

AVALIAÇÃO DE POSSÍVEIS ASSOCIAÇÕES ENTRE POLIMORFISMOS NOS GENES *GSTP1* E *GSTT1* E REAÇÕES ADVERSAS EM PACIENTES COM TUMORES GINECOLÓGICOS TRATADAS COM PACLITAXEL E CARBOPLATINA

Palavras-Chave: Tumores ginecológicos; Polimorfismo genético; Carboplatina; Paclitaxel.

Autores(as):

Karine Tiemi Nakamura, FCF - UNICAMP

Nadine de Godoy Torso, FCM - UNICAMP

Yasmim Gabriele Matos, FCF - UNICAMP

Clarissa Lourenço de Castro, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Luiz Carlos da Costa Junior, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Giovana Fernanda Santos Fidelis, FCM - UNICAMP

Paulo Caleb Júnior Lima Santos, FCF - UNIFESP

Estela Dias de Oliveira Lemes Ares, FCF - UNICAMP

Julia Camargo Lepore, FCF - UNICAMP

Prof Dr Eder de Carvalho Pincinato, FCM - UNICAMP

Profª Drª Patrícia Moriel (orientadora), FCF - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

O câncer está entre as principais causas de morte mundialmente, sendo considerado um problema de saúde pública. Entre eles, os tumores ginecológicos são um dos mais frequentes em indivíduos do sexo feminino, acometendo o cérvix, endométrio, ovário e vulva. Entre as diferentes modalidades terapêuticas disponíveis atualmente, que incluem intervenções cirúrgicas, quimioterapia e radioterapia, a quimioterapia combinada de paclitaxel e carboplatina é a mais indicada para os estágios mais avançados da doença. No entanto, é amplamente reconhecido que a administração desses agentes antineoplásicos pode desencadear uma série de reações adversas ao medicamento (RAMs).

Tais RAMs podem estar relacionados com a própria genética da paciente, principalmente no que diz respeito aos polimorfismos de genes envolvidos com a detoxificação destes medicamentos. Dessa forma, esse trabalho tem como objetivo principal avaliar possíveis associações entre os

polimorfismos dos genes *GSTP1* e *GSTT1*, enzimas da família GSTs que estão relacionadas com à detoxificação de xenobióticos, e as reações adversas em pacientes com tumores ginecológicos tratadas com paclitaxel e carboplatina.

METODOLOGIA:

Trata-se de um estudo retrospectivo e está contido em um projeto FAPESP de Doutorado, sob orientação da mesma orientadora (processo 2022/06532-3), com estudo e respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) (CAAE: 20406413.6.3001.5404). O TCLE de todos os participantes já foi obtido.

As participantes incluídas neste estudo são mulheres diagnosticadas com tumores ginecológicos e tratadas com paclitaxel e carboplatina, atendidas pelo Hospital de Câncer II pertencente ao Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) no Rio de Janeiro, no período de outubro de 2013 e março de 2017. As amostras de DNA foram extraídas de leucócitos de sangue periférico previamente coletados. Para avaliação das variantes genéticas, foi utilizada a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR) para o gene *GSTP1*, e a técnica de PCR com detecção por curva de melting (*High Resolution Melting*, HRM), também conhecida como curva de dissociação, para o gene *GSTT1*. Esta é uma etapa que ilustra a relação entre a fluorescência da PCR e a temperatura, ela ocorre após a amplificação do DNA alvo, onde a temperatura é gradualmente aumentada, promovendo a desnaturação progressiva dos produtos de PCR, permitindo a determinação precisa da temperatura na qual ocorre a dissociação da dupla hélice do DNA em fitas simples.

Os testes foram conduzidos utilizando sempre três amostras de controle, cujos genótipos eram conhecidos. Essa amostras incluíram uma com a presença do gene *GSTT1*, e outra cujo gene *GSTT1* é *sabidamente deletado*. Além disso, como controle positivo desta reação, foi utilizado o gene da beta-globina, que deveria obrigatoriamente estar amplificado em todas as amostras. Esses testes envolveram a utilização de seis tipos diferentes de mastermix, todos contendo primers AS (sentido anti-sense) e S (sentido-sense).

