

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

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E CORRELAÇÃO COM
POLIMORFISMOS NO GENE DE REPARO *X-RCC1* EM PACIENTES
COM NEOPLASIAS DO TRATO GASTROINTESTINAL SUBMETIDOS
A RADIO E QUIMIOTERAPIA**

Paulo Gustavo Cavalcanti de Souza

Belém-PA

2015

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

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E CORRELAÇÃO COM
POLIMORFISMOS NO GENE DE REPARO X-RCC1 EM PACIENTES
COM NEOPLASIAS DO TRATO GASTROINTESTINAL SUBMETIDOS
A RADIO E QUIMIOTERAPIA**

Paulo Gustavo Cavalcanti de Souza

**Orientador: Prof. Dr. Ney Pereira Carneiro dos Santos
Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Pimentel de Assumpção**

Dissertação submetida ao
Programa de Pós-graduação
em Oncologia e Ciências
Médicas da UFPA como
requisito parcial para obtenção
do grau de Mestre em
Oncologia e Ciências Médicas

Belém-PA

2015

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

Souza, Paulo Gustavo Cavalcanti de, 1980-

Avaliação da toxicidade e correlação com polimorfismos no gene de reparo *X-Rcc1* em pacientes com neoplasias do trato gastrointestinal submetidos a radio e quimioterapia / Paulo Gustavo Cavalcanti de Souza; Orientador, Prof^o. Dr^o. Ney Pereira Carneiro dos Santos. — 2015.

67 f. : 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 Gastrointestinais. 2. Quimioterapia. 3. Polimorfismo Genético. 4. Farmacogenética. I. Santos, Ney Pereira Carneiro dos, *orient.* II. Título.

CDD - 23. ed. 616.99433

PAULO GUSTAVO CAVALCANTI DE SOUZA

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E CORRELAÇÃO COM
POLIMORFISMOS NO GENE DE REPARO X-RCC1 EM PACIENTES
COM NEOPLASIAS DO TRATO GASTROINTESTINAL SUBMETIDOS
A RADIO E QUIMIOTERAPIA

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Oncologia e Ciências
Médicas do Núcleo de Pesquisas em
Oncologia da Universidade Federal do Pará.
Área de concentração: Medicina I

Aprovado em: 18/12/2015
Banca Examinadora

Prof. Dr. Ney Pereira Carneiro dos Santos
Instituição: Universidade Federal do Pará (orientador)

Prof. Dr. Paulo Pimentel de Assumpção
Instituição: Universidade Federal do Pará (orientador)

Prof^a. Dr^a. Ândrea Kely Campos Ribeiro dos Santos
Instituição: Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. Sidney Emanuel Batista dos Santos
Instituição: Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. André Salim Khayat
Instituição: Universidade Federal do Pará

*Dedico este trabalho,
À minha esposa Laís e meu filho Gabriel
Aos meus pais Paulo e Socorro*

AGRADECIMENTOS

A Deus por compartilhar sua infinita sabedoria e humildade,

A Laís e Gabriel pelo amor e compreensão na minha ausência,

Aos meus pais, Paulo e Socorro, pelo suporte e confiança permanentes,

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Paulo Pimentel de Assumpção e Prof. Dr. Ney Pereira Carneiro dos Santos, pela dedicação e paciência incansável que dispuseram para que este trabalho fosse realizado.

A Darlen Carvalho, pela imprescindível ajuda na análise dos dados e estatística.

A Tayná, Luiz Carlos e Andreza, pela ajuda na coleta de dados e tabulação dos mesmos.

A todos os colaboradores e funcionários do Núcleo de Pesquisas em Oncologia, principalmente aos fundadores que possibilitaram este programa de pós-graduação.

RESUMO

As neoplasias do trato gastrointestinal constituem um importante problema de saúde pública no Brasil, como consequência de sua alta incidência e mortalidade. A radioterapia desempenha um papel fundamental como parte nos tratamentos dos tumores gástricos e de reto. O acúmulo de conhecimento na radiobiologia e os recentes avanços no entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos no comportamento das células tumorais e dos tecidos normais às radiações ionizantes têm demonstrado o importante papel dos genes de reparo do DNA. O gene *XRCC-1* (do inglês, x-ray repair cross complementing) desempenha importante papel no reparo das lesões radioinduzidas, atuando na resposta das lesões de fita única através do reparo por excisão de base (BER). Polimorfismos do gene *XRCC-1* podem influenciar na resposta do paciente à radioterapia, assim como na toxicidade apresentada nos mesmos. No presente estudo avaliamos a ocorrência de toxicidade em pacientes com câncer de estômago e reto submetidos ao tratamento com radio e quimioterapia e sua relação com a ocorrência de dois polimorfismos do gene *XRCC1*, C194T (rs1799782) e do tipo INDEL 4 pb GGCC (rs3213239). Encontramos uma taxa de toxicidade aguda de 64,5 %, mas somente 24,5 % com graus 3 ou 4. As taxas de toxicidades específicas graus 3 ou 4 encontradas foram 16,3 % de diarreia, 6% dermatite e 6% náuseas. Não houve correlação significativa entre os polimorfismos C194T (rs1799782) e INDEL (rs3213239) e as toxicidades relatadas, exceto quando avaliamos separadamente os pacientes com neoplasia de reto. Nestes, o alelo T do C194T, seja em homozigose ou heterozigose com alelo dominante está relacionada a uma maior incidência de náuseas com um risco 10,5 vezes maior e $p= 0,03$. Apesar desta correlação positiva, acreditamos que o número de pacientes do nosso estudo foi insuficiente para encontrarmos correlação entre as outras toxicidades e os polimorfismos.

Palavras-chave: *XRCC-1*; polimorfismos; radioterapia; toxicidade; neoplasia de reto; neoplasia estômago.

ABSTRACT

The intestine tract neoplasms consist in an important problem of Brazil's health as consequence of its incidence and mortality. Radiotherapy plays a fundamental work as part of gastric and rectal cancer treatment. The vastly background in radiobiology and the recently advances in the comprehension of molecular mechanisms involved in the behaviour of tumour cells and the normal tissues to ionizing radiation has been demonstrating the importance of repair DNA genes. The gene *XRCC-1* plays an important work repairing ionizing lesions, working in the answers of single strand break through repairing by base excision. *XRCC-1* base polymorphisms can influence the answer of radiotherapy's answer, in the same way the toxicity showed on them. In the present study we analysed the toxicity of gastric and rectal cancer patients submitted to radiation treatment and chemotherapy and its relation with the occurrence of specific polymorphisms of *XRCC-1* GENE, C194T (rs1799782) and INDEL 4 bp GGCC (rs3213239). Our data showed a general toxicity rate of 64,5 %, but only 24,5 % were grade 3 or 4. The specific toxicity grade 3 or 4 rate were 16,3 % diarrhea, 6 % dermatitis and 6 % nausea. We did not find and correlation between the polymorphisms C194T (rs1799782) and INDEL (rs1799782) and the rate of toxicity found, except when we evaluated patients with gastric and rectal cancer separately. In the latter group, the allele T of C194T was associated with a higher incidence of nausea, with a 10,5 fold risk and a p value of 0,03. Although this positive correlation, we believe that the number of patients in our study was insufficient to a more accurate correlation between toxicity and polymorphisms.

Keywords: *XRCC-1*; polymorphisms; radiation therapy; toxicity; rectal cancer; gastric cancer

LISTA DE ABREVIATURAS

OMS – Organização Mundial da Saúde	15
INCA – Instituto Nacional do Câncer	15
LET – Transferência linear de energia	21
DT – Dose de tolerância	25
NTPC – Normal Tissue Complication Probability	25
SNP'S – Single Nucleotide Polymorphisms (Polimorfismos de base única)	29
BER – Reparo por Incisão de Base	29
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	35
PCR – Reação de Cadeia Polimerase	36
IAM – Informative ancestry markers (Marcadores informativos de ancestralidade)	22
CTCAE v4.0 – Critérios de Terminologia Comum para Eventos Adversos. Versão 4.0.....	23

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Estimativa 2014: casos novos no Brasil.....	18
FIGURA 2. Mecanismo de reconhecimento e de reparo do DNA após uma lesão radioinduzida.	23
FIGURA 3. Localização cromossômica do gene XRCC1	29
FIGURA 4. Mecanismo de reparo por excisão de bases (BER).	31
FIGURA 5. Domínios da proteína XRCC1 e suas interações com outras proteínas.....	32

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Estimativas para o ano de 2014 das taxas brutas de incidência por 100 mil habitantes e do número de casos novos de câncer, segundo sexo e localização primária.....	16
TABELA 2. Estimativas para o ano de 2014 das taxas brutas de incidência por 100 mil habitantes e do número de casos novos de câncer, segundo sexo e localização primária, no estado do Pará	17
TABELA 3. Toxicidades avaliadas de acordo com CTCaEv4.0.....	26
TABELA 4. Características clínico epidemiológicas dos 49 pacientes estudados.....	39
TABELA 5. Descrição da ancestralidade dos pacientes.....	40
TABELA 6. Frequência das principais toxicidades segundo grau de ocorrência.....	40
TABELA 7. Frequências de toxicidades de pacientes com neoplasia de reto.....	41
TABELA 8. Frequências de toxicidades de pacientes com neoplasia de estômago.....	41
TABELA 9. Dados demográficos e clínicos dos pacientes que apresentaram toxicidade graus 3 ou 4.....	42
TABELA 10. Dados de ancestralidade e presença de algum alelo polimórfico C194T.....	42
TABELA 11. Dados de ancestralidade e presença de algum alelo polimórfico INDEL.....	42
TABELA 12. Polimorfismo C194T e ocorrência de toxicidades encontradas.....	43
TABELA 13. Polimorfismo INDEL e ocorrência de toxicidades encontradas.....	44

TABELA 14. Polimorfismo C194T (alelos mutantes agrupados) e ocorrência de toxicidades encontradas.....	45
TABELA 15. Polimorfismo INDEL (alelos mutantes agrupados) e ocorrência de toxicidades encontradas.....	46
TABELA 16. Haplótipo e toxicidades encontradas.....	47
TABELA 17. Polimorfismo C194T e ocorrência de toxicidade nos pacientes com neoplasia de reto.....	48
TABELA 18. Polimorfismo C194T (alelos mutantes agrupados) e ocorrência de toxicidades encontradas nos pacientes com neoplasia de reto.....	49
TABELA 19. Polimorfismo INDEL e ocorrência de toxicidades encontradas nos pacientes com neoplasia de reto.....	50
TABELA 20. Polimorfismo INDEL (alelos mutantes agrupados) e ocorrência de toxicidades encontradas nos pacientes com neoplasia de reto.....	51
TABELA 21. Haplótipo nos pacientes com neoplasia de reto e ocorrência de toxicidades.....	52
TABELA 22. Polimorfismo C194T (alelos mutantes agrupados) e ocorrência de toxicidades encontradas nos pacientes com neoplasia de estômago.....	53
TABELA 23. Polimorfismo INDEL e ocorrência de toxicidades encontradas...	54
TABELA 24. Polimorfismo INDEL (alelos mutantes agrupados) e ocorrência de toxicidades encontradas nos pacientes com neoplasia de estômago.....	55
TABELA 25. Haplótipo nos pacientes com neoplasia gástrica e ocorrência de toxicidades.....	56

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1. EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER	15
1.1.1. CÂNCER NO MUNDO	15
1.1.2. O CÂNCER NO BRASIL.....	15
1.2. TIPOS DE CÂNCER DO ESTUDO.....	18
1.2.1. CÂNCER DE ESTÔMAGO	18
1.2.2. CÂNCER DE RETO	18
1.3. HISTÓRIA DA RADIOTERAPIA	19
1.4. RADIOTERAPIA.....	20
1.4.1. PAPEL DA RADIOTERAPIA NA ONCOLOGIA.....	21
1.5. RADIOBIOLOGIA	22
1.6. TOXICIDADE E EFICÁCIA TERAPÊUTICA.....	24
1.7. FARMACOGENÉTICA	26
1.7.1. FARMACOGENÉTICA APLICADA AO CÂNCER.....	27
1.7.2. FARMACOGENÉTICA APLICADA A RADIOTERAPIA	29
1.8. GENE <i>XRCC1</i>	30
2. JUSTIFICATIVA E APLICABILIDADE	34
3. OBJETIVOS	35
3.1. OBJETIVO GERAL	35
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
4. MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1. POPULAÇÃO ESTUADA E DESENHADA	35
4.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	36
4.3. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	36
4.4. EXTRAÇÃO DE DNA	36

4.5. GENOTIPAGEM DOS POLIMORFISMOS E ANÁLISE DA ANCESTRALIDADE	36
4.6. CARACTERÍSTICAS CLÍNICO - EPIDEMIOLÓGICAS	37
4.7. AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE.....	38
4.8. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	38
5. RESULTADOS	39
5.1. DESCRIÇÃO DA CASUÍSTICA.....	39
5.2. FREQUÊNCIA DAS ANCESTRALIDADES.....	40
5.3. FREQUÊNCIA E GRAUS DE TOXICIDADE.....	40
5.4. RELAÇÃO ENTRE A OCORRÊNCIA DE TOXICIDADE E OS POLIMORFISMOS.....	43
5.5. RELAÇÃO ENTRE A OCORRÊNCIA DE TOXICIDADE E OS POLIMORFISMOS ESTUDADOS NO SUBGRUPO DE PACIENTES COM CÂNCER DE RETO.....	48
5.6. RELAÇÃO ENTRE A OCORRÊNCIA DE TOXICIDADE E OS POLIMORFISMOS ESTUDADOS NO SUBGRUPO DE PACIENTES COM CÂNCER DE RETO.....	53
6. DISCUSSÃO.....	57
7. CONCLUSÃO.....	60
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	61
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

1. INTRODUÇÃO

1.1. EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER

1.1.1. O CÂNCER NO MUNDO

Nas últimas décadas o câncer vem convertendo-se em um evidente problema de saúde pública mundial. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que, no ano 2030, podem-se esperar 27 milhões de casos incidentes de câncer, 17 milhões de mortes por câncer e 75 milhões de pessoas vivas, anualmente, com câncer. O maior efeito desse aumento vai incidir em países de baixa e média rendas (INCA, 2014).

1.1.2. O CÂNCER NO BRASIL

No Brasil, a estimativa para o ano de 2015 aponta para a ocorrência de aproximadamente 576 mil casos novos de câncer, incluindo os casos de pele não melanoma, reforçando a magnitude do problema do câncer no país. O câncer de pele não melanoma (182 mil casos novos) será o mais incidente na população brasileira, seguido pelos tumores de próstata (69 mil), mama feminina (57 mil), cólon e reto (33 mil), pulmão (27 mil), estômago (20 mil) e colo de útero (15 mil). (INCA 2014)(TABELA 1) (FIGURA1)

TABELA 1- Estimativas para o ano de 2014 das taxas brutas de incidência por 100 habitantes e do número de casos novos de câncer, segundo o sexo e localização primária.

