

## Modelos longitudinais para a identificação de polimorfismos relacionados à incidência de reações adversas ao tratamento quimioterápico FAC-D para o câncer de mama

D.P.Paula\*, V.I. Brasil\*\*, F.F.Nobre\* e R.V. Jorge\*\*

\*Programa de Engenharia Biomédica/UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil

\*\* Instituto de Ciências Biomédicas/ UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil

e-mail: daniela@peb.ufrj.br

**Resumo:** Fadiga, mialgia, artralgia, mucosite, dor abdominal e diarreia são algumas reações comumente relatadas por mulheres em tratamento quimioterápico para o câncer de mama. Identificar polimorfismos relacionados a gravidade dos sintomas, permite otimizar o efeito do tratamento através de terapêuticas individualizadas. O objetivo deste estudo foi identificar polimorfismos associados à ocorrência dessas reações adversas durante quimioterapia adjuvante FAC-D. As análises foram realizadas em uma coorte hospitalar de 166 mulheres, submetidas à cirurgia prévia, que foram acompanhadas ao final de cada ciclo de quimioterapia através de entrevistas. Os resultados dos modelos apontam para a necessidade de um monitoramento das reações adversas para as mulheres com polimorfismos nos genes CYP2B6(18053A>G), ABCB1(C1236T) e ABCB1(C3435T).

**Palavras-chave:** reações adversas, modelos longitudinais, câncer de mama, polimorfismos.

**Abstract:** Fatigue, myalgia, arthralgia, mucositis, abdominal pain and diarrhea are some commonly reactions reported by women undergoing chemotherapy for breast cancer. To identify polymorphisms related to severity of symptoms, allows to optimize the effect of using individualized therapeutic treatment. The aim of this study was to identify polymorphisms associated with the occurrence of these adverse events during adjuvant chemotherapy FAC-D. Analyses were performed in a hospital cohort of 166 women with previous surgical treatment, which were evaluated at the end of each chemotherapy cycle through interviews. Model results indicate the need for monitoring of adverse reactions to women with polymorphisms in CYP2B6(18053A>G), ABCB1(C1236T) and ABCB1(C3435T) genes.

**Keywords:** adverse reactions, longitudinal models, breast cancer, polymorphisms.

### Introdução

O câncer de mama é o tipo de câncer que mais acomete mulheres em todo o mundo ocupando a segunda posição entre as causas de morte por câncer. No Brasil, a doença constitui a primeira causa de morte por câncer entre as mulheres [1]. Nos últimos anos, as taxas de mortalidade

apresentaram decréscimo em alguns países e apontam uma mudança de cenário devido às políticas de prevenção e diagnóstico precoce [2].

O tratamento para o câncer de mama geralmente envolve associações entre cirurgia, quimioterapia, radioterapia e hormonioterapia, levando em consideração características do tumor e características clínicas das pacientes. A quimioterapia adjuvante combina antineoplásicos com diferentes mecanismos de ação, sendo uma importante estratégia para reduzir a recorrência de câncer de mama. Os protocolos de quimioterapia baseados nos antineoplásicos antraciclina e taxanos, como é o caso do tratamento FAC-D (3 ciclos de ciclofosomida, dexorubicina e 5-fluorouracil seguidos de 3 ciclos de docetaxel), são amplamente utilizados para o tratamento de câncer de mama [3]. A combinação entre antraciclina e taxanos é responsável pela melhora significativa na sobrevivência do câncer de mama quando comparados com outros protocolos [4].

Entretanto, devido à ação inespecífica dos antineoplásicos e de seus metabólitos, a quimioterapia pode causar toxicidade. Dentre as reações frequentes de toxicidade em tratamentos com antraciclina e taxanos podemos citar leucopenia, anemia, neutropenia fadiga, mialgia artralgia, febre, alopecia, náusea, vômito, mucosite, diarreia, estomatite e anorexia [5]. As reações podem comprometer a qualidade de vida dos pacientes e, quando graves, podem levar à internação e risco de vida. Uma maneira de melhorar a qualidade de vida durante o tratamento é identificar características genéticas que estejam relacionados a um grande risco de toxicidade.

A ocorrência de reações hematológicas e não hematológicas em tratamentos quimioterápicos antineoplásicos pode depender de características individuais dos pacientes como por exemplo: Idade, Gênero, Comorbidades, Interações medicamentosas, Fatores genéticos e Alergias [6,7,8].

Com relação aos polimorfismos, as associações entre os polimorfismos CYP3A5, CYP2D6, SULT1A1, UGT2B15, CYP3A4, ABCB1 e GSTP1 e reações adversas à quimioterapia já foram identificadas [9]. Em [10] foi encontrado que pacientes com o polimorfismo GSTP1 Ile105Val estavam mais suscetíveis a tumores mais agressivos e a maior toxicidade no tratamento com cyclophosphamide. Os polimorfismos nos genes

CYP3A5 e ABCB1 podem estar relacionados à maiores efeitos de febre e neutropenia. Polimorfismos em CYP2B6 aparecem como associados ao aumento de mucosite oral [11].

Em estudos prospectivos é comum a utilização de modelos de corte transversal [9,11]. Esses modelos não permitem incorporar a associação existente entre as reações durante os ciclos de quimioterapia. Como observações repetidas de um mesmo indivíduo podem estar correlacionadas, métodos estatísticos tradicionais, que não levam em conta essa correlação, são inapropriados para um estudo longitudinal em que se pretende identificar fatores de risco para as reações ao longo dos ciclos. Neste trabalho, utilizamos modelos longitudinais marginais para identificar polimorfismos associados à maiores incidências de fadiga, mialgia, artralgia, dor abdominal, mucosite e diarreia.

### Materiais e métodos

**População e período do estudo-** A população em estudo consistiu de um coorte prospectivo de mulheres brasileiras com primeiro diagnóstico de câncer de mama não metastático unilateral, admitidas no Instituto Nacional do Câncer do Brasil (INCA) durante o período de fevereiro de 2009 a setembro de 2011, que passaram por cirurgia como primeira abordagem terapêutica e foram subsequentemente submetidas à quimioterapia adjuvante com o protocolo FAC-D (3 ciclos de ciclofosomida, dexorubicina e 5-fluorouracil, seguidos de 3 ciclos docetaxel). O protocolo do estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do INCA (INCA #129/08). Foram incluídas as pacientes que aceitaram participar da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

**Coleta de dados-** As mulheres incluídas no estudo foram acompanhadas através de entrevistas para a avaliação de reações adversas. Para classificação da gravidade da reação foram utilizados os critérios do Nacional Cancer Institute (EUA) - Comum Terminology Criteria Adverse Events (CTCAE), no qual as reações são graduadas em níveis de gravidade, associadas a reações leves (1), moderadas (2), incapacitantes (3) e graves (4) [12]. As reações incluídas no estudo foram fadiga, mialgia, artralgia, constipação, diarreia, dor abdominal e mucosite. A ausência de reação foi associada ao nível 0. Os valores assumidos para as reações foram classificados em 3 classes: leve (0 e 1), moderada (2) e grave (3 e 4). Os polimorfismos incluídos foram: CYP2B6(G15631T), CYP2B6(A18053G), CYP3A5(A6986G), ABCB1(C1236T), ABCB1(C3435T), GSTP1(ILE105VAL), CBR3(G11A), SLC01B3(IVS12-A5676G).

**Modelagem e análises-** Para a realização das análises, identificamos os níveis das reações estudadas ao longo do tratamento. Para investigar a dependência entre os níveis das reações durante as fases utilizamos o teste Qui-Quadrado McNemar com nível de significância 0.05.

Realizamos um estudo em cada fase através de modelos de regressão logística ordinais construídos para avaliar preditores para as reações em cada fase do tratamento. Os modelos de regressão logística ordinais são modelos

lineares generalizados similares aos modelos de regressão logística utilizados quando a variável dependente é categórica ordinal e existem mais de duas categorias da variável resposta. Os logitos podem ser calculados com referência a uma categoria base ou com referência às categorias anteriores (modelos cumulativos). Os modelos de regressão logística ordinal são muito utilizados em estudos epidemiológicos em que as variáveis dependentes possuem algum tipo de ordenação, como os níveis de reações decorrentes de tratamentos, níveis de qualidade de vida.

Modelos longitudinais foram construídos para identificar os polimorfismos associados às reações ao longo de todo tratamento e incorporar a correlação existente entre os níveis das duas fases de tratamento. Modelos longitudinais marginais foram ajustados através de equações estimadas generalizadas (GEE). Um modelo marginal é um modelo que descreve a esperança marginal de uma variável resposta contínua ou discreta como uma função de variáveis preditoras [13]. Esse modelo é adequado quando o interesse principal são inferências sobre a média populacional. Pela esperança marginal podemos obter a resposta média sobre a subpopulação que compartilha um valor comum para variáveis preditoras [14].

Utilizamos o software R 2.15 para as análises o pacote VGAM para a construção dos modelos de regressão logística ordinais e o pacote GEEPACK para o ajuste das GEE. Os preditores para as fases FAC e Docetaxel e para o estudo longitudinal foram identificados pelo p-valor inferior a 0.05 pelo teste de Wald.

### Resultados

Um total de 166 mulheres foram acompanhadas durante o estudo. As frequências observadas para os polimorfismos estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1: Incidência de polimorfismos

Polimorfismos	Presença de alelos variantes					
	Sim		Não		Sem informação	
	n	%	n	%	n	%
CYP2B6(15631G>T) -CYP2B61	66	39 .7	73	43 .9	27	16.3
CYP2B6(18053A>G) -CYP2B62	54	32 .5	95	57 .2	17	10.2
CYP3A5(6986A>G)- CYP3A5	9	5. 4	14	88 .5	10	6
ABCB1(C1236T)- ABCB11	59	35 .5	91	54 .8	16	9.6
ABCB1(G2677T A)- ABCB12	70	42 .2	77	46 .3	19	11.4
ABCB1(C3435T)- ABCB13	54	32 .5	10 1	60 .9	11	6.6
GSTP1(A>GILE105 VAL)-GSTP11	65	39 .1	93	56	8	4.8
CBR3(11G>A)- CBR3	54	32 .5	92	55 .4	20	12
SLCO1B3(A>G)- SLCO1B3	117	70 .5	37	22 .3	12	7.2

As proporções de mulheres que relataram níveis leves de fadiga, mialgia, artralgia, dor abdominal, mucosite e diarreia diminuíram nos últimos ciclos de quimioterapia como podemos ver na Figura 1. O contrário ocorreu para os níveis moderados e graves das reações, observamos um aumento durante a fase Docetaxel.

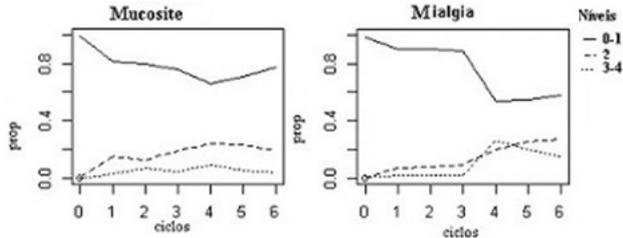


Figura 1: Proporção para os níveis de Dor abdominal e Fadiga ao longo dos ciclos.

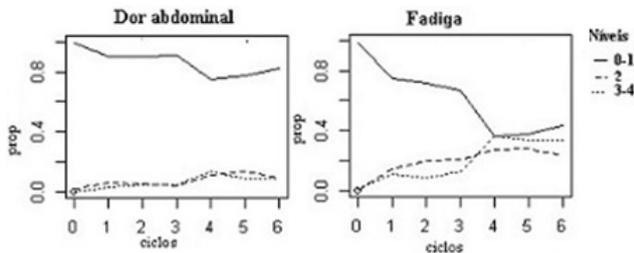


Figura 2: Proporção para os níveis de Mucosite e Mialgia ao longo dos ciclos.

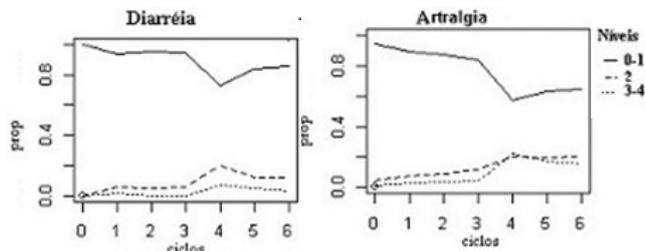


Figura 3: Proporção para os níveis de Diarreia e Artralgia ao longo dos ciclos.

