



Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Departamento de Química e Farmácia

**Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do  
gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano**

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Inês Isabel dos Santos Evaristo

2010/2011





Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Departamento de Química e Farmácia

**Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do  
gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano**

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Inês Isabel dos Santos Evaristo

2010/2011

Dissertação orientada pela Professora Doutora Vera Ribeiro Marques

## Agradecimentos

À minha orientadora, Professora Doutora Vera Ribeiro Marques, por se ter mostrado disponível para orientar a minha monografia, e como tal, por toda a sua ajuda na estruturação, desenvolvimento e elaboração da mesma.

À comissão e direcção do curso de Ciência Farmacêuticas da Universidade do Algarve, bem como à professora coordenadora dos estágios por toda a sua dedicação, esforço e determinação na resolução dos problemas que surgiram ao longo destes anos, o que foi fundamental para a progressão do curso e para a sua conclusão por parte dos alunos.

A todos os docentes da FCT e da FFUL que leccionaram as disciplinas do curso MICEF, pelo seu papel activo na aprendizagem e formação dos alunos.

Aos meus pais e ao meu irmão, por me terem proporcionado a realização deste curso, pelo seu esforço, por acreditarem nas minhas capacidades e pelo apoio e confiança que depositaram em mim, sem os quais isto não seria realizável.

Ao meu namorado e amigo, Daniel, por me ter acompanhado desde o início desta etapa, pelo seu apoio, incentivo e presença constante em todos os momentos.

Ao meu grande amigo, Manuel Oliveira, por ser como um familiar para mim que sempre se preocupou e acreditou em mim.

A todos os meus amigos, que com a sua amizade, companheirismo, alegria, sentido de humor e compreensão contribuíram para que este momento fosse possível.

A todos aqueles que me ajudaram e que acreditaram em mim e nas minhas capacidades!

## Resumo

O Cancro Colo-rectal (CCR) é um grave problema de saúde pública, é o quarto cancro mais comum e apresenta-se como uma das principais causas de morte no mundo ocidental. O desenvolvimento desta neoplasia está fortemente relacionada com factores como a idade, antecedentes pessoais e familiares, síndromes genéticas hereditárias, historial étnico e racial, e também com os estilos de vida ocidentais. Perante isto, é necessário ter em conta as manifestações clínicas desta patologia, bem como, a realização rotineira de técnicas de rastreio e diagnóstico, e também a adopção de medidas preventivas.

Esta neoplasia é muito complexa, desenvolve-se a partir de alterações genéticas que permitem a formação de pólipos e a consequente evolução de adenoma a carcinoma. O prognóstico está directamente relacionado com o estadio, sendo que a doença metastática é a que apresenta pior prognóstico. Nestes casos, no que diz respeito à terapêutica, opta-se pela utilização de regimes quimioterapêuticos que incluem Irinotecano.

A farmacogenómica tem demonstrado o seu papel fundamental no tratamento do cancro colo-rectal metastático com Irinotecano, uma vez que permite uma melhor compreensão da influência de polimorfismos no gene *UGT1A* que codifica enzimas envolvidas no metabolismo deste fármaco (principalmente *UGT1A1*) na grande variabilidade interindividual na resposta a esta terapêutica.

Assim, o conhecimento de polimorfismos nos genes que codificam enzimas envolvidas no metabolismo do Irinotecano, bem como nos seus alvos terapêuticos e transportadores, permitirá num futuro próximo a individualização desta terapêutica, havendo um maior controlo de variáveis como a dose a administrar, segurança e eficácia.

**Palavras-chave:** cancro colo-rectal, irinotecano, UDP-glucuroniltransferase 1A1, polimorfismos, *UGT1A1*\*28, farmacogenómica.

## Abstract

Colorectal cancer is a serious public health issue, it is the fourth most common type of cancer and corresponds to one of the main causes of death in the western world. Its development is strongly related with factors such as ageing, personal and family background, hereditary syndromes, racial and ethnical history, and also with western lifestyles. Onto this, it is necessary to consider the clinical manifestations of this pathology as well as the routine performance of screening and diagnostic techniques, and the acceptance of preventive measures.

This neoplasia is very complex, it develops from genetic changes that allow the formation of polyps and the consequent evolution from adenoma to carcinoma. The prognostic is directly linked to the stage, metastatic illness showing the worst prognostic. In these cases the chosen form of therapy is through chemotherapeutic regimens that include Irinotecan.

Pharmacogenomics has demonstrated its fundamental role in the treatment of metastatic colorectal cancer with Irinotecan since it allows a better understanding of the influence of polymorphisms in the *UGT1A* gene that encodes enzymes involved in the metabolism of this drug (especially *UGT1A1*) in the great interindividual variability in the response to this therapy.

Therefore, the knowledge of polymorphisms in genes that encode enzymes involved in the metabolism of Irinotecan, as well as its therapeutic targets and their transporters, will enable the individualization of this therapy in the near future, having greater control of variables such as the dosage to apply, safety and efficacy.

**Keywords:** colorectal cancer, irinotecan, UDP-glucuronosyltransferase 1A1, polymorphisms, *UGT1A1*\*28, pharmacogenomics.

## Índice

Índice de Figuras	IX
Índice de Tabelas	XI
Lista de Abreviaturas	XII
<b>1 – Anatomia e Fisiologia do Cólon e Recto</b>	<b>1</b>
1.1 – Intestino Grosso	1
1.2 – Cólon	1
1.3 – Recto	3
<b>2 – Cancro Colo-rectal</b>	<b>4</b>
2.1 – Epidemiologia	5
2.2 – Etiologia e Factores de risco	6
2.2.1 – IDADE	6
2.2.2 – HISTÓRIA PESSOAL DE PÓLIPOS ADENOMATOSOS OU CCR E DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL	6
2.2.3 – HISTÓRIA FAMILIAR DE CCR E PÓLIPOS ADENOMATOSOS	7
2.2.4 – SÍNDROMES HEREDITÁRIOS (GENÉTICOS)	7
2.2.5 – HISTORIAL ÉTNICO E RACIAL	8
2.2.6 – FACTORES RELACIONADOS COM OS ESTILOS DE VIDA	8
2.3 – Manifestações Clínicas	10
2.3.1 – SINTOMAS	10
2.3.2 – SINAIS	11
2.3.3 – VALORES LABORATORIAIS ANORMAIS	12
2.4 – Rastreio e Diagnóstico	13
2.4.1 – EXAME DE SANGUE OCULTO NAS FEZES (FOBT)	13
2.4.2 – ENEMA DE BÁRIO (CLISTER OPACO)	14
2.4.3 – SIGMOIDOSCOPIA FLÉXIVEL	14
2.4.4 – COLONOSCOPIA DE DIAGNÓSTICO	15
2.4.5 – ACOMPANHAMENTO DE PACIENTES DE ELEVADO RISCO E TESTES DE DIAGNÓSTICO EM PACIENTES COM FORTES INDICAÇÕES CLÍNICAS	16
2.5 – Fisiopatologia	17
2.5.1 – HISTOPATOGÉNESE	17

2.5.2 – PATOGÉNESE MOLECULAR	17
2.5.3 – BIOLOGIA MOLECULAR	18
2.6 – Patologia	20
2.6.1 – HISTOLOGIA	20
2.6.2 – PATOLOGIA GERAL	20
2.6.3 – ESTADIAMENTO	20
2.6.4 - METÁSTASES	21
2.7 – Prognóstico	22
2.8 – Prevenção	23
2.8.1 – MODIFICAÇÕES DIETÉTICAS	23
2.8.2 – QUIMIOPREVENÇÃO COM ASPIRINA E OUTROS FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTERÓIDES (NSAIDs)	24
2.8.3 – TÉCNICAS PREVENTIVAS: POLIPECTOMIA COLONOSCÓPICA E ENDOMUCOSECTOMIA	24
2.9 – Tratamento	25
<b>3 – Farmacogenómica do CCR metastásico</b>	<b>28</b>
3.1 – UDP-Glucoroniltransferase (UGT)	28
3.1.1 – A SUPERFAMÍLIA UGT	30
3.1.2 – ISOENZIMAS UGT E ESPECIFICIDADE DE SUBSTRATOS	34
3.2 – UGT1A1	36
3.2.1 – VARIANTES UGT1A E UGT1A1	36
3.2.2 – UGT1A1*28	38
3.3 – Irinotecano	40
3.4 – Relação entre a variante UGT1A1*28 e a resposta ao Irinotecano	47
3.4.1 – INFLUÊNCIA DA VARIANTE UGT1A1*28 NA GLUCURONIDAÇÃO DE SN-38 E NA BILIRUBINA	47
3.4.2 – INFLUÊNCIA DA VARIANTE UGT1A1*28 NO DESENVOLVIMENTO DE REACÇÕES ADVERSAS AO IRINOTECANO: NEUTROPÉNIA E DIARREIA	50
3.4.3 – INFLUÊNCIA DA VARIANTE UGT1A1*28 NA DOSAGEM DE CPT-11, EFICÁCIA DO TRATAMENTO, <i>PROGRESSION-FREE SURVIVAL</i> E <i>OVERALL SURVIVAL</i>	53
3.5 – Medicina Personalizada: <i>Screening</i> para UGT1A1*28	56
<b>4 – Conclusão</b>	<b>59</b>
<b>5 – Bibliografia</b>	<b>60</b>

## Índice de Figuras

<b>Figura 1 – O Intestino Grosso:</b> (a) Intestino grosso (cego, cólon e recto) e canal anal. (b) Radiografia do cólon após um enema de bário (clister opaco)_____	2
<b>Figura 2 – Histologia do Intestino Grosso:</b> (a) Secção do cólon transversa aberta de forma a mostrar a sua superfície interna. (b) Ampliação da superfície interior, mostrando as aberturas das criptas. (c) Ampliação de uma cripta_____	3
<b>Figura 3 – Pólipos colónicos</b> _____	4
<b>Figura 4 – Distribuição do CCR no Mundo</b> por cada 100.000 pessoas_____	5
<b>Figura 5 – Relação entre o estadio e o prognóstico</b> em pacientes com CCR_____	23
<b>Figura 6 – A reacção de glucuronidação</b> _____	30
<b>Figura 7 – Estrutura das proteínas UGT.</b> (a) Domínios funcionais das UGTs. (b) Estrutura das proteínas UGTs localizadas na membrana do retículo endoplasmático (ER)_____	31
<b>Figura 8 – Árvore filogenética</b> das diferentes isoenzimas UGT_____	32
<b>Figura 9 – Complexo genético UGT1A.</b> Os quatro exões comuns 2-5 sofrem splicing com um único exão 1A variável, dando origem a ARN que após tradução resulta na proteína UGT_____	33
<b>Figura 10 – Esquema de parte do gene <i>UGT1A1</i> e localização de alguns polimorfismos</b> de interesse_____	39
<b>Figura 11 – Estrutura química do Irinotecano (CPT-11)</b> _____	41

<b>Figura 12 – Estrutura química do metabolito activo SN-38</b>	41
<b>Figura 13 – Mecanismo de acção e farmacodinamia do irinotecano nas células cancerígenas</b>	43
<b>Figura 14 – Via de biotransformação e eliminação do pró-fármaco irinotecano</b>	44
<b>Figura 15 – Alterações estruturais ocorridas ao longo da via metabólica do CPT-11</b>	46
<b>Figura 16 – Ratio [SN-38G]/[SN-38] em função do tempo em pacientes tratados com CPT-11, estratificados de acordo com o genótipo do promotor <i>UGT1A1</i>. (6/6 n=9, 6/7 n=7 e 7/7 n=4)</b>	48
<b>Figura 17 – Ratios metabólicos (SN-38/SN-38G) em pacientes com diferentes genótipos</b>	48
<b>Figura 18 – Relação entre os níveis pré-tratamento de bilirubina total e o genótipo <i>UGT1A1</i></b>	50
<b>Figura 19 – Relação entre ANC nadir e os genótipos do promotor <i>UGT1A1</i> em pacientes após o tratamento com irinotecano</b>	51
<b>Figura 20 – Relação entre ANC nadir e os níveis de bilirubina total pré-tratamento</b>	52
<b>Figura 21 – A influência de níveis elevados de SN-38 e o aparecimento das duas reacções adversas mais comuns ao CPT-11: neutropénia e diarreia</b>	53
<b>Figura 22 – <i>Progression-free survival</i> e <i>Overall survival</i> em pacientes em tratamento com CPT-11, que possuem e que não possuem a variante <i>UGT1A1*28</i></b>	55

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1 – Factores de risco para o CCR</b>	9
<b>Tabela 2 – Genética molecular do CCR esporádico</b>	18
<b>Tabela 3 – Substratos das isoenzimas UGT</b>	34
<b>Tabela 4 – Exemplos de polimorfismos nos genes da família <i>UGT1A</i></b>	36
<b>Tabela 5 – Variantes do gene <i>UGT1A1</i></b>	37
<b>Tabela 6 – Distribuição inter-étnica das frequências alélicas e genóticas das variações polimórficas do gene <i>UGT1A1</i></b>	40
<b>Tabela 7 – Comparação dos parâmetros farmacocinéticos do Irinotecano e os seus metabolitos entre portadores de diferentes genótipos <i>UGT1A1</i></b>	49
<b>Tabela 8 – Frequência dos genótipos do promotor <i>UGT1A1</i> e comparação dos parâmetros farmacocinéticos do SN-38</b>	49
<b>Tabela 9 – Relação entre os genótipo <i>UGT1A1*28</i> e reacções adversas de grau III-IV</b>	51
<b>Tabela 10 – Relação entre <i>UGT1A1*28</i> e a resposta ao tratamento quimioterápico com irinotecano em pacientes com CCR metastático</b>	54
<b>Tabela 11 – Resposta ao tratamento com CPT-11 em paciente que possuem e que não possuem a variante <i>UGT1A1*28</i></b>	55

## Lista de Abreviaturas

5-FU	5-Fluorouracilo
ABC	<i>ATP-binding cassette</i>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ALP	Fosfatase alcalina ( <i>Alkaline Phosphatase</i> )
ANC	Contagem absoluta de neutrófilos ( <i>Absolute Neutrophil Count</i> )
APC	<i>Adenomatous Polyposis Coli</i>
APC	<i>7-ethyl-10-[4-N-(5-aminopentanoic acid)-1-piperidino]-carbonyloxycamptothecin</i>
ARN	Ácido ribonucleico
ATP	Trifosfato de adenosina
AUC	Área sob a curva ( <i>Area under the curve</i> )
cADN	Ácido desoxirribonucleico complementar
CapOx	Capecitabina + oxaliplatina
CCR	Cancro colo-rectal
CEA	Antigénio carcino-embriónico ( <i>Carcinoembryonic Antigen</i> )
CESs	Carboxilesterases
cm	Centímetro
COX	Ciclooxigenase
CPT-11	<i>7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidino]-carbonyloxycamptothecin</i>
CR	Remissão completa ( <i>Complete remission</i> )
CT	Tomografia computadorizada ( <i>Computed Tomography</i> )
CYP3A	Citocromo P450 subfamília 3A ( <i>Cytochrome P450</i> )
DCC	<i>Deleted in Colorectal Cancer</i>
DII	Doença inflamatória intestinal
DMEs	Enzimas metabolizadoras de fármacos ( <i>Drug-metabolizing enzymes</i> )

EGFR	Receptor do factor de crescimento epidérmico ( <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i> )
ER	Retículo endoplasmático ( <i>Endoplasmic Reticulum</i> )
FAP	Polipose adenomatosa familiar ( <i>Familial Adenomatous Polyposis</i> )
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FOBT	Exame de sangue oculto nas fezes ( <i>Fecal Occult Blood Test</i> )
FOLFIRI	Ácido folínico (folinato de cálcio/leucovorina) + fluorouracilo + irinotecano
FOLFOX	Ácido folínico (folinato de cálcio/leucovorina) + fluorouracilo + oxaliplatina
GST	Glutathione-S-transferase ( <i>Glutathione-S-transferase</i> )
HNPCC	Cancro colo-rectal hereditário sem polipose ( <i>Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer</i> )
IFL	Irinotecano + fluorouracilo + leucovorina (Ácido folínico/folinato de cálcio)
IGF-1	Factor de crescimento semelhante à Insulina tipo 1 ( <i>Insulin-like Growth Factor 1</i> )
kDa	Kilodalton
LDH	Lactato desidrogenase ( <i>Lactic Dehydrogenase</i> )
LOH	Perda de heterozigotia ( <i>Lost of Heterozygosity</i> )
mm	Milímetros
NAT	N-acetiltransferase ( <i>N-acetyltransferases</i> )
NNAL	<i>4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol</i>
NPC	<i>7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-amino]-carbonyloxycamptothecin</i>
NSAIDs	Anti-inflamatórios não esteróides ( <i>Nonsteroidal anti-inflammatory drugs</i> )
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	Resposta global ( <i>Overall response</i> )
p	Pseudogene
PD	Doença progressiva ( <i>Progressive disease</i> )

PR	Remissão parcial ( <i>Partial remission</i> )
SD	Doença estável ( <i>Stable disease</i> )
SNPs	Polimorfismo de um único nucleótido ( <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> )
ST	Sulfotransferases
TGI	Tracto gastrointestinal
UDP	Difosfato de uridina ( <i>Uridine Diphosphate</i> )
UDPGlcA	UDP-ácido glucurónico ( <i>Uridine diphosphoglucuronic acid</i> )
UGT	UDP-Glucuroniltransferase
VEGF	Factor de crescimento endotelial vascular ( <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> )
WT	<i>Wild-Type</i>



## 1 – Anatomia e Fisiologia do Cólon e Recto

Com vista a uma melhor compreensão dos termos anatómicos e fisiológicos mencionados em fases posteriores desta dissertação, faz-se uma breve descrição anatomo-fisiológica das partes anatómicas que se encontram em estudo.

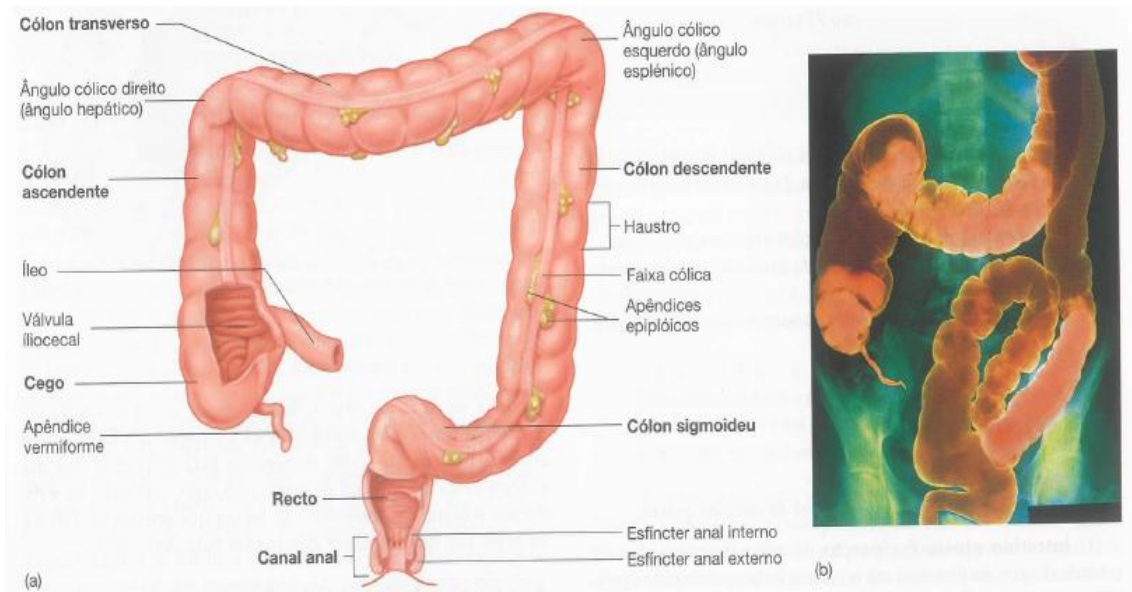
O cólon e o recto desempenham funções essenciais nas últimas fases da digestão. Digestão que começa primeiramente na cavidade bucal, posteriormente passando pelo estômago e intestino delgado. No cólon ocorre a absorção de água e desidratação do material restante o que leva à formação de matéria semi-sólida (fezes) que posteriormente seguem para o recto até serem expelidas através do ânus.<sup>[1]</sup>

### 1.1 – Intestino Grosso

O intestino grosso é a porção do tubo digestivo que se estende da junção ileocecal até ao ânus e é composto pelo cego, cólon, recto e canal anal. Normalmente, o seu conteúdo demora entre catorze a vinte e quatro horas a percorrer toda a sua extensão. Durante a permanência no cólon o quimo é transformado em fezes, onde a absorção de água e sais, a secreção de muco, bem como a acção intensiva de microrganismos estão envolvidos na formação destas, que o cólon armazena até serem eliminadas pela defecação. Por dia entram cerca de 1500 ml de quimo no cego, mas mais de 90% do seu volume é reabsorvido, de forma que apenas 80-150 ml de fezes são normalmente eliminadas pela defecação.<sup>[2]</sup>

### 1.2 – Cólon

O cólon mede 1,5-1,8 metros de comprimento e divide-se em quatro partes: cólon ascendente, transversal, descendente e sigmoideu (Figura 1).<sup>[2]</sup>