Localização Primária da Neoplasia Maligna	Estimativa dos Casos Novos							
	Homens				Mulheres			
	Estado		Capitais		Estado		Capitais	
	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta
Próstata	68.800	70,42	17.540	82,93	-	-	-	-
Mama Feminina	-	-	-	-	57.120	56,09	19.170	80,67
Colo do Útero	-	-	-	-	15.590	15,33	4.530	19,20
Traqueia, Brônquio e Pulmão	16.400	16,79	4.000	18,93	10.930	10,75	3.080	13,06
Cólon e Reto	15.070	15,44	4.860	22,91	17.530	17,24	5.650	23,82
Estômago	12.870	13,19	2.770	13,07	7.520	7,41	2.010	8,44
Cavidade Oral	11.280	11,54	2.220	10,40	4.010	3,92	1.050	4,32
Laringe	6.870	7,03	1.460	6,99	770	0,75	370	1,26
Bexiga	6.750	6,89	1.910	8,91	2.190	2,15	730	2,97
Esôfago	8.010	8,18	1.460	6,76	2.770	2,70	540	0,00
Ovário	-	-	-	-	5.680	5,58	2.270	9,62
Linfoma de Hodgkin	1.300	1,28	410	5,72	880	0,83	420	8,64
Linfoma não Hodgkin	4.940	5,04	1.490	6,87	4.850	4,77	1.680	7,06
Glândula Tireoide	1.150	1,15	470	1,76	8.050	7,91	2.160	9,08
Sistema Nervoso Central	4.960	5,07	1.240	5,81	4.130	4,05	1.370	5,81
Leucemias	5.050	5,20	1.250	5,78	4.320	4,24	1.250	5,15
Corpo do Útero	-	-	-	-	5.900	5,79	2.690	11,24
Pele Melanoma	2.960	3,03	950	4,33	2.930	2,85	1.150	4,57
Outras Localizações	37.520	38,40	9.070	42,86	35.350	34,73	8.590	36,49
Subtotal	203.930	208,77	51.100	241,30	190.520	187,13	58.710	248,46
Pele não Melanoma	98.420	100,75	19.650	92,72	83.710	82,24	22.540	95,26
Todas as Neoplasias	302.350	309,53	70.750	334,08	274.230	269,35	81.250	343,85

*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10.



Figura 1- Estimativa 2014 casos novos no Brasil.
<http://www.inca.gov.br/estimativa/2014>

A região de maior incidência em números de casos novos de câncer é a região sudeste com estimativa para 2014 de 299.370, seguida da região sul com 116.330 novos casos, em terceiro a região nordeste com 99.060 e centro oeste com 41.400 e a região norte com 20.020 ocupando a 4ª e 5ª posição, respectivamente. Especificamente no Pará teremos a seguinte estimativa detalhada na Tabela 2. (INCA 2014).

Tabela 2: Estimativas para o ano de 2014 das taxas brutas de incidência por 100 mil habitantes e do número de casos novos de câncer, segundo sexo e localização primária. No estado do Pará.

Localização Primária da Neoplasia Maligna	Estimativa dos Casos Novos							
	Homens				Mulheres			
	Estado		Capital		Estado		Capital	
	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta
Próstata	1.000	25,09	330	48,30	-	-	-	-
Mama Feminina	-	-	-	-	830	21,17	360	46,78
Colo do Útero	-	-	-	-	830	21,13	260	34,57
Traqueia, Brônquio e Pulmão	260	8,50	100	14,13	160	4,12	60	7,58
Cólon e Reto	160	4,04	50	7,41	200	5,24	100	12,72
Estômago	450	11,37	140	21,13	240	6,18	100	12,51
Cavidade Oral	120	3,08	30	4,47	70	1,80	20	3,22
Laringe	80	1,92	30	4,15	**	0,37	**	0,82
Bexiga	70	1,79	30	3,78	20	0,58	**	1,36
Esôfago	50	1,31	20	2,41	30	0,70	**	1,67
Ovário	-	-	-	-	90	2,20	60	7,43
Linfoma de Hodgkin	30	0,84	**	1,17	20	0,43	**	0,99
Linfoma não Hodgkin	70	1,81	20	2,50	60	1,59	30	3,86
Glândula Tireoide	20	0,53	**	1,81	120	2,98	50	6,78
Sistema Nervoso Central	60	1,58	20	2,42	50	1,24	20	2,45
Leucemias	130	3,38	30	4,17	120	3,02	40	4,88
Corpo do Útero	-	-	-	-	70	1,77	20	2,32
Pele Melanoma	20	0,59	**	1,48	20	0,56	**	1,15
Outras Localizações	610	15,41	170	25,54	580	14,73	190	25,21
Subtotal	3.130	78,58	1.000	145,60	3.520	89,85	1.360	177,69
Pele não Melanoma	990	24,89	430	62,85	1.000	25,44	420	55,05
Todas as Neoplasias	4.110	103,19	1.430	208,21	4.520	115,37	1.780	232,57

*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10. / ** Menores que 15 casos.

1.2. TIPOS DE CÂNCER DO ESTUDO

1.2.1. CÂNCER DE ESTÔMAGO

No Brasil, estimam-se 12.870 novos casos de câncer de estômago em homens e 7.520 mulheres no ano de 2014. Esses valores correspondem a um risco estimado de 13,19 casos novos a cada 100.000 homens e 7,41 a cada 100.000 mulheres. Responde pela 4ª maior incidência em homens e pela 6ª maior incidência nas mulheres no Brasil (INCA 2014).

Chama a atenção a estimativa para a região Norte do Brasil e especificamente o estado do Pará onde o câncer gástrico passa a ter a 2ª maior incidência entre os homens e 3ª entre as mulheres, conforme tabela 2 (INCA 2014). Além da alta incidência, o câncer gástrico é a 2ª causa de morte por câncer no mundo o que o torna um importante problema de saúde pública da população brasileira (INCA 2014).

Os fatores de risco envolvidos no câncer gástrico incluem alta ingestão de sal diretamente nos alimentos ou como conservante, alimentos defumados, baixa ingestão de frutas e vegetais e presença da bactéria *H. pylori* (INCA 2014).

A gastrectomia total ou subtotal é o tratamento radical padrão para o câncer gástrico não metastático. A radio e quimioterapia adjuvantes tornaram-se padrão após a publicação dos resultados do *GI Intergroup Gastric Adjuvant Trial* para estádios IB até IV, negativos para doença sistêmica (MACDONALD, 2001).

1.2.2. CÂNCER DE RETO

No Brasil estimam-se para 2015, 15.070 casos novos de câncer de cólon e reto em homens e 17.530 em mulheres. Segundo última estimativa mundial, o câncer de cólon e reto configura-se como o 3º tipo de câncer mais comum entre os homens, com 746 mil novos casos, e o segundo nas mulheres, com 614 mil casos novos para o ano de 2012. Mais da metade são provenientes de regiões mais desenvolvidas (INCA 2014).

Os fatores envolvidos no risco aumentado de desenvolvimento do câncer colo retal incluem idade avançada, sexo masculino, história familiar de câncer colo retal,

aumento índice de massa corporal, ingestão de carne processada, ingestão de álcool e baixo consumo de folato. Destes fatores, somente o sexo masculino, idade avançada e uso excessivo de álcool estão relacionados especificamente com o câncer de reto. (PEREZ 2008).

O tratamento do câncer de reto vem sofrendo transformações drásticas nas últimas décadas. A cirurgia se mantém como base do tratamento curativo do câncer de reto, sendo a excisão mesorectal total a técnica padrão atualmente. A radioterapia e posteriormente a radioquimioterapia eram indicadas após a cirurgia para os estádios II e III. Na década passada surgiram evidências de que a radio e quimioterapia neoadjuvante estavam associadas a um melhor controle local e sobrevida livre de doença, transformando então radioquimioterapia neoadjuvantes à cirurgia como tratamento padrão para o câncer de reto (SAUER 2004, BOSSET 2006 e ROH 2009).

A radioterapia consiste em 45-50,4 Gy, com frações de 180 cGy, em pelve incluindo a lesão primária e a drenagem linfática regional, mesmo que profilaticamente (BOSSET 2006).

1.3. HISTÓRIA DA RADIOTERAPIA

Wilhelm Conrad Roentgen nasceu em 27 de março de 1845 em Lennep, Alemanha e se formou em engenharia mecânica na Escola Politécnica de Zurique em 1868. Em 1888 aceitou um emprego de professor de física teórica na Universidade de Wursburg, onde iniciou sua pesquisa sobre raios catódicos. Num de seus experimentos com um tubo de Crookes, totalmente coberto para impedir a passagem da luz, percebeu uma linha preta num papel de bário que se encontrava numa cadeira na sala do experimento. Ele sabia que aquilo só poderia ser produzido numa situação normal pela passagem da luz, mas que seria impossível naquela determinada circunstância que alguma luz tivesse atingido o papel. Ele então chamou de raios-X, por não conhecer ainda suas propriedades físicas (LEDERMAN 1981).

Em 30 de novembro de 1895, Roentgen anunciava sua descoberta para o mundo, o que lhe renderia o Prêmio Nobel de física em 1901. Na própria apresentação dos raios-X para o mundo, Roentgen já demonstrou a relevância de

sua descoberta para a medicina, ao mostrar a radiografia da mão de sua esposa (LEDERMAN 1981).

Após a descoberta de Roentgen, avanços clínicos e tecnológicos foram acumulados mais rapidamente do que o conhecimento biológico. Vários cientistas procuraram descobrir se substâncias encontradas na natureza seriam capazes de emitir radiação semelhante aos raios-X. Em 1896 Henri Becquerel revelava ao mundo a capacidade do urânio de emitir radiação semelhante aos raios-X relatados por Roentgen. O casal Curie então mostrou que a intensidade da radiação era proporcional a quantidade de urânio da amostra. Eles também descobriram outros elementos capazes de emitir radiação como polônio e o rádio, chamando então este fenômeno de radioatividade (PEREZ 2008).

As possibilidades terapêuticas dos raios-x e dos materiais capazes de emitir radiação logo foram percebidas pelos cientistas. Em 1901 Becquerel esqueceu uma ampola de rádio em sua jaqueta, observando então, após algum tempo de exposição, uma reação inflamatória local logo atribuída ao rádio. No mesmo ano em Paris, após o relato de Becquerel, um dermatologista fazia o primeiro uso clínico do Radio para tratar Lupus cutâneo. Em 1903, Charles Leonard relatou o uso de raios-X para tratamento paliativo de câncer de mama. Em 1922 num congresso internacional de oncologia em Paris, Coutard e Hautant apresentou evidências de que era possível curar câncer de laringe com raios-x, sem sequelas “desastrosas” (PEREZ 2008).

1.4. RADIOTERAPIA

Radioterapia é uma disciplina da medicina humana que se preocupa com a geração, conservação e a disseminação do conhecimento a respeito das causas, da prevenção e do tratamento do câncer e algumas patologias benignas, envolvendo o conhecimento específico do uso terapêutico das radiações ionizantes. Como uma disciplina que existe da combinação da física com a biologia, a radioterapia se preocupa em investigar os princípios fundamentais da biologia do câncer, a interação biológica entre a radiação e o tecido normal e o câncer e a base física do uso terapêutico das radiações ionizantes (PEREZ 2008).

O objetivo do tratamento é entregar uma determinada dose de radiação para volume alvo definido, com o mínimo dano possível ao tecido sadio ao redor deste

volume, resultando na erradicação do tumor, uma melhor qualidade de vida e maior sobrevivência dos pacientes. Também pode ser utilizada para palição ou prevenção de sintomas relacionados à doença, como o alívio da dor, prevenção de fraturas ósseas, desobstrução vias aéreas ou gastrointestinais e hemostasia. Estima-se que pouco mais de 50 % dos pacientes diagnosticados com câncer irão necessitar de radioterapia em algum momento de seu tratamento (DELANEY 2005).

As radiações ionizantes utilizadas na radioterapia podem ser classificadas em corpusculares, como prótons ou elétrons, ou eletromagnéticas, como os raios-x ou gama. São chamadas de corpusculares aquelas que possuem massa, penetrando menos nos tecidos mas depositando mais energia por unidade de caminho percorrido, a chamada transferência linear de energia (LET). As radiações eletromagnéticas ionizam esparsamente percorrendo maior trajeto nos tecidos, sendo consideradas de baixo LET. Quanto maior a energia das radiações, maior será sua capacidade de penetração nos tecidos (SEGRETO 2000).

Outro aspecto físico que influencia no efeito biológico é a taxa de dose, que é a energia liberada pelo tempo. Quanto menor a taxa de dose menor a eficácia radiobiológica, pois aumenta a chance de reparo da lesão radioinduzida. Basicamente o efeito biológico depende da densidade de radiação no tempo (taxa de dose) e no espaço (LET) (SEGRETO 2000).

1.4.1. PAPEL DA RADIOTERAPIA NA ONCOLOGIA

A radioterapia é a modalidade não cirúrgica mais eficaz no combate ao câncer. De acordo com a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer, dos 10.9 milhões de pessoas diagnosticadas com câncer no mundo, cerca de 50 % necessitaram de radioterapia e 60 % destes são com intenção curativa (BARNETT 2009).

No Brasil, a Portaria da Secretaria de Atenção à Saúde e Ministério da Saúde número 741 de 2005 (SAS/MS 741/2005) prevê que para cada 1000 pacientes com câncer, 600 vão precisar de radioterapia. Ela é necessária de forma estratégica no tratamento dos tumores malignos mais prevalentes na população brasileira, ou seja, no câncer de próstata e pulmão nos homens e no de mama e colo uterino, nas mulheres.

1.5. RADIOBIOLOGIA

Radiobiologia é a área da ciência que estuda os efeitos biológicos das radiações ionizantes. O principal resultado desses efeitos é o dano ao DNA, que pode ser causado diretamente pela ionização da molécula do DNA ou indiretamente pela formação de radicais livres, principalmente pela ionização da água e formação da hidroxila (SEGRETO, 2000).

A radiação ionizante altera a estrutura do DNA produzindo lesões específicas como dano nas bases, quebra simples de uma fita, quebra da dupla fita do DNA ou uma complexa combinação entre elas, levando ao retardo no ciclo celular e caso não haja o reparo, a apoptose. A dose de 1 Gy pode produzir mais de 2000 dano em bases, 1000 quebras simples de uma fita, 40 quebras da dupla fita e 30 ligações cruzadas. A quebra da dupla fita é o dano mais letal induzido pela radiação ionizante (BORCHIELLINI 2012).

