador:** JACKELINE DE SOUSA CARRERA

**Área Temática:** Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

**Versão:** 1

**CAAE:** 10137913.3.0000.0017

**Instituição Proponente:** Hospital Universitário João de Barros Barreto - UFPA

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 469.749

**Data da Relatoria:** 29/10/2013

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de estudo transversal de avaliação da frequência de polimorfismos enzimáticos presentes na população paraense e de sua relação com toxicidade em um subgrupo de pacientes com câncer em tratamento quimioterápico.

**Objetivo da Pesquisa:**

Investigar a prevalência dos polimorfismos genéticos das enzimas envolvidas no metabolismo dos antineoplásicos e analisar o valor prognóstico desses polimorfismos quanto à ocorrência de falha terapêutica (óbito, recidiva ou metástase) e de reações adversas medicamentosas (toxicidades) ao tratamento quimioterápico em uma população com câncer do norte do Brasil.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:** Quebra de sigilo dos dados pessoais obtidos na pesquisa. Complicações relacionadas com a punção venosa para a obtenção de amostra de sangue periférico.

**Benefícios:** Não há benefícios diretos para participantes da pesquisa.

**Endereço:** RUA DOS MUNDURUCUS 4487

**Bairro:** GUAMA

**CEP:** 66.073-000

**UF:** PA

**Município:** BELEM

**Telefone:** (91)3201-6754

**Fax:** (91)3201-6663

**E-mail:** cephujbb@yahoo.com.br