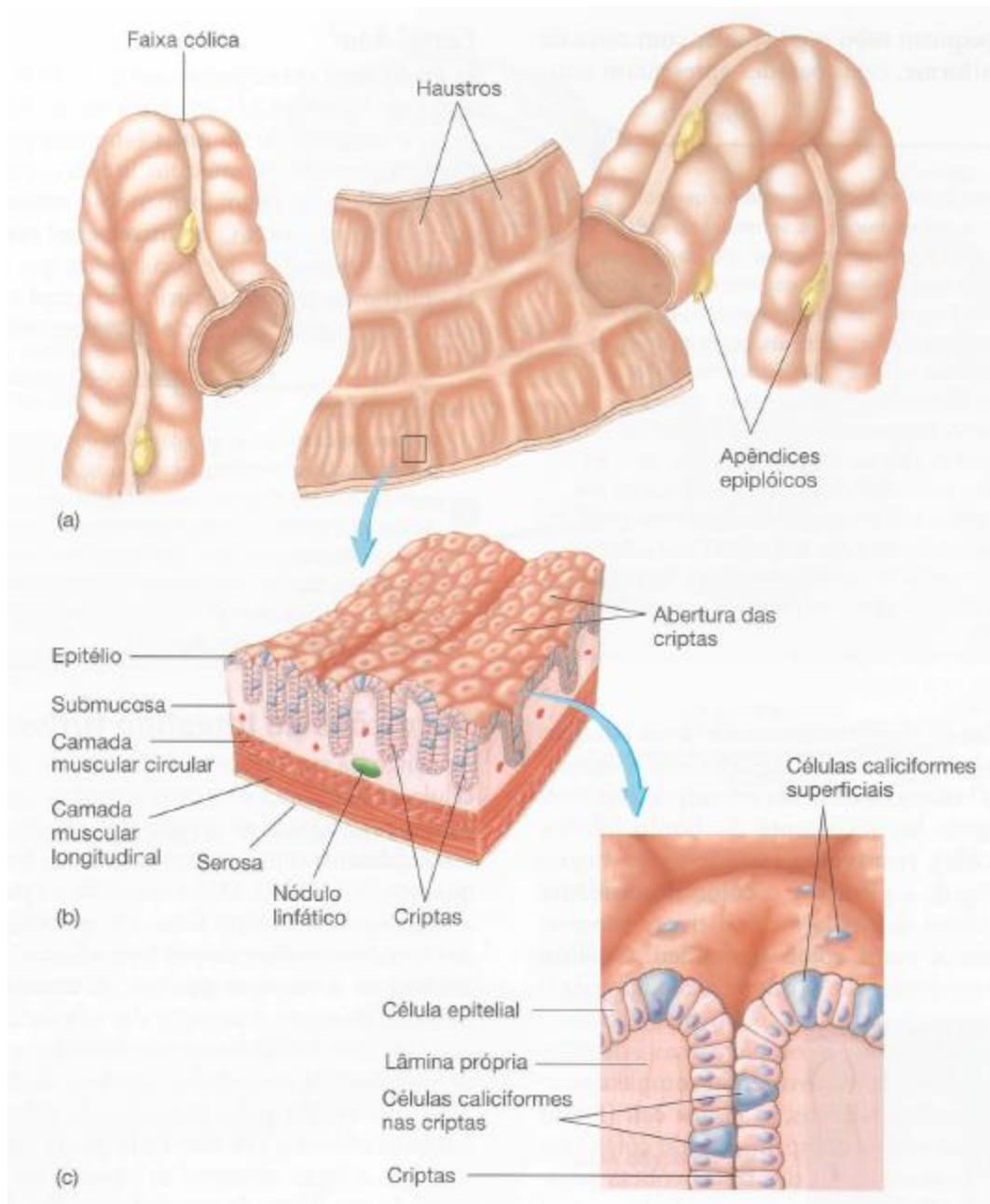


**Figura 1 – O Intestino Grosso:** (a) Intestino grosso (cego, cólon e recto) e canal anal. (b) Radiografia do cólon após um enema de bário (clister opaco).<sup>[2]</sup>

O cólon ascendente estende-se superiormente do cego ao ângulo hepático junto ao bordo inferior direito do fígado, por sua vez, o cólon transverso estende-se do ângulo cólico direito (ângulo hepático) até ao ângulo esplênico (ângulo cólico esquerdo) e o cólon descendente estende-se do ângulo cólico esquerdo até à abertura superior da pequena bacia, onde se torna cólon sigmoideu. O cólon sigmoideu é um tubo em forma de ‘S’ que se prolonga para o interior da bacia e termina no recto.<sup>[2]</sup>

A camada de músculo circular é completa, mas a de músculo longitudinal é incompleta, não envolvendo completamente a parede intestinal. Forma três faixas, as *teniae coli* (faixas cólicas), que acompanham todo o comprimento do cólon (Figura 1 e Figura 2). As contracções das faixas cólicas originam saculações, chamadas haustros que formam uma linha ao longo da extensão do cólon, dando-lhe um aspecto enrugado. Ligados à face externa do cólon, em toda a sua extensão, existem os apêndices epiplóicos, que são constituídos por pequenas bolsas de tecido conjuntivo cheias de gordura.<sup>[2]</sup>

O revestimento mucoso do intestino grosso é constituído por epitélio cilíndrico simples que não forma pregas ou vilosidades como no intestino delgado, mas tem muitas glândulas tubulares rectas, as criptas (Figura 2). As criptas são constituídas por três tipos de células: de absorção, caliciformes e granulares.<sup>[2]</sup>



**Figura 2 – Histologia do Intestino Grosso:** (a) Secção do cólon transversal aberta de forma a mostrar a sua superfície interna. (b) Ampliação da superfície interior, mostrando as aberturas das criptas. (c) Ampliação de uma cripta.<sup>[2]</sup>

### 1.3 – Recto

O recto é um tubo muscular que começa na terminação do cólon sigmóideu e termina no canal anal (Figura 1). É revestido internamente por epitélio cilíndrico simples e a sua túnica muscular é relativamente espessa quando comparada com a do restante tubo digestivo.<sup>[2]</sup>

## 2 – Cancro Colo-rectal

Cancro, tumor maligno ou neoplasia são termos genéricos para um grande grupo de doenças que podem afectar qualquer parte do corpo. O cancro caracteriza-se por uma rápida formação de células anormais que cresce para além dos seus limites invadindo locais adjacentes do corpo e, conseqüentemente, disseminando-se por outros órgãos. Este processo é denominado de metastização, sendo as metástases a maior causa de morte por cancro.<sup>[3]</sup>

O cancro colo-rectal (CCR) é um cancro que se desenvolve no cólon, no recto ou em ambos, sendo colectivamente designado como cancro colo-rectal pois estes desenvolvem-se a partir do mesmo tipo de células e apresentam muitas semelhanças.<sup>[4,5]</sup>

Assim, o CCR é uma doença em que as linhas celulares do cólon ou recto tornam-se anormais, dividindo-se rapidamente e sem controlo, formando uma massa denominada tumor. Estas células podem formar tumores benignos (não cancerosos) designados pólipos, no entanto, embora a maioria dos CCR (adenocarcinomas) se desenvolvam a partir de pólipos (adenomas) nem todos os pólipos irão desenvolver-se num CCR.<sup>[5,6]</sup>

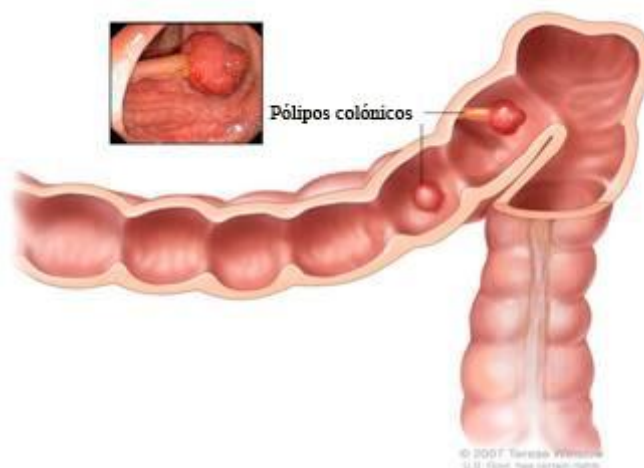


Figura 3 – Pólipos colónicos.<sup>[5]</sup>

Durante um período de muitos anos, as células dos pólipos podem sofrer uma série de alterações no ácido desoxirribonucleico (ADN) que as tornam malignas (cancerosas). Primeiramente estas células cancerosas estão restritas ao pólipo mas podem invadir e destruir os tecidos adjacentes, como a parede do cólon/recto, onde

podem chegar aos vasos sanguíneos e linfáticos. A partir deste momento o cancro pode disseminar-se para os nódulos linfáticos e outros órgãos (metastização) formando novos tumores (metástases).<sup>[5,6]</sup>

## 2.1 – Epidemiologia

O CCR é considerado um importante problema de saúde pública: há aproximadamente um milhão de novos casos diagnosticados e meio milhão de mortes no mundo em cada ano. Em 2003, a OMS estimou cerca de 940 mil novos casos diagnosticados e aproximadamente 492 mil mortes por CCR em cada ano.<sup>[7,8]</sup>

É a quarta forma mais comum de cancro, no entanto, a sua distribuição varia ao longo do mundo. Encontra-se uma maior incidência no mundo ocidental, sendo muito menos frequente em África e Ásia, o que indica que o CCR está relacionado com os estilos de vida.<sup>[9,10]</sup>

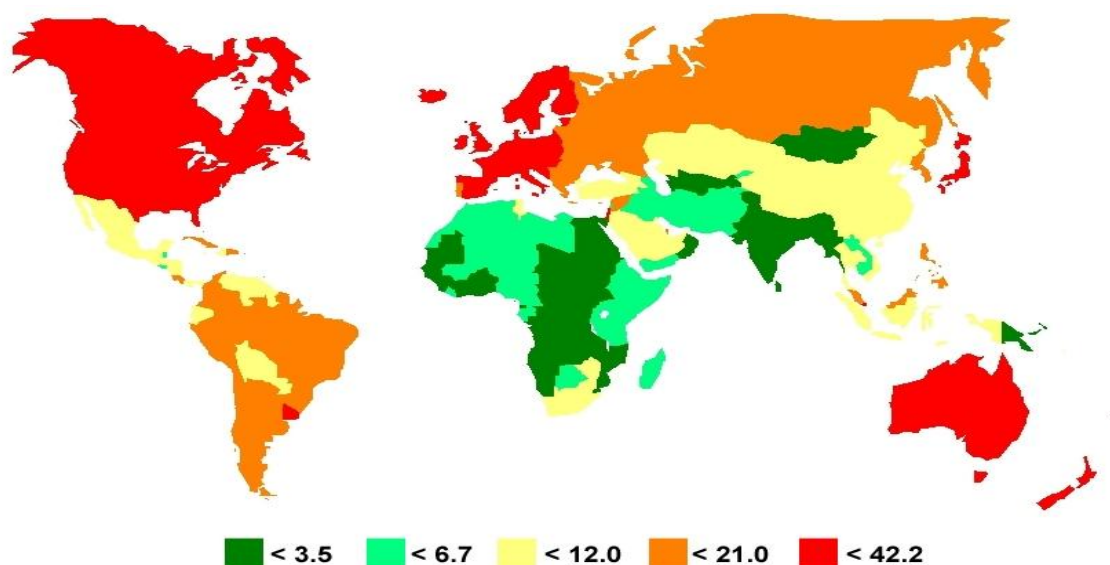


Figura 4 – Distribuição do CCR no Mundo por cada 100.000 pessoas.<sup>[11]</sup>

O desenvolvimento de CCR está fortemente correlacionado com a idade uma vez que 86% dos casos ocorrem em pessoas com idade superior a sessenta anos, devido à acumulação de mutações somáticas. Até aos cinquenta anos, homens e mulheres apresentam taxas de CCR similares porém em idade mais avançada estas são superiores no sexo masculino. O cancro colo-rectal é então o terceiro tipo de cancro mais comum

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano no sexo masculino (10%) e o segundo mais comum no sexo feminino (9,4%) em todo o mundo.<sup>[10]</sup>

## **2.2 – Etiologia e Factores de Risco**

As causas exactas que levam ao surgimento do CCR não são claramente conhecidas, no entanto, certos factores estão relacionados com um aumento da probabilidade de vir a desenvolver esta doença.<sup>[12]</sup>

Há diversos factores de risco que podem aumentar a probabilidade de uma pessoa vir a desenvolver pólipos colo-rectais ou cancro colo-rectal.<sup>[13]</sup>

### **2.2.1 – IDADE**

O risco de vir a desenvolver CCR aumenta com o avanço da idade, sendo este mais provável de ocorrer em pessoas mais idosas. Esta doença pode ocorrer em qualquer idade, no entanto, as probabilidades aumentam marcadamente depois dos cinquenta anos uma vez que mais de 90% dos casos de CCR ocorrem em pessoas desta faixa etária.<sup>[12,13,14]</sup>

### **2.2.2 – HISTÓRIA PESSOAL DE PÓLIPOS ADENOMATOSOS OU CCR E DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL**

Uma história pessoal de pólipos adenomatosos (adenomas) implica um risco aumentado de vir a desenvolver CCR, existindo também uma elevada probabilidade de um segundo desenvolvimento de CCR (recidiva) em pessoas com historial clínico anterior da doença mesmo que o tumor tenha sido completamente removido.<sup>[12,13]</sup>

A doença inflamatória intestinal (DII), que inclui a colite ulcerosa e a doença de Crohn, é uma condição em que o cólon está inflamado por um longo período de tempo. A presença de DII durante muitos anos leva ao desenvolvimento de displasia em que as linhas celulares do cólon e recto aparentam ser anormais mas não cancerosas, no entanto estas podem sofrer alterações ao longo do tempo tornando-se malignas (cancerosas). Assim pacientes com DII apresentam um risco elevado de vir a desenvolver CCR que aumenta entre 0,5 a 1% por ano a partir dos primeiros dez anos da doença, havendo necessidade de um rastreio muito mais frequente.<sup>[13,15]</sup>

### 2.2.3 – HISTÓRIA FAMILIAR DE CCR E PÓLIPOS ADENOMATOSOS

A maioria dos CCR ocorre em pessoas sem qualquer história familiar da doença; ainda assim, mais de uma em cada cinco pessoas que desenvolvem este cancro têm outros membros da família que foram afectados por este. Assim um historial familiar de CCR ou pólipos adenomatosos leva a um aumento do risco de poder vir a desenvolver a doença, o que implica um maior controlo principalmente a partir dos cinquenta anos de idade. Este risco elevado em caso de antecedentes familiares deve-se a uma possível hereditariedade genética, a factores ambientais comuns ou a uma combinação de ambos.<sup>[12,13]</sup>

### 2.2.4 – SÍNDROMES HEREDITÁRIOS (GENÉTICOS)

Os dois síndromes de predisposição hereditária que estão mais comumente relacionados com o desenvolvimento de CCR são: a polipose adenomatosa familiar (FAP) e o cancro colo-rectal hereditário sem polipose (HNPCC).<sup>[13,15,16]</sup>

A FAP é uma doença rara caracterizada pelo surgimento de milhares de pólipos adenomatosos por todo o intestino grosso sendo a sua transmissão autossómica dominante. Os pacientes que não têm qualquer história familiar provavelmente sofreram mutação espontânea que originou a doença. A FAP está associada a uma deleção no braço longo do cromossoma 5 (que inclui o gene *APC*) nas células germinativas (mutação germinativa). A perda deste material genético (perda alélica) resulta na ausência dos genes supressores tumorais cujos produtos proteicos inibiriam, em condições normais, o crescimento neoplásico. Assim, a FAP deve-se a um defeito na mucosa colónica que leva a um padrão proliferativo anormal e a uma deficiência dos mecanismos de reparação de ADN.<sup>[15,17]</sup>

O HNPCC, também chamado síndrome de Lynch, apresenta também uma transmissão autossómica dominante. Diferente da FAP, o HNPCC está associado a uma frequência incomumente elevada de cancro no cólon proximal, sendo a média de idades de surgimento de um adenocarcinoma antes dos cinquenta anos o que significa dez a quinze anos menos que a média de idades da população geral, no entanto, apesar de apresentarem uma histologia indiferenciada têm um melhor prognóstico comparativamente com tumores esporádicos em pacientes da mesma idade. O HNPCC está associado a mutações germinativas de vários genes, sobretudo do *hMSH2* no cromossoma 2 e do *hMLH1* no cromossoma 3, as quais provocam erros na replicação do

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano

ADN e instabilidade no mesmo pois existe um mecanismo de reparação deficitário, o que leva a um crescimento celular anormal e consequente aparecimento de tumores.<sup>[15]</sup>

### **2.2.5 – HISTORIAL ÉTNICO E RACIAL**

O CCR apresenta numerosos factores de risco ambientais e demográficos, sendo que os factores ambientais desempenham um papel etiológico importante, uma vez que, presumivelmente modulam o risco de mutações genéticas que estão na origem da patogénese do CCR.<sup>[15,17]</sup>

A incidência de CCR exhibe uma variação geográfica impressionante. Os países industrializados, excepto o Japão, apresentam uma incidência muito elevada, enquanto os países Sul-americanos e a China mostram uma incidência relativamente baixa. Esta grande discrepância na incidência está fortemente associada a diferenças culturais, na dieta e noutros factores ambientais. Uma vez que, por exemplo, em contraste com os japoneses nativos, os descendentes de imigrantes japoneses no Estados Unidos têm, tal como outros norte-americanos, uma elevada incidência de CCR que está então relacionada com adaptações alimentares e ambientais. No entanto, a incidência de CCR tem aumentado recentemente em japoneses nativos o que está relacionado com a adopção de uma dieta ocidental, bem como, com outras alterações ambientais causadas pela industrialização.<sup>[15,17]</sup>

Verifica-se também uma variação racial, sendo que os negros apresentam um elevado risco de CCR comparativamente aos brancos.<sup>[15,17]</sup>

### **2.2.6 – FACTORES RELACIONADOS COM OS ESTILOS DE VIDA**

A mortalidade por CCR está directamente relacionada com os estilos de vida e hábitos alimentares, como por exemplo, o consumo *per capita* de calorias, proteínas, bem como gorduras e óleo na dieta, e com elevações do colesterol sérico. Assim factores como: alimentação pobre em frutas, vegetais e fibras mas rica em gorduras, falta de actividade física regular e consequente excesso de peso e obesidade, juntamente com o consumo de álcool e tabaco, contribuem amplamente para o aumento do risco de vir a desenvolver CCR (Tabela 1).<sup>[14,15,17]</sup>

As dietas ricas em carnes vermelhas, carnes processadas e carnes cozinhadas a elevadas temperaturas aumentam o risco de CCR uma vez que há a produção de compostos carcinogénicos, assim como, a ingestão excessiva de gorduras animais (e não vegetais) que provocam elevações do colesterol sérico levando a um aumento do risco

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano

de adenomas e carcinomas colo-rectais. A ingestão de fruta, vegetais e fibras diminui o risco de adenomas e CCR, estando assim associada como uma medida preventiva (Tabela 1).<sup>[14,15,17]</sup>

O grande número de calorias nas dietas “ocidentais”, junto com a inactividade física, está associado a uma elevada prevalência de obesidade. As pessoas obesas desenvolvem resistência à insulina, havendo um aumento desta hormona em circulação, o que conseqüentemente resulta em concentrações mais elevadas do factor de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-1) que estimula a proliferação da mucosa intestinal (Tabela 1).<sup>[14,15,17]</sup>

O uso de tabaco por longa data e conseqüente exposição a carcinogénios, bem como o consumo excessivo de álcool que leva a uma diminuição dos níveis de ácido fólico (vitamina hidrossolúvel pertencente ao complexo B) e assim a uma promoção da proliferação celular e inibição da reparação do ADN, estão também associados a um aumento do risco de vir a desenvolver CCR (Tabela 1).<sup>[14,15,17]</sup>

Parâmetros	Mecanismo Proposto
<b>EPIDEMIOLOGIA</b>	
<b>Idade avançada</b>	Acumulação de mutações nos colonócitos
<b>Mundo ocidental</b>	Carcinogénios alimentares e ambientais
<b>Sedentarismo?</b>	Actividade física estimula a imunovigilância e os movimentos peristálticos intestinais (diminuição do contacto entre a mucosa e os carcinogénios fecais)
<b>ALIMENTAÇÃO</b>	
<b>Rica em gordura?</b>	Várias teorias (aumenta a secreção biliar)
<b>Baixo consumo de frutas e vegetais</b>	Presença de substâncias anti-carcinogénicas nas frutas e vegetais (ácido fólico)
<b>Pobre em cálcio?</b>	Cálcio liga-se aos ácidos biliares que são potencialmente colono-tóxicos
<b>Rica em carne vermelha?</b>	Gordura animal nas carnes vermelhas e carcinogénios (nitrosaminas) na carne cozinhada
<b>Pobre em selénio?</b>	Selénio pode ajudar a neutralizar os radicais livres tóxicos devido aos seus efeitos antioxidantes
<b>Pobre em folato?</b>	Folato é necessário para a síntese e reparação do ADN
<b>Dieta pobre em carotenóides?</b>	Carotenóides podem ajudar a neutralizar radicais livres devido aos seus efeitos antioxidantes
<b>Dieta pobre em fibras?</b>	Diluição dos carcinogénios nas fezes causada pelo aumento volume e de água nas fezes
<b>Obesidade</b>	Carcinogénios em dieta pouco saudável e/ou papel dos níveis anormais de insulina na carcinogénese
<b>HÁBITOS SOCIAIS</b>	
<b>Tabaco</b>	Carcinogénios presentes no tabaco
<b>Álcool</b>	Podem promover a proliferação celular e inibir a reparação do ADN
<b>HISTÓRIA GENÉTICA E FAMILIAR</b>	
<b>FAP</b>	Desenvolvimento de centenas de pólipos colónicos adenomatosos. CCR através de transformação maligna.
<b>HNPCC</b>	Deficiência na reparação do ADN que leva à acumulação de mutações (incluindo em genes supressores de tumores)

<b>DOENÇA INFLAMATÓRIA DO INTESTINO</b>	
<b>Colite ulcerosa e doença de Crohn</b>	Displasia e mutações genéticas associadas com lesão mucosal, celular e de reparação
<b>NEOPLASIA RECORRENTE</b>	
<b>Pólipos colónicos adenomatosos</b>	Lesões precursoras de CCR
<b>CCR recorrente</b>	Predisposição genética e factores ambientais
<b>OUTROS</b>	
<b>Radiação pélvica</b>	Efeitos carcinogénicos causados por mutações induzidas pela radiação
<b>Diabetes mellitus?</b>	Insulina pode modular a proliferação de colonócitos

**Tabela 1 – Factores de risco para o CCR (? – factor questionável, controverso e/ou de pequeno risco para o desenvolvimento de CCR).**<sup>[17]</sup>

## 2.3 – Manifestações Clínicas

### 2.3.1 – SINTOMAS

Na fase inicial da doença os sintomas são pouco comuns e menos óbvios tornando-se progressivamente mais comuns e importantes em fase tardia da doença, quando o prognóstico é já bastante baixo. Entre os sintomas mais comuns encontram-se: dor abdominal, sangramento rectal, alteração dos hábitos intestinais e perda de peso involuntária, podendo-se apresentar tanto diarreia como obstipação. Os sintomas menos comuns incluem: náuseas e vômitos, mal-estar/indisposição, anorexia e distensão abdominal. Os sintomas dependem da localização anatómica do tumor, do seu tamanho, e da presença de metástases.<sup>[15,16,17]</sup>

Como as fezes ainda estão relativamente líquidas ao passar pela válvula ileocecal e ao entrar no cólon direito, os tumores do cego e cólon ascendente podem crescer significativamente antes de causar sintomas obstrutivos ou outras alterações nos hábitos intestinais. Assim, tumores localizados no cólon esquerdo (cólon descendente) causam mais frequentemente obstrução intestinal parcial ou completa, comparativamente aos que se encontram localizados no cólon direito (cólon ascendente), uma vez que o lúmen colónico esquerdo é mais estreito e as fezes tendem a ser consistentes devido à reabsorção de água no cólon proximal (cólon ascendente). Grandes tumores exofíticos apresentam também uma maior probabilidade de causar obstrução do lúmen colónico. Assim, obstruções parciais do lúmen colónico produzem sintomas como: obstipação, náuseas, cólicas abdominais, distensão e dor abdominal, perfuração, podendo ocasionalmente produzir diarreia intermitente assim que as fezes se movam para além da obstrução.<sup>[15,17]</sup>

Tumores distais (cólon descendente) por vezes causam um severo sangramento rectal, enquanto tumores proximais (cólon ascendente) raramente produzem estes sintomas, uma vez que o sangue durante o trânsito colónico é misturado com as fezes e quimicamente degradado. Assim, o sangramento proveniente de cancros proximais tende a ser oculto, e o paciente apresenta anemia hipocrómica e microcítica que indica deficiência de ferro, com ausência de sangramento rectal. A anemia pode produzir fraqueza, fadiga, dispneia, palpitações ou até angina de peito.<sup>[15,17]</sup>