Foram incluídas no estudo 481 pacientes diagnosticadas com câncer ginecológico e que foram tratadas com paclitaxel e carboplatina, após a realização de avaliação das informações disponíveis, e de cada amostra de DNA, verificando se suas concentrações eram suficientes ou se possuía amostras de sangue total para reextração. Além disso, à priori, as RAMs investigadas foram neuropatia sensorial periférica (NSP), fadiga, mialgia, reações hematológicas (anemia, neuropatia e plaquetopenia) e reações adversas gastrointestinais (náuseas, vômito, diarreia e constipação). As informações sobre as RAMs NSP, fadiga, mialgia e reações gastrointestinais foram coletadas a partir de entrevistas realizadas com as participantes, onde foi realizado preenchimento de um formulário sobre tais reações

adversas. E para as RAMs hematológicas, esses dados foram coletados a partir da análise dos resultados de exames laboratoriais realizados antes e após cada ciclo de quimioterapia.

Todas as RAMs referenciadas anteriormente tiveram sua classificação de acordo com o sistema de classificação denominado *The Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE) (versão 4.03.). O CTCAE consiste em um sistema de padronização que utiliza pontuações, de 1-5, para classificar e reportar eventos adversos em pesquisas e ensaios clínicos, permitindo análises comparativas e a compreensão universal de profissionais e pesquisadores, através da caracterização da intensidade das reações relatadas pelo paciente (PIRES, 2022). As RAMs e seus respectivos graus foram descritos nas Tabelas 1, 2 e 3, com RAMs neuromusculares, hematológicas e gastrointestinais, respectivamente.

Tabela 1. Reações adversas neuromusculares apresentadas pelas participantes do estudo, de acordo com os Critérios Comuns para Eventos Adversos (CTCAE - versão 4).

Reação Adversa	Grau 0 (n, %)	Grau 1 (n, %)	Grau 2 (n, %)	Grau 3 (n, %)	Grau 4 (n, %)	NR (n,%)
NSP (N = 481)	108 (22,5)	97 (20,2)	159 (33,1)	95 (19,8)	2 (0,4)	20 (4,2)
Fadiga (N = 481)	46 (9,6)	138 (28,7)	150 (31,2)	123 (25,6)	4 (0,8)	20 (4,2)
Mialgia (N = 481)	99 (20,6)	126 (26,2)	152 (31,6)	83 (17,3)	1 (0,2)	20 (4,2)

NSP: Neuropatia Sensorial Periférica.

Tabela 2. Reações adversas hematológicas apresentadas pelas participantes do estudo, de acordo com os Critérios Comuns para Eventos Adversos (CTCAE - versão 4).

Reação Adversa	Grau 0 (n, %)	Grau 1 (n, %)	Grau 2 (n, %)	Grau 3 (n, %)	Grau 4 (n, %)	NR (n,%)
Anemia (N = 481)	120 (24,9)	110 (22,9)	184 (38,3)	60 (12,5)	7 (1,5)	0 (0)
Neutropenia (N = 481)	276 (57,4)	55 (11,4)	77 (16,0)	53 (11,0)	20 (4,2)	0 (0)
Plaquetopenia (N = 481)	347 (72,1)	35 (7,3)	57 (11,9)	33 (6,9)	9 (1,9)	0 (0)

Tabela 3. Reações adversas gastrointestinais apresentadas pelas participantes do estudo, de acordo com os Critérios Comuns para Eventos Adversos (CTCAE - versão 4).

Reação Adversa	Grau 0 (n, %)	Grau 1 (n, %)	Grau 2 (n, %)	Grau 3 (n, %)	Grau 4 (n, %)	NR (n,%)
Náusea (N = 481)	144 (29,9)	161 (33,5)	117 (24,3)	39 (8,1)	0 (0)	20 (4,2)
Vômito (N = 481)	266 (55,3)	108 (22,5)	71 (14,8)	15 (3,1)	1 (0,2)	20 (4,2)
Diarreia (N = 481)	266 (55,3)	105 (21,8)	61 (12,7)	27 (5,6)	2 (0,4)	20 (4,2)

**Constipação
(N= 507)**

285 (56,2)

107 (21,1)

75 (14,8)

15 (3,0)

1 (0,2)

24 (4,7)

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Foram inseridas 481 participantes neste estudo. Entre as RAMs avaliadas neste estudo, as mais frequentes foram náuseas (69,1%), diarreia (43,9%), constipação (42,7%) e vômitos (40,9%), todas com predomínio de grau 1 (leve).

Dentre as 481 amostras de DNA, apenas 337 foram genotipadas para o gene *GSTP1* (rs1695) em primeiro momento. Os genótipos dessas amostras, bem como a porcentagem de cada genótipo em diferentes populações, pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 5. Genótipos do polimorfismo *GTSP1* G>A (rs1695).

Polimorfismo (rs10509681)	Número absoluto (Porcentagem)	Coortes Estrangeiras*				
		Africana	Americana	Leste Asiática	Europeia	Sul Asiática
Homozigoto Selvagem (GG)	46 (13,6)	149 (22,5)	81 (23,3)	15 (3,0)	54 (10,7)	50 (10,2)
Heterozigoto (AG)	152 (45,1)	337 (51,0)	168 (48,4)	150 (29,8)	225 (44,7)	188 (38,4)
Homozigoto Variante (AA)	139 (41,2)	175 (26,5)	98 (28,2)	339 (67,3)	224 (44,5)	251 (51,3)

*Provenientes do conjunto de dados populacionais combinados "the 1000 Genomes phase 3" (Martin et. al., 2022).

Pode-se observar que a maioria das participantes avaliadas, possuem genótipo variante para o polimorfismo rs1695, com pouca frequência dos casos de homozigose do genótipo selvagem. Ao comparar esses dados com os de estudos estrangeiros, é possível detectar que a população africana e americana, assim como a deste estudo, apresentam predominância de heterozigotos, enquanto a asiática e sul asiática possuem uma predominância do homozigoto variante. Apesar disso, em todos os casos a homozigose para o genótipo selvagem sempre foi a menos prevalente.

Pacientes com o genótipo GG (rs1695, *GSTP1*) tinham 2,5 vezes menos probabilidade de sentir náuseas (OR: 2,5; $p < 0,05$), mas tinham 2,2 vezes mais chance de sentir diarreia (OR: 2,2; $p < 0,05$) quando comparados com outros genótipos. Enquanto isso, aqueles com o genótipo AA tinham 1,6 vezes mais chance de sentir náuseas (OR: 1,6; $p < 0,05$). Por outro lado, as pacientes com deleção do gene *GSTT1* tinham 65,7 vezes maior chance de sentir fadiga (OR: 65,78; $p < 0,05$) quando comparados com outros genótipos. Segundo um estudo sobre "Sobreviventes de doenças malignas ginecológicas: impacto do tratamento na saúde e no bem-estar", conduzido com 1029 pacientes, a fadiga estava entre os efeitos mais comuns, sendo relatada em 44,3% dos casos. Esses dados evidenciam os problemas de saúde enfrentados por sobreviventes de cânceres ginecológicos e acentuam a necessidade de estudos adicionais sobre o tema (WESTIN, 2016).

CONCLUSÕES:

Com os resultados obtidos até o momento, foi possível observar algumas associações estatísticas relevantes ($p < 0,05$) entre os genes e as RAMs. Os resultados sugerem uma possível associação entre os genótipos AA (rs1695) e náuseas, enquanto o alelo G aparenta ter influência na redução dessa RAM, mas aumenta o risco de diarreia durante o tratamento. E o gene *GSTT1* apresentou resultados que indicam que indivíduos com deleção desse gene possuem maior risco para fadiga.

BIBLIOGRAFIA

1. MARTIN, F. J. et al. Ensembl 2023. *Nucleic Acids Research*, v. 51, n. D1, p. D933–D941, 1 nov. 2022.
2. NCI, NIH, D. Common Terminology Criteria for Adverse Events version 4.03. NIH Publication vol. 4 (2009).
3. PIRES AMT, KANN AG, KERBAUY FR, DE DOMENICO EBL. Autoavaliação de Sintomas pelo Paciente com Câncer: a Hora é Agora. *Rev. Bras. Cancerol.* [Internet]. 18º de outubro de 2022 [citado 11º de março de 2024];68(4):e-152733. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/view/2733>
4. WESTIN, Shannon N. et al. Survivors of gynecologic malignancies: impact of treatment on health and well-being. *Journal Of Cancer Survivorship*, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 261-270, 6 ago. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11764-015-0472-9>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26245979/>. Acesso em: 31 jul. 2024.