As células normais são capazes de reparar as lesões radioinduzidas ao DNA. Considera-se que as células apresentam a mesma quantidade de quebras duplas por Gray de radiação. O que diferencia a resposta ou a radiosensibilidade de diferentes células é a sua capacidade de reparo.

Para cada tipo de lesão radioinduzida haverá um mecanismo de reconhecimento e de reparo do DNA. (Figura 2).

O reparo da quebra da fita dupla inclui tanto mecanismos de recombinação homóloga como não homóloga. Primeiramente ocorre o reconhecimento do não pareamento do DNA (ATM ou ATR), seguido pelo retardo no ciclo celular (CHK1, CHK2). A via de reparo por recombinação homóloga restaura o DNA danificado usando o cromossomo análogo como um espelho durante a fase S e G2 do ciclo celular. Várias proteínas estão envolvidas na síntese do DNA: família RAD, NSB, MRE11, XRCC2, XRCC3, RecQL, BRCA1 e BRCA2. A principal via de reparo da quebra da fita dupla é a junção terminal não homóloga, onde não há nova síntese do DNA perdido e envolve proteínas diferentes da recombinação homóloga como Ku70, XRCC5, XRCC4, DNA-PK e LIG4. A resposta a quebra da dupla fita envolve então uma complexa rede de transdução de sinais, retardo no ciclo celular e vias de reparo (BORCHIELLINI 2012).

A proteína *XRCC1* está envolvida no reparo por excisão de bases (BER) (Thompson *et al.*, 1989). O BER é responsável por identificar e remover

danos no DNA, como bases oxidadas, desaminadas ou alquiladas, surgidos espontaneamente na célula ou da exposição a agentes exógenos como as radiações ionizantes e a luz UV (Christmann *et al.*, 2003).

No BER, a lesão é removida por uma enzima DNA glicosilase específica, criando um sítio apúrico ou apirimídico (sítio AP). Este é reconhecido por uma enzima chamada endonuclease AP que aliada a uma fosfodiesterase, exisam os grupos açúcar-fosfato remanescentes; logo após a DNA polimerase-β (com ajuda de outras proteínas incluindo *XRCC1*) adiciona um novo nucleotídeo à extremidade 3'-OH; finalmente, o complexo DNA ligase IIIα/*XRCC1* sela a nova ligação (Figura 4) (Brem& Hall, 2005).

A lesão no DNA que não é reparada de forma adequada pode levar à morte celular, impedir a divisão celular ou levar a mutações, deleções e translocações permanentes no DNA.

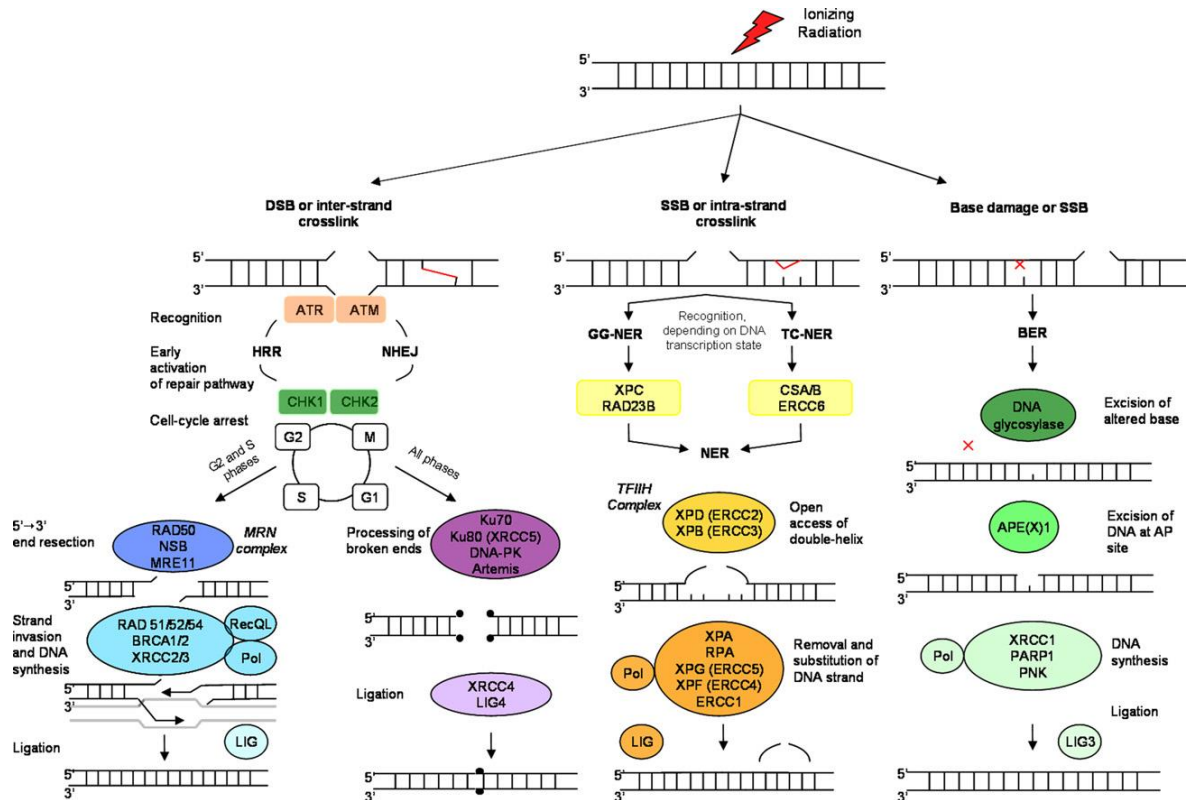


Figura 2 – Mecanismo de reconhecimento e de reparo do DNA após uma lesão radioinduzida. (BORCHIELLINI 2012).

1.6. TOXICIDADE E EFICÁCIA TERAPÊUTICA

Com o início do uso clínico das radiações ionizantes para tratamento das neoplasias malignas, logo se observou reações adversas no tecido normal contido no volume irradiado. O primeiro órgão a manifestar esses efeitos adversos foi a pele, devido à baixa energia dos primeiros equipamentos de radioterapia, sendo a descamação úmida a mais frequente. Paterson foi o primeiro a correlacionar a dose empregada e a toxicidade observada na pele (PATERSON 1936). O avanço tecnológico da radioterapia e o melhor entendimento da radiobiologia resultaram numa melhor compreensão da relação entre a dose empregada para o controle tumoral e a probabilidade de complicação do tecido normal.

No início da década de 50 com o advento dos aparelhos de megavoltagem, a pele deixou de ser o principal sítio de toxicidade nos tratamentos. O uso de campos paralelos e opostos, apesar de homogeneizar a dose no volume alvo de tratamento, fez com o que os órgãos mais profundos parcialmente recebessem a dose de tratamento. Mais tarde o uso da tomografia computadorizada nos planejamentos dos tratamentos permitiu direcionar melhor os campos de radioterapia para o volume alvo, utilizando-se de novas configurações de entrada, mas acima de tudo, permitiu a visualização da dose de maneira tridimensional no alvo de tratamento e nos tecidos sadios próximos ao tumor. (BENTZEN 2010).

A importância de se preservar o tecido normal foi logo reconhecida na radioterapia e diferentes esquemas de fracionamento e de dose total foram desenvolvidos. Strandqvist foi um dos primeiros a tentar correlacionar vários esquemas de tempo/dose com resultados clínicos revisando 280 casos de câncer de pele e lábio. Ele observou que algumas relações de tempo/dose curavam a doença, mas produziam graves reações tardias enquanto outros esquemas de tratamento não causavam toxicidade, mas também não tratavam a doença. O resultado deste e de outros estudos de curva de isoefeito foi o estabelecimento de esquemas de tratamento que não excedam a tolerância dos tecidos normais mas permitam uma alta probabilidade de cura (SEGRETO 2000).

Na década de 80/90, com o início do uso do planejamento computadorizado e da análise das doses que atingiam parcialmente os órgãos normais através da análise do histograma dose volume (DVH), tornou-se extremamente necessário o

melhor entendimento sobre a probabilidade de complicações do tecido normal (NTCP, *Normal Tissue Complication Probability*). Em 1991, Emami então publicou o consenso de uma força tarefa criada para elucidar melhor essa questão. O resultado foi a relação entre dose e volume do órgão normal atingido de acordo com 3 categorias (1/3, 2/3 e todo órgão) e a probabilidade de aparecimento de complicações no órgão de risco em 5 anos (EMAMI 1991). Assim ficou estabelecida a dose de tolerância (DT) para cada órgão, de acordo com o volume irradiado, e a probabilidade de aparecimento de complicações em 5 anos. O acúmulo de dados da era 3D-conformada levou a necessidade de revisão do modelo de NTCP proposto por Emami. A análise quantitativa dos efeitos no tecido normal na clínica (QUANTEC) foi publicada em 2010 e hoje serve como parâmetro para avaliação da probabilidade de complicação do tecido normal, mesmo com as novas técnicas de radioterapia como IMRT e terapia com prótons, que levam a uma distribuição heterogênea da dose no tecido normal (BENTZEN 2010).

O controle tumoral com a radiação é um evento probabilístico. Para cada incremento na dose, uma certa fração de células será morta e o número total de células que sobrevivem será proporcional a quantidade inicial e à fração morta com cada dose. Assim a dose empregada estará relacionada a extensão da lesão bem como a sensibilidade do tecido envolvido à radiação (BENTZEN 2010).

As definições de probabilidade de controle tumoral e probabilidade de complicações no tecido normal implicam na existência de uma dose ótima de radioterapia que seria capaz de produzir um controle tumoral máximo com uma mínima (ou pelo menos aceitável) frequência de complicações (PEREZ 2008).

Cronologicamente os efeitos adversos da radioterapia são classificados em agudos, início até 3 meses do tratamento, e tardios, com início a partir dos 3 meses em diante. Os principais moduladores dos efeitos das radiações são a dose total de radiação e a fração utilizada, a duração total do tratamento, o intervalo entre as frações, a taxa de dose, o tipo específico do órgão irradiado e o volume irradiado. Não há correlação descrita entre a incidência e gravidade de toxicidade aguda e o aparecimento de toxicidade tardia. Os efeitos adversos tardios podem ser irreversíveis e são eles que limitam a dose de radioterapia em regimes com intenção curativa (BARNETT 2009).

Utilizamos os Critérios de Terminologia Comum para Eventos Adversos versão 4.0 para avaliação das toxicidades dos pacientes avaliados conforme Tabela 3 (CTCAEv4.0).

Tabela 3 – Toxicidades avaliadas de acordo com CTCAEv4.0

Toxicidade	Grau				
	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Grau 5
Diarréia	Aumento <4 vezes por dia	4-6 vezes por dia	≥7 vezes por dia	Risco à vida necessitando intervenção urgente	Morte
Dermatite por radiação	Eritema leve ou descamação seca	Eritema moderado; descamação úmida em áreas de pregas cutâneas	Descamação úmida; sangramento ao trauma leve	Necrose ou ulceração de toda derme	Morte
Náuseas	Perda de apetite sem redução da alimentação	Diminuição da ingesta oral sem perda de peso importante	Ingestão calórica ou hídrica insatisfatória necessitando sonda ou hospitalização	-----	-----
Vômitos	1-2 episódios por dia	3-5 episódios por dia	>6 episódios por dia necessitando sonda ou hospitalização	Risco à vida necessitando intervenção urgente	Morte

1.7. FARMACOGENÉTICA

A farmacogenética por definição refere-se ao estudo das diferenças genéticas em vias metabólicas que podem afetar as repostas de um indivíduo a drogas em termos de efeitos terapêuticos e adversos (Klotz, 2007). Diversos fatores tais como: sexo, idade, etnia, fumo, etilismo e variações genéticas podem influenciar na resposta de um paciente ao medicamento (Evans & Johnson, 2001; Sadee & Daí, 2005). Assim a farmacogenética busca estudar como as diferenças genéticas influenciam na resposta a agentes farmacológicos (Meyer, 2004). A abordagem tradicional da farmacogenética baseia-se em estudar polimorfismos na sequência de DNA de genes que, provavelmente, afetam a resposta aos medicamentos.

Portanto o objetivo dos estudos farmacogenéticos é buscar uma terapia individualizada que possa maximizar a eficácia dos medicamentos e minimizar os efeitos adversos associados aos fármacos (Weinshilboum & Wang 2004).

A população brasileira é uma das mais heterogêneas do mundo, em consequência de cinco séculos de miscigenação entre três grupos geográficos ancestrais: os ameríndios, os europeus e os africanos.

Essa heterogeneidade tem implicações importantes no desenho e interpretação de ensaios clínicos farmacogenéticos, na implementação dos princípios de farmacogenética/farmacogenômica (FGx), na prescrição de medicamentos e, ainda, em relação à extrapolação de dados farmacogenéticos obtidos de outras populações.

O paradigma populacional em FGx se baseia na observação de que a frequência de inúmeros polimorfismos em “farmacogenes” varia amplamente entre as populações (Suarez-Kurtz, 2007). Desta forma, investigações farmacogenéticas em diferentes grupos humanos podem identificar populações que podem se beneficiar de mais de um fármaco, ou identificar efeitos adversos que não são vistos em outras populações (Suarez-Kurtz, 2005).

1.7.1. FARMACOGENÉTICA APLICADA AO CÂNCER

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

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

O advento de novos esquemas terapêuticos com agentes químicos de nova geração oferece nova esperança para melhorar os resultados de tratamento entre pacientes. De forma convergente, os rápidos avanços no campo da genômica funcional têm permitido estabelecer novas estratégias de quimioterapia, que

permitem a escolha do fármaco ideal, na dose adequada, para cada indivíduo, tomando por base os perfis moleculares do paciente (tanto de células normais como de células tumorais, dependendo do caso), o que se descreve comumente como a medicina personalizada (Nishiyama *et al.*, 2009). Nos últimos anos muito se tem investigado sobre causas de respostas individuais diferenciadas em relação ao tratamento quimioterápico. Hoje é possível identificar avanços significativos no conhecimento das interações entre polimorfismos presentes em determinados genes e a resposta individual ao tratamento com drogas específicas. Este é o caso dos polimorfismos do gene *personalizado* (com fármaco adequado em dose exata) que pode melhorar condição clínica e sobrevida do paciente, que seja eficiente em termos de máxima resposta e mínima toxicidade (Loh *et al.*, 2011).

