

VARIANTE GENÉTICA ABCB1 COMO POSSÍVEL BIOMARCADOR ENVOLVIDO NA TOXICIDADE DO GEFITINIBE UTILIZADO NO TRATAMENTO DE CÂNCER DE PULMÃO DE CÉLULAS NÃO PEQUENAS

Palavras-Chave: *Gefitinibe, Toxicidade, Variantes genéticas*

Autores/as:

Carolini Motta Neri (aluna PIBIC) [Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNICAMP]
Prof^ª. Dr^ª. Patricia Moriel (orientadora) [Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNICAMP]
Mariana Vieira Morau [Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP]
Mauricio Perroud Jr. [Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP]
Aristóteles de Souza Barbeiro [Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP]
Lair Zambon [Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP]
Cecília Souto Seguin [Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP]
Eder de Carvalho Pincinato [Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP]

INTRODUÇÃO:

No Brasil, o câncer é a segunda principal causa de mortes relacionadas a doenças crônicas não transmissíveis, sendo o câncer de pulmão a principal causa de óbitos relacionados ao câncer (1). Os cânceres de pulmão são divididos histologicamente em dois grandes grupos, sendo eles o câncer de células não pequenas (CPCNP) e câncer de pequenas células (CPPC) (2). O CPCNP é o subtipo mais comum, acometendo cerca de 80% da população (3).

O recente desenvolvimento de agentes terapêuticos cujos alvos são ativados de modo desarranjado em células cancerosas, particularmente nas vias de transdução de sinais, abriu novas perspectivas de tratamento para o CPCNP. Dentre os componentes do fenótipo neoplásico, os receptores de superfície celular são potenciais alvos terapêuticos e têm sido foco de pesquisa. Assim, os inibidores de tirosina quinase do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR-TKIs) vem ganhando destaque (4).

Essa classe de inibidores da tirosina quinase, entre eles o gefitinibe, é indicada na primeira linha de tratamento de pacientes com CPCNP com mutação de EGRF (5). O EGRF é uma glicoproteína transmembrana composta por um domínio de ligação extracelular lipofílico e um domínio de proteínas tirosina-quinase intracelular (5) e é expresso mais abundantemente em tecido maligno do que em tecido normal, incluindo 40-80% do CPCNP (6).

O gefitinibe liga-se seletivamente ao sítio de ligação da adenosina trifosfato (ATP) do domínio da tirosina quinase do EGRF. Desta maneira, a autofosforilação do EGRF é inibida, resultando na inibição da via de transdução do sinal de RAS, interrompendo a proliferação desgovernada de células, levando à apoptose

em células cancerosas (7). Indivíduos com mutações no domínio quinase do EGRF estão correlacionados com uma maior sensibilidade ao gefitinibe e a outros inibidores da TKIs (7). Essas mutações provocam alterações estruturais no sítio de ligação à ATP do domínio intracelular do EGFR, aumentando assim a afinidade com TKI e levando a melhores respostas clínicas (5, 8). Dentre os eventos adversos mais frequentes em TKIs, especialmente, decorrente do uso de gefitinibe, pode-se destacar: *rash* cutâneas (erupções acneiformes), hepatotoxicidade e diarreias (9).

O ABCB1 (ATP- *binding cassette, subfamily b, member 1*), também denominado o gene, *Multidrug-resistant transporter-1* (MDR1), é um transportador de efluxo unidirecional, energia-dependente, que exporta seus substratos do interior para o exterior das células, protegendo-as de inúmeras substâncias e metabólitos tóxicos (10, 11). Transportadores ABC foram implicados no fenótipo resistente a medicamentos de diferentes tipos de tumores (12, 13). Em particular, ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCC3 e ABCG2, expulsam ativamente das células cancerosas vários agentes antitumorais, gerando insensibilidade medicamentosa e falha na quimioterapia do câncer (14).

METODOLOGIA:

O projeto está contido em um projeto maior, aprovado pelo Comitê de Ética sob o número CAAE: 17328619.9.0000.5404. Trata-se de um estudo observacional, analítico, longitudinal, prospectivo de amostra não probabilística do tipo consecutiva, realizado no Ambulatório de Pneumologia do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (HC/UNICAMP). Os pacientes que aceitaram a participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e foram entrevistados três vezes durante seu tratamento, para acompanhamento das reações adversas. Foram incluídos no estudo 22 pacientes de ambos os sexos, de idade entre 18 e 80 anos, com diagnóstico de CPNPC com gene EGFR positivo, e que estão fazendo uso de gefitinibe.