Os cancros que surgem no rectosigmóide estão muitas vezes associados a hematoquezia, tenesmo e diminuição do calibre das fezes.<sup>[15]</sup>

Cancros em estado avançado, particularmente, com metástases, podem causar caquexia, caracterizada por quatro sintomas: perda involuntária de peso, anorexia, fraqueza muscular e sentimento de saúde precária.<sup>[17]</sup>

### 2.3.2 – SINAIS

Tal como ocorre com os sintomas, o CCR tende a não produzir sinais antes de se encontrar em estado avançado.<sup>[17]</sup>

Anemia causada por sangramento gastrointestinal pode produzir palidez, por sua vez esta anemia hipocrómica e microcítica (deficiência de ferro) pode causar: coiloníquia que se caracteriza por unhas quebradiças e longitudinalmente sulcadas, glossite que se manifesta por eritema lingual com perda de papilas, e por último, fissuras dos lábios denominada queilite.<sup>[17]</sup>

Hipoalbuminémia pode manifestar-se clinicamente por edema periférico, ascite que se caracteriza por uma acumulação de líquido na cavidade abdominal, ou anasarca que caracteriza por uma tumefacção distribuída pela pele de todo o corpo devido ao derrame e acumulação de fluido no espaço extracelular.<sup>[17,18]</sup>

Ruídos intestinais hipoactivos ou agudos sugerem obstrução gastrointestinal.<sup>[17]</sup>

A presença de uma massa abdominal palpável é rara mas caso se verifique, a sua presença sugere um estado avançado da doença. O cancro rectal pode ser palpável através do exame de toque rectal.<sup>[17]</sup>

Outros sinais, embora raros, devem ser sistematicamente procurados, entre estes incluem-se: linfadenopatia periférica (especialmente no nó de Virchow que se localiza no espaço supraclavicular esquerdo), hepatomegalia (metástases hepáticas) e perda de músculo temporal ou intercostal (caquexia).<sup>[17]</sup>

### 2.3.3 – VALORES LABORATORIAIS ANORMAIS

Os pacientes com suspeitas de CCR devem realizar análises sanguíneas de rotina incluindo: hemograma com contagem de plaquetas, determinação da glucose e electrólitos no soro, avaliação da função hepática através de parâmetros bioquímicos séricos, e também, uma avaliação do perfil de coagulação.<sup>[17]</sup>

Cerca de metade dos pacientes com CCR são anémicos, no entanto, a anemia é muito comum o que significa que apenas uma pequena minoria dos pacientes com anemia têm CCR. No entanto, perante uma anemia de etiologia desconhecida devido a deficiência de ferro, é necessário uma avaliação para diagnóstico de CCR, particularmente nos idosos.<sup>[17]</sup>

A presença de hipoalbuminémia é incomum, mas não rara, em pacientes com CCR, o que normalmente é indicativo de um pobre estado nutricional que advém de CCR em estado avançado.<sup>[17]</sup>

Os parâmetros bioquímicos séricos indicativos da função hepática estão normalmente dentro dos limites normais em pacientes com CCR. Valores anormais, particularmente uma elevação dos níveis de fosfatase alcalina (ALP), indicam frequentemente metástases hepáticas. Por sua vez, os níveis séricos de lactato desidrogenase (LDH) podem estar aumentados em caso de CCR.<sup>[17]</sup>

A diarreia associada ao CCR pode, raramente, produzir alterações electrolíticas ou desidratação. Por sua vez, náuseas e vómitos podem, raras vezes, provocar alterações metabólicas como hipovolémia, hipocaliémica ou alcalose.<sup>[17]</sup>

Os níveis séricos do antigénio carcino-embrionário (CEA) não são úteis para diagnóstico de CCR, uma vez que apresenta apenas uma sensibilidade moderada, sendo também muito pouco específicos. Contudo, pacientes com cancro em estado muito avançado tendem a ter níveis bastante elevados, enquanto por sua vez pacientes com CCR em estadios precoces e com grande probabilidade de cura, tendem a ter apenas uma mínima elevação dos níveis de CEA, com sobreposição considerável com os níveis de pacientes sem cancro do cólon. Outras doenças colónicas ou desordens sistémicas podem causar uma elevação de CEA. Exames pré-operatórios são, contudo, úteis para determinar o prognóstico e para fornecer a linha de base para a comparação com os níveis pós-operatórios. Um nível sérico elevado no pós-operatório é um fraco indicador de prognóstico: quanto mais elevado o nível sérico maior probabilidade de o cancro ser extensivo, bem como uma maior probabilidade de ocorrer recidiva. Após a aparentemente completa ressecção do CCR, os níveis séricos tendem quase sempre a

normalizar, assim, uma falha nesta normalização pós-operatória sugere uma incompleta ressecção. Por sua vez, um aumento sustentado e progressivo dos níveis de CEA após a normalização pós-operatória é uma forte sugestão de recidiva. Assim pacientes com estas características necessitam de vigilância imediata através de colonoscopia e imagiologia abdominal de forma a excluir, respectivamente, recidivas e metástases tumorais.<sup>[17]</sup>

## 2.4 – Rastreio e Diagnóstico

A detecção precoce de cancros localizados e superficiais em indivíduos assintomáticos aumenta a taxa de cura cirúrgica, é este o princípio dos programas de rastreio para o CCR. Estes são importantes em indivíduos com história familiar da doença cujo risco relativo de surgimento de CCR é de 1,75 e pode ser ainda maior se o familiar foi afectado antes dos sessenta anos de idade.<sup>[15]</sup>

### 2.4.1 – EXAME DE SANGUE OCULTO NAS FEZES (FOBT)

O FOBT foi o exame tradicional de rastreio para o CCR e para pólipos colónicos. É comumente testado por um método colorimétrico através de uma reacção em Guaiac (Teste Guaiac), catalisado por uma pseudoperoxidase presente no sangue.<sup>[17]</sup>

Tem como vantagem o seu baixo custo, simplicidade, segurança e não é invasivo. No entanto, tem como desvantagem o facto de apresentar uma baixa especificidade, uma vez que, o FOBT é baseado no aumento do sangramento rectal microscópico em pacientes com CCR comparado com pacientes sem doença colónica havendo assim um largo espectro de sangramento microscópico com considerável sobreposição entre ambos os grupos.<sup>[17]</sup>

Apenas 5% a 10% dos pacientes com sangue oculto nas fezes tem CCR, e outros 20% a 30% têm pólipos colónicos adenomatosos. Muito embora os testes verdadeiros-positivos possam levar a uma detecção precoce e à cura, os FOBT falsos-positivos resultam num elevado número de colonoscopias caras e sem qualquer diagnóstico.<sup>[17]</sup>

O FOBT é, além disso, apenas moderadamente sensível. A sensibilidade para a detecção de CCR, usando as técnicas ideais sob as circunstâncias ideais, é apenas cerca de 85%. Para a detecção de adenomas, a sensibilidade é consideravelmente baixa (aproximadamente 50%) devido ao facto de os adenomas colónicos provocarem perda

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano sanguínea menos frequentemente que o CCR, sendo ainda particularmente baixa em adenomas pequenos ou localizados no cólon proximal.<sup>[17]</sup>

Apesar destas desvantagens, o FOBT é um elemento importante no rastreio do CCR devido à sua segurança e conveniência. Um rastreio anual com FOBT resulta numa redução da mortalidade por cancro do cólon.<sup>[17]</sup>

#### **2.4.2 – ENEMA DE BÁRIO (CLÍSTER OPACO)**

O enema de bário é apontado como a alternativa mais barata, menos invasiva, e mais segura à colonoscopia, estando aprovado para o rastreio do CCR.<sup>[17]</sup>

No entanto, este método é apenas moderadamente sensível na detecção do cancro do cólon, sendo menos sensível que a colonoscopia. Na detecção de pólipos colónicos apresenta uma sensibilidade ainda menor.<sup>[17]</sup>

A interpretação e precisão do enema de bário podem ser afectadas por diverticulose, espasmo colónico, má preparação colónica e sobreposição de *loops* colónicos. Este método não permite a caracterização histológica de uma lesão identificada, devido a uma incapacidade de realizar biopsias e não permitir remoção terapêutica dos pólipos. Assim, a detecção de pólipos por enema de bário necessita de um segundo exame, uma colonoscopia, para realização de biopsia ou polipectomia.<sup>[17]</sup>

#### **2.4.3 – SIGMOIDOSCOPIA FLÉXIVEL**

A realização de sigmoidoscopia flexível é recomendada a cada três a cinco anos em conjugação com FOBT anual como forma de rastreio para o CCR. A sigmoidoscopia diminui a mortalidade por cancro do cólon rectosigmóide.<sup>[17]</sup>

No entanto, o papel da sigmoidoscopia flexível é cada vez mais limitado no rastreio e diagnóstico do cancro do cólon. Esta é relativamente insensível na detecção de CCR e pólipos colónicos devido ao facto de a metade proximal do cólon não ser visualizada endoscopicamente, sendo que cerca de um terço a metade das lesões são próximas do cólon sigmóide. Este método é inadequado para pacientes com cancro do cólon proximal, sabendo que, cerca de 3% a 5% dos pacientes com CCR têm também tumores síncronos, assim a presença de lesões proximais síncronas afecta a gestão de cancros distais.<sup>[17]</sup>

A detecção de um pólipo adenomatoso ou cancro por sigmoidoscopia implica a realização de uma colonoscopia total de forma a diagnosticar lesões síncronas.<sup>[17]</sup>

#### 2.4.4 – COLONOSCOPIA DE DIAGNÓSTICO

A colonoscopia é recomendada para rastreio de pacientes com mais de cinquenta anos e que se encontram em risco médio de vir a desenvolver CCR ou pólipos colónicos.<sup>[17]</sup>

Este método de diagnóstico é altamente sensível na detecção de pólipos de grandes dimensões (superior a 1 cm), com uma taxa de insucesso de apenas 6%, e é moderadamente sensível na detecção de pequenos pólipos (inferior a 0,6 cm), com uma taxa de insucesso de cerca de 27%. Esta taxa de insucesso na detecção de pólipos pode dever-se ao facto destes se encontrarem em locais de difícil acesso, em áreas de espasmo colónico, principalmente no cólon sigmóide, ou com diverticulose severa e por fim à presença de fezes devido à má preparação colónica. Quanto ao CCR este raramente não é detectado por colonoscopia pois as dimensões tendem a ser maiores do que os pólipos adenomatosos. A colonoscopia é um exame muito específico que confere a possibilidade de remoção de pólipos e massas de forma a realizar uma biopsia para diagnóstico patológico.<sup>[17]</sup>

No entanto, a colonoscopia apresenta desvantagens como exame de rastreio, uma vez que, é um recurso intensivo, caro, algo invasivo, desconfortável, e implica um pequeno mas significativo risco de complicações (0,4%). De entre as complicações mais comuns encontram-se sangramento gastrointestinal e perfuração colónica que na maior parte das situações requer cirurgia, embora a realização de procedimentos conservativos com fluidos parenterais, antibióticos e cirurgia de suporte possam ser suficientes em certas situações. Este exame requer uma equipa especializada, bem como a preparação do paciente vinte e quatro horas antes da sua realização. O procedimento é desconfortável e geralmente requer sedação e analgesia, havendo a necessidade de monitorização após a realização até que os efeitos dos sedativos e analgésicos desapareçam gradualmente.<sup>[17]</sup>

Com a realização de uma colonoscopia, os pólipos são caracterizados quanto ao tamanho, cor, número, localização, localização intramural (mucosal/submucosal), presença ou ausência de pedúnculo (pedunculado/séssil), e aparência superficial. As características dos pólipos, obtidas por colonoscopia, fornecem pistas importantes relativamente à histologia e potencial malignidade destes, o que pode influenciar a gestão da colonoscopia.<sup>[17]</sup>

Os pólipos hiperplásicos são, geralmente, pequenos, pálidos, unilobulares e localizados no recto, por sua vez, os adenomas são maiores, mais vermelhos,

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano

multilobulados e distribuídos ao longo de todo o cólon. Os adenomas vilosos tendem a ser grandes, volumosos, sésseis, de formato irregular, macios, aveludados e friáveis. Já os adenomas planos tendem a ser pequenas placas, discóides e eritematosas, que assumem grande importância devido ao risco significativo de displasia e de cancro. Estes são difíceis de detectar e por vezes são mesmo perdidos na colonoscopia, sendo por isso, identificados por cromoendoscopia através da instilação colonoscópica de azul de metileno ou carmim de índigo.<sup>[17]</sup>

No entanto, a aparência a nível da colonoscopia está apenas moderadamente correlacionada com a histologia dos pólipos. O exame patológico de uma biopsia fornece uma indicação da histologia do pólipo mas está sujeito a erro de amostragem, assim, este é definitivamente classificado por exame patológico de todo o pólipo após polipectomia. A polipectomia colonoscópica é então uma medida de diagnóstico e terapêutica para pólipos adenomatosos não cancerosos.<sup>[17]</sup>

A colonoscopia permite ainda a detecção de numerosos tipos de massas polipóides incluindo a FAP, FAP atenuada, polipose hiperplásica, polipose juvenil, síndrome Peutz-Jeghers, pseudopolipose, hemangiomatose colónica difusa e pneumatose coli.<sup>[17]</sup>

#### **2.4.5 – ACOMPANHAMENTO DE PACIENTES DE ELEVADO RISCO E TESTES DE DIAGNÓSTICO EM PACIENTES COM FORTES INDICAÇÕES CLÍNICAS**

Pacientes que apresentam um risco mediano de desenvolvimento de pólipos adenomatosos ou CCR submetem-se à realização de colonoscopia a cada dez anos, ou outros testes de rastreio alternativos em intervalos periódicos.<sup>[17]</sup>

Por sua vez, pacientes que pertencem ao grupo de elevado risco, submetem-se a um rastreio periódico mais frequente, sendo que a colonoscopia é o teste recomendado. A idade de início e a frequência do rastreio dependem da idade a partir da qual o risco de desenvolvimento de CCR aumenta, e também do risco quantitativo de desenvolvimento de cancro.<sup>[17]</sup>

Independente do rastreio e da vigilância periódica realizada, é também requerida a realização de colonoscopia de modo a excluir a presença de CCR, pólipos adenomatosos ou outra doença do cólon.<sup>[17]</sup>

## 2.5 – Fisiopatologia

O CCR representa uma doença complexa, em que uma sequência de alterações moleculares e genéticas levam à malignidade através da transformação de pólipos adenomatosos. Estas alterações genéticas estão também associadas com a progressão de lesões pré-malignas (adenomas) a adenocarcinomas invasivos.<sup>[17,19]</sup>

### 2.5.1 – HISTOPATOGENESE

Os dois tipos histológicos mais comuns de pólipos são: os hiperplásicos e os adenomatosos. Histologicamente, os pólipos hiperplásicos são caracterizados por um número elevado de células glandulares com diminuição do muco citoplasmático, mas ausência de hiperchromatismo nuclear, estratificação ou atipia. Por sua vez, os pólipos adenomatosos, apresentam núcleos grandes, hiperchromáticos e sobrepostos.<sup>[17]</sup>

Os adenomas são classificados como tubulares ou vilosos. Histologicamente, os adenomas tubulares são compostos por túbulos ramificados, enquanto os adenomas vilosos apresentam vilosidades digitiformes. Os adenomas tubulovilosos contêm ambos os elementos.<sup>[17]</sup>

Tal como demonstrado em inúmeros resultados epidemiológicos, clínicos e patológicos, a maior parte dos CCR surgem a partir de adenomas (pólipos adenomatosos).<sup>[17]</sup>

### 2.5.2 – PATOGENESE MOLECULAR

O CCR é provavelmente o cancro mais complexo e mais bem entendido em termos de genética molecular. Ao longo dos tempos têm ocorrido grandes progressos no que diz respeito à compreensão da base molecular do cancro do cólon, e caracterização dos dois síndromes hereditários: FAP e HNPCC.<sup>[17]</sup>

A FAP é causada por mutações germinativas do gene APC que se localiza no cromossoma 5q, assim, um paciente com FAP possui estas mutações germinativas num alelo em todas as células somáticas, incluindo os colonócitos. Estas mutações estão subjacentes ao desenvolvimento de centenas de pólipos adenomatosos ao longo do cólon, sendo que a formação de adenomas ocorre quando o segundo alelo APC no colonócito é danificado ou perdido.<sup>[17]</sup>

Quanto ao HNPCC, este é causado por mutações num dos genes de reparação de mutações *mismatch*, incluindo os genes *hMSH2*, *hMSH6*, *hMLH1*, *hMLH3*, *hPMS1* e *hPMS2*, tendo em consideração que a maior parte dos casos ocorre por mutações germinativas dos genes *hMLH1* e *hMSH2*. Estes enzimas de reparação de mutações *mismatch*, codificados pelos genes correspondentes, reconhecem erros de complementaridade de nucleótidos na cadeia de ADN e iniciam a excisão segmentar na cadeia recém formada de forma a garantir a sua correcta replicação, assim, células com mutações nestes genes que codificam estes enzimas, não realizam a reparação de erros espontâneos no ADN, acumulando progressivamente mutações ao longo do genoma com as sucessivas replicações das cadeias de ADN. Esta acumulação progressiva de mutações leva a hipermutabilidade e caos genético, sendo que a acumulação de mutações em oncogenes e genes supressores de tumores pode resultar no desenvolvimento de CCR.<sup>[17]</sup>

### 2.5.3 – BIOLOGIA MOLECULAR

O CCR é causado por uma cascata de mutações genéticas que levam a alterações na replicação do ADN e replicação acelerada de colonócitos. A acumulação de múltiplas mutações genéticas resulta numa transição progressiva de mucosa normal até carcinoma, passando cronologicamente por adenoma benigno e displasia severa (Tabela 2).

Gene	Localização no cromossoma	Função fisiológica normal das proteínas codificadas	Manifestações clínicas das mutações
<i>APC</i>	5q	Regula o crescimento celular e a apoptose	Mutações somáticas homogéneas associadas com adenomas colónicos
<b>Família <i>K-ras</i></b>	Vários cromossomas	Codifica uma pequena proteína de ligação ao GTP na membrana celular, que está envolvida na transdução de sinais mitogénicos através da membrana celular	Mutado em cerca de metade dos casos de CCR; pode actuar no estadio intermediário da carcinogénese; mutação comum nos pólipos hiperplásicos.
<i>p53</i>	17p	Regula o ciclo celular e a apoptose	Crítico na transição de adenoma avançado para cancro precoce
<i>DCC</i>	18q	Codifica uma molécula de adesão celular neural; facilita a apoptose; supressor tumoral	Promove a progressão para carcinoma
<b>Genes de reparação de mutações <i>mismatch</i></b>	Localizados em vários cromossomas	Reconhece erros no emparelhamento de nucleótidos de cadeias complementares e inicia a excisão de cadeias erradas	Acumulação progressiva de mutações ao longo do genoma em células afectadas levando a hipermutabilidade e caos genético; mutações de oncogenes ou genes supressores de tumor podem levar a CCR

Tabela 2 – Genética molecular do CCR esporádico.<sup>[17]</sup>

Mutações nos genes de reparação de mutações *mismatch* estão associadas a cerca de 15% dos CCR esporádicos, por sua vez mutações APC estão presentes em 80% destes casos esporádicos. O desenvolvimento esporádico de pólipos adenomatosos é provocado por mutações APC espontâneas nos colonócitos, estas ocorrem precocemente no desenvolvimento de adenomas e correspondem a 50% dos casos de adenoma esporádico. Geralmente os adenomas permanecem benignos, a transformação maligna requer mais alterações genéticas.<sup>[17]</sup>

O gene *DCC* codifica um receptor molecular de adesão celular neural que normalmente promove a apoptose e a supressão tumoral, assim, a perda do gene *DCC* normal tem grande importância na transição de um adenoma em estado intermédio para estado avançado.<sup>[17]</sup>

O produto normal do gene *p53* suspende o ciclo celular após a alteração do ADN para permitir a possível reparação deste ou a apoptose se o dano for muito severo. A proteína *p53 wild-type* (WT) está aumentada na célula se esta for sujeita a algum tipo de stress como exposição a radiação, lesão de ADN ou outros, de modo a garantir a paragem da divisão celular e nova síntese de ADN. A perda de função desta proteína pode promover instabilidade genética, uma vez que as alterações genéticas ocorridas não são reparadas sendo replicadas, resultando na perda de heterozigotia. Mutações no gene *p53* têm um papel importante na transição de um adenoma em estado avançado para carcinoma, sendo que cerca de 50% das lesões com elevado grau de displasia e 75% dos CCR exibem perda da função normal de *p53*, normalmente devido a uma mutação *missense* de um alelo e deleção de outro.<sup>[17]</sup>

O gene *K-ras* codifica uma proteína que está envolvida numa via de transdução de sinal da membrana celular para o núcleo. Mutações deste gene resultam na activação constitutiva desta via de sinalização e aumento da replicação dos colonócitos, estando associadas com o desenvolvimento de carcinomas através crescimento exófito de adenomas. Aproximadamente 50% dos CCR apresentam mutações do gene *K-ras*.<sup>[17]</sup>

A acumulação de mutações genéticas provoca instabilidade genética, que se manifesta através da perda de heterozigotia, que por sua vez acelera a carcinogénese. Células que perdem a heterozigotia têm apenas um alelo de alguns genes, em vez dos dois habituais, assim, apenas uma mutação é necessária para a perda de função.<sup>[17]</sup>

Para além das mutações, eventos epigenéticos como a anormal metilação de ADN podem também causar o silenciamento de genes supressores de tumor ou a activação de oncogenes, comprometendo o balanço genético e levando à transformação

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano

maligna. A metilação do ADN na região do promotor pode terminar e silenciar a expressão de genes sem mutação, assim, esta metilação de ADN pode inactivar genes supressores promovendo o desenvolvimento de cancro. Cerca de 25% dos casos de CCR estão associados à metilação e inactivação do gene *p14*, um indutor na via de supressão tumoral do *p53*, produzindo o mesmo fenótipo de cancro que uma mutação no gene supressor tumoral *p53*. Ainda cerca de 35% dos CCR apresentam metilação do gene supressor de tumor *p16*.<sup>[17,19]</sup>

## 2.6 – Patologia

### 2.6.1 - HISTOLOGIA

Os CCR são classificados quanto ao grau de preservação da arquitectura glandular normal e características citológicas, como: bem diferenciados, moderadamente bem diferenciados ou pouco diferenciados. Estes últimos representam cerca de 20% dos CCR, sendo que uma diferenciação cada vez menor é um marcador histológico de novas mutações genéticas subjacentes.<sup>[17]</sup>

### 2.6.2 – PATOLOGIA GERAL

Cerca de 65% dos CCR são distais ao ângulo esplénico e potencialmente detectáveis por sigmoidoscopia. Por sua vez, cerca de 35% dos CCR são proximais ao cólon sigmoideu e não são detectados por sigmoidoscopia flexível.<sup>[17]</sup>

O cancro do cólon pode desenvolver-se a partir de um pólipó pedunculado, pólipó sésil, crescimento anormal ou estrangulação. Os pequenos pólipós raramente (apenas 1%) se tornam malignos, por sua vez, CCR desenvolvido a partir de um pólipó sésil pode metastizar-se mais rapidamente que um CCR desenvolvido a partir de um pólipó pedunculado devido à proximidade com a drenagem linfática.<sup>[17]</sup>

### 2.6.3 – ESTADIAMENTO

O carcinoma *in situ*, ou elevado grau de displasia, é histologicamente cancro mas é patologicamente confinado à mucosa sem penetração da mucosa muscular (estadio 0).<sup>[17]</sup>

Cancro do cólon invasivo é estadiado de A a D de acordo com a classificação de Dukes. Sendo que, no estadio A ocorre penetração para além da mucosa na submucosa.