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

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

A utilização da tecnologia genômicas GWAS para estudos de farmacogenética do câncer gástrico e retal pode auxiliar na identificação de marcadores moleculares únicos para nossa população brasileira que sejam capazes de prever resposta ao tratamento e, desta forma, tornar a medicina personalizada. A utilização destes marcadores pode maximizar a resposta terapêutica e minimizar as toxicidades relacionadas ao fármaco, desta forma, diminuem custos com hospitalizações, tratamentos ineficazes e mortalidade relacionada às reações adversas decorrentes da terapia (Fernandez-Rozadilla *et al.*, 2012; Heather *et al.*, 2013; Wheeler *et al.*, 2013; Savonarola *et al.*, 2012; Soh *et al.*, 2011; Kiyotani *et al.*, 2012; Tzvetkov *et al.*, 2012; Carpi *et al.*, 2011; Freedman *et al.*, 2010; Savas, 2010).

1.7.2. FARMACOGENÉTICA APLICADA À RADIOTERAPIA

É conhecido que a radioterapia apresenta uma variação interindividual na eficácia ao tratamento dos pacientes neoplásicos (DELANEY *et al.*, 2005). Estas variações na resposta tumoral ao tratamento radioterápico são decorrentes de fatores que podem ser extrínsecos (como por exemplo, o microambiente tumoral e hipóxia) e fatores intrínsecos (como capacidade de reparo do DNA em quebras de fita dupla, mutações somáticas ou polimorfismos germinativos) (PARLIAMENT; MURRAY, 2010).

Neste contexto, a farmacogenética caracteriza-se por investigar a correlação entre as variantes genéticas, e a resposta que o indivíduo apresenta a terapêutica (WEINSHILBOUM; WANG, (2006), sabendo que o conhecimento dessa relação pode auxiliar a otimização do tratamento oncológico ressalta-se a sua importância (HUANG; RATAIN, 2009).

Os polimorfismos genéticos são o principal alvo de estudo da farmacogenética, pois estas variações podem potencialmente alterar a expressão gênica e/ou a função das proteínas codificadas e assim influenciar a resposta do paciente ao tratamento (BROOKES, 1999; WEINSHILBOUM; WANG, 2006).

Vários estudos têm apontado que as variantes genéticas realmente têm influência na variabilidade individual na resposta ao tratamento radioterápico ao câncer (PARLIAMENT; MURRAY, 2010; HORGAN *et al.*, 2011). Assim, há várias investigações que tem buscado encontrar marcadores moleculares para verificar eficácia e toxicidade a radioterapia (BORCHIELLINI *et al.*, 2012).

Os genes de reparo são amplamente estudados nesse campo de pesquisa, visto que são componentes importantes no mecanismo que induz a célula à morte no tratamento com radioterapia. Estudos envolvendo o *XRCC1* sugerem que SNP's (Single Nucleotide Polymorphism) nesse gene podem estar associados a uma melhor resposta tumoral a radioterapia (SAKANO *et al.*, 2006; YOON *et al.*, 2005). Outros polimorfismos foram estudados também em genes de reparo como *XRCC3*, *XRCC2*, *ERCC1*, *ERCC2*, *XPA* e foram demonstradas associações com resposta ao tratamento radioterápico (LI *et al.*, 2006; ZARATE *et al.*, 2006; CARLES *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2006). Reforçando assim que SNP's são possíveis marcadores preditivos de resposta a este tratamento (PARLIAMENT; MURRAY, 2010).

1.8. GENE *XRCC1*

O gene *XRCC1* humano (do inglês *X-ray repair cross-complementing group1*) está localizado no cromossomo 19q13.2 (figura 3), é composto de 17 éxons e codifica a proteína nuclear *XRCC1*, que é composta de 633 aminoácidos (Hunget *al.*, 2005).

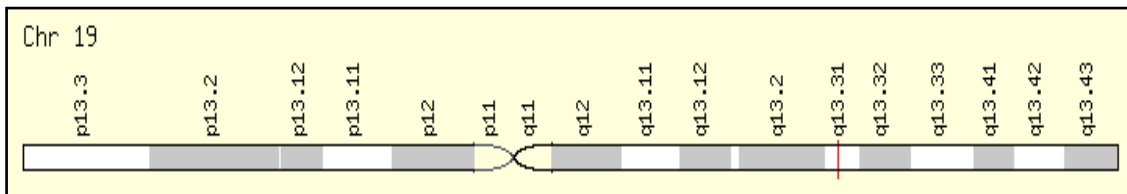


Figura 3: Localização cromossômica do gene *XRCC1* (GeneCards, 2012).

Os genes da família *XRCC* são importantes componentes de várias vias do reparo do DNA (Thacker&Zdzienicka, 2003). Os sistemas de reparo de DNA exercem um papel essencial na proteção do genoma contra danos causados por agentes carcinogênicos sendo, portanto, imprescindíveis na preservação da estabilidade genômica. (Thacker&Zdzienicka, 2003; SMITH *et al.*, 2008). Atualmente, sabe-se que mais de uma centena de proteínas envolvidas em mecanismos de reparo estão presentes nas células humanas, monitorando e corrigindo nucleotídeos danificados (López- Cima *et al.*, 2007).

A proteína *XRCC1* está envolvida no reparo por excisão de bases (BER) (Thompson *et al.*, 1989). O BER é responsável por identificar e remover danos no DNA, como bases oxidadas, desaminadas ou alquiladas, surgidos espontaneamente na célula ou da exposição a agentes exógenos como as radiações ionizantes e a luz UV (Christmannet *al.*, 2003).

No BER, a lesão é removida por uma enzima DNA glicosilase específica, criando um sítio apúrico ou apirimídico (sítio AP). Este é reconhecido por uma enzima chamada endonuclease AP que aliada a uma fosfodiasterase, exisam os grupos açúcar-fosfato remanescentes; logo após a DNA polimerase- β (com ajuda de outras proteínas incluindo *XRCC1*) adiciona um novo nucleotídeo à extremidade 3'-OH; finalmente, o complexo DNA ligase III α /*XRCC1* sela a nova ligação (Figura 4) (Brem& Hall, 2005).

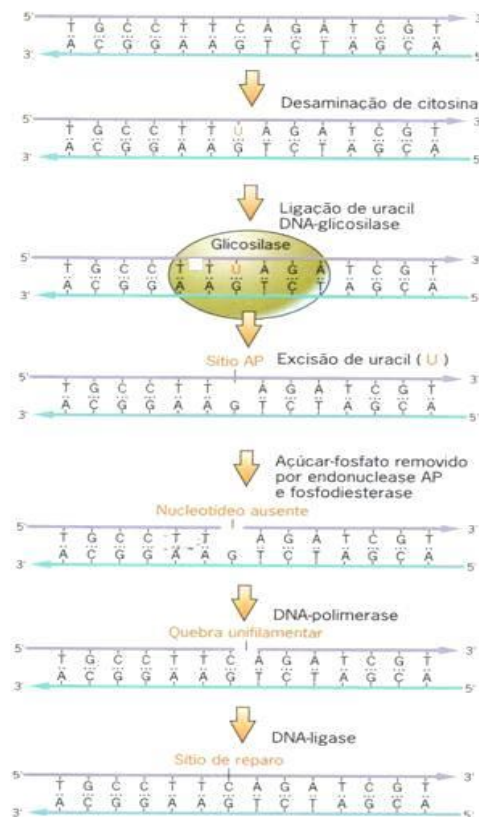


Figura 4: Mecanismo de reparo por excisão de bases (BER) (Snustad&Simmons, 2008).

Aparentemente, a proteína *XRCC1* não desempenha uma função enzimática, porém atua como proteína suporte, ligando-se e interagindo com várias outras enzimas participantes do BER, como a DNA ligase III, a DNA polimerase β e a APE, e parece contribuir para a eficiência do processo, bem como para a estabilidade genômica após a ocorrência da lesão (Saadat e Ansari-Lari, 2008; Smith *et al.*, 2008; Brem & Hall, 2005). Essa proteína apresenta três domínios funcionais: um domínio de ligação a DNA N-terminal (ligação específica com quebras de fita simples de DNA) e os domínios BRCT-I central e BRCT-II C-terminal (Horton *et al.*, 2008). A Figura 5 indica os domínios funcionais da *XRCC1* e as regiões de interações com outras proteínas.

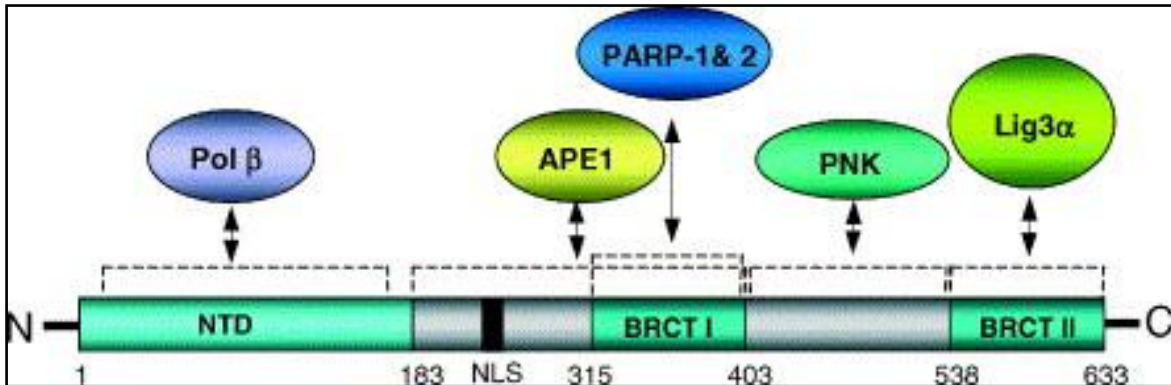


Figura 5: Domínios da proteína *XRCC1* e suas interações com outras proteínas. NTD: domínio N-terminal; NLS: sinal de localização nuclear; Pol β : DNA polimerase β ; PNK: polinucleotídeoquinase; Lig3 α : DNA ligase 3 α (Caldecott, 2003).

Desta forma, a proteína *XRCC1* atua como facilitadora e coordenadora do processo de reparo por excisão de base, sendo imprescindível na formação do complexo com as demais proteínas (Caldecott, 2003; Jelonek, 2010).

Sugere-se que polimorfismos no gene *XRCC1*, que causam mudanças de aminoácidos, possam impedir a interação de *XRCC1* com outras proteínas enzimáticas e conseqüentemente alterar a atividade do sistema de reparo de DNA por BER (Saadat; Ansari-Lari, 2008).

Encontram-se amplamente descritos três polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) para o gene *XRCC1* que resultam em alterações de aminoácidos: o primeiro, uma transição de C para T no códon 194 do éxon 6 resulta em substituição de um resíduo de Arginina por um de Triptofano (Arg194Trp – rs1799782), o segundo é uma transição de G por A no códon 280 do éxon 9 que resulta em substituição de um resíduo de Arginina por um de Histidina (Arg280His – rs25489) e o terceiro, uma transição de G para A no códon 399 do éxon 10, resulta em substituição de um resíduo de Arginina por um de Glutamina (Arg399Gln, rs25487). Os polimorfismos Arg194Trp e Arg399Gln são os mais frequentemente observados (Saadat e Ansari-Lari, 2008; Wang *et al.*, 2008; Chacko *et al.*, 2005; Shenet *et al.*, 2005).

O SNP Arg194Trp (C194T) ocorre na posição 26304, referente ao éxon 6, do gene *XRCC1* resultando em alteração do produto proteico no códon 194. Esse códon se encontra na região intermediária que separa o domínio de ligação da DNA polimerase β do domínio de ligação da PARP (domínio BRCT-I), sendo esta região parte do sítio de interação com a endonuclease APE1. A habilidade da *XRCC1* em

interagir com a APE1 pode estar alterada na presença do polimorfismo, o que pode influenciar na eficiência do reparo por via BER (Mateuca *et al.*, 2005).

Um polimorfismo de inserção/deleção de 4 pb (GGCC) em *XRCC1* (rs3213239) ainda não foi associado positivamente ao desenvolvimento de câncer. Apesar de ainda não ter sido associado à carcinogênese, rs3213239 já foi relacionado a toxicidades não hematológicas em pacientes de CCR tratados com FOLFOX4 na Itália (Cecchin *et al.*, 2013). Esse polimorfismo está localizado na região 5'UTR do gene e, portanto, pode afetar a atividade da proteína. Dessa forma, rs3213239 é potencialmente importante para a carcinogênese, o que é ainda mais relevante devido à frequência do menor alelo (deleção) igual a 30%, segundo o banco de dados 1000 Genomes (The 1000 Genomes Project Consortium; <http://browser.1000genomes.org/index.html>).

Atualmente vários esforços estão sendo feitos para identificar biomarcadores capazes de prever a resposta a radioquimioterapia, com o objetivo de obter a melhor resposta com a menor taxa de complicações. Apesar da literatura ser mais vasta para marcadores ligados a quimioterapia, principalmente na resposta ao 5-FU, proteínas ligadas ao reparo da lesão radioinduzida veem sendo estudadas na tentativa de se correlacionar polimorfismos destes genes com a resposta a radioquimioterapia. Uma das principais proteínas estudadas hoje no câncer de reto é a *XRCC1* (x-ray repair cross complementing protein 1) relacionada com o reparo da lesão da fita única do DNA. Para cada tipo de dano causado ao DNA haverá uma via de reparo específica com genes específicos envolvidos. O *XRCC1* tem um importante papel na via de reparo por excisão de base, onde funciona como facilitador e coordenador através da interação com DNA polimerases e DNA ligase III (GRIMMINGER 2010).

Os dados disponíveis hoje a respeito da correlação entre polimorfismos no gene *XRCC-1* e a resposta clínica à radioquimioterapia ainda são conflitantes. Temos ainda menos dados na literatura sobre a correlação entre os polimorfismos e toxicidade do tratamento (BORCHILLINI 2012).

2. JUSTIFICATIVA E APLICABILIDADE

Não há dados sobre as frequências das variantes polimórficas no gene XRCC1 ou sobre toxicidade a radio e quimioterapia em pacientes oncológicos do Norte do Brasil. Também não existem dados correlacionando toxicidade à radio e quimioterapia e polimorfismos do XRCC1 no estado do Pará. Os resultados desta pesquisa, ao relatar dados clínicos locais e possíveis diferenças interindividuais na tolerabilidade ao tratamento do câncer de estômago e reto, podem contribuir no desenho de estudos clínicos influenciando na dose de radioterapia, futuramente, no manejo terapêutico individualizado, melhorando a eficácia e mitigando as toxicidades.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a toxicidade em pacientes com câncer de estômago e reto submetidos ao tratamento com radioterapia e relacionar sua ocorrência com 2 polimorfismos específicos do gene *XRCC1*, C194T (rs1799782) e um do tipo INDEL 4 pb GGCC (rs3213239).