Foram coletados dados demográficos e socioeconômicos dos pacientes. Além disso, alguns exemplos dos dados clínicos coletados são referentes ao tumor, como localização e graduação histopatológica, estadiamento (TNM) e estágio. Também foram levantadas comorbidades apresentadas, como hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, entre outras, além de hábitos tabagistas e etilistas. Também foram coletados exames laboratoriais de rotina solicitados pela equipe médica e dados do tratamento proposto, como protocolo utilizado, ajuste de dose ou necessidade de adiamento/interrupção do ciclo e as justificativas.

A toxicidade dermatológica e as toxicidades gastrointestinais (náusea, vômito, constipação e diarreia) foram classificadas de acordo com o Critérios Comuns de Terminologia para Eventos Adversos (CTCAE) versão 4.0 (15) e coletadas por três vezes: antes do início do tratamento com gefitinibe, 30 dias depois e uma terceira vez após 90 dias do início do tratamento.

Foram coletados 4 mL de sangue uma única vez, na primeira anamnese farmacêutica. O isolamento do DNA foi realizado por procedimentos padronizados (Wizard® genomic DNA purification Kit, Promega). A pureza do DNA foi avaliada através do equipamento QuantiFluor® (TM) dsDNA System, Promega.

A pesquisa de variantes genéticas foi realizada pelo sistema de genotipagem TaqMan® Genotyping Assays [Life Technologies (Foster City, CANA)]. A genotipagem para as variantes genéticas ABCB1 (rs1128503 e rs2231142) foram realizadas através da técnica PCR em tempo real (qPCR) utilizando os

ensaios TaqMan® Genotyping (Thermo Fisher Scientific Inc., Foster City, Califórnia, EUA). As sondas utilizadas foram rs1045642 (C__7586657_20) e rs1128503 (C__7586662_10).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A maioria dos pacientes eram mulheres (68,18%) com idade média de 64,32 anos, com uma predominância de brancos (86,36%). Com relação à comorbidades, apenas 21,05% dos pacientes não possuíam nenhum tipo. A maioria dos pacientes não passou por uma ressecção prévia do tumor (81,82%), fez quimioterapia antes do tratamento com gefitinibe (72,73%) e não passou por radioterapia combinada ao gefitinibe (59,09%).

O resultado da avaliação das toxicidades está demonstrado na tabela de 1.

Graus de Toxicidade dos pacientes em tratamento com gefitinibe (n (%))				
Reação Adversa	Grau			
	0	1	2	3
<i>Gastrointestinais</i>				
Náusea	9 (42,86)	11 (52,38)	1 (4,76)	-
Vômito	18 (85,71)	2 (9,52)	1 (4,76)	-
Constipação	18 (85,71)	2 (9,09)	1 (4,76)	-
Diarreia	14 (66,67)	6 (28,57)	1 (4,76)	-
<i>Dermatológicas</i>				
Hiperpigmentação	10 (47,62)	11 (52,38)	-	-
Rash - Maculopapular	14 (66,67)	7 (33,33)	-	-
Rash - Cutâneo	12 (57,14)	6 (28,57)	1 (14,29)	-
<i>Hepáticas</i>				
Hipoalbuminemia	16 (76,19)	5 (23,81)	-	-
Aumento AST	18 (85,71)	3 (14,29)	-	-
Aumento ALT	19 (90,48)	2 (9,52)	-	-
Aumento FALC	14 (76,19)	4 (19,05)	3 (14,29)	-
Aumento BT	21 (100)	-	-	-
Aumento GGT	15 (71,43)	3 (14,29)	2 (9,52)	1 (4,76)
<i>Hematológicas</i>				
Anemia	15 (71,42)	3 (14,28)	2 (9,52)	1 (4,76)

Linfopenia	19 (90,47)	-	1 (4,76)	1 (4,76)
Plaquetopenia	19 (90,48)	2 (9,52)	-	-

Tabela 1. Graus de Toxicidade dos pacientes em tratamento com gefitinibe (n (%))

A genotipagem do gene ABCB1 dos pacientes incluídos no grupo também foi realizada, e foi possível notar que a maioria deles apresenta polimorfismo rs1128503 com genótipo heterozigoto (AG). Além disso, grande parte dos pacientes com CPCNP em uso de gefitinibe apresentam polimorfismo rs1045642 também com genótipo heterozigoto (AG). As informações encontram-se nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Definição dos genótipos dos polimorfismos rs1045642 e rs1128503 da ABCB1.

