

Avaliação de possíveis associações entre variantes do gene *ABCB1* e reações adversas em pacientes com tumores ginecológicos tratadas com paclitaxel e carboplatina

Palavras-Chave: Gene *ABCB1*, Carboplatina, Reação adversa

Autores(as): Julia Camargo Lepore, FCF - Unicamp;

Prof^a. Dr^a. Patrícia Moriel (orientadora), FCF - Unicamp

Nadine de Godoy Torso, FCM - Unicamp; Giovana Fernanda Santos Fidelis, FCM - Unicamp; Julia Tiemi Siguemoto, FCM - Unicamp; Yasmim Gabriele Matos, FCM - Unicamp; Carolina Luchesi Canizares, FCF - Unicamp; Clarissa Lourenço de Castro - INCA (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER); Luiz Carlos da Costa Junior, FCM - USP; Paulo Caleb Júnior Lima Santos, EPM - UNIFESP; Eder C. Pincinato, FCM - Unicamp;

INTRODUÇÃO:

O câncer é a principal causa de morte antes dos 70 anos, com 20 milhões de casos novos em 2020 [1]. Em países em desenvolvimento, a incidência tende a crescer em função da urbanização e das mudanças de estilo de vida [2] [3]. Entre as mulheres, os tumores ginecológicos - que afetam ovário, colo do útero e endométrio - ocupam posição de destaque em incidência e mortalidade [2] [4].

O tratamento padrão recomendado pela Federação Internacional de Ginecologia e Obstetria (FIGO) consiste na combinação de cirurgia com quimioterapia à base de paclitaxel e carboplatina [5] [6]. A carboplatina, um derivado da cisplatina, tem menor associação a reações adversas ao medicamento (RAMs) e atua formando adutos com o DNA, inibindo a transcrição e induzindo apoptose [7]. O paclitaxel, por sua vez, interfere na dinâmica dos microtúbulos, bloqueando a mitose, e levando à morte celular [8].

Apesar da eficácia clínica, ambos os fármacos apresentam RAMs significativas [9]. O paclitaxel está associado principalmente à neuropatia sensorial periférica, limitando por vezes a dose ou duração do tratamento [10]. A carboplatina gera efeitos hematológicos como trombocitopenia, leucopenia e neutropenia, normalmente de curta duração e tratáveis com fatores estimuladores [11]. Embora menos neurotóxica que a cisplatina, a carboplatina pode causar neurotoxicidade, especialmente em combinação com paclitaxel [12] [13].

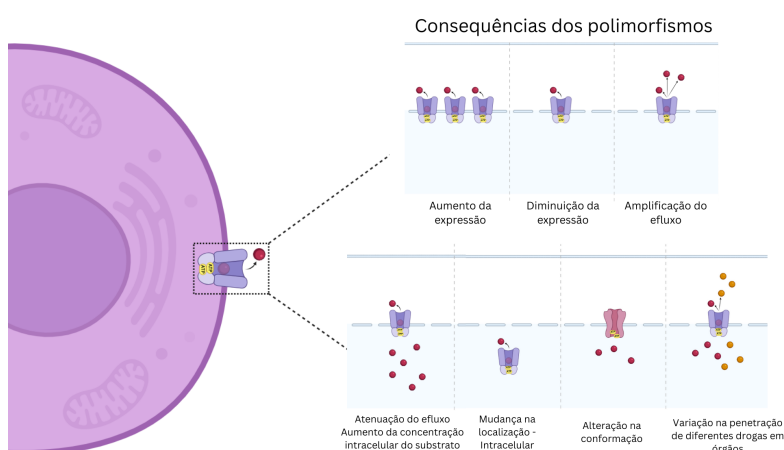


Figura 1: Possíveis consequências de variantes na expressão da proteína de membrana (figura de autoria própria, confeccionada em Bio Render)

Variantes de nucleotídeo único (SNVs, *Single Nucleotide Variant*) são variações que afetam exclusivamente uma base do DNA e com valor como marcadores genéticos [14]. O gene *ABCB1*, que codifica a glicoproteína-P, responsável pelo transporte de toxinas e fármacos, é expresso em diversos

tecidos e sua superexpressão em tumores está relacionada à resistência à quimioterápicos (como demonstrado na Figura 1) [15]. SNVs desse gene estão associados a maior risco de RAMs hematológicas e neurológicas em terapias que incluem carboplatina e paclitaxel, sendo por isso importante alvo de estudo em neoplasias ginecológicas [16].