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Descrever a frequência de toxicidade e seus graus em pacientes com câncer de estômago e reto tratados com radioquimioterapia em Belém/PA.
- b) Investigar a ocorrência de 2 polimorfismos específicos do gene *XRCC1*, C194T (rs1799782) e um do tipo INDEL 4 pb GGCC (rs3213239), que possam ser utilizados como preditivos de toxicidade ao tratamento com radioterapia.
- c) Comparar os genótipos dos pacientes tratados com radioquimioterapia que apresentaram toxicidade ao tratamento com o grupo de pacientes que não apresentou e avaliar se estes polimorfismos podem ser preditivos de toxicidade.
- d) Avaliar diferença nas ocorrências de alelos polimórficos entre os grupos étnicos delimitados pelos marcadores de ancestralidade.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. POPULAÇÃO ESTUDADA E DESENHO

Realizou-se um estudo transversal com avaliação de dados clínicos e epidemiológicos dos indivíduos incluídos e investigação da ocorrência de 2 polimorfismos no gene *XRCC1*.

Os pacientes foram recrutados em dois Serviços de Referência em Oncologia em Belém do Pará, que são o Hospital Universitário João de Barros Barreto e Hospital Ophir Loyola. Foram utilizados os seguintes critérios para inclusão e exclusão:

4.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Idade maior ou igual a 18 anos;
- Diagnóstico anatomopatológico de adenocarcinoma gástrico e adenocarcinoma retal;
- Tratamento radioquimioterápico baseado em fluorpirimidina (5-FU ou capecitabina) ou combinação baseada em fluorpirimidina com radioterapia tanto neoadjuvante como adjuvante;
- Dose de radioterapia para adjuvância neoplasia gástrica de 45 Gy e para neoplasia de reto de 50,4 Gy, ambos com fracionamento de 1.8 Gy/dia.
- Tratamento realizado nas duas unidades de saúde referência em Oncologia de Belém/PA (HUJBB e HOL).

4.3. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Pacientes submetidos a radioterapia prévia.

4.4. EXTRAÇÃO DE DNA

Todos os sujeitos participantes foram esclarecidos acerca dos objetivos da pesquisa. Após a assinatura do TCLE, foi coletada uma amostra de sangue venoso (5 ml) periférico em tubo EDTA para as análises genéticas.

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).

4.5. GENOTIPAGEM DOS POLIMORFISMOS E ANÁLISE DA ANCESTRALIDADE

Foram investigados dois polimorfismos do gene *XRCC1*. A análise molecular do polimorfismo C194T foi realizada por PCR em tempo real com sondas TaqMan®

(Applied Biosystems®, Foster City, Califórnia, EUA) utilizado o equipamento 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems). O protocolo utilizou 3.5 µL de Master Mix, 0.157 µL de sonda TaqMan, 3.325 µL de água e 1.0 µL de DNA. O mix final foi amplificado com o seguinte programa: 10' a 95°C, 40 ciclos de 15" a 92°C, e 1' a 60°C.

A amplificação do DNA do polimorfismo INDEL foi realizada em um termociclador ABI Verity (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). O sistema de genotipagem por PCR utilizou o kit QIAGEN Multiplex PCR (QIAGEN, Germany): 5.0 µL de QIAGEN Multiplex PCR Master Mix, 1.0 µL de Q-solution, 1.0 µL de Mix dos primers, 2.0 µL de água, e 1.0 µL de DNA. As amostras foram incubadas a 95°C por 15', seguindo de 35 ciclos de 94°C por 45", 60°C por 90" e 72°C por 1', com a extensão final de 70°C por 30'. Para análise de eletroforese capilar (análise de fragmento), 1.0 µL do produto da PCR foi adicionado a 8.5 µL de formamida deionizada HI-DI (Applied Biosystems, Foster City, CA) e 0.5 µL de GeneScan 500 LIZ tamanho padrão (Applied Biosystems, CA, USA). Os fragmentos de DNA foram separados utilizando-se o analisador genético ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems, CA, USA) e analisados com o programa GeneMapper ID v.3.2 (Applied Biosystems, CA, USA).

Empregou-se um painel de 48 Marcadores Informativos de Ancestralidade (IAMs) como método de controle genômico da ancestralidade para determinar com precisão o papel de polimorfismos nos genes candidatos em populações miscigenadas da região Norte do Brasil de acordo com Santos et al (2010). Os polimorfismos do tipo INDEL foram genotipados utilizando um PCR do tipo multiplex que permitiu a análise dos mesmos em uma única reação com o sequenciador ABI Prism e o software GeneMapper ID v 3.2. As proporções individuais de ancestralidade genética de europeus, africanos e ameríndios foram estimadas usando o software STRUCTURE V2.3.3.

4.6. CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS

Dados sobre história clínica da doença, seus hábitos, idade, antecedentes, ou qualquer outro fator que possa influir no resultado da pesquisa, foram levantados nos prontuários dos pacientes.

4.7. AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE

A avaliação de toxicidade foi recuperada de dados dos prontuários dos pacientes utilizando-se, quando possível, os Critérios de Terminologia Comum para Eventos Adversos versão 4.0 (CTCAEv4.0). Dado o caráter retrospectivo de avaliação de toxicidade, em que toxicidades leves podem ser ocultadas, dividimos os grupos quanto à ocorrência ou não de toxicidades (qualquer grau) e a ocorrência ou não de toxicidades graves (grau 3 ou 4).

4.8. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram tabulados em planilhas do programa Microsoft Office Excel 2010® e analisados, utilizando-se o programa Structure v.22, para estimar a proporção individual e global de ancestralidade dos pacientes e o programa SPSS 20.0 (SPSS Ins. Chicago, IL, USA) foi empregado nas análises para correlacionar toxicidade, características clínico-epidemiológicas e os marcadores genéticos investigados. Comparações de grupos para as variáveis categóricas foram testadas dois a dois pelo teste Qui-quadrado de Pearson, enquanto que o teste t de Student foi utilizado para a análise de variáveis contínuas. Para a comparação do índice de ancestralidade entre as amostras foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Odds ratio (OR) e intervalos de confiança (IC = 95 %) também foram calculados. Todos os testes estatísticos foram baseados em uma probabilidade bicaudal e um p valor $\leq 0,05$ foi considerado significativo.

5. RESULTADOS

5.1 Descrição da Casuística

Foram incluídos no estudo 49 pacientes tratados com radio e quimioterapia no Hospital Ophir Loyola e Hospital Universitário João de Barros Barreto entre fevereiro de 2010 e março de 2013. Houve predominância do sexo masculino, com 61 % dos pacientes avaliados (TABELA 3). A idade mediana encontrada foi de 55 anos e 71 % dos pacientes se encontravam nos estádios II e III de câncer de reto e estômago. O câncer de reto predominou com 55 % dos casos. A dose de radioterapia mediana empregada foi de 45 Gy para os pacientes com neoplasia de estômago e 50,4 Gy para neoplasia de reto. Quanto à intenção do tratamento, 62 % dos pacientes receberam radioterapia adjuvante e 38 % neoadjuvante. Quimioterapia com base em 5-fluoracil foi empregada em todos os pacientes de forma concomitante ao tratamento. (Tabela 3).

Tabela 4 – Características clínico-epidemiológicas dos 49 pacientes estudados

Característica	Número de pacientes n (%)	
Gênero	n=49	
Masculino	30 (61,2)	
Feminino	19 (38,8)	
Idade mediana	55	
Tumor primário	n=49	
Gástrico	22 (45)	
Reto	27 (55)	
Estadiamento	Estômago n=22	Reto n=27
I	1 (4,5)	2 (8)
II	5 (22,7)	5 (20)
III	13 (59)	12 (48)
IV	2 (9)	5 (20)
Tipo de tratamento	n= 45	
Adjuvante	28 (62)	
Neo-adjuvante	17 (38)	
Dose de radioterapia mediana	n=49	
Estômago	45 Gy	
Reto	50,4 Gy	

5.2 Frequência das Ancestralidades

As ancestralidades médias da casuística foram 46,5 % europeia, 31 % nativo americana e 22,5 % africana. (Tabela 4).

Tabela 5 – Descrição da ancestralidade dos pacientes

Característica	Número de pacientes n (%)
Ancestralidade média ^a	n=49
Africana	0,225 (±0,130)
Europeia	0,465 (±0,167)
Nativo Americana	0,308 (±0,139)

Valores expressos como média (±=desvio padrão)

5.3 – Frequências e graus de toxicidade

A análise dos dados revelou que 65 % dos pacientes apresentaram algum tipo ou grau de toxicidade avaliada, chamada toxicidade total, mas somente 24,5 % apresentaram algum tipo de toxicidade graus 3 ou 4 (tabela 5). A diarreia foi a toxicidade mais encontrada, acometendo 51 % dos pacientes, mas somente 16% dos pacientes apresentaram grau 3 ou 4. Radiodermite ocorreu em 14,3 % dos pacientes, mas somente 3 pacientes (6%) apresentaram sua forma mais grave (graus 3 ou 4). (Tabela 5)

Tabela 6 – Frequência das principais toxicidades segundo o grau de ocorrência

Toxicidade	Grau 1-4 n (%)	Grau 3-4 n (%)
Total	31 (64,5)	12 (24,5)
Diarréia	25 (51)	8 (16,3)
Dermatite	7 (14,3)	3 (6,1)
Êmese	10 (20,5)	0

Quando separamos a ocorrência de toxicidades por sítio primário, encontramos percentuais equivalentes entre os pacientes com câncer de reto e estômago, excetuando-se somente dermatite, encontrada exclusivamente nos pacientes com câncer de reto (Tabelas 6 e 7).

Tabela 7 - Frequências de toxicidades pacientes com câncer de reto

Toxicidade	Grau 1-4 n (%)	Grau 3-4 n (%)
Total	18 (66,6)	5 (26)
Diarréia	14 (52)	2 (7,4)
Dermatite	7 (26)	3 (11)
Êmese	4 (15)	0

Tabela 8 - Frequências de toxicidades nos pacientes com câncer de estômago

Toxicidade	Grau 1-4 n (%)	Grau 3-4 n (%)
Total	13 (62)	7 (22,7)
Diarréia	11 (50)	7 (32)
Dermatite	0 (0)	0 (0)
Êmese	6 (27)	0

Não houve correlação significativa entre os grupos de ancestralidade e a ocorrência de toxicidade graus 3 e 4 (Tabela 8). Apesar do grupo nativo americano apresentar uma ancestralidade média maior no grupo sem toxicidade graus 3 e 4, não foi significativo. Também não encontramos diferença significativa entre os grupos graus 3 e 4 de toxicidade e o sexo ($p=0,74$) e estadiamento ($p=0,917$). Não houve diferença significativa entre os grupos de ancestralidade e a presença do alelo mutante no polimorfismo C194T e INDEL. (Tabelas 9 e 10).

Tabela 9 – Dados demográficos e clínicos dos pacientes que apresentaram toxicidade graus 3 e 4

Ancestralidade ^a	Toxicidade Grau 3 ou 4		p values
	Sim (N = 12)	Não (N = 37)	
Africana	0,24 ± 0,13	0,21 ± 0,13	0,422
Européia	0,48 ± 0,13	0,45 ± 0,17	0,515
Nativo Americana	0,26 ± 0,12	0,32 ± 0,14	0,227

Valores expressos como média (\pm =desvio padrão) ^asignificância determinada pelo teste de Mann-Whitney

Tabela 10 – Dados de ancestralidade e presença de algum alelo polimórfico C194T

Ancestralidade ^a	Presença alelo polimórfico		p values
	Sim (N = 11)	Não (N = 38)	
Africana	0,27 ± 0,17	0,21 ± 0,11	0,375
Européia	0,38 ± 0,12	0,48 ± 0,17	0,072
Nativo Americana	0,34 ± 0,14	0,29 ± 0,13	0,363

Valores expressos como média (\pm =desvio padrão) ^asignificância determinada pelo teste de Mann-Whitney

Tabela 11 – Dados de ancestralidade e presença de algum alelo mutante INDEL

Ancestralidade ^a	Presença alelo polimórfico		p values
	Sim (N = 25)	Não (N = 24)	
Africana	0,22 ± 0,10	0,22 ± 0,15	0,375
Européia	0,46 ± 0,14	0,46 ± 0,19	0,960
Nativo Americana	0,30 ± 0,13	0,31 ± 0,15	0,920

Valores expressos como média (\pm =desvio padrão) ^asignificância determinada pelo teste de Mann-Whitney

5.4 – Relação entre ocorrência de toxicidade e os polimorfismos estudados

A frequência encontrada dos polimorfismos C194T (rs1799782) e INDEL (rs3213239) foi de 2,1% e 6,8%, respectivamente, para homozigotos mutantes. A frequência de presença de alelo mutante foi de 22,4 % para C194T (rs1799782) e de 51 % para INDEL (rs3213239). Não houve correlação estatisticamente significativa entre os dois polimorfismos e frequência de toxicidade aguda encontrada nos pacientes (Tabelas 11 e 12).

TABELA 12 – Polimorfismo C194T e ocorrência de toxicidades encontradas

Toxicidade		Genótipo			P
		TT	CT	CC	
Geral* (grau 1-4) (n=47)	Ausente (n=16)	1 (6,25%)	3 (18,75%)	12 (75%)	0,371
	Presente (n=31)	0	6 (19,35%)	25 (80,64%)	
Geral* (grau 3 e 4) (n=48)	Ausente (n=36)	1 (2,77%)	9 (25%)	26 (72,22%)	0,373
	Presente (n=12)	0	1 (8,33%)	11 (91,66%)	
Náuseas (n=48)	Ausente (n=38)	0	7 (18,42%)	31 (81,57%)	0,091
	Presente (n=10)	1 (10%)	3 (30%)	6 (60%)	
Dermatites (n=48)	Ausente (n=41)	1 (2,43%)	9 (21,95%)	31 (75,60%)	0,811
	Presente (n=7)	0	1 (14,28%)	6 (85,71%)	
Diarréia (n=48)	Ausente (n=23)	1 (4,34%)	6 (26,08%)	16 (69,56%)	0,369
	Presente (n=25)	0	4 (16%)	21 (84%)	

*Quaisquer das toxicidades avaliadas

TABELA 13 – Polimorfismo INDEL e ocorrência de toxicidades encontradas

Toxicidade		Genótipo			P
		DEL/DEL	DEL/INS	INS/INS	
Geral* (grau 1-4) (n=44)	Ausente (n=16)	0	7 (43,75%)	9 (56,25%)	0,234
	Presente (n=28)	3 (10,71%)	15 (53,57%)	10 (35,71%)	
Geral* (grau 3 e 4) (n=44)	Ausente (n=32)	2 (6,25%)	15 (46,87%)	15 (46,87%)	0,721
	Presente (n=12)	1 (8,33%)	7 (58,33%)	4 (33,33%)	
Náuseas (n=44)	Ausente (n=35)	3 (8,57%)	17 (48,57%)	15 (42,85%)	0,655
	Presente (n=9)	0	5 (55,55%)	4 (44,44%)	
Dermatites (n=44)	Ausente (n=38)	2 (5,26%)	19 (50%)	17 (44,73%)	0,564
	Presente (n=6)	1 (16,66%)	3 (50%)	2 (33,33%)	
Diarréia (n=44)	Ausente (n=21)	0	11 (52,38%)	10 (47,61%)	0,227
	Presente (n=23)	3 (13,04%)	11 (47,82%)	9 (39,13%)	

*Quaisquer das toxicidades avaliadas

Quando relacionamos a ocorrência de toxicidade à presença do alelo polimórfico, seja homocigoto ou heterocigoto, encontramos uma tendência para risco duas vezes maior para ocorrência de diarreia e radiodermite graus 3 e 4 para o polimorfismo INDEL, mas sem significância estatística. (Tabelas 13 e 14).

A análise do haplótipo também não revelou uma correlação significativa entre a presença dos alelos polimórficos e a ocorrência de toxicidade nos pacientes avaliados (tabela 15).

TABELA 14 – Polimorfismo C194T (alelos mutantes agrupados) e ocorrência de toxicidades encontradas

Toxicidade		Genótipo		OR	p
		TT e CT	CC		
Geral* (grau 1-4) (n=48)	Ausente (n = 17)	4 (23,5%)	13(76,5%)	0,78	0,73
	Presente (n = 31)	6 (19,4%)	25(80,6%)		
Diarréia (grau 1-4) (n=49)	Ausente (n = 24)	7 (29%)	17 (71%)	0,46	0,26
	Presente (n = 25)	4 (16%)	21 (84%)		
Diarréia (grau 3-4) (n=49)	Ausente (n = 40)	9 (22,5%)	31(77,5%)	0,98	0,98
	Presente (n = 9)	2(22%)	7(78%)		
Dermatite (grau 1-4) (n=49)	Ausente (n=42)	10 (24%)	32 (76%)	0,53	0,57
	Presente (n=7)	1 (14%)	6 (86%)		
Dermatite (grau 3-4) (n=49)	Ausente (n=46)	11 (24%)	35 (76%)	0,76	0,33
	Presente (n=3)	0	3 (100%)		

*Quaisquer das toxicidades avaliadas

TABELA 15 – Polimorfismo INDEL (alelos mutantes agrupados) e ocorrência de toxicidades encontradas

Toxicidade		Genótipo		OR	p
		DEL/DEL DEL/INS	INS/INS		
Geral* (grau 1-4) (n=48)	Ausente (n = 17)	7 (41%)	10(59%)	1,98	0,26
	Presente (n = 31)	18 (58%)	13(42%)		
Diarréia (grau 1-4) (n=49)	Ausente (n = 24)	11 (46%)	13 (54%)	1,5	0,47
	Presente (n = 25)	14 (56%)	11 (44%)		
Diarréia (grau 3-4) (n=49)	Ausente (n = 40)	19 (47%)	21(53%)	2,2	0,22
	Presente (n = 9)	6 (66%)	3 (33%)		
Dermatite (grau 1-4) (n=49)	Ausente (n=42)	21 (50%)	21 (50%)	1,33	0,72
	Presente (n=7)	4 (57%)	3 (43%)		
Dermatite (grau 3-4) (n=49)	Ausente (n=46)	23 (50%)	23 (50%)	2	0,57
	Presente (n=3)	2 (66 %)	1 (33%)		

*Quaisquer das toxicidades avaliadas

Tabela 16 – Haplótipo e ocorrência de toxicidades encontradas

Toxicidade		Genótipo			p
		Haplótipo1 *	Haplótipo2*	Haplótipo3*	
Geral (grau 1-4) (n=47)	Ausente (n=17)	7 (41%)	9 (53%)	1 (6%)	0,78
	Presente (n=31)	10 (32%)	18 (58%)	3 (10%)	
Geral (Grau 3 e 4) (n=49)	Ausente (n=37)	13 (35%)	21 (56,5%)	3 (8,5%)	0,994
	Presente (n=12)	4 (33,3%)	7 (58,3%)	1 (0,83%)	
Náuseas (n=49)	Ausente (n=39)	15 (38,5%)	21 (54%)	3 (7,5%)	0,55
	Presente (n=10)	2 (20%)	7 (70%)	1 (10%)	
Dermatite (n=49)	Ausente (n=42)	15 (35,7%)	23 (54,7%)	4 (9,6%)	0,593
	Presente (n=7)	2 (28,5)	5 (71.5%)	0	
Dermatite (grau 3 e 4) (n=49)	Ausente (n=46)	16 (34,8%)	26 (56,5%)	4 (8,7%)	0,855
	Presente (n= 3)	1 (33,3%)	2 (66,6%)	0	
Diarréia (n=49)	Ausente (n=24)	8 (33,3%)	14 (58,3%)	2 (8,3%)	0,981
	Presente (n=25)	9 (36%)	14 (56%)	2 (8%)	
Diarréia (Grau 3 e 4) (n=49)	Ausente (n=40)	14 (35%)	24 (60%)	2 (5 %)	0,225
	Presente (n=9)	3 (33,3%)	4 (44,4%)	2 (22,3%)	

*Haplótipo 1= ausência de polimorfismos

Haplótipo 2=presença de um polimorfismo (pelo menos um alelo mutado)

Haplótipo 3=presença de dois polimorfismos (presença dos dois genótipos mutantes)

5.5 – Relação entre ocorrência de toxicidade e os polimorfismos estudados no subgrupo de pacientes com câncer de reto

Realizamos a análise dos polimorfismos e sua relação com a toxicidade apresentada para cada sítio primário separadamente. A análise exclusiva dos pacientes com neoplasia de reto revelou uma correlação entre o polimorfismo C194T e a ocorrência de náuseas, tanto quando analisado os genótipos separadamente assim como quando juntamos os alelos mutantes versus selvagem, com valor de p 0,027 e 0,03, respectivamente (tabelas 16 e 17). Não houve diferença estatisticamente significativa para as análises do polimorfismo INDEL e do haplótipo (tabelas 18, 19 e 20)

Tabela 17 – Polimorfismo C194T e ocorrência de toxicidades nos pacientes com neoplasia de reto

Toxicidade		Genótipo			p
		TT	CT	CC	
Geral (grau 1-4) (n=27)	Ausente (n=9)	1 (11%)	1 (11%)	7 (78%)	0,351
	Presente (n=18)	0	2 (11%)	16 (89%)	
Geral (grau 3 e 4) (n=27)	Ausente (n=20)	1 (5%)	3 (15%)	16 (80%)	0,44
	Presente (n=7)	0	0	7 (100%)	
Náuseas (n=27)	Ausente (n=23)	0	2 (8,7%)	21 (91,3%)	0,027
	Presente (n=4)	1 (25%)	1 (25%)	2 (50%)	
Dermatites (n=27)	Ausente (n=20)	1 (5%)	2 (10%)	17 (75%)	0,801
	Presente (n=7)	0	1 (14,28%)	6 (85,71%)	
Diarréia (n=27)	Ausente (n=13)	1 (7,7%)	2 (15,3%)	10 (77%)	0,43
	Presente (n=14)	0	1 (7%)	13 (93%)	
Diarréia (grau 3-4) (n=27)	Ausente (n=25)	1 (4%)	3 (12%)	21 (84%)	0,95
	Presente (n=2)	0	1 (50%)	1 (50%)	

Tabela 18 – Polimorfismo C194T (alelos mutantes agrupados) e ocorrência de toxicidade nos pacientes com neoplasia de reto

Toxicidade		Genótipo			
		TT e CT	CC	OR	P
Geral (grau 1-4) (n=27)	Ausente (n = 9)	2 (22%)	7 (78%)	0,43	0,44
	Presente (n = 18)	2 (11%)	16 (91%)		
Geral (grau 3-4) (n=27)	Ausente (n=20)	4 (20%)	16 (80%)	0,8	0,2
	Presente (n=7)	0	7 (100%)		
Diarréia (grau 1-4) (n=27)	Ausente (n = 13)	3 (23%)	10 (77%)	0,25	0,24
	Presente (n = 14)	1 (7%)	13 (93%)		
Diarréia (grau 3-4) (n=27)	Ausente (n = 25)	4 (16%)	21(84%)	-	0,73
	Presente (n = 2)	0	2(100%)		
Dermatite (grau 1-4) (n=27)	Ausente (n=20)	3 (15%)	17 (75%)	0,94	0,96
	Presente (n=7)	1 (14%)	6 (86%)		
Dermatite (grau 3-4) (n=27)	Ausente (n=24)	4 (15%)	20 (75%)		0,28
	Presente (n=3)	0	3 (100%)		
Náuseas (n=27)	Ausente (n=23)	2 (8,6%)	21(91,4%)	10,5	0,03
	Presente (n=4)	2 (50%)	2 (50%)		

Tabela 19 – Polimorfismo INDEL e ocorrência de toxicidades nos pacientes com neoplasia de reto

Toxicidade		Genótipo			p
		DEL/DEL	DEL/INS	INS/INS	
Geral (grau 1-4) (n=23)	Ausente (n=8)	0	4 (50%)	4 (50%)	0,60
	Presente (n=15)	1 (6,66%)	9 (60%)	5(33,33%)	
Grau 3 e 4 (n=23)	Ausente (n=16)	1 (6,5%)	9 (56%)	6 (37%)	0,789
	Presente (n=7)	0	4 (57%)	3 (43%)	
Náuseas (n=23)	Ausente (n=20)	1 (5%)	11 (55%)	8 (40%)	0,88
	Presente (n=3)	0	2 (66,66%)	1 (33,33%)	
Dermatites (n=23)	Ausente (n=17)	0	10 (59%)	7 (41%)	0,22
	Presente (n=6)	1 (16,66%)	3 (50%)	2 (33,33%)	
Diarréia (n=23)	Ausente (n=11)	0	7 (64%)	4 (36%)	0,56
	Presente (n=12)	1 (8,3%)	6 (50%)	5 (41,7%)	
Diarréia (grau 3-4) (n=23)	Ausente (n=21)	1 (5%)	12 (57%)	8 (38%)	0,8
	Presente (n=2)	0	1 (50%)	1 (50%)	

Tabela 20 – Polimorfismo INDEL (alelos mutantes agrupados) e ocorrência de toxicidades nos pacientes com neoplasia de reto

Toxicidade		Genótipo		OR	P
		DEL/DEL INS/DEL	INS/INS		
Geral (grau 1-4) (n=27)	Ausente (n = 9)	4 (44%)	5 (56%)	1,56	0,58
	Presente (n = 18)	10 (55,5%)	8 (44,5%)		
Geral (grau 3-4) (n=27)	Ausente (n=20)	10 (50%)	10 (50%)	1,33	0,75
	Presente (n=7)	4 (57%)	3 (43%)		
Diarréia (grau 1-4) (n=27)	Ausente (n = 13)	7 (54%)	6 (46%)	0,25	0,85
	Presente (n = 14)	7 (50%)	7 (50%)		
Diarréia (grau 3-4) (n=27)	Ausente (n = 25)	13 (52%)	12(48%)		0,53
	Presente (n = 2)	1 (50%)	1(50%)		
Dermatite (grau 1-4) (n=27)	Ausente (n=20)	10 (50%)	10 (50%)	1,33	0,74
	Presente (n=7)	4 (57%)	3 (43%)		
Dermatite (grau 3-4) (n=27)	Ausente (n=24)	12 (50%)	12 (50%)		0,82
	Presente (n=3)	2 (66,6%)	1 (33,3%)		
Náuseas (n=27)	Ausente (n=23)	12 (8,6%)	11(91,4%)	0.91	0,93
	Presente (n=4)	2 (50%)	2 (50%)		

Tabela 21 – Haplótipo nos pacientes com neoplasia de reto e ocorrência de toxicidades

Toxicidade		Genótipo			P
		Haplótipo1*	Haplótipo2*	Haplótipo3*	
Geral (grau 1-4) (n=27)	Ausente (n=9)	3 (33,33%)	6 (66,66%)	0	1,0
	Presente (n=18)	6 (33,33%)	12 (66,66%)	0	
Geral (Grau 3 e 4) (n=27)	Ausente (n=20)	6 (30%)	14 (70%)	0	0,65
	Presente (n=7)	3 (43%)	4 (57%)	0	
Náuseas (n=27)	Ausente (n=23)	9 (39%)	14 (61%)	0	0,12
	Presente (n=4)	0	4 (100%)	0	
Dermatite (n=27)	Ausente (n=20)	13 (35,7%)	7 (54,7%)	0	0,75
	Presente (n=7)	2 (28,5)	5 (71,5%)	0	
Dermatite (grau 3 e 4) (n=27)	Ausente (n=24)	8 (33,3%)	14 (66,6%)	0	0,58
	Presente (n= 3)	1 (33,3%)	2 (66,6%)	0	
Diarréia (n=27)	Ausente (n=13)	3 (23%)	10 (77%)	0	0,42
	Presente (n=14)	6 (43%)	8 (57%)	0	
Diarréia (Grau 3 e 4) (n=27)	Ausente (n=25)	8 (32%)	17 (68%)	0	0,147
	Presente (n=2)	1 (50%)	1 (50%)	0	

*Haplótipo 1= ausência de polimorfismos

Haplótipo 2=presença de um polimorfismo (pelo menos um alelo mutado)

Haplótipo 3=presença de dois polimorfismos (presença dos dois genótipos mutantes)

5.6 – Relação entre ocorrência de toxicidade e os polimorfismos estudados no subgrupo de pacientes com câncer de estômago

No subgrupo de pacientes com neoplasia gástrica não encontramos correlação entre toxicidade e os polimorfismos estudados. Não houve casos de pacientes com dermatite neste subgrupo. Também não houve pacientes com genótipo mutante homozigoto para o polimorfismo C194T (TT).

Tabela 22 – Polimorfismo C194T (alelos mutantes agrupados) e ocorrência de toxicidade nos pacientes com neoplasia gástrica

Toxicidade		Genótipo			OR	P
		TT e CT	CC			
Geral (grau 1-4) (n=21)	Ausente (n = 8)	2 (25%)	6 (75%)	1,33	1,0	
	Presente (n = 13)	4 (31%)	9 (69%)			
Geral (grau 3-4) (n=22)	Ausente (n=17)	6 (35%)	11 (65%)	0,45	1,0	
	Presente (n=5)	1 (20%)	4 (80%)			
Diarréia (grau 1-4) (n=22)	Ausente (n = 11)	4 (36%)	7 (64%)	0,65	0,64	
	Presente (n = 11)	3 (27%)	8 (73%)			
Diarréia (grau 3-4) (n=22)	Ausente (n = 15)	5 (33,3%)	10(66,6%)		0,77	
	Presente (n = 7)	2 (29%)	5 (71%)			
Dermatite (grau 1-4) (n=22)	Ausente (n=22)	7 (32%)	15 (68%)			
	Presente (n=0)	0	0			
Dermatite (grau 3-4) (n=22)	Ausente (n=22)	7 (32%)	15 (68%)			
	Presente (n=0)	0	0			
Náuseas (n=22)	Ausente (n=16)	5 (31%)	11(69%)	1,1	1,0	
	Presente (n=6)	2 (33,3%)	4 (66,6%)			

Tabela 23 – Polimorfismo INDEL e ocorrência de toxicidades nos pacientes com neoplasia gástrica

Toxicidade		Genótipo			P
		DEL/DEL	DEL/INS	INS/INS	
Geral (grau 1-4) (n=21)	Ausente (n=8)	0	3 (37,5%)	5 (62,5%)	0,38
	Presente (n=13)	2 (15%)	6 (46%)	5 (39%)	
Geral (grau 3 e 4) (n=21)	Ausente (n=16)	1 (6,25%)	6 (37,5%)	9 (56,25%)	0,32
	Presente (n=5)	1 (20%)	3 (60%)	1 (20%)	
Náuseas (n=21)	Ausente (n=15)	2 (13%)	6 (40%)	7 (47%)	0,63
	Presente (n=6)	0	3 (50%)	3 (50%)	
Dermatites (n=21)	Ausente (n=21)	2 (9,5%)	9 (43%)	10 (47,5%)	
	Presente (n=0)	0	0	0	
Diarréia (n=21)	Ausente (n=10)	0	4 (40%)	6 (60%)	0,29
	Presente (n=11)	2 (18%)	5 (45%)	4 (37%)	
Diarréia (grau 3-4) (n=23)	Ausente (n=21)	1 (5%)	12 (57%)	8 (38%)	0,8
	Presente (n=2)	0	1 (50%)	1 (50%)	

Tabela 24 – Polimorfismo INDEL (alelos mutantes agrupados) e ocorrência de toxicidades nos pacientes com neoplasia gástrica

Toxicidade		Genótipo				P
		DEL/DEL INS/DEL	INS/INS	OR		
Geral (grau 1-4) (n=21)	Ausente (n = 8)	3 (37,5%)	5 (62,5%)	2,6	0,38	
	Presente (n = 13)	8 (61,5%)	5 (38,5%)			
Geral (grau 3-4) (n=22)	Ausente (n=17)	7 (41%)	10 (59%)	5,7	0,31	
	Presente (n=5)	4 (80%)	1 (20%)			
Diarréia (grau 1-4) (n=22)	Ausente (n = 11)	4 (36%)	7 (64%)	3,0	0,36	
	Presente (n = 11)	7 (64%)	4 (36%)			
Diarréia (grau 3-4) (n=22)	Ausente (n = 15)	6 (40%)	9 (60%)		0,36	
	Presente (n = 7)	5 (71%)	2 (29%)			
Dermatite (grau 1-4) (n=22)	Ausente (n=22)	11 (50%)	11 (50%)			
	Presente (n=0)	0	0			
Dermatite (grau 3-4) (n=22)	Ausente (n=22)	11 (50%)	11 (50%)		0,82	
	Presente (n=0)	0	0			
Náuseas (n=22)	Ausente (n=16)	8 (50%)	8(50%)	1,0	1,0	
	Presente (n=6)	3 (50%)	3 (50%)			

Tabela 25 – Haplótipo dos pacientes com neoplasia gástrica e ocorrência de toxicidades

Toxicidade		Genótipo			P
		Haplótipo 1*	Haplótipo 2*	Haplótipo3*	
Geral (grau 1-4) (n=21)	Ausente (n=8)	4 (50%)	3 (37,5%)	1 (12,5%)	0,65
	Presente (n=13)	4 (31%)	6 (46%)	3 (23%)	
Geral (Grau 3 e 4) (n=22)	Ausente (n=17)	7 (41%)	7 (41%)	2 (18%)	0,67
	Presente (n=5)	1 (20%)	3 (60%)	1 (20%)	
Náuseas (n=22)	Ausente (n=16)	6 (37,5%)	7 (43,7%)	3 (18,7%)	0,96
	Presente (n=6)	2 (33%)	3 (50%)	1 (17%)	
Dermatite (n=22)	Ausente (n=22)	8 (37%)	10 (45%)	4 (18%)	
	Presente (n=0)	0	0	0	
Dermatite (grau 3 e 4) (n=22)	Ausente (n=22)	8 (37%)	10 (45%)	4 (18%)	
	Presente (n=0)	0	0	0	
Diarréia (n=22)	Ausente (n=11)	5 (46%)	4 (36%)	2 (18%)	0,63
	Presente (n=11)	3 (26%)	6 (56%)	2 (18%)	
Diarréia (Grau 3 e 4) (n=22)	Ausente (n=15)	6 (40%)	7 (46%)	2 (14%)	0,59
	Presente (n=7)	2 (29%)	3 (43%)	2 (28%)	

*Haplótipo 1= ausência de polimorfismos

Haplótipo 2=presença de um polimorfismo (pelo menos um alelo mutado)

Haplótipo 3=presença de dois polimorfismos (pelo menos dois alelos mutados)

6. DISCUSSÃO

A toxicidade é o principal fator limitante da dose de radiação empregada para os diferentes tipos de tumores e seu tratamento com radiação ionizante. A análise do histograma dose-volume permite estabelecer probabilidades de complicação no tecido normal e relacionar com a probabilidade de controle tumoral, mas até o momento não é levado em consideração as variantes genéticas e sua influência na variabilidade individual na resposta ao tratamento radioterápico (PARLIAMENT; MURRAY, 2010; HORGAN *et al.*, 2011). Com a possibilidade de se encontrar marcadores moleculares individuais que apontariam quais pacientes teriam mais toxicidade e melhor resposta, poderíamos modificar a dose de radioterapia empregada otimizando a relação entre o controle tumoral e a probabilidade de complicações do tecido normal (BORCHIELLINI *et al.*, 2012).

Neste trabalho encontramos uma taxa de toxicidade grau 3 ou 4 de 24,5 %, semelhante ao relatado por Sauer *et al.* (2004) de 27 %, no entanto mais baixa que a descrita por MacDonald *et al.* (2001) de 33 % e por Roh *et al.* (2009) de 52 %. A ocorrência de diarreia graus 3 e 4 no nosso estudo foi de 16,3 %, também semelhante ao descrito por Sauer *et al.* (2004). Por outro lado, a toxicidade dermatológica encontrada foi de 6,1 %, mais baixa que a relatada por Sauer *et al.* (2004) de 11 %,

A grande maioria dos estudos envolvendo genes de reparo do DNA, como o *XRCC-1*, visam correlacionar os polimorfismos encontrados com o risco de desenvolvimento de câncer ou avaliam o papel destes polimorfismos na resposta ao tratamento realizado. Poucos trabalhos tentaram correlacionar os polimorfismos estudados com a toxicidade aguda ao tratamento.

Carvalho *et al.* (2015) demonstrou um maior risco para o genótipo Del/Del do polimorfismo do *XRCC-1* rs 3213239 e o desenvolvimento de leucemia linfoblástica aguda. Uma metaanálise realizada por Li *et al.* (2012) também associou o polimorfismo C194T do gene *XRCC-1* com risco de desenvolvimento de câncer de colo de útero.

A literatura ainda revela resultados conflitantes sobre a correlação entre polimorfismos no gene *XRCC-1* e a resposta à radio e quimioterapia neoadjuvantes. Grimminger *et al.* (2010) avaliaram 81 pacientes portadores de câncer de reto tratados com radio e quimioterapia neoadjuvantes e correlacionaram a resposta ao

tratamento com 2 polimorfismos do gene *XRCC-1* (C194T e A399G) e um do gene *XRCC-3* (A241G). Nenhum dos 3 polimorfismos mostrou associação com a resposta ao tratamento, ainda que uma tendência em favor de A399G tenha sido encontrada. Os autores atribuem o resultado ao pequeno número de pacientes avaliados.

Lamas et al. (2012) encontrou correlação positiva entre o polimorfismo A399G e a resposta à terapia neoadjuvante no câncer de reto. Os polimorfismos C194T e INDEL não foram avaliados neste estudo.

No nosso trabalho optamos por avaliar a toxicidade aguda apresentada pelos pacientes submetidos à radio e quimioterapia, seja de forma adjuvante ou neoadjuvante, nos pacientes com câncer de estômago ou reto e sua correlação com o polimorfismo C194T e INDEL do gene *XRCC-1*. Nossa expectativa era de que os pacientes com esses polimorfismos apresentariam uma maior taxa de toxicidade em relação ao grupo com genótipo selvagem, já que o reparo da lesão radioinduzida estaria prejudicado. Não encontramos diferenças estatisticamente significativas nas toxicidades relatadas entre pacientes com genótipo polimórfico ou selvagem no nosso estudo, mesmo quando agrupamos os genótipos homocigoto e heterocigoto e comparamos com o selvagem. Somente quando separamos os pacientes pelos dois sítios primários do estudo, encontramos uma correlação positiva entre náuseas e a presença do polimorfismo C194T nos pacientes com neoplasia de reto, com um OR de 10,5 e um p valor de 0,03.

No polimorfismo C194T, apesar de não ter significância estatística, encontramos um maior número absoluto de pacientes com toxicidade apresentando o genótipo CC selvagem. Balboa et al (2010), estudando o uso farmacogenético do polimorfismo A399G do gene *XRCC-1* na resposta à radio e quimio neoadjuvantes no câncer de reto, relatou uma melhor taxa de resposta nos pacientes que possuíam o alelo A, principalmente homocigotos, contrariando toda expectativa de melhor reparo da lesão com este genótipo. Os autores justificam o resultado pelo fato das amostras colhidas pelo sangue esconderem mutações somáticas tumorais relevantes.

Quando avaliamos o polimorfismo INDEL do nosso estudo, vemos uma tendência de risco aumentada 2 vezes para toxicidade G3-4 gastrointestinal (diarreia) e dermatológica, ainda que não tenha atingido significância estatística.

Acreditamos que o pequeno número de pacientes do trabalho foi insuficiente para demonstrar diferença estatística, além das diferenças próprias de toxicidade

encontradas em cada sítio estudado, como exemplo a ausência de dermatites nos pacientes com neoplasia de estômago.

7. CONCLUSÕES

A frequência de toxicidade graus 3 ou 4 foi de 24,5% em pacientes com câncer de reto e estômago tratados com radio e quimioterapia em Belém do Pará, Norte do Brasil.

O polimorfismo C194T, aumentou o risco em 10,5 vezes de desenvolver náuseas nos pacientes com neoplasia de reto.

Não houve diferença na ocorrência de toxicidade nos pacientes portadores do polimorfismo INDEL.

Não houve correlação significativa entre as diferentes ancestralidades e o desenvolvimento de toxicidade.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Ressaltam-se as limitações deste estudo em virtude do caráter de investigação retrospectivo, das duas patologias distintas estudadas, do tamanho da casuística e do número de polimorfismos investigados. As informações coletadas retrospectivamente em prontuários são sujeitas a vieses de diversas tipificações. A pesquisa de um número reduzido de polimorfismo pode não demonstrar todas as relações entre toxicidade e os polimorfismos do gene investigado. A perspectiva de realização de um estudo controlado prospectivo com análise de todos os polimorfismos conhecidos e sequenciamento de outros genes da família *XRCC* nos pacientes com toxicidade grave e sem polimorfismo encontrado poderia confirmar os achados deste estudo e demonstrar quais polimorfismos poderiam ser úteis, previamente ao tratamento com radioterapia, na população de Belém para reduzir toxicidade, mantendo uma taxa de controle local adequado, e permitir uma redução na dose de radioterapia empregada.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-RAHMAN, S. Z.; *et al.* Inheritance of the 194Trp and the 399Gln variant alleles of the DNA repair gene XRCC1 are associated with increased risk of early-onset colorectal carcinoma in Egypt. *Cancer Letters*,159: 79-86. 2000.
- BALBOA, E. *et al.* Pharmacogenetic analysis in NeoadjuvanteChemoradiation for Rectal Cancer: High Incidence of Somatic Mutations and Their Relation With Response. *Pharmacogenomics*, v. 11, p. 747, 2010.
- BARNET, G. C. *et al.* Normal Tissue Reactions to Radiotherapy: Towards Tailoring Treatment Dose by Genotype. *Nat. Ver. Cancer*, v. 9, p. 134, 2009.
- BATAR, B.; GÜVEN, M.; BARIŞ, S.; CELKAN, T.; YILDIZ, I. DNA repair gene XPD and XRCC1 polymorphisms and the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia Research*, 33:759-63. Epub 2008 Dec 19.
- BENTZEN, S. M. *et al.* Quantitative Analyses of Normal Tissue Effects in The Clinic (QUANTEC): na Introduction to the Scientific Issues. In. *J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, v. 76, supplement p. S3, 2010.
- BORCHIELLINI, D. *et al.* The Impact of Pharmacogenetics on Radiation Therapy Patients. A Focus on DNA Damage Response Genes.*Cancer Treatment Reviews*, v. 38, p 737, 2012.
- BOSSET, J. F. *et al.* Chemotherapy with Preoperative Radiotherapy in Rectal Cancer. *New England Journal of Medicine*, v. 355, p 1114, 2006.
- BREM, R.; HALL, J. XRCC1 is required for DNA single-strand break repair in human cells. *Nucleic Acids Research*, 33: 2512-2520. 2005.
- BROOKES AJ. The essence of SNPs. *Gene* 1999; 234: 177–86.
- BURSTEIN HJ, *et al.* Trastuzumab and vinorelbine as fi rst-line therapy for HER2-overexpressing metastatic breast cancer: multicenter phase II trial with clinical outcomes, analysis of serum tumor markers as predictive factors, and cardiac surveillance algorithm. *J ClinOncol*, 21:2889-95. 2003.
- CALDECOTT, K. W. XRCC1 and DNA strand break repair. *DNA Repair*, 2:955-969. 2003.
- CASSON, A.G.; ZHENG, Z.; EVANS, S. C., *et al.* Polymorphisms in DNA repair genes in the molecular pathogenesis of esophageal (Barrett) adenocarcinoma.*Carcinogenesis* vol.26 no.9 pp.1536–1541, 2005.
- CARLES J, MONZO M, AMAT M, *et al.* Single-nucleotide polymorphisms in base excision repair, nucleotide excision repair, and double strand break genes as

markers for response to radiotherapy in patients with Stage I to II head-and neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006;66: 1022–30.

- CARVALHO, D.C. et al. Amerindian genetic ancestry and INDEL polymorphisms associate susceptibility of childhood B-cell Leukemia in an admixed population from the Brazilian Amazon. *Leukemia Research* (2015)
- CELKAN, T.; GÜVEN, M.; BATAR, B.; ALHAJ, S. The difference between pre-B cell acute lymphoblastic leukemia and Burkitt lymphoma in relation to DNA damage repair gene polymorphisms in childhood. *Leukemia & Lymphoma*, 49: 1638–1640. 2008.
- CHACKO, P.; RAJAN, B.; JOSEPH, T.; MATHEW, P. S.; PILLAI, M. R. Polymorphisms in DNA repair gene XRCC1 and increased genetic susceptibility to breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 89: 15-21. 2005.
- CHEN, B; ZHOU, Y; YANG, P; WU, XT; Polymorphisms of XRCC1 and gastric cancer susceptibility: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2012;39:1305–1313.
- CHIANG, F.Y. *et al.* Association between Polymorphisms in DNA Base Excision Repair Genes XRCC1, APE1, and ADPRT and Differentiated Thyroid Carcinoma. *Clin Cancer Res*, 14(18): 5919- 1924. 2008.
- CHRISTMANN, M.; TOMICIC, M. T.; ROOS, W. P.; KAINA, B. Mechanisms of human DNA repair: an update. *Toxicology*, 193:3-34. 2003.
- DELANEY, G. *et al.* The Role of Radiotherapy in Cancer Treatment. *Cancer*, v. 104, p. 1129, 2005.
- EMAMI, B *et al.* Tolerance of Normal Tissue to Therapeutic Irradiation. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys*, v. 21, p 109, 1991.
- ESTIMATIVA - 2014: Estimativa de Câncer no Brasil/Instituto Nacional de Câncer/ Ministério da Saúde. Rio de Janeiro: INCA, 2013. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa>>. Acessado em 22 de abril de 2015.
- EVANS WE; JOHNSON J. Pharmacogenomics: the inherited basis for interindividual differences in drug response. *Annu Rev Genomics*, 2: 9-36. 2001.
- FERNADEZ-ROZADILLA C, *et al.* on behalf of the EPICOLON Consortium. Pharmacogenomics in colorectal cancer: a genome-wide association study to predict toxicity after 5-fluorouracil or FOLFOX administration. *The Pharmacogenomics Journal*, 1-9. 2012.
- GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. International Agency for Research on Cancer – World Health Organization. Disponível em: <http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx>. Acessado em: 15 nov. 2013.

- GRIMMINGER, P. P. *et al.* XRCC1 Gene Polymorphism for Prediction of Response and Prognosis in Multimodality Therapy of Patients with Locally Advanced Rectal Cancer. *Journal of Surgical Research*, v. 164, p 61, 2010.
- HAO, B., *et al.* (2004) Identification of genetic variants in base excision repair pathway and their associations with risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res.*, 64, 4378–4384.
- HEATHER E. *et al.* Ratain. *Cancer pharmacogenomics: strategies and challenges.* *Nature Genetics*, 14. 2013.
- HORGAN AM, *et al.* Pharmacogenetic and germline prognostic markers of lung cancer. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 296–304. *The impact of pharmacogenetics on radiation therapy outcome in cancer patients. A focus on DNA damage response genes. Delphine Borchiellini, Marie-Christine Etienne-Grimaldi, Juliette Thariat, Gérard Milano.
- HUANG R.S.; RATAIN M.J. Pharmacogenetics and Pharmacogenomics of Anticancer Agents. *CA Cancer H Clin*, 59:42-55. 2009.
- HUANG Y, LI L, YU L. XRCC1 Arg399Gln, Arg194Trp and Arg280His polymorphisms in breast cancer risk: a meta-analysis. *Mutagenesis*. 2009;24:331–339.
- HUNG, R. J.; HALL, J.; BRENNAN, P.; BOFFETTA, P. Genetic Polymorphisms in the excision repair pathway and cancer risk: a huge review. *American Journal of Epidemiology*, 162: 925-942. 2005.
- JELONEK, K.; *et al.* Association between single-nucleotide polymorphisms of selected genes involved in the response to DNA damage and risk of colon, head and neck, and breast cancers in a Polish population. *J Appl Genet*, 51:343-52. 2010.
- JIAO, L.; *et al.* Selected polymorphisms of DNA repair genes and risk of pancreatic cancer. *Cancer Detection and Prevention*, 30: 284–291. 2006.
- KERNS, S. L. *et al.* Radiogenomics: Using Genetics to Identify Cancer Patients at Risk for Development of Adverse Effects Following Radiotherapy. *Cancer Disc.*, v. 4, p. 155, 2014.
- KLOTZ U. The role of pharmacogenetics in the metabolism of antiepileptic drugs: pharmacokinetic and therapeutic implications. *Clin Pharmacokinet*, 46: 271-9. 2007.
- KERNS, S.L. *et al.* A 2-stage genome-wide association study to identify single nucleotide polymorphisms associated with development of erectile dysfunction following radiation therapy for prostate cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 85, e21–e28 (2013).

- KERNS, S.L. *et al.* A two-stage genome-wide association study to identify single nucleotide polymorphisms associated with development of urinary symptoms following radiotherapy for prostate cancer. *J. Urol.* 190, 102–108 (2013).
- KERNS, S.L. *et al.* Genome-wide association study identifies a region on chromosome 11q14.3 associated with rectal bleeding following radiation therapy for prostate cancer. *Radiother.Oncol.*107, 372–376 (2013).
- LAMAS, M. J. *et al.* X-Ray Cross-Complementing Group 1 And Thymidylate Synthase Polymorphisms Might Predict Response to Chemoradiotherapy in Rectal Cancer Patients. In. *J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, v. 82, p. 138, 2012.
- LEDERMAN, M. The Early History of Radiotherapy: 1895-1939. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, vol 7, 1981. 639 p.
- LI D, *et al.* Significant effect of homologous recombination DNA repair gene polymorphisms on pancreatic cancer survival. *Cancer Res* 2006; 66:3323–30.
- Li Y, Liu F, Tan S-Q, Wang Y, Li S-W (2012) X-Ray Repair Cross-Complementing Group 1 (XRCC1) Genetic Polymorphisms and Cervical Cancer Risk: A HuGE Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE* 7(9): e44441
- LIOU SY, *et al.* Economic burden of haematological adverse effects in cancer patients: A systematic review. *Clin Drug Investig.* 27:381-96. 2007.
- LOHMANSOONG R. Challenges and pitfalls in the introduction of pharmacogenetics for cancer. *Annals of the Academy of Medicine Singapore* 40(8): 369–74. 2011.
- LÓPEZ-CIMA, *et al.* Polymorphisms in XPC, XPD, XRCC1, and XRCC3 DNA repair genes and lung cancer risk in a population of Northern Spain. *BMC Cancer* 7:162-167. 2007.
- MANDAL, R. K.; KAPOOR, R.; MITTAL, R. D. Polymorphic variants of DNA repair gene XRCC3 and XRCC7 and risk of prostate cancer: a study from North Indian population. *DNA Cell Biol*, 29:669-74. 2010.
- MEYER UA. Pharmacogenetics –five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nature*, 5: 669-676. 2004.
- MITRA, A. K.; *et al.* Association of polymorphisms in base excision repair genes with the risk of breast cancer: a case-control study in North Indian women. *Oncol Res.* 2008;17(3):127-35.
- NISHIYAMA, M., & EGUCHI, H. Pharmacokinetics and pharmacogenomics in gastric cancer chemotherapy. *Advanced drug delivery reviews*, 61: 402–7. 2009.

- PACHKOWSKI, B. F.; *et al.* XRCC1 genotype and breast cancer: functional studies and epidemiologic data show interactions between XRCC1 codon 280 His and smoking. *Cancer Res*, 66:2860- 2868. 2006.
- PÁEZ, D. *et al.* Pharmacogenetic Study in Rectal Cancer Patients Treated With Preoperative Chemoradiotherapy: Polymorphisms in Thymidylate Synthase, Epidermal Growth Factor, GSTP1, and DNA Repair Genes. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, v. 81, p. 1319, 2011.
- PARLIAMENT MB, MURRAY D. Single nucleotide polymorphisms of DNA repair genes as predictors of radioresponse. *SeminRadiatOncol* 2010; 20: 232–40.
- PATEL, A. V.; *et al.* A prospective study of XRCC1 (X-ray cross-complementing group 1) polymorphisms and breast cancer risk. *Breast Cancer Research*, 2005. Vol 7 No 6.
- PEREZ, C.A. *et al.* Perez and Brady's Principles and Practice of Radiation Oncology. Lippincot Williams & Wilkins, 5ª Edição 2008.
- RAMACHANDRAN, S.; *et al.* Single nucleotide polymorphisms of DNA repair genes XRCC1 and XPD and its molecular mapping in Indian oral cancer. *Oral Oncology*, 42: 350–362. 2006.
- REIS M. Farmacogenética aplicada ao câncer. *Quimioterapia Individualizada e especificidade molecular. Simpósio: Farmacogenética*, 39: 577-586. 2006.
- ROH, M. S. *et al.* Preoperative Multimodality Therapy Improves Disease-Free Survival in Patients With Carcinoma of the Rectum: NSABP R-03. *Journal of Clinical Oncology*, v. 27, p. 5124, 2009.
- SAADAT, M.; ANSARI-LARI, M. Polymorphism of XRCC1 (at codon 399) and susceptibility to breast cancer, a meta-analysis of the literatures. *Breast Cancer Research and Treatment*, 115(1):137-44. 2008.
- SADEE W; DAI Z. Pharmacogenetics/genomics and personalized medicine. *Hum Mol Genet*, 14: R207-14. 2005.
- SAKANO S, *et al.* Single nucleotide polymorphisms in DNA repair genes might be prognostic factors in muscle-invasive bladder cancer patients treated with chemoradiotherapy. *Br J Cancer* 2006 ;95: 561–70.
- SANTOS N.P. *et al.* Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48-insertion-deletion (INSEL) ancestry-informative marker (AIM) panel, *Hum. Mutat.* 31 (2010) 184–190.
- SAUER, R. *et al.* Preoperative versus Postoperative Chemoradiotherapy for Rectal Cancer. *New England Journal of Medicine*, v. 351, p 1731, 2004.

- SAVAS S. Useful genetic variation databases for oncologists investigating the genetic basis of variable treatment response and survival in cancer. *Acta Oncol*, 8: 1217-26. 2010.
- SAVONAROLA A, *et al.* Pharmacogenetics and pharmacogenomics: role of mutational analysis in anti-cancer targeted therapy. *Pharmacogenomics J*, 4: 277-86. 2012.
- SEGRETO, H.R.C.; SEGRETO, R.A. Revisão e Atualização em Radiobiologia. Aspectos Celulares, Moleculares e Clínicos. *A folha Médica*, v. 119, 2000.
- SMITH, T. R.; *et al.* Polygenic model of DNA-repair genetic polymorphisms in human breast cancer risk. *Carcinogenesis*, 29: 1-24. 2008.
- SOH TI, YONG WP, INNOCENTI F. Recent progress and clinical importance on pharmacogenetics in cancer therapy. *ClinChem Lab Med*, 10: 1621-32. 2011.
- SUAREZ-KURTZ G. Pharmacogenomics in admixed populations. *Trends PharmacolSci*, 26: 196–201. 2005.
- SHEN, M.; *et al.* Polymorphisms in DNA repair genes and risk of non-hodgkin's lymphoma in New South Wales, Australia. *Haematologica*, 92: 1180–1185. 2007.
- SHEN, H., *et al.* (2000) Polymorphisms of the DNA repair gene XRCC1 and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Int. J. Cancer*, 88, 601–606
- SHEN, J.; *et al.* Polymorphisms in XRCC1 modify the association between polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts, cigarette smoking, dietary antioxidants and breast cancer risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 14: 336- 342. 2005.
- SHEN, H.; *et al.* Polymorphisms of DNA repair gene XRCC3 Thr241Met and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Cancer Letters*, 206: 51–58. 2004.
- STERN, M.C., *et al.* (2001) DNA repair gene XRCC1 polymorphisms, smoking, and bladder cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 10, 125–131.
- SUAREZ-KURTZ G. Synopsis and perspectives. In *Pharmacogenomics in Admixed Populations*. Landes Biosciences. Austin, USA. 2007.
- SUAREZ-KURTZ G, *et al.* Global pharmacogenomics: Impact of population diversity on the distribution of polymorphisms in the CYP2C cluster among Brazilians. *Pharmacogenomics Journal (Print)*. 2010.
- THACKER, J.; ZDZIENICKA, M. Z. The mammalian XRCC genes: their roles in DNA repair and genetic stability. *DNA repair (Amst)*, 2: 655-672. 2003.
- The 1000 Genomes Project Consortium; <http://browser.1000genomes.org/index.html>

- THOMPSON, L. H.; Complementation of repair gene mutations on the hemizygous chromosome 9 in CHO: a third repair gene on human chromosome 19. *Genomics*, 5: 670- 679. 1989
- VALERIE, K.; POVIRK, L. F..Regulation and Mechanisms of Mammalian Double-strand Break Repair.*Oncogene*, v. 22, p. 5792, 2003.
- VIANI GA, *et al.* Adjuvant trastuzumab in the treatment of her-2-positive early breast cancer: a meta-analysis of published randomized trials. *BMC Cancer*, 7:153. 2007.
- WANG, C.; SUN, Y.; HAN, R. XRCC1 genetic polymorphisms and bladder cancer susceptibility: a meta-analysis. *Urology*, 72: 1-4. 2008.
- WANG M, *et al.* Genetic variant in PSCA predicts survival of diffuse-type gastric cancer in a Chinese population. *Int J Cancer*, 129: 1207-13. 2011.
- WEINSHILBOUM; WANG L. Pharmacogenomics: Bench to Bedside. *Nature Reviews* 3: 739-748. 2004.
- WEINSHILBOUM R.M.; WANG L. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: development, science, and translation. ***Annu Rev Genomics Hum Genet*** 7:223-45. 2006.
- WHEELER HE, *et al.* Cancer pharmacogenomics: strategies and challenges. *Nat Rev Genet*, 1: 23-34, 2013.
- WU X, *et al.* Genetic variations in radiation and chemotherapy drug action pathways predict clinical outcomes in esophageal cancer. *J ClinOncol* 2006;24:3789–98.
- YANG, Z. H; *et al.* Genetic polymorphisms of the DNA repair gene and risk of nasopharyngeal carcinoma. *DNA and Cell Biology*, 26: 491–496. 2007.