Genótipos	Polimorfismos da ABCB1	
	rs1045642	rs1128503
Homozigoto Selvagem	AA	AA
Heterozigoto	AG	AG
Homozigoto Variante	GG	GG

Legenda: A: adenina; C: citosina; G: guanina; T: timina.

Tabela 3. Genótipos dos polimorfismos rs1045642 e rs1128503 da ABCB1 na população estudada (n = 16).

Polimorfismos da ABCB1	Número absoluto (Porcentagem)	
	rs1045642	rs1128503
Homozigoto Selvagem	1 (6,25%)	0
Heterozigoto	10 (62,5%)	15 (93,75%)
Homozigoto Variante	5 (31,25%)	1 (6,25%)

CONCLUSÕES:

Pode-se concluir até o presente momento que as principais reações adversas decorrentes do tratamento com gefitinibe são náuseas, diarreia, rash-maculopapular, hiperpigmentação e aumento de FALC mas que na maioria das vezes estas se apresentam de forma leve. Ainda é precoce, devido ao número de pacientes, relacionarmos as toxicidades e os polimorfismos.

BIBLIOGRAFIA

- Schmidt MI, Duncan BB, Azevedo e Silva GA, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM, et al. **Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges.** Lancet. 2011;377(9781):1949-61.
- American Cancer Society (ACS).**
- Takahashi TK, Barbosa CCL, Bugano D, et al. **Carcinoma pulmonar de células não-pequenas em pacientes com idade IGUAL OU superior a 65 anos tratados com quimioterapia: análise de segurança e eficácia.** Revista Brasileira de Oncologia Clínica. 2010; 7(22): 108-13.
- NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®). **National Comprehensive Cancer Network (NCCN Guidelines Non-Small Cell Lung Cancer Version 3.2018 Version 3.2018).** Disponível na internet: https://www.nccn.org/store/login/login.aspx?ReturnURL=https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf.
- Lopes GL, Vattimo EFQ, Castro Junior G. **Identificação de mutações ativadoras no gene EGFR: implicações no prognóstico e no tratamento do carcinoma pulmonar de células não pequenas.** Jornal brasileiro de Pneumologia. 2015; 41(4), 365-375.
- Cancerenry E, Morán T, Capdevila L, et al. **The epidermal growth factor receptor (EGFR) in lung cancer.** Translation Respiratory Medicine; 2015 3:1. 50
- Rawluk J, Waller CF. Gefitinib. In: Martens U. (eds) **Small Moleculares in Oncology.** Recent Results in Cancer research, vol 211. Springer, Cham 2018.
- Mendelsohn J e Baselga J. **The EGF receptor Family as targets for câncer therapy.** Nature, Oncogene; 2000, 19, 6550-65.

9. Ding, Pei Ni et al. **Risk of Treatment-Related Toxicities from EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors: A Meta-analysis of Clinical Trials of Gefitinib, Erlotinib, and 52 Afatinib in Advanced EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer.** *Journal of Thoracic Oncology*. 2013;12(4):633-43.
10. Sakaeda T, Nakamura T, Okumura K. **MDR1 Genotype-Related Pharmacokinetics and Pharmacodynamics.** *Biol Pharm Bull*. 2002; 25(11):1391- 400.
11. Aszalos A. **Drug–drug interactions affected by the transporter protein, Pglycoprotein (ABCB1, MDR1): I. Preclinical aspects.** *Drug Discovery Today*. 2007; 12(19/20):833-837.
12. JP. Gillet, MM. **Gottesman, Mechanisms of multidrug resistance in cancer, Meth Mol. Biol.** 2010; 596, 47-76.
13. L. Gatti, G.L. Beretta, G. Cossa, F. Zunino, P. Perego, **ABC transporters as potential targets for modulation of drug resistance, Mini Rev. Med. Chem.** 2009, 9: 1102-12.
14. J.-P. Gillet, T. Efferth, J. Remacle, **Chemotherapy-induced resistance by ATP- binding cassette transporter genes, Biochem. Biophys. Acta.** 2007; 1775; 237-62.
15. National Cancer Institute. **Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v4.0.** Acesso em 27 de junho de 2019. Disponível em: https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm