



UAAlg

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologias

Farmacogenómica do cancro colo-retal

Bárbara Filipa Ascenso Marrucho

Dissertação para obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sobre a orientação do Prof. Doutor João Varela

Faro, Setembro de 2017



UAAlg

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologias

Farmacogenómica do cancro colo-retal

Bárbara Filipa Ascenso Marrucho

Dissertação para obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sobre a orientação do Prof. Doutor João Varela

Faro, Setembro de 2017

Farmacogenómica do cancro colo-retal

Declaração da autoria do trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluídas.

(Bárbara Filipa Ascenso Marrucho)

Copyright© 2017 Bárbara Filipa Ascenso Marrucho

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Dedicatória

Aos meus pais,
Porque alguns heróis não têm capa.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, quero agradecer ao Prof. Dr. João Varela, que foi o melhor orientador que podia ter escolhido! Agradeço pelo facto de ter sido incansável na correção desta dissertação; agradeço pela rapidez com que sempre demonstrou o seu apoio; agradeço por todo o tempo e aconselhamento dispensado e agradeço por ter-me ajudado a cumprir todos os objetivos que pretendia para esta dissertação.

E, porque esta dissertação resulta no culminar de um marco da minha vida, que é a conclusão do mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas, faço um profundo agradecimento:

À minha família, por todo o amor, apoio e confiança que sempre demonstraram e que me permitiu acabar o curso de Ciências Farmacêuticas. Obrigada mesmo por estarem aqui sempre para mim, por me darem motivação quando mais precisava!

Ao Jorge, pela pessoa que é, por me aturar, por todo o amor e por me dar motivação para concluir esta dissertação. Obrigada por estares sempre ao meu lado e por seres o meu braço direito!

Às amigas de sempre e para sempre, Inês Filipe e Ana Bonifácio, por me tornarem a pessoa que sou hoje, por estarem sempre lá, por me apoiarem sempre e, claro, por terem ajudado no sucesso desta tese.

Às minhas companheiras de curso e amigas para a vida, Bárbara Sousa, Sarah Patel e Joana Cassiano, por estarem sempre lá, por me colocarem um sorriso constante na cara e por me ajudarem nestes 5 anos.

À Inês Voyce, pela amizade, por sempre me ter apoiado ao longo do curso e por ser um exemplo a seguir.

A todos os meus amigos e colegas que contribuíram para as boas memórias que tenho na minha vida.

A todos os que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho, um muito obrigado.

Resumo

O cancro surge como uma doença da atualidade, sendo uma das principais causas de mortalidade no mundo. O cancro colo-retal é o terceiro cancro com maior ocorrência no mundo, apresentando, aproximadamente, 1,4 milhões de pessoas diagnosticadas. O aumento dos números de pessoas diagnosticadas com esta doença deve-se não só ao envelhecimento da população, mas também ao aumento da prevalência de fatores de risco.

A carcinogénese do cancro colo-retal envolve, entre outros fatores, modificações genéticas que levam a alterações na função dos genes e que podem, inclusive, ser transmitidas às gerações seguintes. Como tal, já são conhecidas várias associações entre genes com alelos mutantes, como o *SMAD4*, *APC*, *p53*, *KRAS* e *BRAF*, e a maior predisposição para o cancro colo-retal. Além disso, também síndromes hereditárias como o cancro colo-retal hereditário sem polipose e a polipose adenomatosa familiar aumentam o risco do aparecimento desta patologia.

A farmacogenómica é o estudo da variabilidade genética individual relevante para a doença e terapêutica. O seu aparecimento veio tornar possível a terapêutica individualizada com base na expressão genética do indivíduo e o consequente aumento do sucesso do tratamento. Exemplo disso é o teste genético para o polimorfismo da *UGT1A1* que já se encontra em funcionamento para os regimes terapêuticos com o irinotecano.

Nos últimos anos, a terapêutica teve um incremento muito grande e surgiram tratamentos inovadores para o cancro, como as terapias de maior especificidade, das quais são exemplos terapias com os anticorpos monoclonais, o cetuximab e o bevacizumab. A avaliação dos indivíduos que beneficiarão destas terapêuticas torna-se uma mais valia para a diminuição de custos e toxicidade, com o aumento da eficácia de tratamento.

Palavras-chave: Cancro colo-retal; Terapias Biológicas; Farmacogenómica; APC; Sintomas hereditários

Abstract

Cancer emerges as a modern disease, being one of the leading causes of mortality in the world. In particular, colorectal cancer is the third most common type worldwide, with approximately 1.4 million people diagnosed. The increment of people diagnosed with this disease is due to the aging population as well as the increasing prevalence of risk factors.

The process of colorectal carcinogenesis involves, among other factors, genetic modifications which lead to alterations in gene function that can be transmitted to the following generations. Mutations in genes, such as *SMAD4*, *APC*, *p53*, *KRAS* and *BRAF* are already known to be associated with colorectal cancer. Moreover, hereditary syndromes such as non-polyposis hereditary colorectal cancer and familial adenomatous polyposis are also linked to an increased risk of developing this pathology.

Pharmacogenomics studies the individual genetic variability relevant to the disease and therapy. This field allows an individualized therapy based on the individual's genetic expression and the consequent improvement of treatment success. The genetic test for UGT1A1 polymorphism, for instance, is already being used for irinotecan therapy regimens.

In recent years, therapy has been dramatically improving and innovative treatments for cancer have emerged, namely, therapies with monoclonal antibody therapeutics with higher specificity, such as, cetuximab and bevacizumab. The assessment of individuals benefiting from therapy becomes an asset in terms of cost savings and toxicity, with increased treatment efficacy.

Key words: Colorectal cancer; Biological Therapies; Pharmacogenomics; APC; Hereditary symptoms

Índice Geral

Dedicatória	3
Agradecimentos.....	4
Resumo.....	5
Abstract	6
Índice Geral.....	7
Índice de Figuras	9
Índice de Tabelas.....	11
Índice de Anexos.....	12
Lista de Siglas	13
Capítulo 1- Enquadramento	16
1.1-Introdução	16
1.2-Objetivos.....	17
1.3-Metodologia.....	17
Capítulo 2- Cancro Colo-retal.....	18
2.1.2- Em Portugal	20
2.2- Anatomia e Fisiopatologia	21
2.2.1- Anatomia e Fisiologia.....	21
2.2.2- Patologia	21
2.3- Estádios da doença.....	24
2.4- Sintomas.....	25
2.5- Fatores de risco	25
Capítulo 3- Predisposição genética para o cancro colo-retal.....	28
Capítulo 4- Rastreio e Diagnóstico	44
4.2- Colonoscopia	45
4.3- Sigmoidoscopia.....	45
Capítulo 5- Tratamento	48
Capítulo 6- Farmacogenómica	50
6.1- Irinotecano	51
6.2- 5-fluorouracil	53
6.3- Oxaliplatina.....	57

Farmacogenómica do cancro colo-retal

6.4- Cetuximab e panitumumab	59
6.5- Bevacizumab.....	61
6.6-Regorafenib.....	63
Capítulo 7- Papel do Farmacêutico na doença	65
Capítulo 8- Conclusão.....	67
Bibliografia	68
Anexos.....	74

Índice de Figuras

Figura 2.1 - Taxa de incidência do cancro colo-retal, no sexo masculino (A) e no sexo feminino (B), em 2012.....	18
Figura 2.2 - Taxa de incidência do cancro colo-retal, em ambos os sexos, em 2012....	19
Figura 2.3 - Taxa de mortalidade do cancro colo-retal, em ambos os sexos, em 2012...19	
Figura 2.4 - Anatomia do sistema digestivo inferior.....	20
Figura 2.5 - Metastização do cancro colo-retal.....	22
Figura 2.6 - Evolução de células normais a células cancerígenas.....	22
Figura 3.1 - Comparação de anormalidades cromossomais numéricas entre duas linhagens celulares representativas caracterizadas por CIN (cariótipo aneuploide) e por MSI (cariótipo diploide).....	29
Figura 3.2 - Tipos de pólipos serreados.....	30
Figura 3.3 - Via de sinalização do TGF- β	33
Figura 3.4 - Regulação dos níveis de β -catenina e via de sinalização Wnt.....	35
Figura 3.5 - Papel das mutações no gene <i>KRAS</i> na ativação oncogénica das vias de sinalização intracelulares.....	36
Figura 3.6 - Anatomia dos pólipos pediculados ou sésseis, com histologia tubular, túbulo-vilosa ou vilosa.....	40
Figura 3.7 - Evolução da oncogénese colo-retal.....	42
Figura 4.1 - Diferença entre uma colonoscopia e uma sigmoidoscopia.....	41
Figura 6.1 - Vias de metabolização do irinotecano.....	51
Figura 6.2 - Variação da <i>TATA</i> box associado ao polimorfismo UGT1A1*28, com sete repetições de TA, em comparação com o polimorfismo de referência com seis repetições de TA.....	52

Figura 6.3- Localização dos SNP rs2741171 e rs2612091 no genoma humano.....	54
Figura 6.4 - Polimorfismo DYPD*2A no genoma humano em comparação com o polimorfismo de referência.....	55
Figura 6.5 - Papel da enzima ERCC1 na remoção de adutos de DNA formados pela oxaliplatina.....	58
Figura 6.6 - Mecanismo de ação do anticorpo monoclonal cetuximab.....	60
Figura 6.7 - Mecanismo de ação do bevacizumab.....	62

Índice de Tabelas

Quadro 2.1 - Estádios do cancro colo-retal e correspondente taxa de sobrevivência...24