Por sua vez, no estadio B1 estende-se da submucosa à *muscularis propria* e no estadio B2 estende-se através da *muscularis propria* à serosa. No estadio C existem metástases nos nódulos linfáticos regionais, e por último, no estadio D existem metástases distantes.<sup>[15,17]</sup>

O CCR pode também ser estadiado de acordo com a recente classificação tumor-nódulo-metástase (TNM): através da profundidade da penetração tumoral (T), presença de metástases nos nódulos linfáticos locais (N), e ainda pela presença de metástases distantes (M). Nesta classificação, o cancro do cólon invasivo é classificado do estadio I ao IV. Sendo que, o estadio I corresponde ao A ou B1 da classificação de Dukes, o estadio II corresponde ao B2, o estadio III corresponde ao C e, por último, o estadio IV da classificação TNM corresponde ao D na classificação de Dukes.<sup>[15,17]</sup>

Assim, as lesões superficiais que não envolvem nódulos linfáticos regionais nem penetram a submucosa (T1) ou a muscular (T2) são designadas de estadio I (T<sub>1-2</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>), por sua vez, os tumores com penetração através da muscular mas que não acometem nódulos linfáticos regionais são classificados como estadio II (T<sub>3</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub>). O estadio III (T<sub>x</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub>) é definido pelo acometimento dos nódulos linfáticos regionais, por último, a presença de metástases em locais como o fígado, os pulmões ou os ossos caracteriza o estadio IV (T<sub>x</sub>N<sub>x</sub>M<sub>1</sub>).<sup>[15]</sup>

Os estados patológicos são classificados por ambos os sistemas de classificação.<sup>[15,17]</sup>

#### 2.6.4 – METÁSTASES

Dos 25% dos pacientes que possui CCR no estadio D da classificação de Dukes, 20% apresenta metástases identificáveis e, talvez, outros 30% apresentam metástases não detectáveis.<sup>[15,17]</sup>

Os locais mais comuns de ocorrência de metástases são os nódulos linfáticos regionais e fígado, através da circulação venosa portal sendo este o local mais comum de metástases viscerais e onde 33% das recorrências de CCR começam. Em geral, o CCR raramente se dissemina nos pulmões, linfonodos supraclaviculares, peritoneu, pélvis, supra-renais, ossos ou cérebro. Estes locais menos comuns apenas são afectados após a ocorrência de metástases hepáticas e linfáticas. Excepcionalmente, em pacientes com tumores primários do recto distal ocorrem metástases pulmonares e nos linfonodos supraclaviculares sem acometer o fígado, uma vez que as células tumorais podem-se

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano

disseminar pelo plexo venoso paravertebral, evitando assim o sistema venoso portal.<sup>[15,17]</sup>

## 2.7 – Prognóstico

O prognóstico dos pacientes com CCR depende da profundidade da penetração tumoral na parede intestinal, do acometimento dos nódulos linfáticos regionais e de metástases à distância. Estas variáveis são tidas em conta no sistema de estadiamento de Dukes, que as enquadra no método TNM.<sup>[15]</sup>

Antes da ressecção cirúrgica e estudo patológico, não é possível determinar com precisão o estadio da doença, excepto nos casos em que há metastização evidente. Sendo que ainda não está claro se as novas técnicas de detecção de metástases linfonodais, através de métodos moleculares e imunohistoquímicos especiais, tem o mesmo significado para o prognóstico que as técnicas de microscopia de rotina.<sup>[15]</sup>

A maioria das recidivas após a ressecção cirúrgica do tumor ocorre nos primeiros quatro anos, o que torna a sobrevida após cinco anos um indicador bastante fiável de cura. As probabilidades de cura após cinco anos dependem do estadio da doença (Figura 5) e têm aumentado, progressivamente, ao longo das últimas décadas devido a um estadiamento cirúrgico e patológico mais cuidadoso. Mais especificamente, uma observação mais atenta do exame patológico detalhado, que permitiu concluir que a progressão após ressecção de um CCR não depende apenas da presença ou ausência de acometimento de nódulos linfáticos regionais. Assim, o prognóstico pode ser estimado de maneira mais precisa pelo número de nódulos linfáticos acometidos, sendo necessário um mínimo de doze linfonodos para definir com precisão o estadio do tumor. Outros factores que indicam mau prognóstico após a ressecção cirúrgica total são a penetração do tumor através da parede intestinal até à invasão da gordura pericólica, histologia indiferenciada, perfuração e/ou aderência do tumor aos órgãos adjacentes (que aumenta o risco de recorrência anatomicamente adjacente), bem como a invasão venosa.<sup>[15]</sup>

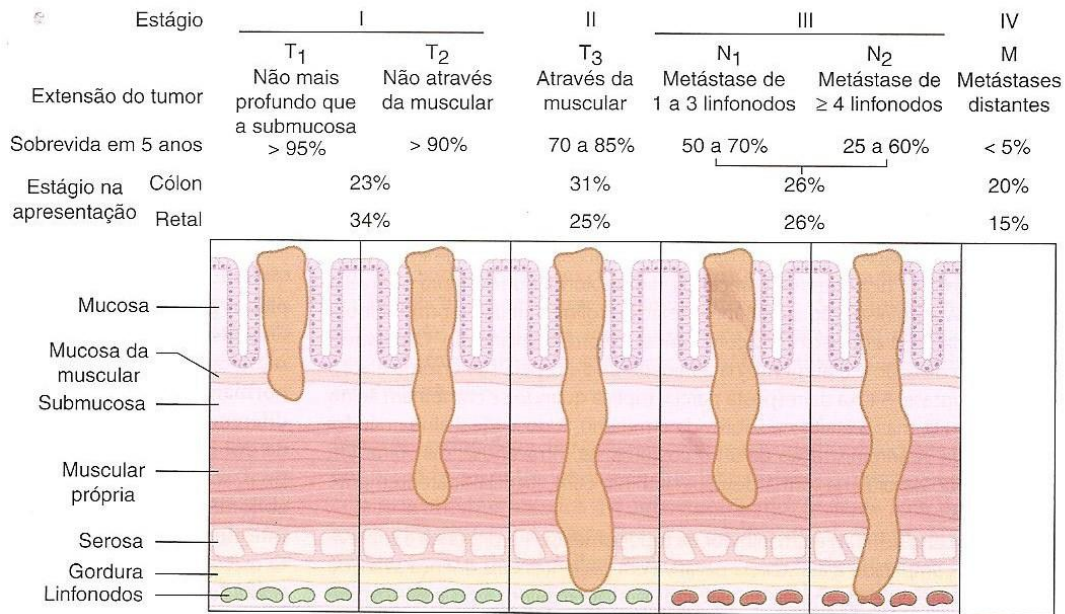


Figura 5 – Relação entre o estadió e o prognóstico em pacientes com CCR.<sup>[15]</sup>

Independentemente do estadió clinicopatológico, uma avaliação pré-operatória dos níveis plasmáticos do CEA prediz a recorrência do tumor. A presença de aneuploidia e deleções cromossómicas específicas, como a perda alélica no cromossoma 18q com envolvimento do gene *DCC*, parece indicar um maior risco de metastização, principalmente quando o tumor se encontra no estadió II (T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>). Contrariamente à maioria dos tumores, o prognóstico do CCR não depende do tamanho da lesão primária, quando rectificado para o acometimento dos nódulos linfáticos e diferenciação histológica.<sup>[15]</sup>

No passado, a taxa de sobrevivência média após a detecção de metástases era de seis a nove meses em caso de hepatomegalia ou anomalias hepáticas laboratoriais, actualmente é de vinte e quatro a trinta meses quando identificado nódulo hepático pela elevação do nível de CEA. O prognóstico é progressivamente melhorado através da terapêutica sistémica efectiva.<sup>[15]</sup>

## 2.8 – Prevenção

### 2.8.1 – MODIFICAÇÕES DIETÉTICAS

Uma dieta rica em fibras reduz o risco de CCR, através de: diminuição da exposição da mucosa a carcinógenos intraluminais causada pela estimulação do trânsito intestinal, diminuição da concentração de carcinógenos nas fezes devido ao aumento de

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano

volume das fezes, aumento da concentração de ácidos gordos de cadeia curta anti-carcinogénicos, e estabilização dos níveis de insulina devido à diminuição da absorção de amido que poderia promover a carcinogénese.<sup>[17]</sup>

Independentemente do efeito preventivo do CCR, uma dieta rica em fibras é recomendada devido a outros benefícios para a saúde. Os benefícios de alguns factores dietéticos para a prevenção do CCR está apresentado na Tabela 1.<sup>[17]</sup>

### **2.8.2 – QUIMIOPREVENÇÃO COM ASPIRINA E OUTROS FARMÁCOS ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTERÓIDES (NSAIDs)**

Os NSAIDs reduzem a proliferação celular, diminuem a progressão do ciclo celular e estimulam a apoptose, podendo, assim, prevenir o aparecimento de adenomas ou CCR.<sup>[17]</sup>

O uso crónico e regular de NSAIDs, particularmente a aspirina, diminuem a incidência de adenomas e a mortalidade por CCR. Por sua vez, o sulindac causa a regressão de adenomas já existentes e a supressão do desenvolvimento de novos adenomas em pacientes com FAP.<sup>[17]</sup>

Os NSAIDs reduzem a formação de adenomas e inibem o desenvolvimento de CCR, através da inibição das enzimas ciclooxygenases (COX) cuja actividade é requerida para a síntese de prostaglandina E<sub>2</sub> que promove a proliferação celular e o crescimento tumoral. Os NSAIDs podem ainda retardar a carcinogénese através da sua influência na adesão celular e na apoptose.<sup>[17]</sup>

As COX apresentam duas isoformas: COX-1 e COX-2. Os NSAIDs não são selectivos e inibem as duas isoformas, por sua vez os inibidores da COX-2, como o celecoxib, são selectivos e são usados clinicamente para evitar ou reduzir a toxicidade gastrointestinal dos primeiros. A COX-2 medeia a proliferação celular e o crescimento tumoral, assim, os inibidores selectivos desta enzima bloqueiam a formação de adenomas e o desenvolvimento de CCR.<sup>[17]</sup>

### **2.8.3 – TÉCNICAS PREVENTIVAS: POLIPECTOMIA COLONOSCÓPICA E ENDOMUCOSECTOMIA**

A fisiopatologia do desenvolvimento de carcinoma a partir de adenoma e a fisiopatologia molecular da carcinogénese do cólon, sugerem que a polipectomia de adenomas, no acto da colonoscopia de diagnóstico, pode prevenir substancialmente o desenvolvimento de CCR.<sup>[17]</sup>

Por sua vez, a endomucosectomia que consiste numa injeção de solução salina normal ou outra solução na camada submucosal, de forma a reforçar a parede colónica no local da polipectomia e permitir a remoção da mucosa mais profundamente afectada ou a ressecção profunda da submucosa sem arriscar uma queimadura ou perfuração colónica. É uma alternativa à cirurgia para lesões superficiais sem penetração evidente da camada muscular profunda, nódulos linfáticos regionais ou metástases distantes. Esta técnica apresenta vantagens relativamente à endoscopia pois há uma remoção total e disponibilidade para análises histológica e estadiamento patológico, apresentando também uma vantagem sobre a ressecção cirúrgica devido à sua menor morbidade e mínima mortalidade. O maior problema reside no facto de ser insuficiente para doença localmente avançada ou metastática.<sup>[17]</sup>

## 2.9 – Tratamento

Quando se detecta uma lesão maligna no intestino grosso, o tratamento ideal é a ressecção total do tumor. Porém, antes de proceder à cirurgia deve-se pesquisar cuidadosamente a presença de metástases através de: exame físico completo, radiografia de tórax, avaliação bioquímica da função hepática e medição do nível plasmático de CEA. Se possível, deve-se fazer uma colonoscopia total, com visualização de todo o cólon, para procurar neoplasias síncronas e pólipos.<sup>[15]</sup>

O tratamento de primeira linha para estadios precoces e localmente avançados (estadio I ao II, Dukes A ao C) é a cirurgia. A sobrevivência é elevada, sendo de 80% a 95% em pacientes com estadio I e de 25% a 60% (dependendo dos factores de prognóstico como o envolvimento nodal e o grau de invasão do tumor) em pacientes com estadio III. A terapia adjuvante é considerada desnecessária no estadio I da doença, porém, é recomendada quimioterapia adjuvante em pacientes com estadio II ou III.<sup>[16]</sup>

As terapias adjuvantes com 5-fluoruracilo (5-FU) aumentam a sobrevivência no estadio III da doença, sendo consideradas como padrão de tratamento. O regime de tratamento FOLFOX aumenta a sobrevivência sem doença, bem como as fluoropirimidinas orais aumentam a sobrevivência após ressecção. Assim, a administração intravenosa de 5-FU com ácido folínico, FOLFOX ou capecitabina oral são considerados regimes adjuvantes adequados. Regimes como IFL e FOLFIRI, em

que há a introdução de irinotecano, não são considerados adequados nestes estadios da doença devido à sua toxicidade.<sup>[16]</sup>

Terapia neoadjuvante e radioterapia desempenham um papel pouco importante em casos de CCR precoce, no entanto, são considerados essenciais quando há penetração de estruturas fixas por parte do tumor. Por sua vez, em casos de cancro rectal em estadio inicial ambos desempenham um papel importante pois é muito comum ocorrer recidivas locais, que são reduzidas através de radioterapia e quimioradioterapia. Esta elevada taxa de recorrência local deve-se ao facto do espaço anatómico na região pélvica ser restrito o que limita a extensão de ressecção, bem como o facto da parede lateral pélvica estar em contacto com o recto e possuir uma extensa rede linfática que facilita a disseminação precoce de células malignas para áreas inacessíveis à cirurgia. Assim, em pacientes com o estadio I da doença a melhor opção terapêutica é a cirurgia, por sua vez a quimioradioterapia adjuvante é considerada primordial em pacientes com cancro rectal em estadio II ou III. Porém, mais recentemente, a terapia neoadjuvante (pré-operatória) está na base de um melhor controlo local do tumor e diminuição da morbilidade, uma vez que diminui o volume tumoral promovendo a preservação do esfíncter. A radioterapia adjuvante reduz o risco de recorrência local, bem como o risco de morte por cancro rectal, por sua vez a quimioradioterapia pré-operatória (5-FU combinado com radioterapia pélvica fraccionada) aumenta o controlo local do tumor e apresenta uma menor toxicidade quando comparada com o tratamento pós-operatório, no entanto, não aumenta a sobrevivência.<sup>[15,16]</sup>

É recomendada a quimioradioterapia pré-operatória com 5-FU, em monoterapia ou em combinação com ácido folínico, como componente quimioterapêutico, na maioria dos pacientes com estadio II ou III da doença, sendo a capecitabina oral uma alternativa válida à administração intravenosa de 5-FU. Após a cirurgia, é recomendado um regime quimioterapêutico adjuvante com 5-FU (FOLFOX ou capecitabina), sendo que em alguns pacientes é adequado um regime quimioradioterapêutico.<sup>[16]</sup>

Os tratamentos paliativos para o CCR em estadio avançado (estadio IV, doença metastática) incluem cirurgia, radioterapia e quimioterapia. A cirurgia aumenta a sobrevivência. A quimioterapia sistémica neoadjuvante reduz o volume tumoral e torna algumas metástases não ressecáveis passíveis de serem removidas por cirurgia. Outra opção terapêutica é a utilização de quimioterapia intraportal direccionada ao fígado, que mostrou aumentar a sobrevivência em cinco anos.<sup>[16]</sup>

A quimioterapia paliativa convencional é baseada no uso de 5-FU e produz benefícios modestos relativamente à sobrevivência, a adição de ácido folínico aumenta a eficácia sendo esta combinação considerada tratamento padrão. A explicação para este aumento de eficácia reside no facto de ocorrer um aumento de afinidade do 5-FU para a sua enzima alvo, a timidilato sintetase. Os pró-fármacos orais de 5-FU, como a capecitabina ou tegafur com uracilo, são considerados alternativas válidas ao 5-FU intravenoso.<sup>[15,16]</sup>

Vários fármacos mais recentes aumentam as taxas de resposta e sobrevivência quando usados em quimioterapia nestes pacientes. Regimes que incluem irinotecano ou oxaliplatina, como FOLFIRI ou FOLFOX, são considerados opções para primeira linha de tratamento de CCR metastático. Quando há a adição de bevacizumab (um antagonista do factor de crescimento endotelial vascular (VEGF), proteína que estimula a vasculogénese e a angiogénese) à quimioterapia, há um aumento de ambas as taxas de resposta e sobrevivência. Similarmente, o cetuximab (um bloqueador do receptor do factor de crescimento epidérmico (EGFR), que é uma glicoproteína transmembranar envolvida nas vias de sinalização que afectam o crescimento e a proliferação das células tumorais) aumenta a taxa de resposta e diminui a taxa de progressão quando combinado com irinotecano, sendo efectivo quando combinado com o regime FOLFOX. O bevacizumab é recomendado em combinação com um dos regimes de primeira linha (FOLFOX, FOLFIRI, 5-FU/ácido folínico ou CapeOx) em pacientes com CCR metastático que se encontram aptos a tolerar uma terapia intensiva. Capecitabina, ou 5-FU/ácido folínico com ou sem bevacizumab, são opções terapêuticas para os pacientes que não estão aptos a tolerar regimes mais intensivos.<sup>[15,16]</sup>

A investigação de outros fármacos e regimes terapêuticos é progressiva. As terapias imunológicas que se encontram em investigação incluem: anticorpos monoclonais e vacinação com células tumorais autólogas ou com antigénios contra o tumor. A terapia génica é outra área em investigação contínua.<sup>[16]</sup>

### 3 – Farmacogenómica do CCR metastásico

A Farmacogenómica é uma ciência em rápido desenvolvimento, que tem como objectivo elucidar as bases genéticas das diferenças inter-individuais na resposta a fármacos, e usar estas informações genéticas para prever a segurança, toxicidade, e/ou eficácia dos fármacos em pacientes ou grupo de pacientes. Enquanto as interacções fármaco-fármaco e factores ambientais contribuem significativamente para a variabilidade na resposta a fármacos, os factores genéticos têm maior impacto na resposta individual a fármacos.<sup>[20,21,22,23]</sup>

Assim, a farmacogenómica é uma área do conhecimento fundamental para o estabelecimento da medicina personalizada, uma mudança de paradigma da ideia de que um “fármaco serve de igual forma para todos” para “o fármaco certo, para o paciente certo, na dose e no tempo certos”.<sup>[21,22]</sup>

A abordagem farmacogenómica foi aplicada a vários agentes quimioterápicos para identificar as variações hereditárias relevantes, de forma a prever melhor a resposta do paciente à quimioterapia. Estas variações genéticas como repetição de nucleótidos, inserções, deleções e SNPs podem alterar a sequência de aminoácidos das proteínas, o *splicing* do ARN e a transcrição do gene. Tais polimorfismos genéticos (variação genética que ocorre em mais de 1% da população) em enzimas metabolizadoras de fármacos, transportadores e alvos moleculares provocam alterações funcionais no fenótipo (alteração do nível de expressão e/ou actividade das proteínas), contribuindo para a variabilidade de resposta a fármacos.<sup>[20,21,22,23]</sup>

#### 3.1 – UDP-Glucuroniltransferase (UGT)

Os enzimas UDP-Glucuroniltransferases (UGTs) compreendem uma superfamília de proteínas chave que catalisam reacções de glucuronidação de diversos químicos endógenos e exógenos com grande variedade estrutural.<sup>[24,25,26]</sup>

A glucuronidação é uma das maiores reacções de fase II de metabolização de fármacos, que contribui para a sua biotransformação. Assim a glucuronidação é a principal via de conjugação no metabolismo e excreção de endobióticos e xenobióticos. Este processo bioquímico está envolvido na protecção contra agentes tóxicos

ambientais, carcinogénios, toxinas alimentares e participa na homeostasia de inúmeras moléculas endógenas incluindo a bilirrubina, hormonas esteróides e ácidos biliares.<sup>[24,25,26]</sup>

As UGTs são enzimas de conjugação localizadas na membrana interna do retículo endoplasmático, que catalisam a transferência de ácido glucurónico, a partir do co-substrato UDP-ácido glucurónico (UDPGlcA), para o grupo funcional (hidroxilo, carboxilo, amino, sulfúrico) de um substrato específico (moléculas hidrofóbicas), levando à formação de ácidos  $\beta$ -D-glucopiranosidurónico ou derivados glucuronidos (-G), estes glucuronidos resultantes contêm o radical D-glucopiranuronosil ligado a -OR, -SR, -NR'R'' ou -CR (Figura 6). Assim, a glucuronidação resulta num aumento da polaridade e solubilidade em água dos compostos alvo, facilitando a sua excreção por via biliar ou urinária.<sup>[24,25,26]</sup>

Quando comparadas com outras enzimas de conjugação como as N-acetiltransferases (NAT), glutatona-S-transferases (GST) e sufotransferases (ST), as UGTs têm uma maior contribuição tanto na destoxificação como na promoção da excreção por via biliar ou urinária.<sup>[26]</sup>

Esta via metaboliza aproximadamente 35% de todos os fármacos metabolizados pelas enzimas metabolizadoras de fármacos de fase II (DMEs).<sup>[26]</sup>

Embora o fígado seja o órgão primordial de glucuronidação existem outros órgãos com capacidade de contribuir para a capacidade de glucuronidação do organismo. Tal como outras DMEs, as UGTs estão localizadas em todas as vias de entrada de químicos que incluem: superfícies epiteliais da mucosa nasal, intestino, pele, glóbulos brancos e pulmões. As UGTs estão expressas numa grande variedade de tecidos como por exemplo: cérebro, próstata, útero, mama, placenta e rim.<sup>[26]</sup>