Modelos de regressão logística ordinal foram utilizados para identificar preditores para as reações em cada fase do tratamento (FAC e Docetaxel). Cada fase do tratamento é composta por 3 ciclos. Através de testes Qui-quadrado McNemar verificamos a não alteração na frequência observada ( $p$ -valores  $>0.05$ ) para os níveis das reações entre os ciclos da fase FAC (ciclos 1,2 e 3) e, entre os ciclos da fase Docetaxel (ciclos 4,5 e 6). Identificamos também a alteração das frequências dos níveis entre qualquer ciclo da fase FAC e qualquer outro ciclo da fase Docetaxel.

A Tabela 2 apresenta os polimorfismos que foram significativos para cada modelo durante a fase FAC, o  $p$ -valor associado e as razões de chances.

Tabela2: Polimorfismos significativos na fase FAC.

Reações	Preditores	OR	CI 95%	p-valor
Fadiga	CYP2B62	0.5	[0.2;0.9]	0.02
	ABCB13	0.43	[0.2;0.9]	0.01
	SLCO1B3	0.46	[0.2;0.9]	0.01
	CYP3A5	4.2	[1.0;9.5]	0.03
Mialgia	GSTP11	3.3	[1.8;5.8]	0.002
	ABCB12	5.2	[1.7;18.7]	0.003
	ABCB13	0.2	[0.07;0.8]	0.008
Mucosite	GSTP11	3.7	[1.5;10.4]	0.003
	CYP2B62	2.1	[0.9;4.9]	0.04
Diarréia	ABCB11	2.4	[0.9;6.8]	0.05
	CYP2B61	4.5	[1.1;20.9]	0.02
	CYP2B62	0.3	[0.06;1.0]	0.03

A Tabela 3 apresenta os resultados dos modelos ajustados para a fase Docetaxel.

Tabela 3: Polimorfismos significativos para a fase Docetaxel.

Reações	Preditores	OR	IC 95%	
Mialgia	CYP2B61	0.3	[0.2;0.8]	0.005
	CYP2B62	2.1	[1.1;4.2]	0.01
	ABCB11	0.5	[0.3;1.1]	0.04
	ABCB13	0.4	[0.2;0.9]	0.01
Artralgia	CYP2B61	1.6	[0.9;3.2]	0.03
	CYP3A5	2.5	[0.9;7.2]	0.03
	ABCB11	0.5	[0.2;1.1]	0.04
Dor abdominal	ABCB12	2.7	[1.1;6.5]	0.01
Diarréia	CYP2B62	0.4	[0.1;0.9]	0.02

Para o ajuste dos modelos marginais utilizamos a metodologia de equações estimadas generalizadas, através do pacote GEEPACK, do software R. Esse pacote permite o ajuste utilizando estruturas de correlação de independência ou permutável e intercepto constante ou não constante ao longo do tempo. Nenhum polimorfismo foi significativo para os modelos marginais.

## Discussão

Os nossos dados mostraram um aumento nas proporções de níveis graves para as reações durante os ciclos da fase Docetaxel quando comparados aos ciclos da fase FAC. Esse resultado vai ao encontro de alguns estudos que relatam maior toxicidade tratamentos com Docetaxel que em outros protocolos [15].

Durante a fase FAC, os polimorfismos associados a chances maiores para níveis leves e moderados das reações musculoesqueléticas (fadiga, mialgia e artralgia) encontrados foram a presença de pelo menos um polimorfismo GSTP11, ABCB12 e CYP3A5. Já os fatores relacionados a chances menores para níveis leves e moderados encontrados foram a presença de pelo menos um polimorfismo ABCB13, CYP2B62 e SLCO1B3. Para as reações gastrointestinais, as variáveis associadas a chances maiores para níveis leves e

moderados foram as presenças de pelo menos um polimorfismo ABCB11 ou CYP2B61.

Durante a fase Docetaxel, para as reações musculoesqueléticas, foram encontrados como fatores associados a chances menores para níveis leves e moderados a presença de pelo menos um polimorfismo nos genes CYP2B62, ABCB13 e ABCB11. Os fatores associados a chances maiores para níveis leves e moderados foram a presença de pelo menos um polimorfismo em CYP2B61, CYP3A5. Para as reações gastrointestinais, o fator associado a maior chance de níveis leves e moderados encontrados foi a presença de pelo menos um polimorfismo ABCB12. A presença de polimorfismos no gene CYP2B62 estava associada a chances menores para níveis leves de para a diarreia.

### Conclusão

Fatores clínicos, demográficos e genéticos podem estar relacionados a toxicidade enfrentada por muitos pacientes durante o tratamento quimioterápico para o câncer de mama [6,7,8]. A identificação de fatores associados às reações mais graves durante um tratamento quimioterápico pode auxiliar em monitoramentos de terapêuticas, a fim de minimizar as reações adversas e promover uma melhor qualidade de vida às pacientes.

Nesse estudo, avaliamos um conjunto de 166 mulheres submetidas ao tratamento quimioterápico FAC-D para o câncer de mama. Para essas mulheres identificamos os fatores de risco associados às reações adversas em cada fase do tratamento e, ao longo do tratamento, através de modelos de equações estimadas generalizadas.

Os resultados dos modelos sugerem a necessidade de monitoramento das reações para as mulheres portadoras de polimorfismos nos genes CYP2B61, CYP2B62, ABCB11, ABCB13 e SLCO1B3, identificados como relacionados a chances menores para níveis leves e moderados, a fim de evitar o agravamento de reações musculares e gastrointestinais durante o tratamento.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao programa de engenharia biomédica UFRJ e ao INCA.

### Referências

- [1] INCA, INCA. Instituto Nacional do Câncer <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/index.asp?ID=>, acessado em 12-2013.
- [2] Jemal, A. and et al. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 2011. 61(2): p. 69-90.
- [3] Network, N.C.C. Clinical practice guidelines in oncology - breast cancer, NCCN, v.1., 2010.
- [4] Hassan, MSU., Ansari, J., Spooner, D., and Hussain, SA. (2010). Chemotherapy for breast cancer (Review). *Oncol Rep*. 24, 1121;1231.
- [5] Solimando, D. Drug information handbook for oncology, 7 ed. 2008. Hudson: Lexi-Comps Drug reference Handbooks.
- [6] Davies, EC. and et al. Adverse drug reactions in hospitals: a narrative review. *Curr Drug Saf*, 2007 2(1). p 79-87.

[7] Menon, SZ. Reações adversas a medicamentos (RAMs). *Saúde em revista*. 2005. 7(16). p 71-9.

[8] Beard, K. and Lee, A. Reações adversas a medicamentos. 2009. p 21.

[9] Zhang, BL. and Sun, T. and Zhang, BN. and Zheng, S. and Lü, N. and Xu, BH. and Wang, X. and Chen, GJ. and Yu, DK. and Lin, DX.

(2011). Polymorphisms of GSTP1 is associated with differences of chemotherapy response and toxicity in breast cancer. *Chin Med J (Engl)*. 124, 199-204.

[10] Tsai, SM. and Lin, CY. and Wu, SH. and Hou, LA. and Ma, H. and Tsai, LY. and Hou, MF. (2009). Side effects after docetaxel treatment in Taiwanese breast cancer patients with CYP3A4, CYP3A5, and ABCB1 gene polymorphisms. *Clin Chim Acta*. 404, 160-165.

[11] Rocha, V. and Porcher, R. and Fernandes, JF. and et al. Association of Drug Metabolism Gene Polymorphisms with Toxicities, Graft-versus-host Disease and Survival after HLA-identical sibling Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients with Leukemia. *Leukemia*, n. 23, v. 3, p.545-556, 2009.

[12] Trotti, A. and et al., 2003. Development of a comprehensive grading system for adverse effects of cancer treatment. *Semin Radiat Oncol*. 13(3): p.176-81. CTCAE v3.0.

[13] Liang, KY. and Zeger, SL. Longitudinal data analysis using generalized linear models (1986). *Biometrika*. 73. 13-22.

[14] Diggle, PJ. and Heagerty, PJ. and Liang, KY. and Zeger, SL. Analysis of longitudinal data. (2001). *Statistical Science Series*. Oxford University Press, Oxford.

[15] Burstein, H. and Harris, JR. and MM, D. Adjuvant chemotherapy, *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, D.V. Editor, 2009. p.1637-39.