METODOLOGIA:

Trata-se de um estudo de coorte retrospectivo, diagnosticados com câncer ginecológico em qualquer estágio clínico (câncer de ovário, colo de útero, endométrio ou vulva), que realizaram tratamento quimioterápico à base de paclitaxel (175mg/m²) e carboplatina (AUC 5-6 usando a fórmula de Calvert) com finalidade adjuvante, neoadjuvante ou paliativa. Estes foram atendidos no período de outubro/2013 a março/2017, no Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA), na cidade do Rio de Janeiro.

Este projeto integra um projeto de Doutorado financiado pela FAPESP, sob supervisão da mesma orientadora (processo 2022/06532-3). Este estudo e seu respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) (CAAE: 20406413.6.3001.5404). O TCLE de todos os pacientes já foi obtido.

Por meio da base de dados “*The Pharmacogenomics Knowledge Base*” (PharmGKB), foram escolhidas 10 variantes do *ABCB1* que possuem relevância na área: rs1045642, rs1128503, rs3213619, rs9282564, rs72552784, rs2229109, rs2235047, rs4148737, rs10276036, rs2032582.

Os dados demográficos e clínicos foram obtidos por busca ativa em prontuário eletrônico e registro de entrevistas farmacêuticas realizadas a cada ciclo de quimioterapia. As RAMs foram avaliadas segundo informações descritas em exames laboratoriais de rotina que ocorriam a cada ciclo de quimioterapia e então classificadas de acordo com os Critérios Comuns de Terminologia de Eventos Adversos (*Common Terminology Criteria for Adverse Events* - CTCAE, versão 4.03.) [17].

O DNA genômico foi isolado a partir de leucócitos de sangue periférico coletado previamente, utilizando Wizard® genomic DNA purification Kit (Promega). A pureza do DNA foi avaliada através do equipamento QuantiFluor® dsDNA System (Promega). A pesquisa de SNVs foi realizada através do Infinium Global Diversity Array com Enhanced PGx (GDA PGx; Illumina), seguida pela interpretação e processamento dos resultados por meio do DRAGEN™ (Dynamic Read Analysis for Genomics, Illumina).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Foram incluídos no estudo 504 pacientes com idade média de 55 anos. O número de participantes autodeclaradas brancas e não-brancas é muito semelhante, sendo as primeiras um grupo um pouco maior (51,8%). Ao se tratar da escolaridade, 30,6% das participantes relataram ter ensino fundamental incompleto e 25,2% completo. A maioria relatou não ser etilista (64,7%) ou tabagista (55%).

Tabela 1: Reações adversas gastrointestinais, neuromusculares e hematológicas causadas pela quimioterapia nas participantes estudadas.

Reações adversas gastrointestinais - CTCAE Participantes (n = 504)

Náusea (n, %)

<i>Grau 0</i>	154, (30,6)	<i>Grau 3</i>	40 (7,9)
<i>Grau 1</i>	166, (32,9)	<i>Grau 4</i>	0, (0)
<i>Grau 2</i>	124, (24,6)	<i>Não-reportado</i>	20, (4)

Vômitos (n, %)

<i>Grau 0</i>	275, (54,6)	<i>Grau 3</i>	16, (3,2)
<i>Grau 1</i>	115, (22,8)	<i>Grau 4</i>	2, (0,4)
<i>Grau 2</i>	76, (15,1)	<i>Não-reportado</i>	20, (4)

Diarréia (n, %)

<i>Grau 0</i>	280, (55,6)	<i>Grau 3</i>	31, (6,2)
---------------	-------------	---------------	-----------

	<i>Grau 1</i>	107, (21,2)	<i>Grau 4</i>	3, (0,6)
	<i>Grau 2</i>	63, (12,5)	<i>Não-reportado</i>	20, (4)
Constipação (n, %)				
	<i>Grau 0</i>	284, (56,3)	<i>Grau 3</i>	14, (2,8)
	<i>Grau 1</i>	106, (21)	<i>Grau 4</i>	1, (0,2)
	<i>Grau 2</i>	75, (14,9)	<i>Não-reportado</i>	24, (4,8)
Reações adversas neuromusculares - CTCAE Participantes (n = 504)				
Neuropatia periférica (n, %)				
	<i>Grau 0</i>	112, (22,2)	<i>Grau 3</i>	105, (20,8)
	<i>Grau 1</i>	100, (19,8)	<i>Grau 4</i>	2, (0,4)
	<i>Grau 2</i>	165, (32,7)	<i>Não-reportado</i>	20, (4)
Fadiga (n, %)				
	<i>Grau 0</i>	48, (9,5)	<i>Grau 3</i>	135, (26,8)
	<i>Grau 1</i>	140, (27,8)	<i>Grau 4</i>	3, (0,6)
	<i>Grau 2</i>	158, (31,3)	<i>Não-reportado</i>	20, (4)
Mialgia (n, %)				
	<i>Grau 0</i>	102, (20,2)	<i>Grau 3</i>	91, (18,1)
	<i>Grau 1</i>	129, (25,6)	<i>Grau 4</i>	1, (0,2)
	<i>Grau 2</i>	161, (31,9)	<i>Não-reportado</i>	20, (4)
Reações adversas hematológicas - CTCAE Participantes (n = 504)				
Anemia (n, %)				
	<i>Grau 0</i>	132, (26,2)	<i>Grau 3</i>	64, (12,7)
	<i>Grau 1</i>	113, (22,4)	<i>Grau 4</i>	7, (1,4)
	<i>Grau 2</i>	188, (37,3)	<i>Não-reportado</i>	0, (0)
Neutropenia (n, %)				
	<i>Grau 0</i>	289, (57,3)	<i>Grau 3</i>	57, (11,3)
	<i>Grau 1</i>	58, (11,5)	<i>Grau 4</i>	20, (4)
	<i>Grau 2</i>	80, (15,9)	<i>Não-reportado</i>	0, (0)
Plaquetopenia (n, %)				
	<i>Grau 0</i>	364, (72,2)	<i>Grau 3</i>	34, (6,7)
	<i>Grau 1</i>	37, (7,3)	<i>Grau 4</i>	11, (2,2)
	<i>Grau 2</i>	58, (11,5)	<i>Não-reportado</i>	0, (0)

Observa-se que, com exceção da fadiga, para todas as RAMs avaliadas, o grau 0, ou seja, a ausência da RAM, foi o mais frequente (Tabela 1). Ainda, a náusea se destacou como a RAM mais comum (69,4%), com predomínio do grau 2. A diarreia foi a RAM gastrointestinal com maior número de casos grau 4. Já em relação às RAMs neuromusculares, destaca-se a fadiga como a mais frequente (90,5%), assim como a com mais eventos grau 4. Quando se trata das RAMs hematológicas, a mais relatada foi a anemia (73,8%) e a neutropenia registrou o maior número de casos com grau 4. Em um panorama geral, as RAMs neuromusculares foram as mais frequentes, e as hematológicas foram as de maior gravidade, com maiores incidências de casos grau 4.

A tabela 2 e 3 demonstram a frequência dos genótipos para as SNVs estudadas. Nota-se que a variante rs9282564 foi excluída das análises por desvio do Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Tabela 2: Frequência de cada genótipo para cada variante estudada.

		Genótipos		
SNVs ABCB1	homozigoto referência, n (%)	heterozigoto, n (%)	homozigoto variante, n (%)	Indefinido, n (%)
rs1045642	AA, 79 (16,60)	AG, 215 (45,17)	GG, 182 (38,24)	0
rs1128503	AA, 56 (11,76)	AG, 207 (43,49)	GG, 213 (44,75)	0
rs3213619	AA, 338 (71,01)	AG, 41 (8,61)	GG, 2 (0,42)	95 (19,96)
rs72552784	CC, 475 (99,79)	CT/CA, 1 (0,21)	TT/AA, 0	0
rs2229109	CC, 448 (94,12)	CT/CA, 27 (5,67)	TT/AA, 0	1 (0,21)
rs2235047	AA, 410 (86,13)	AC, 61 (12,82)	CC, 5 (1,05)	0
rs4148737	TT, 153 (32,14)	TC, 223 (46,85)	CC, 100 (21,01)	0
rs10276036	CC, 70 (14,71)	CT, 204 (42,86)	TT, 200 (42,02)	2 (0,42)
rs2032582	AA, 48 (10,08)	AC, 178 (37,39)	CC, 248 (52,10)	2 (0,42)

Tabela 3: Frequência alélica obtida no estudo em comparação com a esperada para cada variante.

SNVs ABCB1	Frequência alélica				dbSNP	
	Referência	%	Variante	%	Referência %	Variante %
rs1045642	373	39,2%	579	60,8%	49,7%	50,3%
rs1128503	319	33,5%	633	66,5%	41,6%	58,4%
rs3213619	717	94,1%	45	5,9%	95,6%	4,4%
rs72552784	951	99,9%	1	0,1%	100,0%	0,0%
rs2229109	923	97,2%	27	2,8%	96,6%	3,4%
rs2235047	881	92,5%	71	7,5%	95,2%	4,8%
rs4148737	529	55,6%	423	44,4%	57,6%	42,4%
rs10276036	344	36,3%	604	63,7%	42,4%	57,6%
rs2032582	274	28,9%	674	71,1%	43,8%	56,2%

A frequência dos genótipos das variantes está em concordância com a frequência esperada no banco de dados dbSNP do *National Center for Biotechnology information* (NCBI). Foi feita a avaliação da associação estatística entre cada um dos 9 SNVs e as RAMs (náusea, vômito, constipação, diarreia, neuropatia periférica, fadiga, mialgia, anemia, neutropenia e plaquetopenia), obtendo assim um p-valor. Os casos em que este foi significativo ($p < 0,05$) estão expostos a seguir:

Quando foram realizadas associações entre RAMs e SNVs, observamos que para o rs1045642, pacientes com os genótipos homozigoto variante ou heterozigoto tiveram 1,6 vezes menos chances de desenvolver constipação. Esta variante também teve associação com as RAMs neutropenia e plaquetopenia. Pacientes homozigotos variante ou heterozigotos tiveram 2 vezes mais chances de desenvolver neutropenia, enquanto pacientes homozigotos referência ou heterozigotos tiveram 1,6 vezes menos chances de desenvolver plaquetopenia.

Para o rs4148737, pacientes com os genótipos homozigoto referência ou heterozigoto tiveram mais chances de desenvolver a reação adversa “vômito”, embora não tenha sido possível estimar o “odds ratio” para o genótipo CC, já que não houve eventos neste grupo. Além disso, pacientes homozigotos variante ou heterozigotos tiveram 2,1 vezes menos chance de desenvolver mialgia.

Também foi observada associação positiva entre o rs2032582 e a RAM neuropatia periférica, para o qual pacientes homozigotos variante e heterozigotos tiveram 2,4 vezes mais chance de desenvolver a RAM.

CONCLUSÕES:

A análise dos dados demográficos das 504 pacientes revelou um perfil equilibrado entre mulheres brancas e não-brancas, com média de idade de 55 anos e predominância de baixo nível educacional. Quanto às reações adversas aos quimioterápicos, observou-se que as RAMs neuromusculares foram as mais frequentes, com destaque para a fadiga (90,5%), enquanto as hematológicas, especialmente a neutropenia, foram as mais graves, apresentando maior número de casos grau 4.

As frequências genotípicas das variantes analisadas do gene *ABCB1* mostraram-se compatíveis com os dados esperados do banco dbSNP, reforçando a confiabilidade dos resultados obtidos. Dentre as 10 variantes inicialmente selecionadas, 9 foram analisadas por estarem de acordo com o Equilíbrio de Hardy-Weinberg, e algumas se destacaram por sua associação estatisticamente significativa com determinadas RAMs.

As variantes rs1045642, rs4148737 e rs2032582 foram as que demonstraram maior relevância clínica. A rs1045642 esteve associada tanto à redução do risco de constipação quanto ao aumento da incidência de neutropenia e plaquetopenia. A rs4148737 foi associada à ocorrência de vômitos e à menor chance de desenvolver mialgia. Já a rs2032582 apresentou relação direta com a neuropatia periférica, aumentando em até 2,4 vezes a chance de sua ocorrência. O estudo, então, evidencia que as variantes genéticas do *ABCB1* exercem influência significativa sobre a ocorrência ou não das RAMs

avaliadas, mostrando que, a depender do genótipo do paciente, o alelo pode atuar como fator protetor ou predispor à manifestação de determinada RAM.

Esses achados reforçam a importância de considerar o perfil genético individual no manejo terapêutico de pacientes com tumores ginecológicos, e evidenciam a necessidade de estudos farmacogenéticos mais específicos para diferentes grupos populacionais. O conhecimento dessas associações pode contribuir para a personalização do tratamento, minimizando riscos e otimizando a resposta terapêutica.

BIBLIOGRAFIA

1. SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, v. 71, n. 3, p. 209–249, maio 2021.
2. TORRE, L. A. et al. **Global cancer incidence and mortality rates and trends - An update.** *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* American Association for Cancer Research Inc., , 1 jan. 2016.
3. GARÓFOLO, A. et al. **Diet and cancer: An epidemiological view** *Rev. Nutr., Campinas*. [s.l.: s.n.].
4. SIEGEL, R.; NAISHADHAM, D.; JEMAL, A. **Cancer statistics, 2013.** *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, v. 63, n. 1, p. 11–30, jan. 2013.
5. BENEDET, J. L. et al. FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*, v. 70, n. 2, p. 209–262, 2000.
6. DA COSTA JUNIOR, L. C. et al. **ABCB1 and ERCC1 gene polymorphisms are associated with nephro- and hepatotoxicity to carboplatin/paclitaxel-based chemotherapy in patients with gynecologic cancers.** *European Journal of Clinical Pharmacology*, v. 76, n. 10, p. 1401–1408, 1 out. 2020.
7. TODD, R. C.; LIPPARD, S. J. **Inhibition of transcription by platinum antitumor compounds.** *Metallomics*, jul. 2009.
8. PAMPLONA, C. C. **CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA PACLITAXEL E METFORMINA COMO UMA NOVA OPÇÃO DE QUIMIOTERAPIA PARA ADENOCARCINOMA DE MAMA: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.** [s.l.: s.n.].
9. COLEMAN, R. L. et al. **Bevacizumab and paclitaxel–carboplatin chemotherapy and secondary cytoreduction in recurrent, platinum-sensitive ovarian cancer (NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group study GOG-0213): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial.** *The Lancet Oncology*, v. 18, n. 6, p. 779–791, 1 jun. 2017.
10. MARUPUDI, N. et al. **Paclitaxel: a review of adverse toxicities and novel delivery strategies.** 2007.
11. RABIK, C. A.; DOLAN, M. E. **Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents.** *Cancer Treatment Reviews*, fev. 2007.
12. MCWHINNEY, S. R.; GOLDBERG, R. M.; MCLEOD, H. L. **Platinum neurotoxicity pharmacogenetics.** *Molecular Cancer Therapeutics*, 1 jan. 2009.
13. AMPTOULACH, S.; TSAVARIS, N. **Neurotoxicity Caused by the Treatment with Platinum Analogues.** *Chemotherapy Research and Practice*, v. 2011, p. 1–5, 27 jun. 2011.
14. ROCHA, A. P. DA et al. **Polimorfismos genéticos: Implicações na Patogênese do Carcinoma Medular de Tireóide.** [s.l.: s.n.]. 2007
15. SKINNER, K. T.; PALKAR, A. M.; HONG, A. L. **Genetics of ABCB1 in Cancer.** *Cancers Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*, , 1 set. 2023.
16. DE CASTRO, C. L. et al. **Impact of gene polymorphisms on the systemic toxicity to paclitaxel/carboplatin chemotherapy for treatment of gynecologic cancers.** *Archives of Gynecology and Obstetrics*, v. 300, n. 2, p. 395–407, 1 ago. 2019.
17. NIH, NCI – US Department of Health and Human Services. **Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE).** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.meddrmsso.com>>.