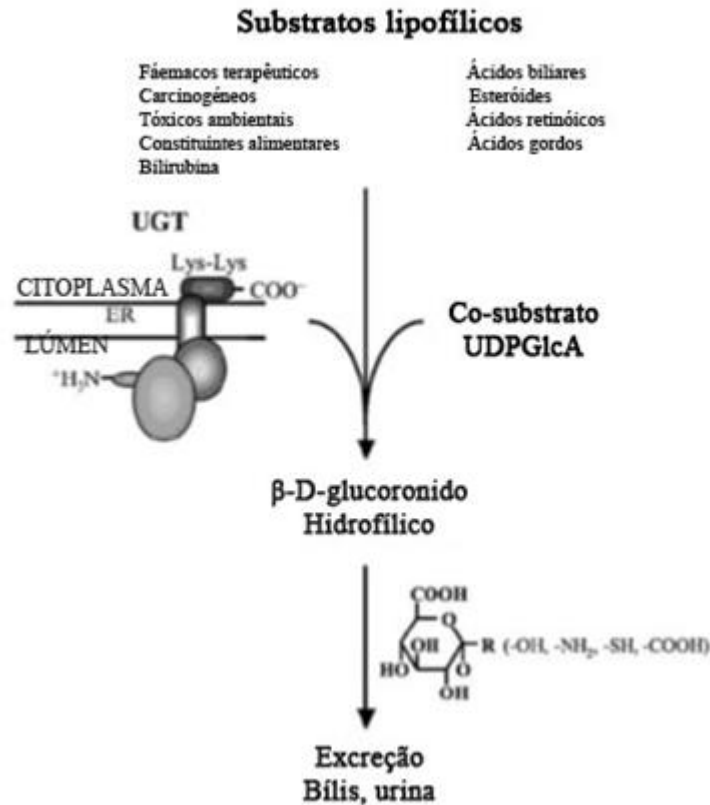


Figura 6 – A reacção de glucuronidação.<sup>[26]</sup>

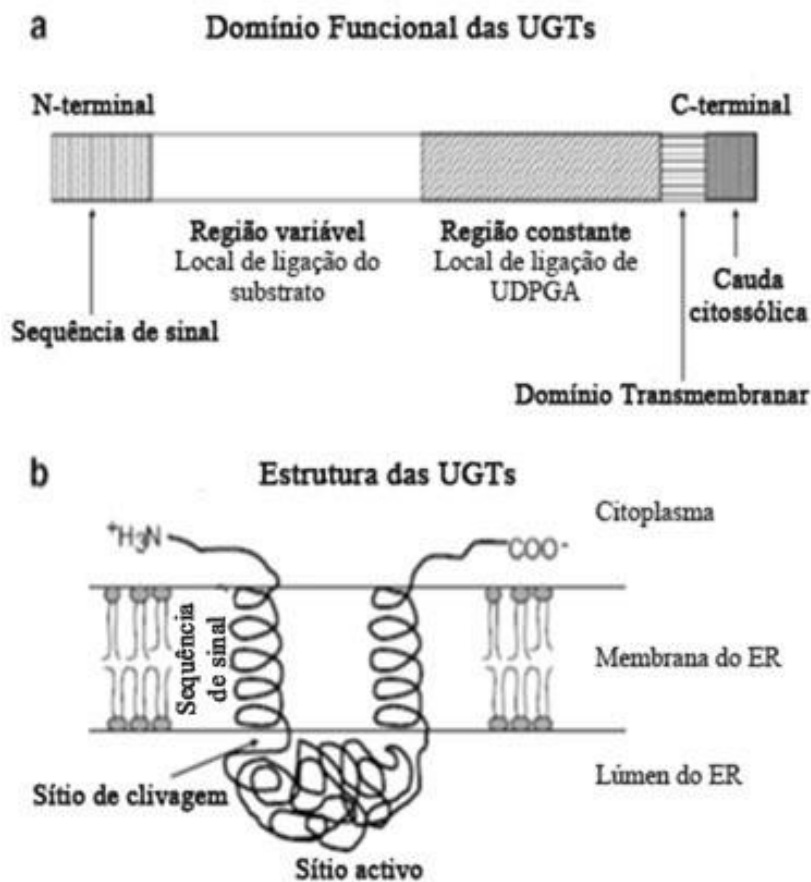
Factores genéticos relacionados com os genes que codificam DMEs, transportadores e alvos terapêuticos têm grande influência na resposta terapêutica. Entre estes factores genéticos incluem-se: alterações genéticas ou polimorfismos, pequenas inserções ou deleções, ou polimorfismos de um só nucleótido (SNPs). Os polimorfismos podem ocorrer em várias regiões do gene incluindo as sequências regulatórias e codificantes, mas também nos intrões e regiões 5' e 3'. Dependendo da natureza da variação e da sua localização dentro de um determinado gene, as consequências fenotípicas podem ser pouco perceptíveis, ou podem alterar a função/expressão da proteína. Neste caso específico das UGTs, tais alterações genéticas podem potencialmente modificar a capacidade de glucuronidação do portador do polimorfismo.<sup>[26]</sup>

### 3.1.1 – A SUPERFAMÍLIA UGT

As UGTs são proteínas membranares localizadas na fracção subcelular microsomal do retículo endoplasmático, em que o domínio catalítico encontra-se no lúmen do reticulo endoplasmático. As suas funções são atribuídas aos vários domínios

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano

da proteína UGT, definidos com base na sequência de aminoácidos codificada pelo ADN complementar (cADN) e na proteína purificada (Figura 7).<sup>[24]</sup>



**Figura 7 – Estrutura das proteínas UGT.** (a) Domínios funcionais das UGTs. (b) Estrutura das proteínas UGTs localizadas na membrana do retículo endoplasmático (ER).<sup>[24]</sup>

A superfamília UGT é subdividida em subfamílias, que compreendem mais de vinte e seis genes ou cADNs. Dezoito deles correspondem a proteínas funcionais que são codificadas por duas famílias de genes: *UGT1* e *UGT2*, cuja nomenclatura é baseada na homologia estrutural. Por sua vez, estas subdividem-se em três subfamílias: UGT1A, UGT2A e UGT2B (Figura 8).<sup>[24,26]</sup>

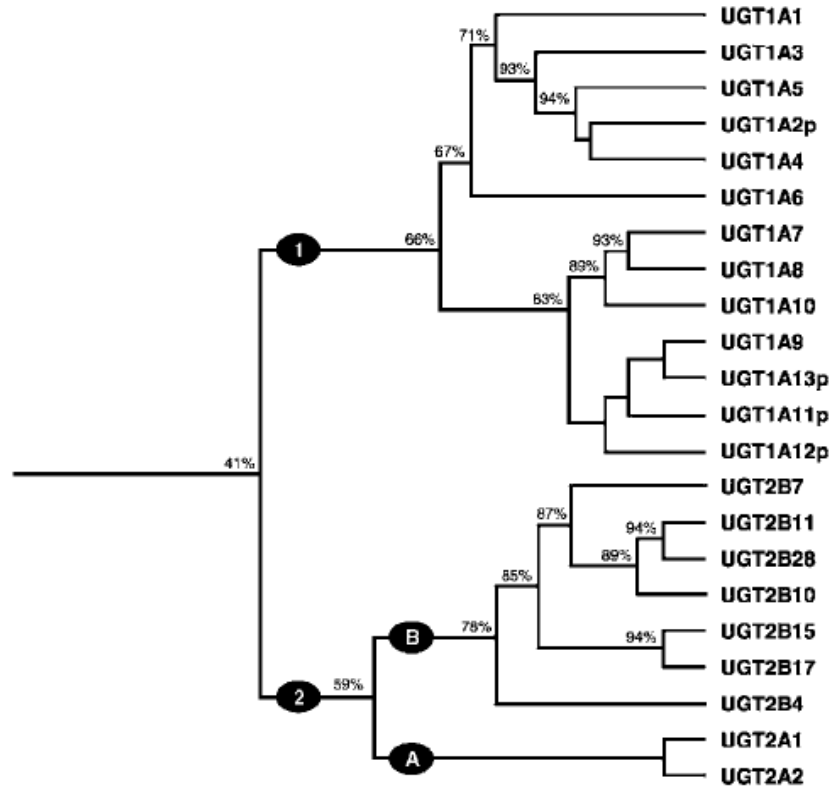
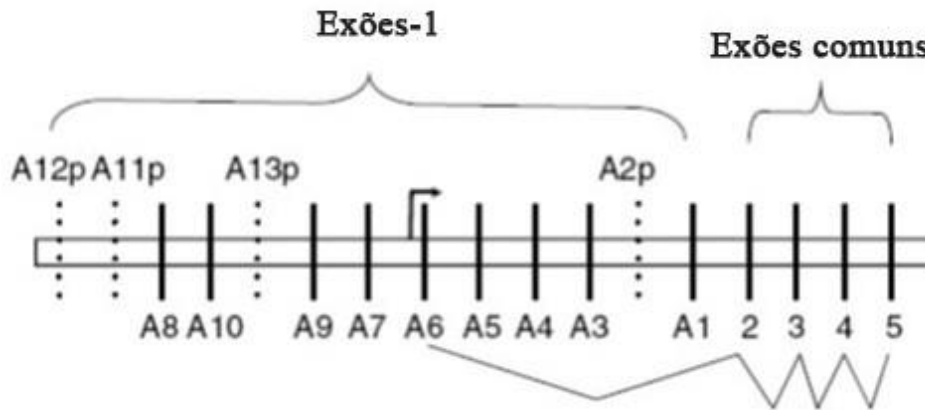


Figura 8 – Árvore filogenética das diferentes isoenzimas UGT.<sup>[26]</sup>

Toda a família UGT1 é derivada de um *locus* de um único gene (*UGT1*) abrangendo cerca de 210 kb no cromossoma 2 (2q37) que é composto por dezassete exões: quatro exões comuns a todos os ácidos ribonucleicos (ARN) UGT1A na extremidade 3' e treze variáveis na extremidade 5' (Figura 9). A região 5' flanqueadora de cada exão-1 contém elementos promotores para a iniciação da transcrição, esta combina um exão-1 individual com os exões comuns 2-5 de forma a produzir transcritos UGT1A únicos, ou seja, para sintetizar a proteína final é associado apenas um dos treze diferentes exões com os quatro exões comuns a todas as isoformas UGT1A (Figura 9).<sup>[24,26]</sup>



**Figura 9 – Complexo genético UGT1A.** Os quatro exões comuns 2-5 sofrem *splicing* com um único exão 1A variável, dando origem a ARN que após tradução resulta na proteína UGT.<sup>[24]</sup>

Dos treze transcritos produzidos, nove codificam proteínas funcionais (UGT1A1, UGT1A3-1A10) e quatro corresponde a pseudogenes (p) (UGT1A2p, UGT1A11p, UGT1A12p e UGT1A13p). As proteínas UGT são compostas por 527-530 resíduos de aminoácidos com peso molecular de 50-57 kDa.<sup>[26]</sup>

A sequência dos exões-1 codifica o domínio de ligação do substrato (N-terminal), por sua vez os quatro exões comuns codificam o domínio de ligação do co-substrato (C-terminal), assim, a presença de diferentes domínios de ligação ao substrato confere a elevada especificidade e selectividade de substratos das proteínas UGT1A. As sequências regulatórias que flanqueiam cada exão-1 ditam o perfil de expressão individual das isoformas UGT1A.<sup>[26]</sup>

A subfamília de enzimas UGT1 catalisa a glucuronidação da bilirrubina e de um grande número de xenobióticos (aminas e fenóis), sendo que alguns destes são substratos farmacologicamente relevantes incluindo: analgésicos, hormonas sexuais, fármacos anticancerígenos (irinotecano e flavopiridol) e carcinogénios específicos do tabaco (hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e NNAL).<sup>[24]</sup>

Ao contrário da subfamília UGT1A, a subfamília UGT2B compreende vários genes individuais como parte de um *cluster* genético localizado no cromossoma 4 (4q13-q21) e como membros desta incluem-se: UGT2B4, 2B7, 2B10, 2B11, 2B15, 2B17 e 2B28, bem como alguns pseudogenes. Os membros desta subfamília catalisam a glucuronidação de ácidos biliares, esteróides e alguns fármacos.<sup>[24,26]</sup>

A ampla gama de substratos das UGTs humanas incluem compostos com grande diversidade estrutural, havendo sobreposição da especificidade para alguns dos substratos destas proteínas. Mesmo nos casos em que a homologia entre UGTs da mesma subfamília atinja 95%, a especificidade de substratos mantém-se distinta. Embora partilhem um elevado grau de sobreposição de especificidade de substratos apresentam expressões tecidulares e celulares distintas dentro de um tecido. Assim, em situações em que UGTs específicas estão inactivas ou menos abundantes, as características funcionais (especificidade, eficácia, expressão tecidular e celular) de outras UGTs não são suficientes para compensar a deficiência daquele enzima.<sup>[26]</sup>

Logo, a existência de polimorfismos genéticos em quase todas as UGTs confere grande importância à farmacogenómica destes enzimas devido ao seu papel na farmacocinética e farmacodinâmica de carcinogénios e fármacos.<sup>[24]</sup>

### 3.1.2 – ISOENZIMAS UGT E ESPECIFICIDADE DE SUBSTRATOS

Uma grande variedade de fármacos e outros xenobióticos (Tabela 3) são glucuronados no corpo humano pelos isoenzimas UGT que apresentam sobreposição de especificidade de substratos. Assim, enquanto um substrato endógeno como a bilirrubina é quase exclusivamente glucuronado via UGT1A1, o paracetamol é um substrato fenólico de vários isoenzimas UGT1A e 2B. Por sua vez, a serotonina é um substrato altamente específico da UGT1A6, enquanto a UGT2B7 catalisa a glucuronidação da zidovudina e morfina.<sup>[24]</sup>

As proteínas UGT são diferencialmente expressas tanto no fígado como em vários tecidos extra-hepáticos.<sup>[24]</sup>

O elevado grau de conservação da estrutura, bem como a expressão tecidular diferenciada e a sobreposição da especificidade de substratos indicam o papel crítico destas proteínas na destoxificação e eliminação de xenobióticos e endobióticos lipofílicos de forma específica em diferentes tecidos (Tabela 3).<sup>[24]</sup>

Isoenzima	Expressão Tecidular	Substratos
<b>UGT1A1</b>	Tecido biliar, cólon, intestino, fígado, estômago	SN-38 Etopósido EGCG PhIP N-OH PhIP E1, E2 (OH-, MeO-) Flavopiridol
<b>UGT1A3</b>	Tecido biliar, cólon, fígado, estômago	Flutamina Genisteína

		TA-1801A E1, E2 (OH-, MeO-)
<b>UGT1A4</b>	Tecido biliar, cólon, intestino, fígado	Tamoxifeno Benzidina Cotinina Nicotina PhIP N-OH PhIP NNAL
<b>UGT1A6</b>	Tecido biliar, cérebro, cólon, rim, laringe, fígado, pulmão, estômago	PCBs Flutamina
<b>UGT1A7</b>	Esôfago, tecido orolaringico, estômago	SN-38 HCAs PAHs
<b>UGT1A8</b>	Cólon, esôfago, intestino, rim, laringe	$\alpha$ -Benzopireno Crisina Quercetina E1, E2 (OH-, MeO-)
<b>UGT1A9</b>	Mama, cólon, esôfago, fígado, rim, ovário, próstata, pele, testículo	N-OH 2AAF SN-38 Nicotina Cotinina PhIP N-OH PhIP Flavopiridol Benzidina E1, E2 (OH-, MeO-)
<b>UGT1A10</b>	Tecido biliar, cólon, esôfago, intestino, tecido orolaringico, estômago	Raloxifeno SN-38 E1, E2 (OH-, MeO-) $\alpha$ -Benzopireno
<b>UGT2B4</b>	Tecido adiposo, supra-renais, mama, rim, fígado, pulmão, ovário, placenta, próstata, pele, testículo	4-OHE1 Androsterona Hidrocotinina
<b>UGT2B7</b>	Cérebro, mama, cólon, esôfago, intestino, rim, fígado, pulmão, pâncreas	Epirubicina ATRA E1, E2 (OH-, MeO-) Hidroxicotinina TA-1801A Benzidina Farnesol NNAL NSAIDs
<b>UGT2B15</b>	Tecido adiposo, mama, esôfago, rim, fígado, pulmão, ovário, placenta, próstata, pele, testículo, útero	Tamoxifeno Esteróides sexuais Hidroxicotinina Dihidrotestosterona Flavonóides
<b>UGT2B17</b>	Fígado, próstata	Androgénios Flavonóides Antraquinonas

Tabela 3 – Substratos das isoenzimas UGT.<sup>[24]</sup>

### 3.2 – UGT1A1

A UGT1A1 é o principal isoenzima responsável pela glucuronidação e destoxificação da bilirrubina. Mais de sessenta mutações do gene *UGT1A1* foram identificadas e caracterizadas, devido a casos de hiperbilirrubinémias não conjugadas como o síndrome de Gilbert's (suave e assintomático) e o síndrome de Crigler-Najjar (severo e sintomático). É também de reconhecida importância a influência de polimorfismos neste gene na resposta a fármacos anticancerígenos como o Irinotecano.<sup>[24]</sup>

#### 3.2.1 – VARIANTES UGT1A E UGT1A1

São inúmeros os polimorfismos genéticos no complexo genético *UGT1* (Tabela 4), os quais têm um impacto profundo na saúde dos indivíduos portadores, especialmente aqueles que levam à síntese de proteínas UGT1A1 com actividade modificada. A maioria das alterações no gene *UGT1* correspondem a mutações raras associadas com as duas formas familiares severas dos síndromes de hiperbilirrubinémia não conjugada (Crigler-Najjar tipo I e II).<sup>[24,26]</sup>

Alelo	Alteração nucleotídica	Alteração funcional
<b><i>UGT1A1</i></b>		
UGT1A1*1	Wild Type	
UGT1A1*6	211 G>A	G71R
UGT1A1*7	1456 T>G	Y486D
UGT1A1*27	686 C>A	P229Q
UGT1A1*28	TAATA7	Redução na taxa de transcrição
<b><i>UGT1A3</i></b>		
	17 A>G	Q6R
	31 T>C	W11R
	133 C>T	R45W
	140 T>C	V47A
<b><i>UGT1A4</i></b>		
	70 C>A	P24T
	142 T>G	L48V
	31 C>T	R11W
<b><i>UGT1A6</i></b>		
	19 T>G	S7A
	269 G>A	R90H
	308 C>A	S103X
	541 A>G	T181A
	552 A>C	R184S
<b><i>UGT1A7</i></b>		
	343 G>A	G115S
	387 T>G	N129K
	391 C>A	R131K
	392 G>A	R131K
	514 G>C	E139D
	622 T>C	W208R
<b><i>UGT1A8</i></b>		

<b>UGT1A8*2</b>	518 C>G	A173G
<b>UGT1A8*3</b>	830 G>A	C277Y
<b>UGT1A9</b>	-109 a -98 A(T) <sub>n</sub> AT; n= 9/10	
	-87 G>A	
	8 G>A	C3Y
	98 T>C	M33T
	153 G>A	R51R (silenciosa)
	588 G>T	G196G
	726 T>G	Y242X
	766 G>A	D256N
	1143 C>T	
	1152 G>A	
	1219 A>T	
	1313 C>A	
<b>UGT1A10</b>	177 G>A	M59I
	415 G>A	E139K
	605 C>T	T202I
	719 C>T	T240M
	730 C>A	L244I

**Tabela 4** – Exemplos de polimorfismos nos genes da família *UGT1A*.<sup>[24]</sup>

A *UGT1A1* é o principal produto do gene *UGT1* que catalisa a glucuronidação da bilirrubina, um produto da decomposição do heme que necessita de ser removido do organismo.<sup>[26]</sup>

Entre as cerca de sessenta mutações do gene *UGT1A1* incluem-se SNPs, deleções e inserções (Tabela 5).<sup>[26]</sup>

Alelos	Variantes	Alteração nucleotídica	Exão	Alteração funcional	Doença
1	*1	<i>Wild type</i> A(TA) <sub>6</sub> TAA	---	---	---
2	*2	879 del 13	2	Truncada	CN1
3	*3	1124 C→T	4	S375F	CN1
4	*4	1069 C→T	3	Q357X	CN1
5	*5	991 C→T	2	Q331 del 44	CN1
6	*6	211 G→A	1	G71R	Gilbert
7	*7	1456 T→G	5	Y486D	CN2
8	*8	625 C→T	1	R209W	CN2
9	*9	992 A→G	2	Q331R	CN2
10	*10	1021 C→T	3	R341X	CN1
11	*11	923 G→A	2	G308E	CN1
12	*12	524 T→A	1	L175Q	CN2
13	*13	508 del 3	1	F170del	CN1
14	*14	826 G→C	1	G276R	CN1
15	*15	529 T→C	1	C177R	CN2
16	*16	1070 A→G	3	Q357R	CN1
17	*17	1143 C→G	4	S381R	CN1
18	*18	1201 G→C	4	A401P	CN1
19	*19	1005 G→A	3	W335X	CN1
20	*20	1102 G→A	4	A368T	CN1
21	*21	1223 ins G	4	<i>Frameshift</i>	CN2
22	*22	875 C→T	2	A291V	CN1
23	*23	1282 A→G	4	K426E	CN1
24	*24	1309 A→T	5	K437X	CN1
25	*25	840 C→A	1	C280X	CN1
26	*26	973 del G	2	<i>Frameshift</i>	CN2

27	*27	686 C→A	1	P229O	Gilbert
28	*28	A(TA) <sub>7</sub> TAA	Promotor	Reduzida	Gilbert
29	*29	1099 C→G	4	R367G	Gilbert
30	*30	44 T→G	1	L15R	CN2
31	*31	1609 CC→GT	4	P387R	CN1
32	*32	1006 C→T	3	R336W	CN1
33	*33	A(TA) <sub>5</sub> TAA	Promotor	Aumentada	---
34	*34	A(TA) <sub>8</sub> TAA	Promotor	Reduzida	---
35		991 C→T	2	Q331X	CN2
36		1201 G→C/1308 A→T	4/5	A401P/K437X	CN1
37		872 C→T/1282 A→G	2/4	A291V/K426E	CN1
38		826 G→T	1	G276R	CN1
39		120-121 del CT	1	Frameshift	CN1
40		1391 A→C/N (TA) <sub>7</sub> TAA	5	E464A	CN2
41		881 T→C	2	I294T	CN2
42		698 A→C	1	L233A	---
43		115 C→G	1	H39D	CN1
44		222 C→A	1	Y74X	CN1
45		517 del C	1	Frameshift	CN1
46		722-723 del AG	1	Frameshift	CN1
47		671 T→G/722-723 del AG	1	V224G/Frameshift	CN2
48		1046 del A	3	Frameshift	CN1
49		1223 del A/N	4	Frameshift/N	CN1
50		1130 A→G/N	4	H377R/N	CN2
51		1133 G→T	4	G377V	CN2
52		1451 G→A	5	W484X	CN1
53		1452 G→A	5	W484X	CN1
54		1490 T→A/N	5	L497X/N	CN1
55		Local aceitador de <i>splicing</i>	Intrão 1		CN1
56		Local dador de <i>splicing</i>	Intrão 3		CN1
57		145 C→T	1	Q49X	CN1
58		625 C→T	1	R209W	CN2
59		1186 del G	4	Frameshift	CN2
60		-3263 T→A	Promotor	---	Gilbert
61		Local dador de <i>splicing</i> G→A	Intrão 3		CN1
62		247 T→C	1	L83F	Gilbert
63		877 T→A/878-890 del	2	Frameshift/del	CN1

Tabela 5 – Variantes do gene *UGT1A1*.<sup>[26]</sup>

### 3.2.2 – UGT1A1\*28

Entre todos os polimorfismos do gene *UGT1A1* destaca-se uma repetição de dinucleótidos na região da caixa TATA do promotor do *UGT1A1*. A variação no número de repetições de A(TA)<sub>n</sub>TAA leva a quatro alelos variantes: n=5 UGT1A1\*33, n=6 UGT1A1\*1, n=7 UGT1A1\*28 e n=8 UGT1A1\*34 (Figura 10).<sup>[24,26,27,28]</sup>

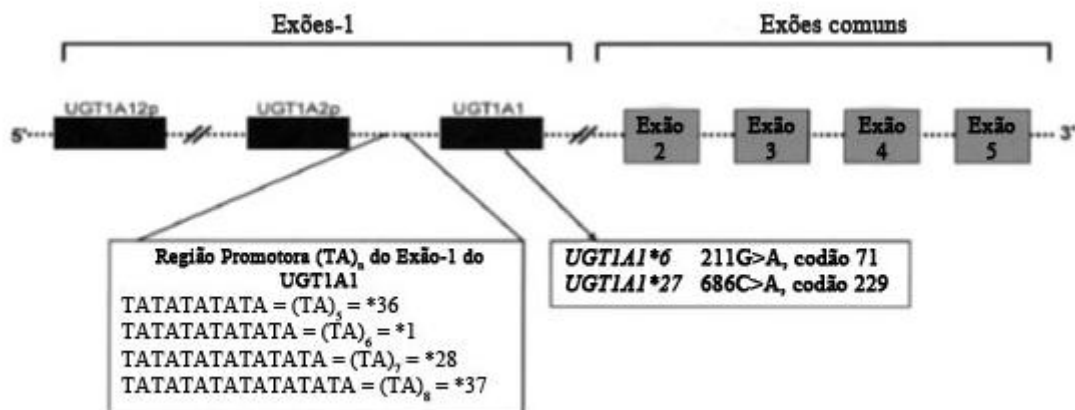


Figura 10 – Esquema de parte do gene *UGT1A1* e localização de alguns polimorfismos de interesse.<sup>[28]</sup>

O aumento do número de repetições na região do promotor leva a uma diminuição da taxa de iniciação da transcrição do gene *UGT1A1*.<sup>[24,26,27,28]</sup>

O alelo WT (*UGT1A1*\*1) contem seis repetições TA, enquanto o alelo variante mais comum (*UGT1A1*\*28) contem sete repetições TA e está associada, quando em homozigotia, com o síndrome de hiperbilirubinemia não conjugada mais suave (síndrome de Gilbert's). Assim, a mutação *UGT1A1*\*28 é caracterizada pela inserção de TA na região reguladora da caixa TATA [A(TA)<sub>7</sub>TAA] no promotor do gene *UGT1A1*, o que leva a uma redução da actividade de transcrição de cerca de 70%, tratando-se portanto de uma variante (\*28) com baixa expressão.<sup>[24,26,27,28]</sup>

Esta variante é caracterizada por diferenças inter-étnicas, apresentando frequências alélicas e genotípicas variáveis consoante as características populacionais. Assim, em termos genéricos, a variante pode ser encontrada em 0-3% da população Asiática, 2-13% dos Caucasianos e em mais de 16-19% dos Africanos (Tabela 6).<sup>[24,26,27]</sup>

UGT1A1	n	Frequência alélica			Frequência genotípica (%)			
		*1 A(TA) <sub>n</sub> TA Wild type	*28 A(TA) <sub>n</sub> TA Expressão reduzida a ~ 30%	*33 A(TA) <sub>n</sub> TA Expressão aumentada em ~ 20%	*34 A(TA) <sub>n</sub> TA Expressão reduzida em ~ 50%	*1*1 6/6	*1*28 6/7	*28*28 7/7
<b>Alteração funcional</b>								
<b>Características populacionais</b>								
Caucasianos (Escoceses)	77	0.640	0.360	---	---	40	48	12
Caucasianos (Europeus)	71	0.613	0.387	0.000	0.000	34	55	11
Caucasianos (Americanos)	202	0.698	0.295	0.005	0.002	51	37	11
Caucasianos	88	0.715	0.285	0.000	0.000	75	23	2
Caucasianos (Americanos)	603	0.680	0.320	<0.001	<0.001	17	73	10
Caucasianos	71	0.662	0.324	0.007	0.007	45	39	13
Caucasianos (Europeus)	70	0.693	0.307	---	---	46	47	7
Inuites (Canadianos)	88	0.585	0.415	---	---	34	49	17
Asiáticos (Americanos)	47	0.840	0.160	0.000	0.000	70	28	2
Asiáticos	30	0.867	0.133	0.000	0.000	73	27	0
Asiáticos	90	0.855	0.145	0.000	0.000	74	23	3
Asiáticos (Japoneses)	27	0.981	0.019	---	---	96	4	0
Africanos (Americanos)	200	0.520	0.380	0.080	0.020	28	36	17
Africanos (Americanos)	101	0.470	0.426	0.035	0.069	26	37	19
Africanos (Sub-Sarianos)	76	0.450	0.427	0.080	0.043	18	41	17
Africanos (Americanos)	54	0.519	0.407	0.065	0.009	24	46	17
Italianos	98	0.640	0.360	---	---	44	40	16
Ameríndios	81	0.850	0.150	0.000	0.000	74	22	4
Indianos Parkana	32	0.672	0.328	0.000	0.000	38	59	3
Hispânicos	44	0.610	0.380	0.010	0.000	41	41	16

Tabela 6 – Distribuição inter-étnica das frequências alélicas e genotípicas das variações polimórficas do gene *UGT1A1*.<sup>[26]</sup>

### 3.3 – Irinotecano

O Irinotecano (CPT-11) (Figura 11) é um derivado semi-sintético da camptotecina, um alcalóide citotóxico obtido a partir da *Camptotheca acuminata*. Os derivados da camptotecina são inibidores da enzima topoisomerase I, que está envolvida

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano

nas alterações no enrolamento do ADN durante a replicação, prevenindo assim a síntese de ácidos nucleicos.<sup>[29,30,31]</sup>

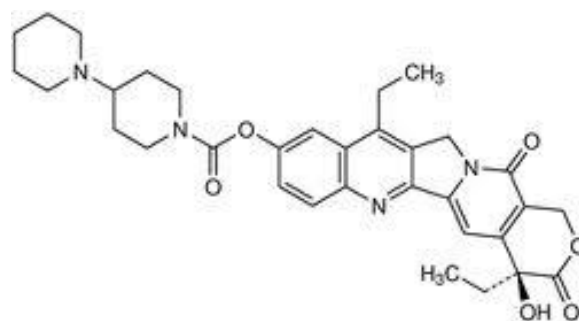


Figura 11 – Estrutura química do Irinotecano (CPT-11).<sup>[29]</sup>

O CPT-11 tem um perfil farmacológico extremamente complexo, que está dependente de vários enzimas envolvidos na sua transformação metabólica e de proteínas de transporte activo, estas regulam os mecanismos de absorção intestinal e secreção hepatobiliar do fármaco. Além disto, o CPT-11 é quimicamente único devido à presença de uma cadeia lateral volumosa na estrutura central, sendo a clivagem enzimática um requisito para a sua actividade farmacológica.<sup>[31]</sup>

O metabolismo do irinotecano é muito complexo e envolve vários enzimas metabolizadores de fase I e fase II. Este é um pró-fármaco que é hidrolisado por esterases (CESs) no fígado, intestino e citoplasma no seu metabolito activo SN-38 (Figura 12) que se liga e inibe a função da topoisomerase I.<sup>[30,32,33]</sup>

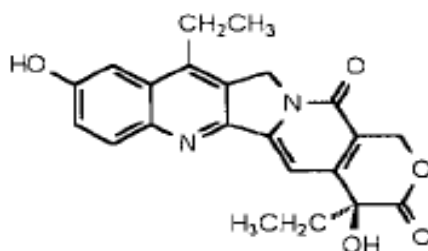


Figura 12 – Estrutura química do metabolito activo SN-38.<sup>[31]</sup>

A topoisomerase I “desenrola” o ADN fazendo rupturas transitórias das cadeias simples que aliviam a torção do ADN “superenrolado”, nesta forma o ADN serve como modelo, estando apto para a replicação ou transcrição. Normalmente, este estado é transitório pois as quebras no ADN são rapidamente reparadas pela topoisomerase I, no

entanto, na presença de SN-38 ocorre a inibição desta religação havendo estabilização do complexo ADN clivado – topoisomerase I o que leva às quebras na cadeia de ADN e à morte da célula (Figura 13).<sup>[32]</sup>

A ligação éster do irinotecano é clivada pelas CESs de modo a formar o metabolito primário farmacologicamente activo (SN-38), que por sua vez é conjugado pelos isoenzimas UGT (principalmente UGT1A1) para formar um ácido  $\beta$ -glucurónico conjugado inactivo (SN-38G). Outra via importante do metabolismo do irinotecano consiste na oxidação da cadeia lateral bipiperidina mediada pelo CYP3A4, que resulta na formação do metabolito APC (Figura 13).<sup>[30]</sup>

O perfil farmacológico do irinotecano é ainda complicado pelo facto das suas vias de eliminação serem mediadas por proteínas localizadas na membrana e dependentes de energia, que realizam e facilitam os mecanismos de efluxo. Estas proteínas pertencem à superfamília de transportadores ABC e incluem o *MDR1/P-glicoproteína* (ABCB1), a *MRP-1* proteína 1 associada a resistência a vários fármacos (ABCC1) e a sua hómologa *MRP-2* (ABCC2) (Figura 13).<sup>[30]</sup>

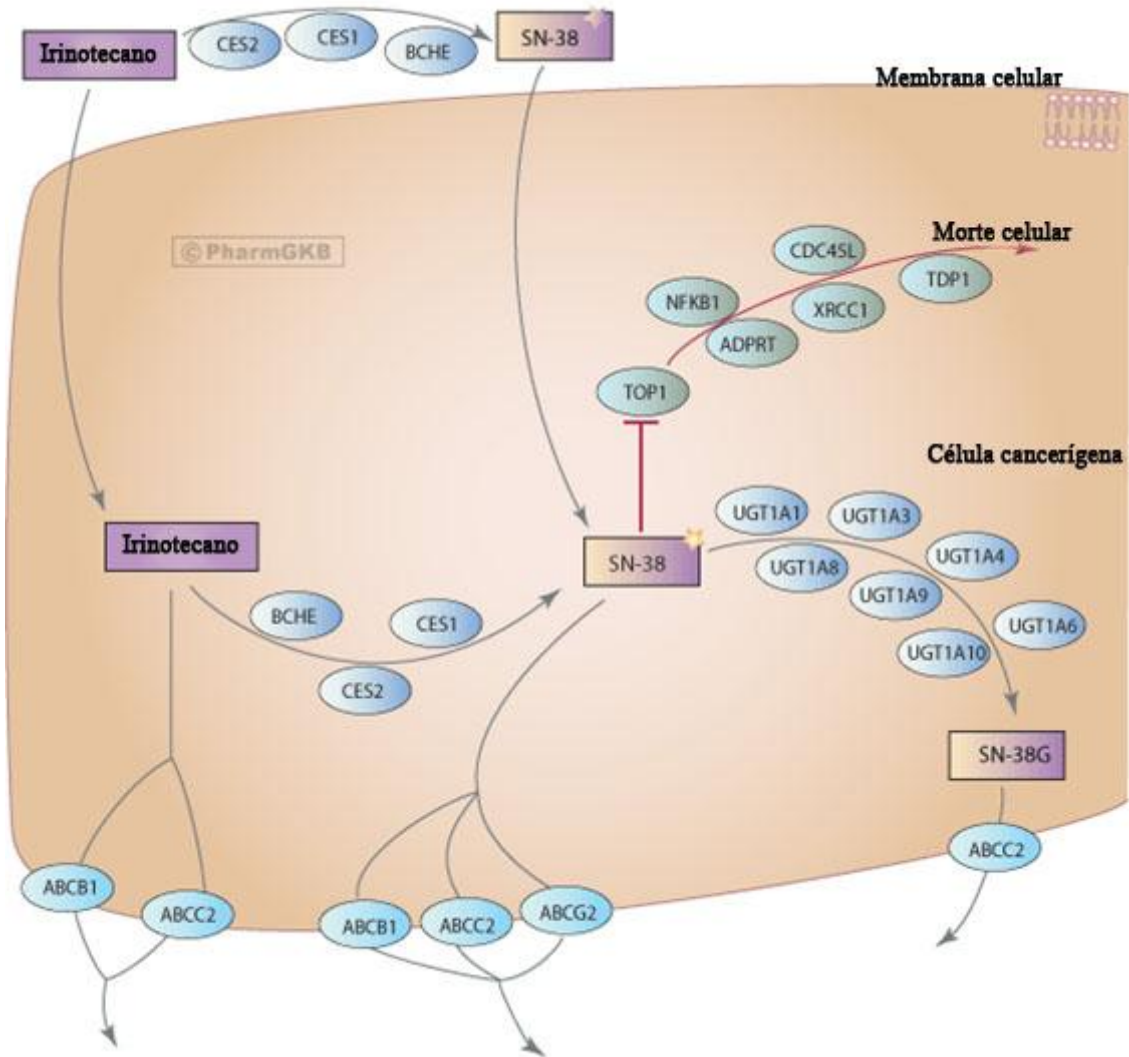


Figura 13 – Mecanismo de acção e farmacodinamia do irinotecano nas células cancerígenas.<sup>[33]</sup>

O metabolismo hepático e a secreção biliar são as principais vias de eliminação do CPT-11, com grande contribuição de várias classes de enzimas incluindo: CESs, UGTs, CYP3As e  $\beta$ -glucuronidases (Figura 14).



Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano

das várias isoformas UGT, sendo que a UGT1A1 é a isoforma maioritariamente responsável por esta conversão.<sup>[31]</sup>

Para além destes, foram identificados outros metabolitos quantitativamente importantes do CPT-11 cuja formação é dependente dos CYP3As. Destes, o APC é o metabolito maioritário detectado no plasma, o qual é formado pela oxidação mediada pelo CYP3A do grupo piperidina distal no carbono dez do CPT-11, por sua vez o NPC é também formado por esta via através da clivagem do grupo piperidina do CPT-11 (Figura 15). O pico de concentração do APC e a sua AUC aumentam linearmente com o aumento da dose de CPT-11, não inibindo a conversão do CPT-11 em SN-38. Similarmente ao CPT-11, o APC apresenta uma pequena actividade citotóxica, porém este apresenta algum efeito inibitório nas acetilcolinesterases, enzima envolvido no síndrome colinérgico agudo observado imediatamente após a administração de CTP-11. No entanto, o APC não contribui directamente para toda a actividade e toxicidade após a administração de CTP-11 pois apresenta menor actividade antitumoral que o SN-38 e menor toxicidade que CPT-11. Por sua vez, o NPC é um fraco inibidor do crescimento celular, bem como um fraco indutor dos complexos topoisomerase I – ADN clivado, apresentando uma menor actividade antitumoral quando comparado com CPT-11.<sup>[31]</sup>

Quando o SN-38G é excretado por via biliar e intestinal, várias bactérias onde se incluem: *Escherichia coli*, espécies *Bacteroides* e *Clostridium perfringens* podem converte-lo de novo no metabolito activo SN-38 através das  $\beta$ -glucuronidasas (Figura 15).<sup>[31]</sup>

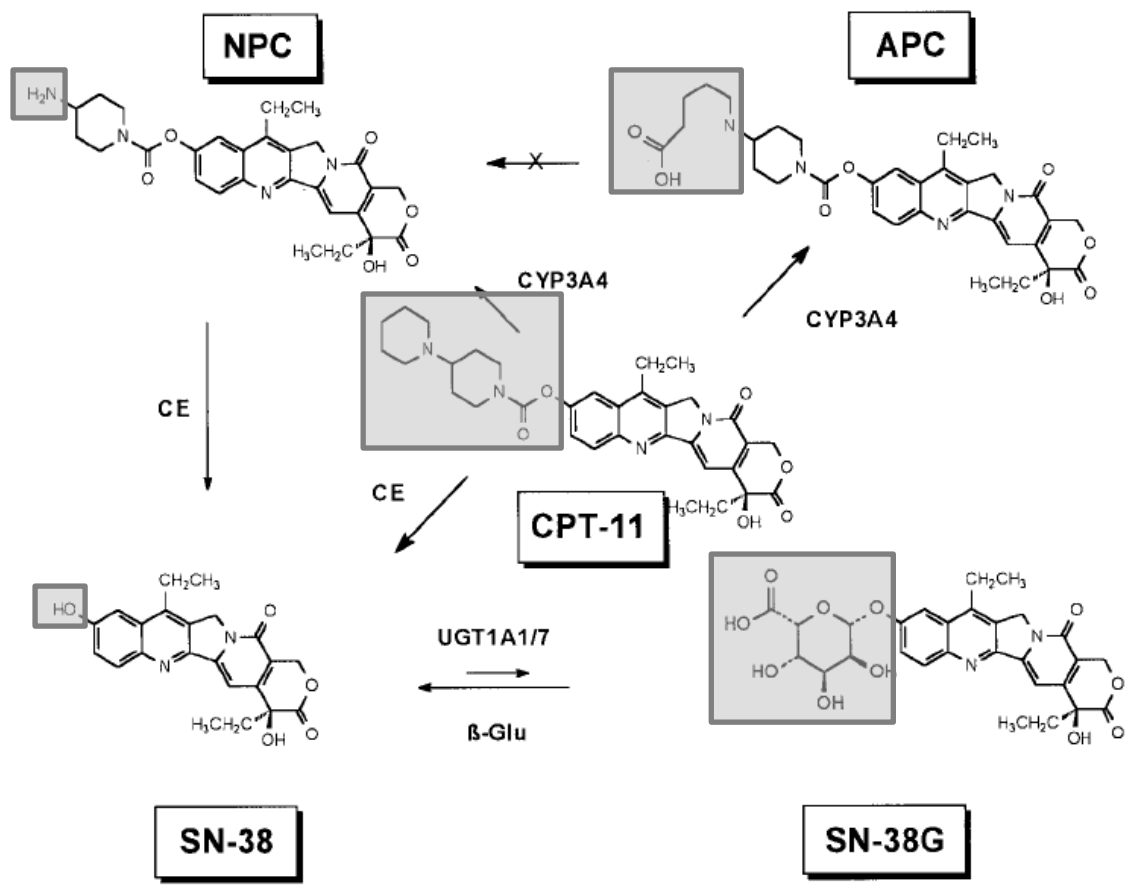


Figura 15 – Alterações estruturais ocorridas ao longo da via metabólica do CPT-11.<sup>[31]</sup>

A excreção do CPT-11 é realizada por três vias: biliar, fecal e urinária. Sendo que o CPT-11 e os seus metabolitos mais comuns (SN-38, SN-38G e APC) são responsáveis pela maioria do material detectado (aproximadamente 93%).<sup>[31]</sup>

Através da eliminação por via urinária, o CPT-11, APC e SN-38G são os compostos predominantemente detectados na urina. O CPT-11 eliminado corresponde a cerca de 10% a 22% da dose administrada, sendo a contribuição do SN-38 mínima, o que está de acordo com a elevada polaridade e solubilidade conferida pela adição do ácido glucurônico, fazendo com que o SN-38G seja mais rapidamente excretado pelos rins.<sup>[31]</sup>

Através da via biliar, é possível detectar concentrações excretadas de CPT-11, SN-38 e SN-38G, sendo detectado também NPC mas em muito baixa concentração.<sup>[31]</sup>

A excreção fecal é a principal via de eliminação do fármaco (CPT-11) sendo eliminada cerca de 63,7% da dose administrada. A elevada concentração de SN-38 e a concentração relativamente baixa de SN-38G nos espécimes fecais são sugestivas da

actividade das  $\beta$ -glucuronidasas no intestino, e conseqüentemente, a razão SN-38:SN-38G é relativamente alta em todos os pacientes. O SN-38, APC e NPC também são excretados via fecal porém em baixas concentrações.<sup>[31]</sup>

### 3.4 – Relação entre a variante *UGT1A1*\*28 e a resposta ao Irinotecano

O metabolismo do irinotecano via glucuronidação é um factor protector contra a toxicidade induzida pelo seu metabolito activo (SN-38), que inclui toxicidade hematológica (neutropénia) e não hematológica (diarreia, náuseas e/ou vômitos).<sup>[35,36]</sup>

As diferenças hereditárias na capacidade de glucuronidação têm grande influência na farmacocinética, efeitos farmacológicos e toxicidade do irinotecano, pois a glucuronidação é a maior via de destoxificação e eliminação do seu metabolito activo SN-38.<sup>[35]</sup>

Aproximadamente 7% a 19% da população caucasiana é homocigótica (7/7) para o alelo variante, que leva a uma expressão reduzida do enzima. Assim, pacientes que possuam o genótipo *UGT1A1*\*28 aos quais é administrada uma dose elevada de irinotecano, apresentam a capacidade de glucuronidação do SN-38 alterada (reduzida) e elevada toxicidade.<sup>[37]</sup>

#### 3.4.1 – INFLUÊNCIA DA VARIANTE *UGT1A1*\*28 NA GLUCURONIDAÇÃO DE SN-38 E NA BILIRUBINA

As diferenças inter-individuais na farmacocinética de SN-38 e SN-38G dependem dos genótipos *UGT1A1*.<sup>[35]</sup>

Este polimorfismo ( $[A(TA)_7TAA]$ ) está associado a uma glucuronidação reduzida do SN-38, quando comparado com o WT *UGT1A1*  $[A(TA)_6TAA]$ , o que resulta na sua farmacocinética variável, uma vez que a formação de SN-38G é reduzida. Assim, pacientes com o genótipo 7/7 tendem a possuir valores elevados de AUC de SN-38 e baixos *ratios* AUC de SN-38G/SN-38.<sup>[36,37,38]</sup>

O tempo de curso do *ratio* da concentração plasmática de SN-38G para SN-38 ( $[SN-38G]/[SN-38]$ ) indica taxas de glucuronidação de SN-38 muito mais baixas para pacientes com os genótipos 6/7 e 7/7, quando comparados com aqueles que são homocigóticos para o alelo WT (6/6) (Figura 16).<sup>[39,40]</sup>

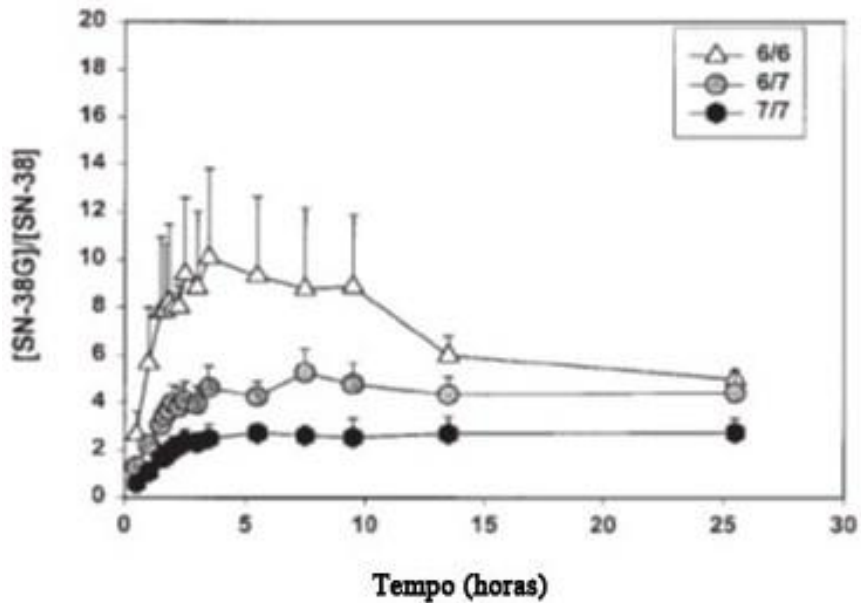


Figura 16 – *Ratio* [SN-38G]/[SN-38] em função do tempo em pacientes tratados com CPT-11, estratificados de acordo com o genótipo do promotor *UGT1A1*. (6/6 n=9, 6/7 n=7 e 7/7 n=4).<sup>[39]</sup>

Os *ratios* metabólicos (SN-38/SN-38G) são mais elevados em pacientes com o genótipo 7/7 quando comparados com pacientes com outros genótipos, consequentemente, a concentração máxima de SN-38G é mais baixa nestes pacientes (Figura 17 e Tabela 7).<sup>[35]</sup>

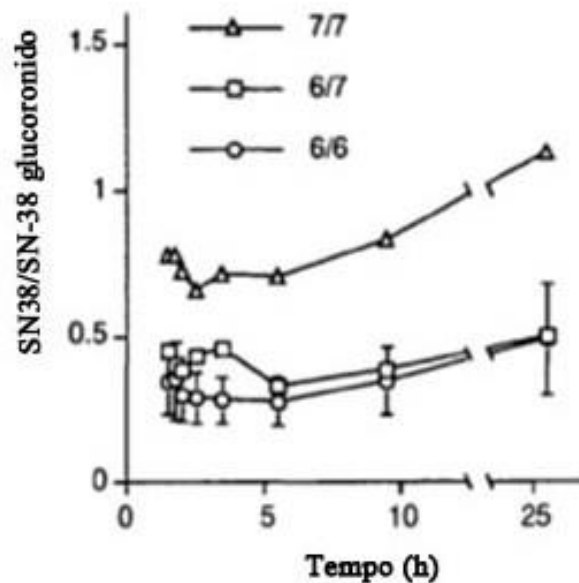


Figura 17 – *Ratios* metabólicos (SN-38/SN-38G) em pacientes com diferentes genótipos.<sup>[35]</sup>

Parâmetros	Genótipos		
	6/6 (n=7)	6/7	7/7
<b>AUC (ng/mL hr)</b>			
<b>Irinotecano</b>	4870 ± 1150 (3450-6160)	4900	7390
<b>SN-38</b>	218 ± 30 (173-270)	478	375
<b>SN-38 glucuronido</b>	571 ± 271 (392-1164)	877	397
<b>SN-38/SN-38 glucuronido</b>	0.43 ± 0.14 (0.19-0.61)	0.55	0.94
<b>C<sub>máx</sub> (ng/mL)</b>			
<b>SN-38 glucuronido</b>	51.2 ± 10.5 (38.1-65.6)	63.3	31.9
<b>Índices biliares (ng/mL hr)</b>	2180 ± 1110 (840-3730)	2670	6980

Tabela 7 – Comparação dos parâmetros farmacocinéticos do Irinotecano e os seus metabolitos entre portadores de diferentes genótipos *UGT1A1*.<sup>[35]</sup>

Há uma redução progressiva nas taxas de glucuronidação do SN-38 em pacientes que são heterozigóticos (6/7) e homozigóticos (7/7) para o polimorfismo (TA)<sub>7</sub>TAA (6/6 > 6/7 > 7/7) (Tabela 8). Consequentemente, os níveis circulantes de SN-38 são mais elevados em pacientes com o polimorfismo (TA)<sub>7</sub>TAA, o que se reflecte no aumento significativo dos valores de AUC<sub>SN-38</sub> em pacientes com os genótipos 6/7 e 7/7 (7/7 > 6/7 > 6/6) (Tabela 8). Assim, estes pacientes apresentam valores baixos de AUC<sub>SN-38G</sub> quando comparados com os portadores do genótipo WT (6/6) (Tabela 8).<sup>[39,40]</sup>

Genótipo UGT1A1	N	Frequência	Ratio de glucoronidação de SN-38	AUC <sub>0-t</sub> (SN-38) (ng h <sup>-1</sup> mL <sup>-1</sup> )	AUC <sub>0-t</sub> (SN-38G) (ng h <sup>-1</sup> mL <sup>-1</sup> )	Índices biliares
6/6	9	0.45	9.28 (3.77)	205.13 (23.52)	1631.54 (459.67)	2728.82 (452.36)
6/7	7	0.35	4.04 (0.65)	288.61 (25.51)	1144.44 (200.59)	4970.91 (1242.31)
7/7	4	0.20	2.41 (0.54)	531.37 (169.82)	1236.96 (397.70)	9685.61 (2411.57)

Tabela 8 – Frequência dos genótipos do promotor *UGT1A1* e comparação dos parâmetros farmacocinéticos do SN-38.<sup>[39]</sup>

A *UGT1A1* catalisa também a glucuronidação e destoxificação da bilirubina, havendo assim uma relação entre o genótipo *UGT1A1* e os níveis de bilirubina. Logo, pacientes com os genótipos 6/7 e 7/7 apresentam índices biliares elevados (7/7 > 6/7 > 6/6) (Figura 17 e Tabelas 7 e 8), existindo uma correlação inversa entre o número de repetições TA e a actividade de glucuronidação da bilirubina.<sup>[35,38,39,40]</sup>

Assim, os níveis de bilirubina são um parâmetro preditivo da toxicidade provocada pelo irinotecano, uma vez que valores elevados de bilirubina (síndromes de hiperbilirubinémia não conjugada) pré-tratamento estão associados a polimorfismos no



Existe uma relação entre o aparecimento de diarreia severa e astenia com a condição de heterozigotia e homozigotia para a variante *UGT1A1\*28*, sendo que a variável relacionada com o genótipo é a diarreia que, por sua vez leva à condição de astenia (Tabela 9). A presença de toxicidade hematológica severa (graus III/IV de neutropenia, anemia ou trombocitopénia) aumenta desde os pacientes WT para os homozigóticos *UGT1A1\*28* (Tabela 9).<sup>[42,43]</sup>

Genótipo	N	Astenia	Diarreia	Hematológica	Náusea	Mucosite	Infecção
6/6	40	10 (25%)	7 (17%)	6 (15%)	5 (12%)	1 (3%)	6 (15%)
6/7	45	17 (38%)	15 (33%)	12 (27%)	10 (22%)	2 (4%)	2 (4%)
7/7	10	7 (70%)	7 (70%)	4 (40%)	2 (20%)	0 (0%)	0 (0%)
P	---	<b>0.03</b>	<b>0.005</b>	0.2	0.4	0.4	0.13

Tabela 9 – Relação entre os genótipo *UGT1A1\*28* e reacções adversas de grau III-IV.<sup>[42]</sup>

O grau IV de neutropénia é muito mais comum em pacientes com o genótipo 7/7 comparado com os que possuem 6/7 e 6/6, estando o genótipo TA *indel* significativamente associado com o ANC Nadir ( $7/7 < 6/7 < 6/6$ ) (Figura 19).<sup>[41,42,43]</sup>

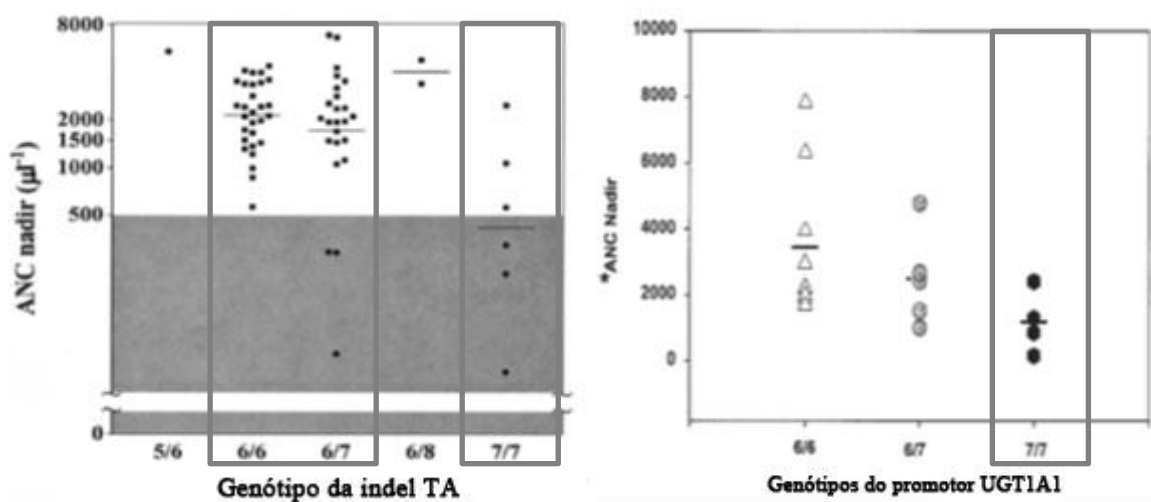


Figura 19 – Relação entre ANC nadir e os genótipos do promotor *UGT1A1* em pacientes após o tratamento com irinotecano.<sup>[39,41]</sup>

Existe uma correlação entre a presença de neutropénia e os valores de bilirubina, tendo em conta que, pacientes que apresentam grau IV de neutropénia possuem valores elevados de bilirubina, quando comparados com aqueles que não apresentam esta reacção adversa. Assim, os valores de bilirubina total pré-tratamento são úteis pois

possibilitam a predição da possibilidade do paciente vir a desenvolver esta reacção adversa (grau IV de neutropenia) (Figura 20).<sup>[41]</sup>

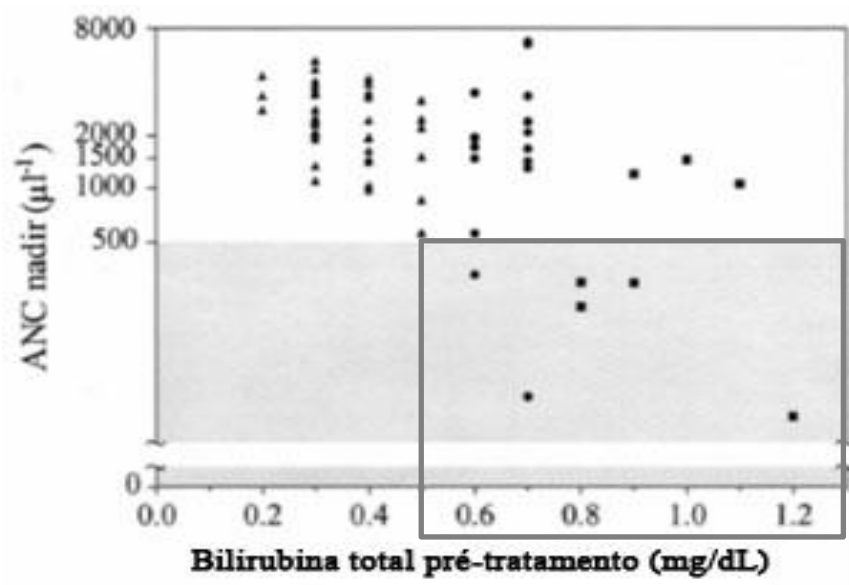


Figura 20 – Relação entre ANC nadir e os níveis de bilirubina total pré-tratamento.<sup>[41]</sup>

Tendo em conta que a área a sombreado representa os níveis de ANC que correspondem a grau IV de neutropénia e que ▲ ● ■ correspondem respectivamente a valores de bilirubina: menores que 0,6 mg/dL, entre 0,6 e 0,7 mg/dL, e maiores que 0,8 mg/dL; verifica-se que para valores de bilirubina total abaixo de 0,6 mg/dL não há ocorrência de grau IV de neutropénia.<sup>[41]</sup>

A ocorrência de reacções adversas ao tratamento com irinotecano está então relacionada com a baixa actividade de glucuronidação provocada pela variante \*28 do gene *UGT1A1*, que por sua vez provoca um aumento dos níveis do metabolito tóxico SN-38 (Figura 21). Assim, pacientes com o genótipo 7/7, para além de níveis elevados de bilirubina pré-tratamento apresentam também a  $AUC_{SN-38}$  elevada, e consequentemente diarreia severa e neutropénia.<sup>[41,42,43,44]</sup>

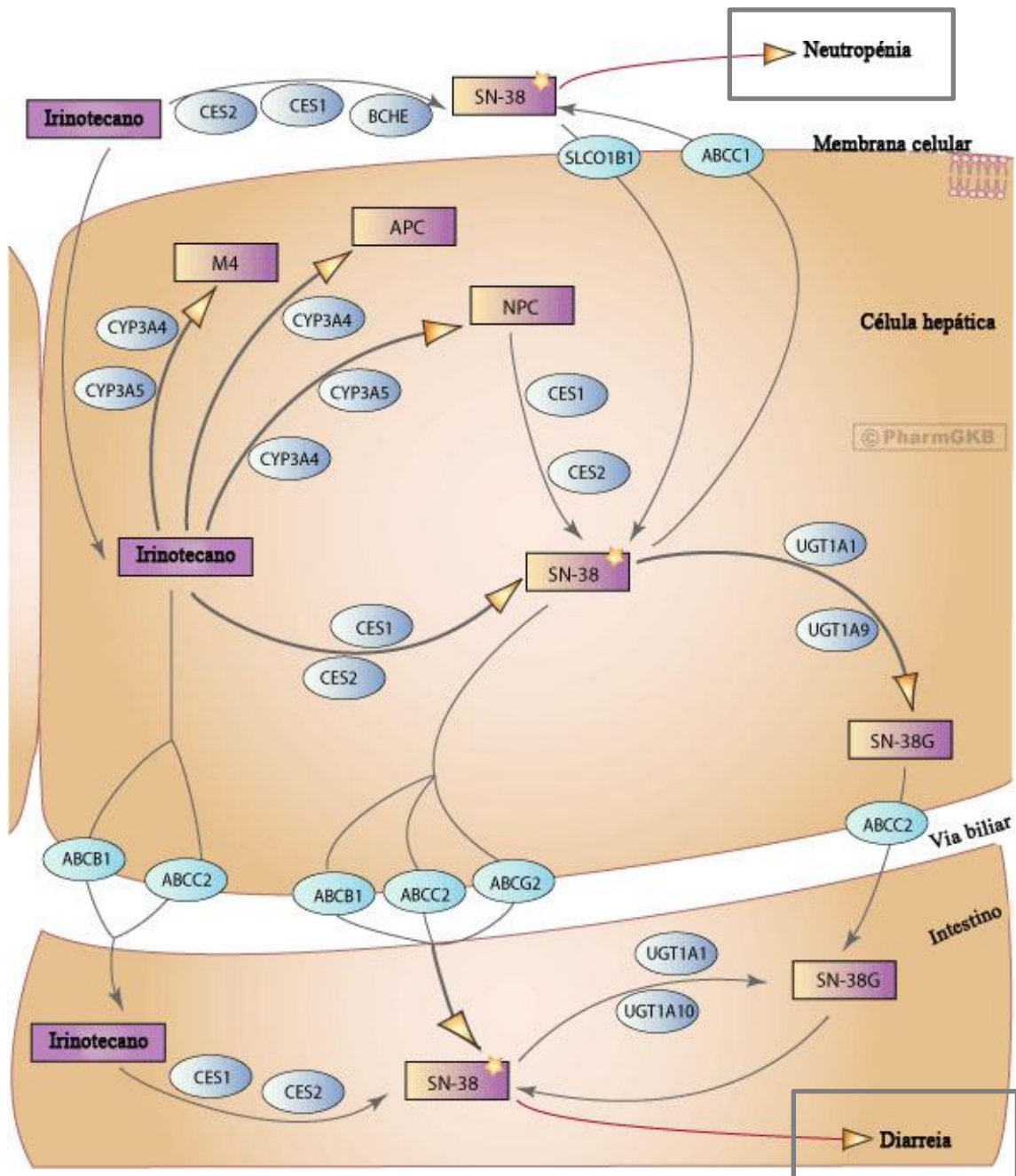


Figura 21 – A influência de níveis elevados de SN-38 e o aparecimento das duas reacções adversas mais comuns ao CPT-11: neutropenia e diarreia.<sup>[34]</sup>

### 3.4.3 – INFLUÊNCIA DA VARIANTE *UGT1A1\*28* NA DOSAGEM DE CPT-11, EFICÁCIA DO TRATAMENTO, *PROGRESSION-FREE SURVIVAL* E *OVERALL SURVIVAL*

Pelo facto da variante *UGT1A1\*28* estar associada com o aumento de reacções adversas induzidas pelo irinotecano, é reconhecida a necessidade de redução da dose administrada (Tabela 10).<sup>[42]</sup>

Características	Número de pacientes (%)		P
	TA6/TA6 ( <i>Wild type</i> )	TA6/TA7 ou TA7/TA7	
<b>Total de pacientes</b>	102 (100.0)	26 (100.0)	
<b>Neutropenia</b>			<.01
Grau 0-2	97 (95.1)	12 (46.2)	
Grau 3, 4	5 (4.9)	14 (53.8)	
<b>Febre neutropênica</b>			<.01
Presença	4 (3.9)	10 (38.5)	
Ausência	98 (96.1)	16 (61.5)	
<b>Trombocitopenia</b>			.17
Grau 0-2	95 (93.1)	22 (84.6)	
Grau 3, 4	7 (6.9)	4 (15.4)	
<b>Diarreia</b>			<0.1
Grau 0-2	96 (94.1)	19 (73.1)	
Grau 3, 4	6 (5.9)	7 (26.9)	
<b>Hospitalização devido a toxicidade</b>			<0.1
Requerida	9 (8.8)	13 (50.0)	
Não requerida	93 (91.2)	13 (50.0)	
<b>Mortalidade relacionada com o tratamento</b>			<0.1
Presença	100 (98.0)	23 (88.5)	
Ausência			
<b>Bilirubina total pré-tratamento</b>			.04
Elevada, >1.5 mg/dL	9 (8.8)	6 (23.1)	
Normal	93 (91.2)	20 (76.9)	
<b>Redução da dose de Irinotecano</b>			<0.1
Necessária	13 (12.7)	11 (42.3)	
Não necessária	89 (87.3)	15 (57.7)	
<b>Troca para oxaliplatina devido à toxicidade</b>			<0.1
Necessária	4 (3.9)	7 (26.9)	
Não necessária	98 (96.1)	19 (73.1)	
<b>Taxa de resposta</b>			.80
CR e PR	46 (45.1)	11 (42.3)	
SD e PD	56 (54.9)	15 (57.7)	

**Tabela 10** – Relação entre *UGT1A1*\*28 e a resposta ao tratamento quimioterápico com irinotecano em pacientes com CCR metastático (CR – Remissão completa; PR – Remissão parcial; SD – Doença estável; PD – Doença progressiva).<sup>[42]</sup>

Esta variante produz grandes alterações na farmacocinética deste fármaco, assim como a necessidade de redução da sua dose, logo seria espectável a sua influência nos resultados do tratamento. No entanto, embora seja necessária uma redução da dose de irinotecano em pacientes com os genótipos TA6/TA7 ou TA7/TA7, não há diferenças significativas na resposta ao tratamento, bem como na *progression-free survival* e *overall survival* (Tabelas 10 e 11 e Figura 22).<sup>[42,43]</sup>

Resposta	Número de pacientes (%)		P
	TA6/TA6 ( <i>Wild type</i> )	TA6/TA7 ou TA7/TA7	
<b>Total de pacientes envolvidos</b>	102 (100.0)	26 (100.0)	
<b>CR</b>	5 (4.9)	2 (7.7)	.80
<b>PR</b>	41 (40.2)	9 (34.6)	
<b>OR</b>	46 (45.1)	11 (42.3)	
<b>SD</b>	39 (38.2)	10 (38.5)	
<b>PD</b>	17 (16.7)	5 (19.2)	

Tabela 11 – Resposta ao tratamento com CPT-11 em paciente que possuem e que não possuem a variante *UGT1A1\*28* (CR – Remissão completa; PR – Remissão parcial; OR – Resposta global; SD – Doença estável; PD – Doença progressiva).<sup>[42]</sup>

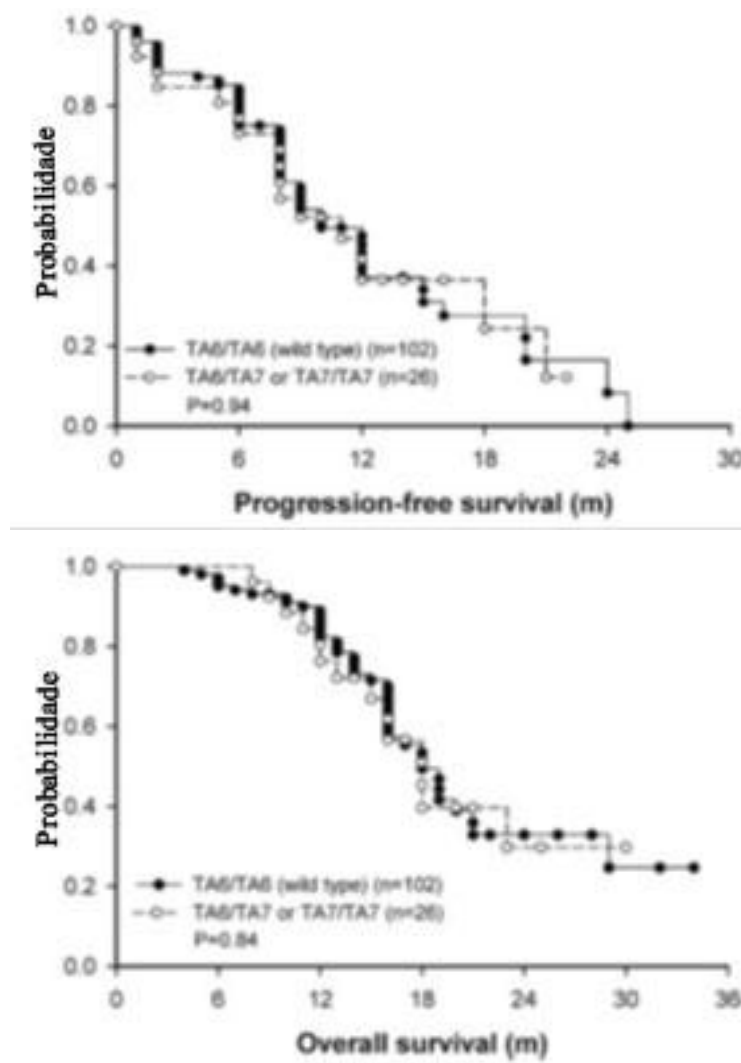


Figura 22 – *Progression-free survival* e *Overall survival* em pacientes em tratamento com CPT-11, que possuem e que não possuem a variante *UGT1A1\*28*.<sup>[42]</sup>

A variante *UGT1A1\*28* não afecta os resultados do tratamento quimioterapêutico com irinotecano em pacientes com CCR metastático, o que permite a

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano  
utilização do polimorfismo que dá origem a esta variante para otimizar (ou reduzir) a dosagem de irinotecano sem afectar a eficácia do tratamento nestes pacientes.<sup>[42]</sup>

### 3.5 – Medicina Personalizada: *Screening* para UGT1A1\*28

O objectivo da farmacogenómica é elucidar o complexo *network* genético responsável pela eficácia e toxicidade dos fármacos, e em seguida, maximizar os efeitos terapêuticos do tratamento com o fármaco e minimizar as reacções adversas a este. Assim, o foco actual desta ciência é encontrar variações genéticas que sejam responsáveis pelos fenótipos clínicos associados à terapia com o fármaco. Este objectivo é usualmente conseguido através da genotipagem de pacientes para um polimorfismo particular, um conjunto de polimorfismos no mesmo gene ou diferentes polimorfismos em diferentes genes, sendo que os genes de interesse são aqueles que estão envolvidos no mecanismo de acção e/ou na disposição a certos fármacos.<sup>[45,46,47]</sup>

Idealmente, os pacientes devem receber um regime que ofereça a máxima eficácia (otimizada) com probabilidades mínimas de efeitos adversos severos, isto só poderá ser realizado se houver meios para determinar os riscos relativos de benefício de toxicidade.<sup>[46]</sup>

Tais factos fazem com que um dos maiores desafios da medicina clínica nesta primeira parte do século XXI seja a forma de individualizar a terapêutica farmacêutica, sendo o irinotecano um excelente candidato à terapêutica individualizada. Aqui surge o dilema: poderemos identificar os pacientes que irão beneficiar da acção antitumoral do irinotecano sem experimentarem toxicidade severa, com risco de vida ou potencialmente fatal? A determinação dos genótipos de *UGT1A1* podem responder a esta questão, na medida em que podem ser clinicamente importante na predição da toxicidade ao irinotecano.<sup>[46,48]</sup>

A farmacogenética do irinotecano (Irinogenética) indica que um polimorfismo do gene *UGT1A1* predispõe os pacientes a severa toxicidade, uma vez que existe uma relação entre este gene e a inactivação do irinotecano. Tal facto levou a *US Food and Drug Administration* (FDA) a recomendar a genotipagem dos pacientes para o alelo UGT1A1\*28 antes do início da terapia, com a recomendação de redução de dose nos pacientes que possuem a variante.<sup>[47,48]</sup>

Assim, primeiramente a USA FDA aprovou a inclusão de informações do genótipo *UGT1A1* na bula do irinotecano, com orientações de dosagem consoante o genótipo:<sup>[28,49,50]</sup>

“...deve ser considerada uma redução na dose inicial, de pelo menos um nível, em pacientes homozigóticos para o alelo *UGT1A1*\*28. ... No entanto, a redução precisa de dose não é conhecida e as modificações subseqüentes na dose devem ser consideradas com base na tolerância individual do paciente ao tratamento”<sup>[28]</sup>

“Indivíduos que são homozigóticos para o alelo *UGT1A1*\*28 estão em risco acrescido de neutropénia após o início do tratamento Camptosar<sup>®</sup>. Uma redução da dose inicial deve ser considerada. ... Pacientes heterozigóticos ... podem estar em risco acrescido de neutropénia; no entanto, os resultados clínicos têm sido variáveis e estes pacientes têm mostrado tolerância às doses iniciais normais.”<sup>[28]</sup>

Em 2005 a FDA aprovou um teste clínico para o alelo *UGT1A1*\*28 (teste molecular *UGT1A1* Invader<sup>®</sup>), fazendo da integração da farmacogenómica na prática clínica para o tratamento do cancro uma realidade.<sup>[28,49,50]</sup>

“..... um teste de diagnóstico *in vitro* para a detecção e genotipagem dos alelos \*1 (TA6) e \*28 (TA7) do gene *UDP Glucuroniltransferase 1A1 (UGT1A1)* em ADN genómico de sangue periférico como identificação de pacientes com maior risco de actividade UDP-glucuroniltransferase diminuída.”<sup>[28]</sup>

A genotipagem para *UGT1A1* apresenta grande utilidade clínica devido ao facto de se poder beneficiar de uma redução das reacções adversas ao fármaco, enquanto ao mesmo tempo evita-se o aumento da morbilidade/mortalidade. Este teste apresenta também elevada sensibilidade e especificidade para os genótipos comuns (1\* e 28\*), bem como elevada validade clínica (correlação entre os genótipos e os fenótipos).<sup>[28,51]</sup>

A incorporação deste teste (*UGT1A1*\*28) na prática clínica, em pacientes que possuem cancro colorectal metastático tratado com irinotecano, resulta numa diminuição dos custos médicos e aumento da qualidade ajustada à esperança de vida. A manutenção da eficácia clínica do irinotecano após a redução de dose em homozigóticos *UGT1A1*\*28 é determinante para o adequado balanço custo/efectividade, uma vez que a realização do teste não seria uma alternativa a considerar se a eficácia do tratamento não fosse totalmente mantida após a redução de dose recomendada pela FDA. Assim, a genotipagem de pacientes para a variante *UGT1A1*\*28 antes da administração de irinotecano é uma estratégia custo/efectiva e pode ser implementada no uso rotineiro, pois melhora os resultados clínicos e a qualidade de vida.<sup>[52,53]</sup>

No entanto, apenas este teste pode ser insuficiente para determinar o risco de severa toxicidade ao irinotecano, uma vez que a genética de cada paciente pode diferir não só pela presença ou ausência de um alelo de risco, mas também pela presença de outros alelos no mesmo gene que alteram este risco. Bem como, a complexidade de estrutura do gene *UGT1A*, o impacto das diferenças étnicas na composição genética de cada paciente e ainda o *linkage disequilibrium* entre alelos.<sup>[47]</sup>

A farmacogenómica está a começar a fornecer informações válidas das variações genéticas, o seu impacto no metabolismo do fármaco, e outros elementos que contribuem para a resposta do paciente ao tratamento, no entanto, a translação desta informação para a prática clínica encontra-se ainda em estadios precoces. Este *screening* genético actualmente disponível, não disponibiliza uma estimativa completa do risco em pacientes tratados com irinotecano, no entanto, fornece informação suplementar de grande importância e validade clínica, sendo outros factores a considerar a história prévia de tratamento e as variáveis paciente/doença que contribuem para o fenótipo. Presentemente, os resultados do teste farmacogenómico fornecem uma estimativa aproximada da toxicidade de sub-grupos de pacientes, como por exemplo aqueles que são homocigóticos para a variante *UGT1A1\*28*, mas não fornecem uma estimativa risco/benefício que permita a individualização da terapia para um paciente específico.<sup>[48]</sup>

O que ainda permanece por determinar é a importância relativa das variações no genótipo *UGT1A1*, em relação a outras enzimas chave, e aos transportadores envolvidos na eliminação do irinotecano. Uma melhor compreensão destas vias e das variações que podem ocorrer em cada um dos seus passos, bem como das variações genéticas e específicas do tumor nas proteínas que são alvos dos fármacos anticancerígenos, são fundamentais de modo a conseguir a individualização da terapêutica com irinotecano. Se todos estes objectivos forem alcançados, então o dia da farmacogenómica clínica para o irinotecano chegará verdadeiramente.<sup>[48]</sup>

## 4 – Conclusão

O tratamento com irinotecano de pacientes que possuem cancro colo-rectal metastático está dependente do gene polimórfico *UGT1A*, principalmente, da variante de baixa actividade *UGT1A1\*28*. Tal relação está subjacente à ocorrência de efeitos adversos severos em pacientes homozigóticos 7/7, bem como nos valores circulantes elevados do metabolito tóxico SN-38 e bilirrubina.

A farmacogenómica apresenta-se, perante este cenário, como uma área fundamental, de tal forma que levou a FDA em 2005 a aprovar o *screening* para o polimorfismo presente no promotor do gene *UGT1A1*, assim como a necessidade de redução da dose a administrar em pacientes que possuam o polimorfismo. A detecção através do teste genético da presença desta inserção TA ( $TA_7$ ), em homozigotia (7/7) ou heterozigotia (6/7), é importante na medida em que fornece informações adicionais que podem ajudar a prever a resposta do individuo à terapêutica, relativamente à sua segurança, na necessidade de redução da dosagem e redução de custos.

Este teste genético está apto a ser utilizado como ferramenta rotineira na prática clínica, no entanto, existem ainda algumas limitações que fazem com que a completa individualização da terapêutica com irinotecano não seja ainda uma realidade efectiva, sendo necessário novos estudos que contornem e clarifiquem estas limitações. De qualquer forma, a farmacogenómica é uma área em grande evolução e já com uma importância preponderante em oncologia.

## 5 – Bibliografia

- [1] – Colorectal Cancer Association of Canada. *The Colon and Rectum*. <http://www.colorectal-cancer.ca/en/just-the-facts/what-cancer/>; consultado a 30/05/2011;
- [2] – Seeley, R.R., Stephens, T.D. & Tate, P. (2003). “Anatomy & Physiology”, McGraw-Hill Higher Education, 2003, 6ª Ed, Volume I, pp. 905-907;
- [3] – World Health Organization (Última actualização Fevereiro 2011). *Cancer*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>;
- [4] – Colon Cancer Alliance. *Colorectal Cancer Overview*. [http://www.ccalliance.org/colorectal\\_cancer/overview.html](http://www.ccalliance.org/colorectal_cancer/overview.html); consultado a 30/05/2011;
- [5] – Colorectal Cancer Association of Canada. *Colorectal Cancer*. <http://www.colorectal-cancer.ca/en/just-the-facts/what-cancer/>; consultado a 30/05/2011;
- [6] – National Cancer Institute at the National Institutes of Health (Última actualização Outubro 2008). *What is colorectal cancer?*. <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/detection/colorectal-screening>;
- [7] – Boyle, P. & Leon, M.E. (2002). “Epidemiology of colorectal cancer” *British Medical Bulletin* **64**: 1-25;
- [8] – Medscape Reference Drugs, Diseases & Procedures (Última actualização Maio 2011). *Colon Adenocarcinoma - Epidemiology*. <http://emedicine.medscape.com/article/277496-overview#a0199>;
- [9] – Boyle, P. & Langman, J.S. (2000). “ABC of colorectal cancer **Epidemiology**” *BMJ* **321**: 805-8

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano

[10] – Cancer Research UK (Última actualização Março 2011). *Bowel (colorectal) cancer – UK incidence statistics.*

<http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/types/bowel/incidence/>;

[11] – Washington Colon Cancer Stars Support, Treatment, Awareness, Resources & Screening. *Distribution of Colon Cancer Worldwide – rate per 100,000 people.*

[http://www.colonstars.org/today/index.php?option=com\\_content&view=section&layout=blog&id=9&Itemid=53&lang=](http://www.colonstars.org/today/index.php?option=com_content&view=section&layout=blog&id=9&Itemid=53&lang=); consultado a 01/06/2011;

[12] – National Cancer Institute at the National Institutes of Health (Última actualização Outubro 2008). *Who is at risk of developing colorectal cancer?.*

<http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/detection/colorectal-screening>;

[13] – American Cancer Society (Última actualização Fevereiro 2011). *Risk factors for colorectal cancer.*

<http://www.cancer.org/Cancer/ColonandRectumCancer/MoreInformation/ColonandRectumCancerEarlyDetection/colorectal-cancer-early-detection-risk-factors-for-c-r-c>;

[14] – Centers for Disease Control and Prevention (Última actualização Abril 2011). *Colorectal Cancer Risk Factors.*

[http://www.cdc.gov/cancer/colorectal/basic\\_info/risk\\_factors.htm](http://www.cdc.gov/cancer/colorectal/basic_info/risk_factors.htm);

[15] – Fauci, A.S., Braunwald, E., Kasper, D.L., Hauser, S.L., Longo, D.L., Jameson, J.L. & Loscalzo, J. (2008). “Harrison Medicina Interna”, McGraw-Hill Companies, 2008, 17ª Ed, Volume I, pp. 573-578;

[16] – Sweetman, S.C. (2009). “Martindale: The Complete Drug Reference”, Pharmaceutical Press, 2009, 36ª Ed, Volume 1, pp. 665-666;

[17] – Cappell, M.S. (2005). “The pathophysiology, clinical presentation, and diagnosis of colon cancer and adenomatous polyps” *Med Clin N Am* **89**: 1-42;

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano

[18] – Fauci, A.S., Braunwald, E., Kasper, D.L., Hauser, S.L., Longo, D.L., Jameson, J.L. & Loscalzo, J. (2008). “Harrison Medicina Interna”, McGraw-Hill Companies, 2008, 17ª Ed, Volume I, pp. 266-268;

[19] – Medscape Reference Drugs, Diseases & Procedures (Última actualização Maio 2011). *Pathophysiology*. <http://emedicine.medscape.com/article/277496-overview#a0104>;

[20] – Lee, W., Lockhart, A.C., Kim, R.B. & Rothenberg, M.L. (2005). “Cancer Pharmacogenomics: Powerful Tools in Cancer Chemotherapy and Drug Development” *The Oncologist* **10**: 104-111;

[21] – Mini, E. & Nobili, S. (2009) “Pharmacogenetics: implementing personalized medicine” *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism* **6(1)**: 17-24;

[22] – Sadée, W. & Dai, Z. (2005) “Pharmacogenetics/genomics and personalized medicine” *Human Molecular Genetics* **14**: R207-R214;

[23] – Bandrés, E., Zárata, R., Ramirez, N., Abajo, A., Bitarte, N. & García-Foncillas, J. (2007) “Pharmacogenomics in colorectal cancer: The first step for individualized-therapy” *World J Gastroenterol* **13(44)**: 5888-5901;

[24] – Nagar, S. & Rimmel, R.P. (2006). “Uridine diphosphoglucuronosyltransferase pharmacogenetics and cancer” *Oncogene* **25**: 1659-1672;

[25] – Tukey, R.H. & Strassburg, C.P. (2000). “HUMAN UDP-GLUCURONOSYLTRANSFERASES: Metabolism, Expression, and Disease” *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol* **40**: 581-616;

[26] – Guillemette, C. (2003). “Pharmacogenomics of human UDP-glucuronosyltransferase enzymes” *The Pharmacogenomics journal* **3**: 136-158;

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano

[27] – Tukey, R.H., Strassburg, C.P. & Mackenzie, P.I. (2002). “Pharmacogenomics of Human UDP-Glucuronosyltransferases and Irinotecan Toxicity” *Mol Pharmacol* **62**: 446-450;

[28] – Palomaki, G.E., Bradley, L.A., Douglas, M.P., Kolor, K. & Dotson, W.D. (2009). “Can *UGT1A1* genotyping reduce morbidity and mortality in patients with metastatic colorectal cancer treated with irinotecan? An evidence-based review” *Genet Med* **11(1)**: 21-34;

[29] – Sweetman, S.C. (2009). “Martindale: The Complete Drug Reference”, Pharmaceutical Press, 2009, 36ª Ed, Volume 1, pp. 737-738;

[30] – Mathijssen, R.H.J., Marsh, S., Karlsson, M.O., Xie, R., Baker, S.D., Verweij, J., Sparreboom, A. & McLeod, H.L. (2003). “Irinotecan Pathway Genotype Analysis to Predict Pharmacokinetics” *Clinical Cancer Research* **9**: 3246-3253;

[31] – Mathijssen, R.H.J., van Alphen, R.J., Verweij, J., Loos, W.J., Nooter, K., Stoter, G. & Sparreboom, A. (2001). “Clinical Pharmacokinetics and Metabolism of Irinotecan (CPT-11)” *Clinical Cancer Research* **7**: 2182-2194;

[32] – Small Molecule Pathway Database (SMPDB). *Irinotecan Pathway*. <http://pathman.smpdb.ca/pathways/SMP00433/pathway?level=2>; consultado a 09/08/2011;

[33] – Pharmacogenomics Knowledge Base (PharmGKB) (Última actualização Abril de 2011). *Irinotecan Pathway, Pharmacodynamics*. <http://www.pharmgkb.org/do/serve?objCls=Pathway&objId=PA2029>;

[34] - Pharmacogenomics Knowledge Base (PharmGKB) (Última actualização Abril de 2011). *Irinotecan Pathway, Pharmacokinetics*. <http://www.pharmgkb.org/do/serve?objCls=Pathway&objId=PA2001>;

[35] – Ando, Y., Saka, H., Asai, G., Sugiura, S., Shimokata, K. & Kamataki, T. (1998). “*UGT1A1* genotypes and glucuronidation of SN-38, the active metabolite of irinotecan” *Annals of Oncology* **9**: 845-847;

[36] – Gagné, J-F., Montminy, V., Belanger, P., Journault, K., Gaucher, G. & Guillemette, C. (2002). “Common Human *UGT1A* Polymorphisms and the Altered Metabolism of Irinotecan Active Metabolite 7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38)” *Mol Pharmacol* **62**: 608-617;

[37] – Toffoli, G., Cecchin, E., Corona, G., Russo, A., Buonadonna, A., D’Andrea, M., Pasetto, L.M., Pessa, S., Errante, D., Pangher, V.D., Giusto, M., Medici, M., Gaion, F., Sandri, P., Galligioni, E., Bonura, S., Boccalon, M., Biason, P. & Frustaci, S. (2006). “The Role of *UGT1A1\*28* Polymorphism in the Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of Irinotecan in Patients With Metastatic Colorectal Cancer” *J Clin Oncol* **24**: 3061-3068;

[38] – Stewart, C.F., Panetta, J.C., O’Shaughnessy, M.A., Throm, S.L., Fraga, C.H., Owens, T., Liu, T., Billups, C., Rodriguez-Galindo, C., Gajjar, A., Furman, W.L. & McGregor, L.M. (2007). “*UGT1A1* Promoter Genotype Correlates With SN-38 Pharmacokinetics, but Not Severe Toxicity in Patients Receiving Low-Dose Irinotecan” *J Clin Oncol* **25**: 2594-2600;

[39] – Iyer, L., Das, S., Janisch, L., Wen, M., Ramírez, J., Karrison, T., Fleming, G.F., Vokes, E.E., Schilsky, R.L. & Ratain, M.J. (2002). “*UGT1A1\*28* polymorphism as a determinant of irinotecan disposition and toxicity” *The Pharmacogenomics Journal* **2**: 43-47;

[40] – Nagar, S. & Blanchard, R.L. (2006). “PHARMACOGENETICS OF URIDINE DIPHOSPHOGLUCURONOSYLTRANSFERASE (UGT) 1A FAMILY MEMBERS AND ITS ROLE IN PATIENT RESPONSE TO IRINOTECAN” *Drug Metabolism Reviews* **38**: 393-409;

[41] – Innocenti, F., Undevia, S.D., Iyer, L., Chen, P.X., Das, S., Kocherginsky, M., Karrison, T., Janisch, L., Ramírez, J., Rudin, C.M., Vokes, E.E. & Ratain, M.J. (2004).

Cancro do Cólon: influência de polimorfismos do gene *UGT1A1* no tratamento com Irinotecano

“Genetic Variants in the *UDP-glucuronosyltransferase 1A1* Gene Predict the Risk of Severe Neutropenia of Irinotecan” *J Clin Oncol* **22**: 1382-1388;

[42] – Liu, C.Y., Chen, P.M., Chiou, T.J., Liu, J.H., Lin, J.K., Lin, T.C., Chen, W.S., Jiang, J.K., Wang, H.S. & Wang, W.S. (2008). “UGT1A1\*28 Polymorphism Predicts Irinotecan-induced Severe Toxicities Without Affecting Treatment Outcome and Survival in Patients With Metastatic Colorectal Carcinoma” *American Cancer Society* **112(9)**: 1932-1940;

[43] – Marcuello, E., Altés, A., Menoyo, A., del Rio, E., Gómez-Pardo, M. & Baiget, M. (2004). “UGT1A1 gene variations and irinotecan treatment in patients with metastatic colorectal cancer” *British Journal of Cancer* **91**: 678-682;

[44] – Hu, Z.Y., Yu, Q. & Zhao, Y.S. (2010). “Dose-dependent association between UGT1A1\*28 polymorphism and irinotecan-induced diarrhea: A meta-analysis” *European Journal of Cancer* **46**: 1856-1865;

[45] – Russo, A., Corsale, S., Cammareri, P., Agnese, V., Cascio, S., Di Fede, G., Macaluso, M. & Bazan, V. (2005). “Pharmacogenomics in Colorectal Carcinomas: Future Perspectives in Personalized Therapy” *Journal of Cellular Physiology* **204**: 742-749;

[46] – McLeod, H.L. & Watters, J.W. (2004). “Irinotecan Pharmacogenetics: Is It Time to Intervene?” *Journal of Clinical Oncology* **22(8)**: 1356-1359;

[47] – Innocenti, F., Vokes, E.E. & Ratain, M.J. (2006). “Irinogenetics: What Is the Right Star?” *Journal of Clinical Oncology* **24(15)**: 2221-2224;

[48] – Deeken, J.F., Slack, R. & Marshall, J.L. (2008). “Irinotecan and Uridine Diphosphate Glucuronosyltransferase 1A1 Pharmacogenetics *To Test or Not to Test, That Is the Question*” *American Cancer Society* **113(7)**: 1502-1510;

[49] – Marsh, S. & McLeod, H.L. (2006). “Pharmacogenomics: from bedside to clinical practice” *Human Molecular Genetics* **15**: R89-R93;

[50] – Shulman, K., Cohen, I., Barnett-Griness, O., Kuten, A., Gruber, S.B., Lejbkowitz, F. & Rennert, G. (2011). “Clinical Implications of UGT1A1\*28 Genotype Testing in Colorectal Cancer Patients” *American Cancer Society* **000**: 1-7;

[51] – Berg, A.O., Armstrong, K., Botkin, J., Calonge, N., Haddow, J., Hayes, M., Kaye, C., Phillips, K.A., Piper, M., Richards, C.S., Scott, J.A., Strickland, O.L. & Teutsch, S. (2009). “Recommendations from the EGAPP Working Group: can *UGT1A1* genotyping reduce morbidity and mortality in patients with metastatic colorectal cancer treated with irinotecan?” *Genet Med* **11(1)**: 15-20;

[52] – Gold, H.T., Hall, M.J., Blinder, V. & Schackman, B.R. (2009). “Cost Effectiveness of Pharmacogenetic Testing for Uridine Diphosphate Glucuronosyltransferase 1A1 Before Irinotecan Administration for Metastatic Colorectal Cancer” *American Cancer Society* **115**: 3858-3867;

[53] – Pichereau, S., Louarn, A.L., Lecomte, T., Blasco, H., Guellec, C.L. & Bourgoin, H. (2010). “Cost-Effectiveness of UGT1A1\*28 Genotyping in Preventing Severe Neutropenia Following FOLFIRI Therapy in Colorectal Cancer” *J Pharm Pharmaceut Sci* **13(4)**: 615-625;