Quadro 3.1 - Mutações mais frequentemente observadas nos codões 12 e 13 do exão 2 do gene *KRAS*.....37

Índice de Anexos

ANEXO I: Estadiamento do cancro colo-retal.....	75
ANEXO II: Tratamento para cada estágio do cancro colo-retal.....	76
ANEXO III: Características clínico-patológicas do Cancro colo-retal hereditário sem polipose da Polipose adenomatosa familiar.....	77
ANEXO IV: Algoritmo clínico para rastreio oportunístico do cancro do colo-retal.....	79
ANEXO V: Características dos vários tipos de lesões serradas.....	80

Lista de Siglas

3'-UTR	Região 3' não-traduzida
5-FU	5-fluorouracil
APC	<i>Adenomatous Poliposis Coli</i>
CA 19-9	Antigénio carbohidrato 19-9
CAP	Capecitabine
CCHSP	Cancro colo-retal hereditário sem polipose
CCRm	Cancro colo-retal com metástases
CEA	Antigénio carcino-embrionário
CIMP	Fenótipo metilador das ilhas de CpG
CIN	Instabilidade cromossomal, de <i>Chromosomal instability</i>
CK1 α/β	Caseína cinase 1 alfa/beta
DPD	Disidropirimidina desidrogenase
EB	Proteína <i>end-binding</i>
EGFR	Recetor do fator de crescimento epidérmico, de <i>epidermal growth factor receptor</i>
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
ERCC1	<i>Reduced excision repair cross-complementation group 1</i>
ERCC2	<i>Reduced excision repair cross-complementation group 1</i>
FOLFILI®	Associação dos fármacos 5-fluorouracil, leucovorina tetrahydrofolato e irinotecano
FOLFOX®	Associação dos fármacos 5-fluorouracil, leucovorina tetrahydrofolato e oxaliplatina

Farmacogenómica do cancro colo-retal

GAPs	Proteínas ativadoras das Guanosina trifosfatases
GCHP	HPs células globo
GEFs	Fator de troca do nucleotídeo guanina
GSK	Glicogénio sintase cinase, de <i>Glycogen synthase kinase</i>
GTPases	Guanosina trifosfatases
HP	Pólipos hiperplásticos
IGFBP7	Fator de crescimento insulina-like ligado à proteína 7, de <i>Insulin-like growth factor-binding protein 7</i>
KRAS	<i>Kirsten Rat Sarcoma viral oncogene homolog</i>
LRP-5/6	Receptor da lipoproteína de baixa densidade
MAD	<i>Mitotic Arrest Deficient</i>
MAPK	Via de sinalização da cinase <i>Mitogen Activated Protein</i>
MLH1	MutL homolog 1
MMR	<i>Mismatch Repair</i>
MMR+	Positivos para a presença de MSI
MP	Pólipos mistos
MPHP	HPs pobres em mucina
MSI	Instabilidade microssatélite, de <i>Microsatellite instability</i>
MVHP	HPs microvesiculares
MYH	Gene human MUY homologue
NER	Sistema de excisão de nucleótidos, de <i>Nucleotide Excision Repair</i>
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde
OXP	Oxaliplatina
PAF	Polipose adenomatosa familiar

Farmacogenómica do cancro colo-retal

Pb	Pares de bases
PI3K/AKT	<i>Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-Kinase Catalytic subunit alfa</i>
RAS	<i>Rat sarcoma virus</i>
SLP	Sobrevivência livre de progressão
SMAD4	Gene homólogo humano do gene <i>Mothers Against Decapentaplegic</i>
SNP	Polimorfismo de nucleótido simples
SPJ	Síndrome Peutz-Jegher
SSA	Adenomas serreados sesseis
TAC	Tomografia computarizada
TGF-β	Fator de transformação do crescimento beta, de <i>Transforming growth factor</i>
TS	Timidilato sintase
TSA	Adenomas serreados tradicionais
TβRI	Recetor TGF tipo I
TβRII	Recetor TGF- β tipo II
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial, de <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
XPA	<i>Xeroderma Pigmentosum grupo A</i>
XPD	<i>Xeroderma Pigmentosum grupo D</i>

Capítulo 1- Enquadramento

1.1-Introdução

O cancro surge como uma das doenças do século XXI, com uma taxa de mortalidade que faz com que este seja uma das principais causas de morte no mundo. Isto deve-se, especialmente, ao aumento exponencial da população e da sua esperança média de vida a partir da segunda metade do século XX.

O cancro colo-retal é uma neoplasia localizada no cólon ou no reto, uma vez que não existe uma barreira fronteira entre eles. Este pode ser caracterizada de acordo com as suas características morfológicas, clínicas e moleculares, sendo tradicionalmente classificado segundo critérios histopatológicos como o tamanho do tumor, o envolvimento ou não dos nódulos linfáticos e o seu estágio. Este último parâmetro é, por sua vez, determinado pela existência de metástases noutros tecidos diferentes do tecido colo-retal.

A terapêutica do cancro colo-retal envolve quimioterapia, cirurgia e/ou radioterapia, sendo esta mais eficaz quanto menor for o estágio do cancro. Com a evolução da pesquisa, novos fármacos foram descobertos e os anticorpos monoclonais, como o panicitumab e o cetuximab, começam a ganhar destaque no meio da terapêutica tradicional, como a oxaliplatina, o irinoteno e o 5-fluoracilo.

Atualmente, existem 1,4 milhões de pessoas diagnosticadas com esta patologia devido não só a fatores de risco ambientais, dieta, sedentarismo e características demográficas, mas também a fatores genéticos, associados a mutações em alelos de genes característicos, como o *KRAS* e o *ACP* e a síndromes hereditários, como a polipose adenomatosa familiar.

O cancro colo-retal é uma doença que aparece na maior parte dos casos de forma esporádica(80%) e que aparece em 20% dos casos de forma hereditária. Descobertas genéticas moleculares permitiram a divisão do cancro colo-retal hereditário em três vias possíveis para a carcinogénese: a via da instabilidade microsatélite, a via da instabilidade cromossomal e a via serrada, que correspondem a características de tumores diferentes.

A farmacogenómica é o estudo da variabilidade genética individual relevante para a doença e para a terapêutica e a sua aplicação no cuidado do doente está a crescer exponencialmente, aumentando a sobrevivência dos doentes ao mesmo tempo que evita custos desnecessários do Serviço Nacional de Saúde.

Para maximizar o diagnóstico desta patologia no início da doença, o papel do farmacêutico é essencial para detetar sintomas durante o seu aconselhamento ao utente e ajudar durante o tratamento do cancro, de forma a garantir a eficácia segura da terapêutica.

1.2-Objetivos

Esta dissertação tem como principal objetivo esclarecer sobre o conceito e protocolos de terapêutica do cancro colo-retal que são utilizados nos dias de hoje. Além disso, também pretende consciencializar sobre a importância dos fatores genéticos no âmbito do cancro colo-retal e a sua importância no planeamento do tratamento mais seguro e eficaz para cada doente.

1.3-Metodologia

Esta dissertação consiste numa revisão bibliográfica com o objetivo de sistematizar os mais recentes conhecimentos no âmbito da oncologia, nomeadamente, sobre os fatores genéticos associados ao desenvolvimento do cancro colo-retal a partir dos quais se podem aplicar protocolos de terapêutica personalizada a cada doente.

A investigação documental, isto é, a revisão da literatura, consistiu na análise de estudos e trabalhos disponibilizados com o objetivo de esclarecer o tema, definindo-o com maior precisão. A pesquisa para esta dissertação incluiu não só livros da área, mas também bases de dados online que permitiram aceder a revistas e artigos científicos, nomeadamente, PubMed, ResearchGate, Web of Science, entre outras. Os principais termos utilizados na pesquisa foram: “colorectal cancer”, “colorectal cancer pharmacogenomics”, “colorectal cancer therapeutic” e “hereditary colorectal cancer”.

Capítulo 2- Cancro Colo-retal

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o cancro é um crescimento descontrolado de células com, posterior, disseminação das mesmas, podendo afetar quase todo o organismo. O crescimento pode invadir os tecidos adjacentes, assim como se metastizar em outras partes do corpo mais distantes ¹.

O tumor é uma consequência de alterações em genes que controlam a função celular, em particular o crescimento e a divisão da célula. No entanto, o tumor pode ser benigno, quando existe um crescimento anormal de células restringido a um local, ou maligno, quando pode invadir tecidos e órgãos adjacentes ou mais distantes, designando-se, nesse caso, por “cancro”. Este requer estratégias diferentes de tratamento dependendo da sua localização e disseminação ^{1,2}.

As alterações que ocorrem no DNA celular podem dever-se a transmissão hereditária ou a exposição ambiental a agentes que podem danificar o DNA, tais como o fumo do tabaco ou o stress. Estas mutações podem contribuir para o cancro quando ocorrem em quatro tipos de genes: proto-oncogenes, genes supressores de tumores, genes reguladores da apoptose ou genes responsáveis pela reparação do DNA ².

As células cancerígenas vão diferir das células normais pelo facto de serem menos diferenciadas, tal lhes permite continuar a dividir-se sem parar. Além disso, têm a capacidade de ignorar sinais que levariam, em situações normais, a apoptose ou “morte programada da célula” ².

Existem mais de 100 tipos de cancros que são, normalmente, denominados de acordo com o órgão ou tecido em que inicialmente se formaram ². Assim sendo, o cancro que tem início no cólon, chama-se “cancro do cólon” e o cancro que tem início no reto, chama-se “cancro retal”. O cancro que afeta qualquer um destes órgãos pode ser chamado de “cancro colo-retal” ³.

O cancro colo-retal é, na maioria das vezes, um adenocarcinoma, uma vez que tem origem nas células do epitélio glandular no cólon ³.

2.1- Epidemiologia

2.1.1- No mundo

O cancro colo-retal é o terceiro cancro com maior incidência no sexo masculino correspondendo a uma taxa de 10,1% da totalidade de casos de cancro (Figura 2.1A); no sexo feminino, é a segunda forma de cancro em termos de incidência, apresentando uma taxa de 9,2% (Figura 2.1B). Em 2012, o cancro colo-retal foi diagnosticado em, aproximadamente, 1,4 milhões de pessoas no Mundo.

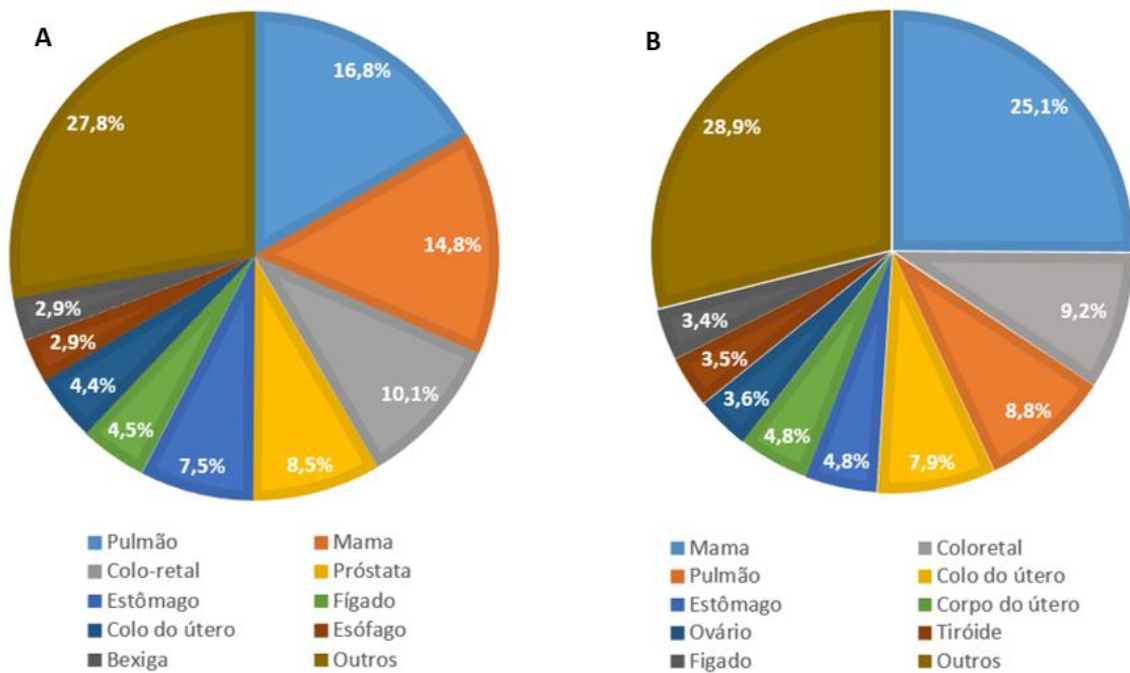


Figura 2.1- Taxa de incidência do cancro colo-retal, no sexo masculino (A) e no sexo feminino (B), em 2012. Adaptado de Globocan ⁴.

O cancro colo-retal apresenta uma incidência e mortalidade que aumentam com a idade do indivíduo e são maiores para o sexo masculino, o que parece refletir as diferenças na exposição a hormonas e a fatores de risco ⁵.

Quase 55% dos casos ocorrem em regiões desenvolvidas, o que demonstra a importância dos fatores de risco desta patologia. No entanto, é de realçar que a

mortalidade têm uma taxa muito maior nos países em desenvolvimento (52%) em comparação com os países desenvolvidos (8,5%), refletindo a baixa sobrevivência em regiões com mais pobreza e menos acesso a cuidados de saúde ⁴.

2.1.2- Em Portugal

Sendo a sétima doença em termos de anos potenciais de vida perdidos em Portugal, com 11,655 anos perdidos no ano de 2013 ⁶, com uma taxa de incidência de 14,5% (Figura 2.2) e com uma taxa de mortalidade de 15,7% no ano de 2012 (Figura 2.3), a prevenção do cancro colo-retal torna-se, assim, de extrema importância para a saúde nacional ⁴.

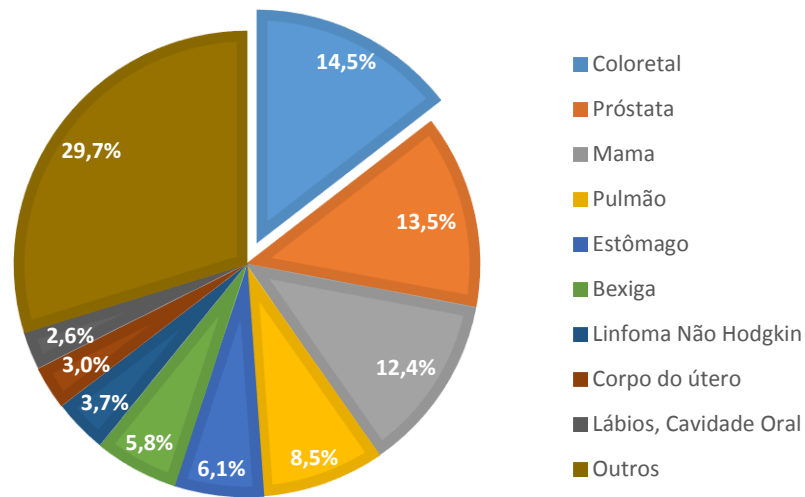


Figura 2.2- Taxa de incidência do cancro colo-retal, em ambos os sexos, em 2012. Adaptado de Globocan 2012 ⁴.

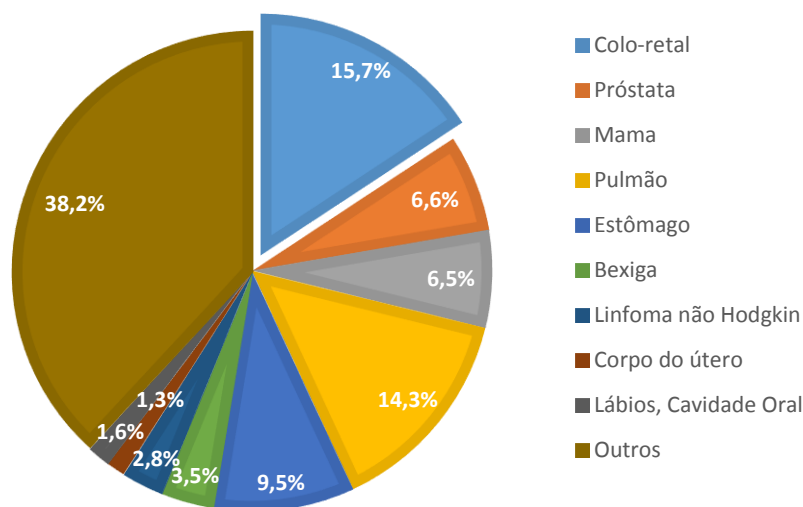


Figura 2.3- Taxa de mortalidade do cancro colo-retal, em ambos os sexos, em 2012. Adaptado de Globocan 2012 ⁴.

2.2- Anatomia e Fisiopatologia

2.2.1- Anatomia e Fisiologia

Conhecer a fisiologia de uma doença é essencial para a compreender e poder atuar no tratamento da mesma.

O cólon e o reto são elementos do intestino grosso, e fazem parte do aparelho digestivo, participando na absorção de nutrientes dos alimentos digeridos provenientes do intestino delgado e expulsão do desperdício do organismo ⁷.

O cólon mede cerca de um metro e meio e é constituído por cinco partes: cólon ascendente, transverso, descendente, sigmoide e reto ³. A parte do cólon que se une ao reto é o cólon sigmoide, a parte que se liga ao intestino delgado é o cego ⁷. Além disso, é constituído por cinco camadas: do interior para o exterior, a mucosa, a muscular da mucosa, a submucosa, a muscular, a subserosa e a serosa (Figura 2.4) ¹⁷.

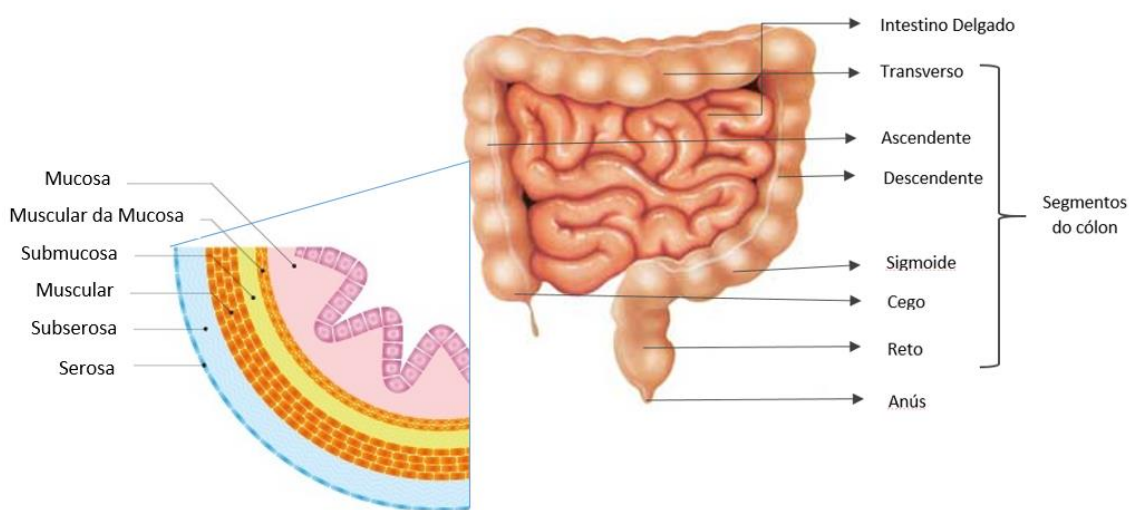


Figura 2.4- Anatomia do sistema digestivo inferior. Adaptado de Instituto CUF de Oncologia. ¹⁷

2.2.2- Patologia

O cancro colo-retal é uma neoplasia localizada no cólon ou no reto, uma vez que não existe uma barreira fronteira entre eles. Resulta de mutações em genes chave no ciclo celular, nomeadamente, proto-oncogenes, genes que regulam a apoptose ou a regeneração do DNA ou genes supressores de tumor. Muitas vezes, mutações em apenas

um destes genes não é suficiente para o desenvolvimento do cancro, mas a combinação de várias mutações pode ser o caminho para a carcinogénese.

Os proto-oncogenes estão envolvidos no crescimento e divisão celular. Quando estes sofrem mutações, tais eventos podem alterar o seu funcionamento, tornando-os mais ativos que o normal. Desta forma, os proto-oncogenes são convertidos em oncogenes, estimulando o crescimento e a sobrevivência das células, mesmo quando estas deviam sofrer apoptose e ser eliminadas pelo sistema imunitário ².

Os genes supressores de tumores também estão envolvidos no controlo do crescimento e divisão das células. Quando ocorrem certas mutações nestes genes, pode ocorrer uma inativação dos mesmos, levando a uma divisão descontrolada de células ².

Os genes de reparação de DNA estão envolvidos, como o nome indica, na reparação dos danos que ocorrem no genoma. Caso haja mutação nestes genes, isto pode levar a que os outros tenham uma menor probabilidade de reparar lesões no material genético, aumentando a probabilidade do surgimento de células cancerígenas ².

Já os genes reguladores da apoptose estão envolvidos na morte celular programada. Quando ocorre uma mutação num destes genes, a morte celular não é bem conduzida, levando a que células anormais continuem a sua divisão. Tal vai originar uma anomalia exponencial com possibilidade de formação de neoplasia.

Estas mutações podem resultar em carcinogénese, processo pelo qual se forma uma célula alterada que se pode multiplicar e originar um crescimento maligno. Estas células são malignas uma vez que têm autonomia e não respondem a sinalização de crescimento e a mecanismos de apoptose, adquirindo a capacidade de proliferar ilimitadamente e de invadir outros órgãos e tecidos, ou seja, metastizar-se ⁸.

A metastização acontece quando as células cancerígenas circulam para fora do tumor inicial, neste caso, do cólon ou do reto, através do sistema linfático ou circulatório ⁷.

No cancro colo-retal, as células cancerígenas têm de atravessar primeiro as cinco camadas do cólon para depois invadir outros tecidos através do sistema circulatório (Figura 2.5). As células são, usualmente, encontradas nos gânglios linfáticos vizinhos, aquando da metastização. Se as células cancerígenas já tiverem atingido estes gânglios, é provável que também se tenham disseminado para outros gânglios linfáticos, ou mesmo para outros órgãos, como o fígado, tornando mais complicado o tratamento deste tipo de cancro ⁷.

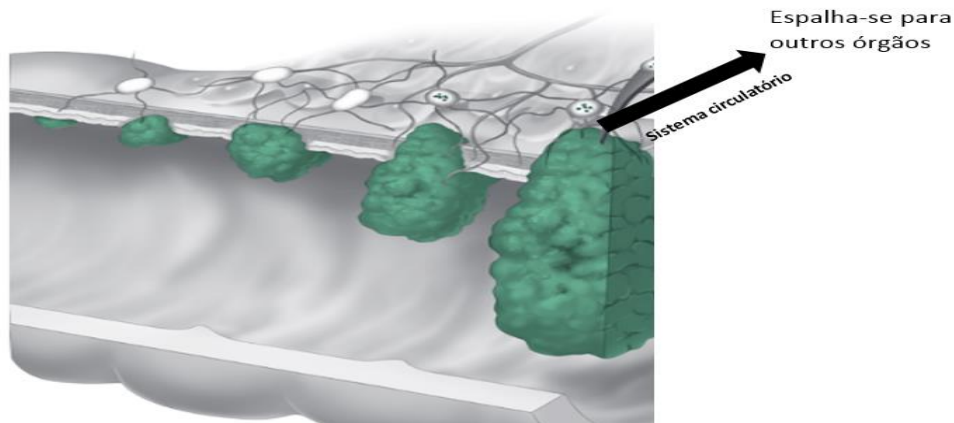


Figura 2.5- Metastização do cancro colo-retal. O que está a verde representa as células cancerígenas que proliferam e atravessam as cinco camadas do cólon. Quando ultrapassa as cinco camadas e chega aos vasos sanguíneos e tem a capacidade de proliferar para outros tecidos. Adaptado de *American Cancer Society*⁵.

Estudos indicam que 70% dos cancros colo-retal desenvolvem-se de pólipos adenomatosos esporádicos⁸. Pólipos são formações que se desenvolvem na mucosa do intestino, mais frequentemente no cólon. Existem vários tipos de pólipos, a maioria dos quais é benigna. No entanto, o pólipo adenomatoso, que corresponde a cerca de dois terços de todos os pólipos, encontra-se associado a mutações do DNA das células que o constituem, formando uma situação de displasia (Figura 2.6), a qual facilmente pode evoluir para um carcinoma, ou seja, uma situação maligna⁹. Os adenomas planos, que correspondem a cerca de 10% de todos os pólipos, são os mais difíceis de detetar na endoscopia, e podem ter uma elevada taxa de se tornarem malignos ou podem predispor para um fenótipo cancerígeno mais agressivo⁸.

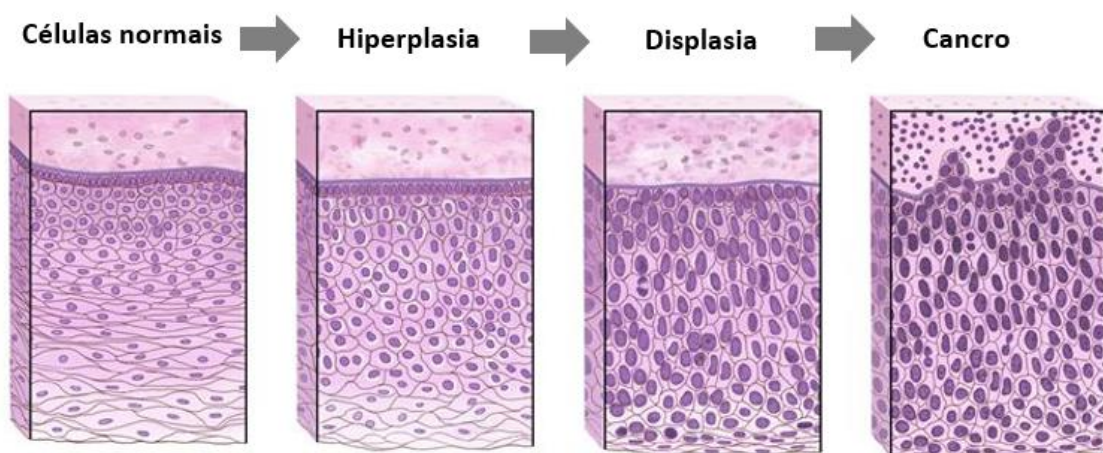


Figura 2.6- Evolução de células normais a células cancerígenas. No meio dessa evolução, as células passam por alterações a que se dá o nome de hiperplasia e displasia. Na hiperplasia, existe um aumento do número de células num órgão ou num tecido, mas estas parecem normais ao microscópio. Na displasia, as células têm um aspeto anormal ao microscópio, mas não são cancerígenas. Adaptado de *Instituto Nacional del Cáncer*¹⁰.

2.3- Estádios da doença

Após a confirmação da existência de um cancro, é necessário saber qual a extensão do mesmo, para que o tratamento seja planeado da melhor forma. O estágio da doença está relacionado com a disseminação ou não do tumor para tecidos vizinhos ou outras partes do corpo ¹¹.

Para determinar o estágio de um tumor pode-se realizar vários testes como análises ao sangue, colonoscopia, ecografia endorretal, radiografia ao tórax, tomografia computadorizada (TAC) ou ressonância magnética. Apesar dos testes disponíveis, muitas vezes o estadiamento só é determinado com um grau de certeza elevado após a cirurgia para remoção do tumor¹¹.

O cancro colo-retal pode ser classificado com um método baseado no sistema TNM, proposto pela *American Joint Committee on Cancer*, que se encontra mais detalhado no Anexo I e propõe uma classificação em estádios de 0 a IV, em que a partir do estágio II, o tumor já se encontra disseminado ¹¹.

- Estádio 0: o tumor encontra-se, apenas, no revestimento interior do cólon e do reto. Pode ser também denominado carcinoma *in situ*.
- Estádio I: o tumor desenvolveu-se para dentro da parede do cólon e do reto. No entanto, ainda não se espalhou para o exterior do cólon.
- Estádio II: o tumor desenvolveu-se mais profundamente na parede do cólon e do reto. Pode ter invadido tecidos vizinhos, no entanto, as células cancerígenas não chegaram aos gânglios linfáticos.
- Estádio III: o tumor já atingiu os gânglios linfáticos vizinhos, mas não chegou a outras partes do corpo.
- Estádio IV: o tumor já apresenta metástases noutras partes do corpo ¹¹.

A taxa de sobrevivência do cancro colo-retal vai depender, em grande parte, do estágio em que o tumor se encontra e vai ser inversamente proporcional a este. Assim, a probabilidade de sobrevivência num indivíduo com cancro colo-retal no estágio IV vai ser muito menor que a probabilidade de um indivíduo no estágio I (Quadro 2.1) ⁸.

Quadro 2.1- Estádios do cancro colo-retal e correspondente taxa de sobrevivência. Adaptado de Hobbs ⁸.

Estádio	Taxa de sobrevivência
Estádio 0	100%
Estádio I	90-100%
Estádio II	75-85%
Estádio III	30-40%
Estádio IV	<5%

2.4- Sintomas

Os sintomas do cancro colo-retal não são exclusivos e, quando presentes, podem ser indicadores de outras doenças como tumores benignos e, por isso, o médico representa um papel essencial no diagnóstico da doença.

Além disso, estágios iniciais do cancro raramente apresentam sintomas sendo de grande importância a realização de rastreios. Em estágios mais avançados os sintomas apresentam-se geralmente como ⁵:

- Alteração de hábitos intestinais;
- Diarreia, obstipação ou sensação de que o intestino não esvazia completamente;
- Presença de sangue nas fezes, que pode levar a anemia;
- Fezes menores que o habitual;
- Desconforto abdominal;
- Perda de peso inexplicada;
- Cansaço constante;
- Náuseas e vômitos ¹².

2.5- Fatores de risco

Qualquer comportamento ou condição que aumente o risco de ter uma doença é denominado “fator de risco” ¹³. Conhecer os fatores de risco pode ser uma forma de prevenir a doença, uma vez que os fatores comportamentais podem ser evitados. No entanto, fatores de risco hereditários não o são e, nesse caso, a melhor forma de controlar

o aparecimento da doença é o rastreio. Alguns dos riscos associados ao cancro colo-retal são:

- a) **Idade:** o risco de cancro colo-retal aumenta com a idade. Aliás, é conhecido que 90% dos casos e 93% das mortes ocorrem em pessoas com mais de 50 anos. A idade média de aparecimento desta neoplasia é de 72 anos ^{5,13}.
- b) **Etnia:** as taxas da presença deste cancro são maiores em pessoas africanas e menores em pessoas de etnia asiática. A incidência em indivíduos de etnia africana foi 25% maior que nos de etnia caucasiana e 50% maior que a asiática⁵.
- c) **Sedentarismo:** um dos principais fatores de risco comportamentais é a inatividade física. As pessoas ativas têm 25% menos risco de sofrer desta patologia e a taxa de sobrevivência é maior ⁵.
- d) **Dieta:** estudos sugerem que uma dieta rica em gorduras, especialmente gordura animal, e pobre em cálcio, folatos e fibras, pode aumentar o risco de cancro colo-retal. Sugerem ainda que pessoas com uma dieta muito pobre em fruta e vegetais, podem ter risco aumentado para esta doença ¹⁴.
- e) **Medicação:** existe a evidência de que os anti-inflamatórios não esteroides (AINES) reduzem o risco do aparecimento do cancro colo-retal, no entanto, não é aconselhado a toma como prevenção, uma vez que os AINES induzem hemorragias ⁵. Além disso, também foi demonstrado que a medicação hormonal para a pós-menopausa e que os anti-contracetivos diminuem o risco do aparecimento da doença⁵.
- f) **Doença de Crohn ou colite ulcerosa:** são doenças que provocam a inflamação do cólon cronicamente, o que leva a um risco aumentado de desenvolver cancro colo-rectal. É estimado que 18% dos doentes com colite ulcerosa durante 30 anos desenvolvem esta neoplasia ^{5,14}.
- g) **História Familiar e hereditária:** Doentes com um familiar de primeiro grau com história de cancro colo-retal têm uma probabilidade duas a três vezes maior de também desenvolver a doença. Caso um indivíduo tenha mais do que um familiar direto com a patologia, o risco aumenta três a seis vezes quando comparado com o resto da população. No entanto, a taxa de sobrevivência nestes casos é maior, uma vez que a atenção com a doença é maior e o diagnóstico precoce é maior ⁵.

É conhecido que 5% dos doentes com cancro colo-retal têm uma síndrome hereditária denominada “síndrome de Lynch” ou “cancro colo-retal hereditário sem polipose” que, para além de aumentar o risco do cancro, também provoca o aparecimento do mesmo numa idade mais precoce (45 anos), comparado com a população geral, em que o aparecimento geralmente aparece entre os 67 e 71 anos⁵, como iremos abordar mais à frente.

A segunda síndrome hereditária mais frequente entre os portadores de cancro colo-retal é a polipose adenomatosa familiar, que é caracterizada pelo aparecimento de centenas de pólipos colo-retais nos indivíduos afetados. Por isso, identificar as famílias portadoras desta síndrome é um modo eficaz de prevenção⁵.

- h) Alterações genéticas:** certas mutações em genes como os proto-oncogenes ou genes supressores de tumores aumentam o risco do aparecimento da patologia¹⁴.
- i) Pólipos colo-retais:** os pólipos são comuns em pessoas com idade superior a 50 anos. A maioria dos pólipos é benigna; no entanto, alguns pólipos, como os adenomas, podem tornar-se cancerígenos; detetar e remover os pólipos é um modo de prevenção do cancro colo-retal¹⁴.

Capítulo 3- Predisposição genética para o cancro colo-retal

O cancro colo-retal é uma doença que aparece em 80% dos doentes de forma esporádica; no entanto, em 20% há uma suscetibilidade hereditária à neoplasia ^{46,47}.

Dentro das formas hereditárias que podem conduzir ao cancro colo-retal, o cancro colo-retal hereditário sem polipose (CCHSP) ou Síndrome de Lynch é o mais prevalente, sendo responsável por 20-30% destes. No entanto, outras formas hereditárias podem conduzir à neoplasia como a polipose adenomatosa familiar (PAF) que aparece associada à mutação no gene responsável pela reparação do DNA, designadamente, o *Adenomatous Poliposis Coli* (APC) ⁴⁶.

Descobertas genéticas moleculares permitiram a divisão do cancro colo-retal hereditário em três vias possíveis para a carcinogénese: a via da instabilidade microssatélite, a via da instabilidade cromossomal e a via serrada. A primeira via corresponde a tumores como os associados ao CCHSP que mostram instabilidade microssatélite (MSI) e conta com aproximadamente 15-20% dos casos esporádicos de cancro colo-retal. A segunda via engloba tumores como os associados à PAF e à maioria dos tumores esporádicos que apresentam instabilidade cromossomal (CIN), e é o tipo de instabilidade genómica mais comum, ocorrendo em 60% de todos os casos. Por fim, a terceira via envolve a hipermetilação de regiões de DNA específicas próximas dos genes promotores: as ilhas de CpG. ^{48,57,58,59}.

3.1- Vias de carcinogénese

3.1.1- Instabilidade microssatélite (MSI)

Esta via corresponde a tumores como os associados ao CCHNP que mostram instabilidade microssatélite (MSI). Corresponde a tumores que ocorrem mais frequentemente no cólon direito e as células são diploides (Figura 3.1). Os microssatélites

são sequências repetitivas simples, usualmente com 1-4 pares de bases, presentes no genoma e altamente variáveis e suscetíveis a mutações durante a replicação do DNA.

Esta via é relacionada com a inativação do sistema de reparação do DNA, o *Mismatch Repair*, (MMR), originando a falta de reparação de mutações. Na sua forma não mutada, o MMR comporta-se como um supressor de tumor. Porém, quando os genes do MMR sofrem mutações que causem a sua completa inativação, verifica-se uma marcada redução da função do mesmo. Como o sistema de reparação do DNA está comprometido, a instabilidade em DNA microssatélite (MSI) aumenta significativamente⁴⁷. Esta instabilidade cria alterações em sequências microssatélites, resultando em mutações nos genes que atuam na regulação do crescimento celular⁴⁹.

A deteção da MSI constitui um potencial marcador para o prognóstico do cancro colo-retal. Para além de ser indicador para o CCHSP, também pode ser utilizado, como indicador de prognóstico e de resposta à quimioterapia adjuvante em doentes com casos de cancro colo-retal esporádico. Estudos indicam que as células com MSI apresentam resposta inferior ao tratamento com 5-fluorouracil e os doentes apresentam uma taxa de sobrevivência menor. No entanto, isto ainda se apresenta controverso, uma vez que existem estudos que demonstram o contrário. O uso de testes de MSI não é aconselhado como rotina, mas pode ser utilizado para a deteção de CCHSP. Este teste não deve ser utilizado como previsão de resposta à quimioterapia devido à incerteza relacionada com o tema⁶⁰.

Os tumores que se apresentarem como positivos para a presença de MSI (MSI+) podem ser subdivididos em MSI-alto (onde existe um alto nível de instabilidade) e MSI-baixo (onde existe um baixo nível de instabilidade). Segundo um artigo publicado⁶¹, MSI-alto foi definido como mais de 20% dos *loci* instáveis e MSI-baixo como menos de 10% *loci* instáveis numa comparação do DNA germinal com o DNA do tumor⁵⁷.

Em tumores esporádicos, as mutações que ocorrem nos genes do MMR da linha germinal são raras em tumores com MSI-alto (aproximadamente 2%) em contraste com os doentes com CCHSP, na qual quase todos os adenomas têm MSI-alto⁵⁷.

3.1.2- Instabilidade cromossomal (CIN)

A via de instabilidade cromossomal engloba tumores como os associados à PAF e à maioria dos tumores esporádicos, os quais tendem a desenvolver-se no cólon esquerdo.

São caracterizados por mutações em genes que codificam proteínas como o *Kirsten Rat Sarcoma viral oncogene homolog (KRAS)*, *APC*, *p53* e mutações na via de sinalização do fator de transformação do crescimento beta (TGF- β). Os tumores CIN são também caracterizados pela perda da heteroziguidade, rearranjos cromossomais e anomalias numéricas como as aneuploidias (Figura 3.1). A via CIN é o tipo de instabilidade genómica mais comum, ocorrendo em 60% de todos os casos de cancro colo-retal ^{48,58}.

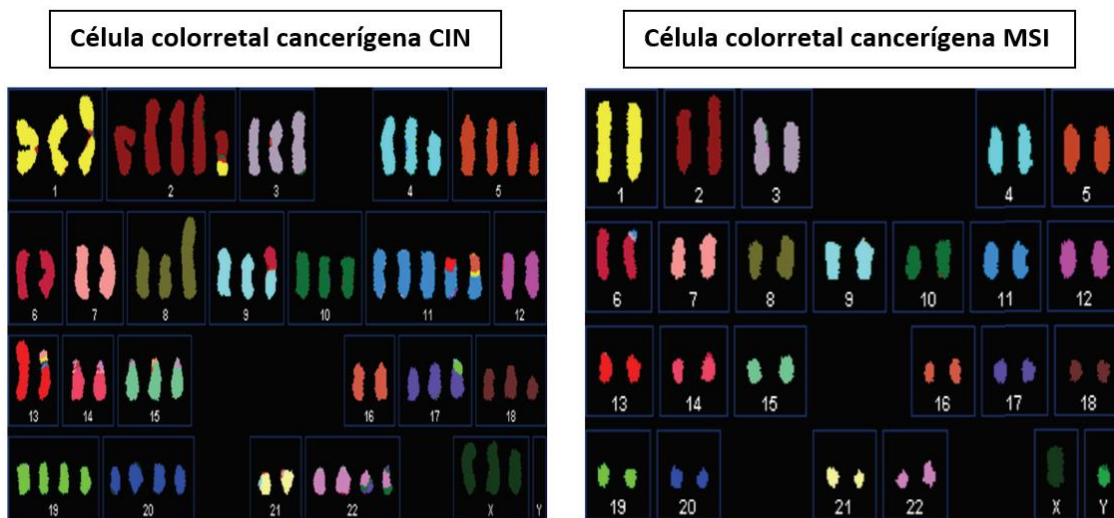


Figura 3.1- Comparação de anormalidades cromossomais numéricas entre duas linhagens celulares representativas caracterizadas por CIN (cariótipo aneuploide) e por MSI (cariótipo diploide). Adaptado de Pancione *et al* ⁵⁸.

3.1.3- Via serreada

A terceira via para a carcinogénese é a via serreada, denominada como tal devido à aparência serreada dos tumores nas análises histológicas (Anexo V). Esta via envolve a hipermetilação de regiões de DNA específicas próximas dos genes promotores: as ilhas de CpG. Este tipo de tumores também apresenta genoma diploide e envolve quatro tipos de alterações moleculares: mutações nos genes *BRAF* e/ou *KRAS*, MSI e hipermetilação das ilhas de CpG ⁴⁸. As ilhas de CpG são regiões do DNA onde se encontram citosinas e guaninas de forma contínua, unidas por uma ligação fosfodiéster. Estas áreas são encontradas em regiões de genes promotores envolvidos em muitas funções. No cancro colo-retal, o MutL homolog 1 (MLH1), um componente do MMR, é uma dessas zonas. A hipermetilação dessas zonas vai levar a uma inativação do sistema de reparação do

DNA, iniciando o processo de carcinogênese. Apesar de existir metilação do DNA em todos os câncers, existe um fenótipo em que esta ocorre com maior frequência, denominado como fenótipo metilador das ilhas de CpG (CIMP). Este fenótipo está associado a oito marcadores: *RUNX3*, *CACNA1G*, *IGF2*, *MLH1*, *NEUROG1*, *CRABP1*, *SOCS1* e *CDKN2A*. Este pode ser dividido em três tipos: o CIMP- se nenhum dos marcadores forem metilados; CIMP-L se 1-5 marcadores for metilado e CIMP-H se 6-8 marcadores se encontrarem metilados ^{59,62}.

Os pólipos serrados podem ser divididos em quatro tipos: adenomas serrados sesséis (SSA), adenomas serrados tradicionais (TSA), pólipos mistos (MP) e pólipos hiperplásticos (HP). Os pólipos hiperplásticos são os mais comuns (80-90%) que também se dividem em três subtipos: HPs microvesiculares (MVHP), HPs células globo (GCHP) e HPs pobres em mucina (MPHP) (Figura 3.2) ⁵⁹.

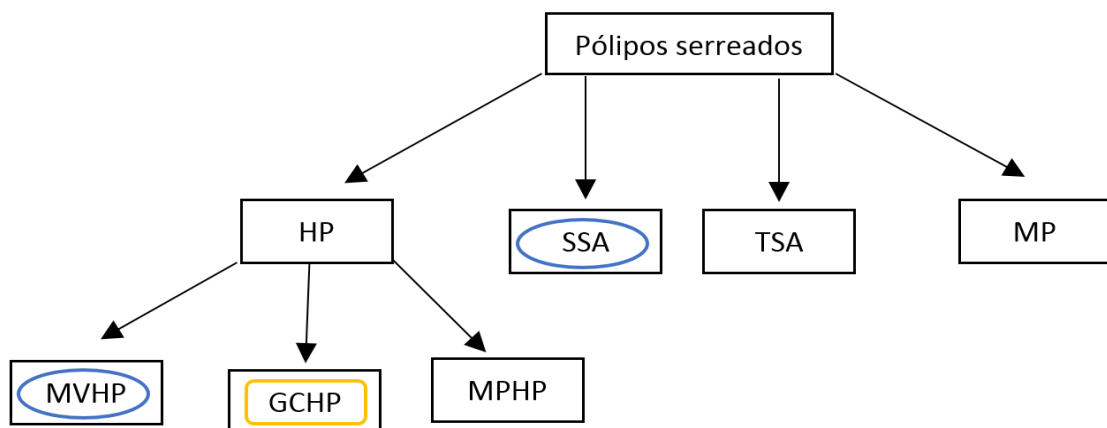


Figura 3.2- Tipos de pólipos serrados. Existem quatro tipos de pólipos, nomeadamente, os pólipos hiperplásticos (HP), adenomas serrados sesséis (SSA), adenomas serrados tradicionais (TSA) e pólipos mistos (MP). Os pólipos podem ser caracterizados de acordo com mutações nos genes *KRAS* (retângulo laranja) ou *BRAF* (círculo azul). Adaptado de Murcia *et al* ⁵⁹.

Apenas uma pequena minoria de pólipos são convertidos em cancro colo-retal. Os adenomas serrados sesséis constituem 10-25% de todos os pólipos, no entanto, surgem com preferência pelo cólon direito que é um dos factores que causa a maior probabilidade de formar neoplasia. Já os adenomas serrados tradicionais têm uma menor probabilidade, uma vez que se desenvolvem com preferência pelo cólon esquerdo. Por fim, os pólipos mistos constituem cerca de 1-4% e, normalmente, conjugam lesões

displásicas (TSA ou um adenoma convencional) e não displásicas, usualmente, um adenoma serreado sessil ou um HP. Outras características e histologia associadas a estas lesões serreadas podem ser encontradas no Anexo V ⁵⁹.

A via serreada tem duas características chave: a hipermetilação de certas regiões promotoras no genoma, designadas “ilhas de CpG”, e as alterações de genes na via de sinalização da cinase *Mitogen Activated Protein* (MAPK). A primeira já foi anteriormente explicada; a via MAPK é uma via de transdução de sinal intracelular e pode envolver mutações no proto-oncogene *BRAF* ou no gene *KRAS*. O gene *BRAF* codifica para a proteína Raf, e podem originar ativação do oncogene, ou seja, induzir a proliferação celular e inibir a apoptose ⁵⁹. No gene *KRAS* as consequências são similares no sentido que elas podem induzir a proliferação e inibir a apoptose. As mutações neste último gene têm sido ligadas à via CIN, mas também aparecem em alguns cancros serreados e representam 30-40% de todos os casos de cancro colo-retal. A combinação da mutação *KRAS* com o fenótipo CIMP-L constitui uma via de cancro colo-retal estabelecida pela via serreada ⁵⁹.

3.2- Genes

3.2.1- *SMAD4* e TGF- β

O *SMAD4* é um gene homólogo humano do gene *Mothers Against Decapentaplegic* (*MAD*) da drosófila e está localizado no braço longo do cromossoma 18 (locus 18q21). O *SMAD4* codifica mediadores intracelulares da via do *Transforming Growth Factor β* (TGF- β). Esta é uma via inibitória que é responsável por exercer uma série de efeitos incluindo a regulação do crescimento celular, a diferenciação e a apoptose e tem sido implicado numa vasta gama de cancros humanos ⁵⁷.

A via do TGF- β funciona como um supressor de tumores no epitélio do cólon. O sinal de TGF- β é iniciado pela ligação da proteína TGF- β ao recetor TGF- β tipo II (T β RII) o que leva ao recrutamento do recetor TGF tipo I (T β RI), levando à fosforilação dos fatores de transcrição, SMAD2 e SMAD3, que se ligam e ativam o SMAD4. De seguida, estes complexos migram para o núcleo onde ativam outros genes *checkpoint* do ciclo celular, como o *CDKN1A* (p21), o *CDKN1B* (p27) e o *CDKN2B* (p15), que, quando ativados, causam a suspensão deste ciclo (Figura 3.3) ⁵⁷.

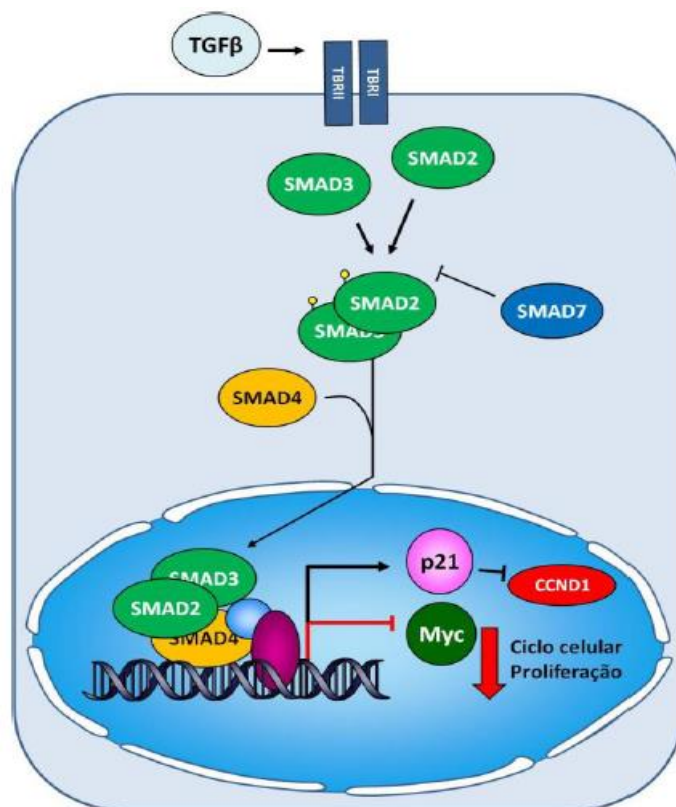


Figura 3.3- Via de sinalização do TGF- β . A ativação da transdução do sinal de TGF- β tem início com a ligação de uma das isoformas de TGF- β ao seu recetor tipo II (T β RII), recrutando o recetor tipo I, levando à fosforilação das SMADs 2 e 3 (representado por círculos verdes). Este complexo associa-se à proteína SMAD4 e transloca-se para o núcleo, onde dirigirá a transcrição de diversos genes-alvo. Adaptado de Geraldo M. ⁶⁷.

Num estudo feito por Zhou *et al* ⁶³ foi evidenciado que quando se faz uma deleção de modo a inativar o gene que codifica a SMAD4, tal leva a que a transdução da via do TGF- β pare, originando uma proliferação celular descontrolada. A via da ubiquitina-proteassoma também tem sido implicada como responsável por acelerar a degradação da proteína mutada codificado pelo SMAD2/4, levando também ao descontrolo da proliferação celular.

Além disso, em estádios mais avançados do cancro colo-retal, a via do TGF- β promove a invasão do tumor e metástases. A razão para tal deve-se ao facto que esta via regular a produção de fatores de crescimento, como o TGF- β , o FGF e o EGF, ou devido ao facto de as células tumorais mais avançadas podem-se tornar mais resistentes ao efeito inibitório da via do TGF- β ⁵⁷.

Por outro lado, o gene que codifica para o recetor T β RII encontra-se inativado pela hipermetilação da região do promotor em mais de 90% dos cancros colo-retais que apresentam MSI. No entanto, nos tumores que não apresentam MSI, a insensibilidade

deste fator de crescimento deve-se a mutações que ocorrem nos genes *Mitotic Arrest Deficient* (MAD) que transmitem sinais de inibição do crescimento para os recetores do TGF- β , conferindo-lhe um papel importante na oncogénese. Para além deste, também o gene *BAX*, um promotor da apoptose, pode apresentar mutações e contribuir para o processo da formação do carcinoma ^{46,49,57}.

3.2.2- *Adenomatous polyposis coli* (APC)

O gene *APC* é localizado no braço longo do cromossoma 5 (locus 5q21). Codifica uma proteína com variadas funções no nosso organismo e que interage com outras proteínas importantes no controlo da função celular, nomeadamente, a β -catenina, a glicogénio sintase cinase (GSK), a proteína *end-binding* (EB) e a cinase Bub. As primeiras duas estão intimamente envolvidas na via de sinalização Wtn ⁵⁷.

A proteína produto do *APC* não mutado liga-se à β -catenina, ao GSK-3 β e à caseína cinase 1 alfa/beta (CK1 α/β) utilizando um esqueleto de actina/condutina. Assim, quando o APC está mutado isto não vai ocorrer, uma vez que a β -catenina e o produto do *APC* não se podem ligar. Tal vai levar a que não haja degradação por fosforilação pela via ubiquitina-proteassoma. A β -catenina vai-se acumular e promover a carcinogénese pela via de sinalização do Wnt ⁵⁷.

Quando a β -catenina não é degradada ela vai promover a ativação da via de sinalização Wnt pela sua entrada no núcleo para ativação de genes alvo do Wnt, como o *TCF* e o *LEF*. As glicoproteínas Wnt vão se ligar ao receptor da lipoproteína de baixa densidade (LRP-5/6) e vai ocorrer a fosforilação deste pelas proteínas GSK-3 β e CK1 α que causa a degradação da actina. Tal vai fazer com que esta não possa ser incluída no esqueleto actina/condutina levando a que a β -catenina não seja degradada, criando uma contínua estimulação desta via e, assim, uma hiperproliferação do epitélio do cólon que pode, facilmente, originar um evento carcinogénico (Figura 3.4) ⁵⁷.

O gene *APC* tem uma mutação mais comum que corresponde a um codão stop prematuro causado por uma mutação pontual originando uma proteína truncada. As mutações *APC* têm sido observadas em 30-70% dos adenomas esporádicos e em 34-72% dos carcinomas esporádicos e tem-se observado que ocorrem com uma frequência semelhante em todos os estágios do cancro colo-retal, evidenciando como esta mutação ocorre como um evento precoce ⁵⁷.

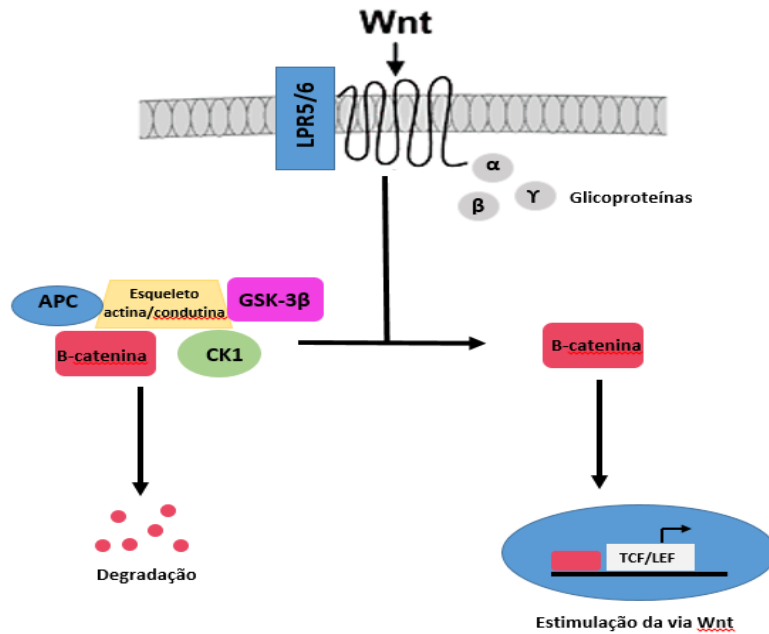


Figura 3.4- Regulação dos níveis de β-catenina e via de sinalização Wnt. O APC liga-se à β-catenina, ao CK1 e ao GSK-3β através de um esqueleto de actina e condutina o que levará à degradação da β-catenina. Caso o APC sofra uma mutação, isto não ocorre e a β-catenina vai-se acumular e dirigir-se para o núcleo onde ativará genes, como o *TCF* e o *LEF*, envolvidos da via de sinalização do Wnt, estimulando a mesma. Tal leva a que ocorra uma hiperproliferação do epitélio do cólon, aumentando a probabilidade de displasia e progressão a neoplasia.

3.2.3- KRAS

O *KRAS* é um oncogene que se encontra localizado no braço curto do cromossoma 12 (locus 12p12), pertence à família RAS (*KRAS*, *HRAS* e *NRAS*) e é um gene homólogo celular de um gene de transformação do vírus de sarcoma de ratinho (*Kristen Rat Sarcoma Viral Oncogene Homologue*).

O *KRAS* é essencial para a regulação de vias de sinalização intracelulares, uma vez que codifica para guanosinas trifosfatases (GTPases) que atuam como transdutoras de sinal.⁶⁴

As proteínas da família RAS são ativadas pela sua ligação à GTP através dos fatores de troca do nucleotídeo guanina (GEFs) que são estimulados pela ativação de recetores de fatores de crescimento, nomeadamente, o EGFR e inativadas pela ação das GTPases, que são estimuladas pelas proteínas ativadores das guaninas (GAPs)⁶⁴. Assim que ocorre a ligação RAS-GTP (forma ativa) inicia-se a estimulação de cascatas de vias de sinalização, nomeadamente, a via do *Rat sarcoma vírus/Mitogen-activated protein*

kinase (RAS/MAPK) e a via do *Phosphoinositide-3-kinase* (PI3K/AKT). Estas estão associadas com a apoptose, proliferação celular e angiogénese ⁶⁴.

Para manter a homeostase do organismo é necessário que a concentração de proteínas ativas e inativas se mantenham contantes. No entanto, quando o *KRAS* sofre uma mutação, o equilíbrio entre RAS-GTP e RAS-GDP pode ser alterado, uma vez que existe uma diminuição da atividade da GTPase, tornando-a resistente às GAPs. Caso ocorra um desequilíbrio levando a uma maior ativação das proteínas RAS, isto vai conduzir a uma permanente ativação das vias de sinalização e assim induzir a carcinogénese. (Figura 3.5) ⁶⁴.

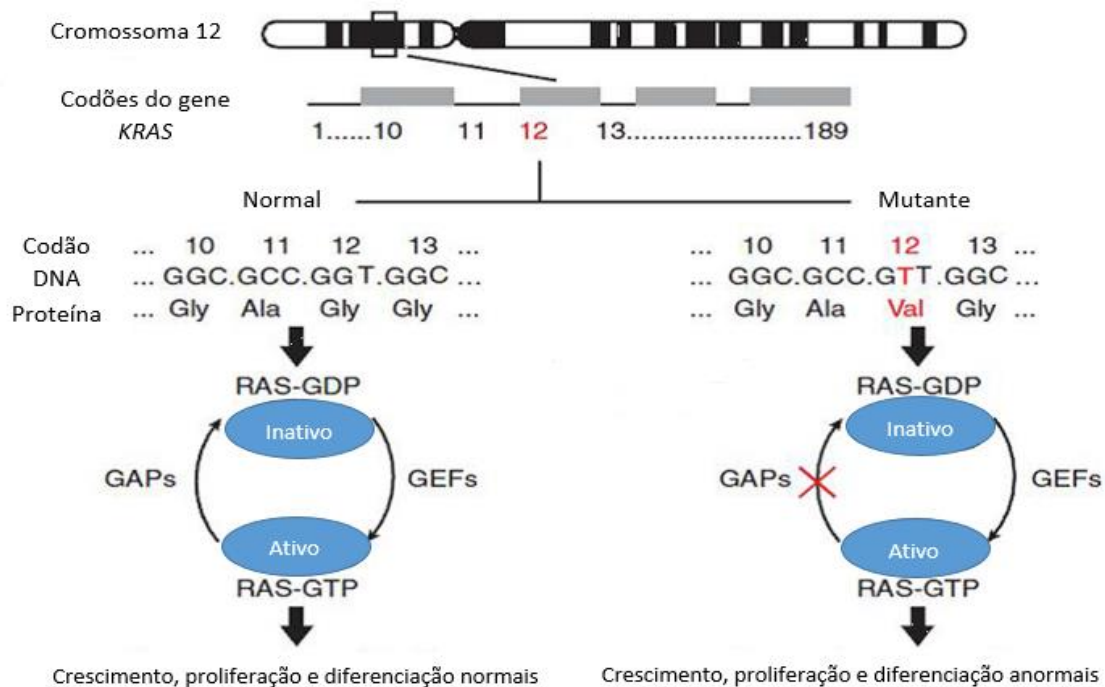


Figura 3.5 –Mutação no *KRAS* e interação com vias de sinalização. O gene *KRAS* codifica para GTPases que inativam as proteínas RAS-GTP. Caso o gene *KRAS* esteja mutado, a inativação não vai ocorrer o que conduz à permanente ativação das proteínas RAS, que vão estimular várias cascatas de vias de sinalização e assim conduzir a uma apoptose e proliferação celular anormais. Adaptado de Fernandes de Pina M. ⁶⁴

As mutações no gene *KRAS* são bastante frequentes nos indivíduos com cancro colo-retal, com uma taxa de incidência de 30-60% e podem dever-se a alterações nos codões 12 e 13 (82-87%). No codão 12, as mutações p.Gly12Asp e p.Gly12Val, são as mais comuns, e, no codão 13 a substituição de uma glicina por um aspartato (p.Gly13Asp) é a mutação mais frequente (Quadro 3.1). Estas mutações são, geralmente, observadas

como mutações somáticas e ocorrem como um evento precoce na progressão a carcinoma colo-retal. Porém, isoladamente, podem não ser suficientes para o início da carcinogênese ^{57,64}.

Tais mutações apresentam um papel essencial na decisão terapêutica de doentes com cancro colo-retal com metástases (CCRm), uma vez que são indicadores da resposta de alguns anticorpos monoclonais. Desde o ano de 2009 que a Sociedade Americana de Oncologia Clínica (ASCO – *American Society of Clinical Oncology*) recomenda que todos os doentes com cancro colo-retal com metástases sejam candidatos à terapia monoclonal anti-EGFR devem ser testados para a pesquisa de mutações nos codões 12 e 13 do gene *KRAS* ⁶⁴.

Quadro 3.1- Mutações mais frequentemente observadas nos codões 12 e 13 do exão 2 do gene *KRAS* ⁶⁴.

Codão	Nucleótido variante	Aminoácido variante	Frequência (%)
12	c.35G→A	p.Gly12Asp	31,4
	c.35G→T	p.Gly12Val	25,3
	c.34G→T	p.Gly12Cys	8,2
	c.34G→A	p.Gly12Ser	6,0
	c.35G→C	pGly12Ala	4,7
	c.34G→C	pGly12Arg	1,4
13	c.38G→A	p.Gly12Asp	21,2
	c.37G→T	p.Gly13Cys	0,6

3.2.4- p53

O *p53* é um gene supressor de tumores e localiza-se no braço curto do cromossoma 17. Ele tem uma função importante no bloqueio da proliferação celular na presença de DNA danificado como também promove a reparação do DNA e causa a apoptose se a sua retificação não for suficiente ⁵⁷.

Supõe-se que o mecanismo da carcinogénese colo-retal, na qual o p53 está envolvido, corresponde a uma inativação funcional devido a mutações *missense*, ou seja, mutações que levam à codificação de um aminoácido diferente. Em alternativa, tal poderá dever-se a uma interação viral oncogénica com o gene ⁵⁷.

Foi sugerido que esta inativação seja um dos fatores necessários para a transição adenoma-carcinoma no cólon, uma vez, que a sua inativação funcional ou perda de um alelo *wild type* do *p53* está presente em 4-26% dos casos de adenomas colo-retais e em 50-75% dos adenocarcinomas do cólon ⁵⁷.

3.2.5- *BRAF*

A família RAF pertence às cinases serina-treonina e é constituída por três tipos de cinases, designadas tipo A, B e C. O gene *BRAF* corresponde ao tipo B e está localizado no cromossoma 7q34. Mutações neste gene são uma via alternativa para a carcinogénese colo-retal, estando presente em 10% de todos os casos de cancro colo-retal ⁵⁷.

As mutações no *BRAF* afetam duas regiões domínio da cinase BRAF e produzem a ativação do segmento, possuindo maior atividade da cinase e, provavelmente, são responsáveis pelo sinal de crescimento não regulado e, assim, do início da carcinogénese ⁵⁷.

A mutação *BRAF* é rara em tumores CIN e a sua presença exclui quase completamente a síndrome de Lynch. No entanto, estão muito presentes em pólipos serreados, nomeadamente 36% em HP e 100% em SA ⁵⁷.

A mutação *BRAF* V600E, em que uma valina é substituída por um glutamato no codão 600 é a mais comum e a mais bem caracterizada. A mutação V600E origina a ativação do segmento e, conseqüentemente, induz a proliferação celular e inibe a apoptose ⁵⁹.

3.3- Síndromes Hereditárias

3.3.1- Cancro colo-retal hereditário sem polipose (CCHSP)

O cancro colo-retal hereditário sem polipose (CCHSP) ou é a forma hereditária mais comum, correspondendo a 20-30% destes casos e corresponde a um exemplo da via da instabilidade microssatélite. O CCHSP ou síndrome de Lynch é uma doença autossómica dominante hereditária que aumenta o risco não só para o cancro colo-retal, mas também para o do endométrio, ovário, mama, estômago, intestino delgado, fígado-vesícula biliar, pâncreas, uretra e da pelve renal ⁴⁶. Outras características clínico-patológicas associadas ao CCHSP encontram-se no Quadro 3 do Anexo III.

Esta síndrome origina a neoplasia com preferência para o cólon direito, ao contrário do que se pode observar na PAF e em casos de cancro colo-retal esporádico. Tem ainda uma idade média de aparecimento mais precoce, nomeadamente, aos 45 anos. A taxa de sobrevivência é geralmente melhor, uma vez que o tumor se apresenta numa forma menos avançada e, geralmente, o diagnóstico é feito numa fase mais inicial do aparecimento do tumor ⁴⁶.

As mutações que causam CCHSP ocorrem em genes do MMR, nomeadamente no *MHL1*, *MSH2*, que representam a localização de 60% das mutações detetadas e no *MSH6*, *PMS1* e *PMS2*, onde também foram encontradas mutações menos comuns. Nesta síndrome, raramente, são encontradas mutações *de novo*. As células com genes MMR defeituosos acumulam mutações numa taxa 1000 vezes superior à observada em células normais, o que favorece o aparecimento do tumor ⁴⁶. Podemos observar a evolução do mesmo na Figura 3.7, com a diferença que, no caso do CCHSP, um MMR defeituoso vai acelerar o processo, uma vez que a taxa de mutação é muito superior à encontrada em PAF. É de salientar que nem em todos os doentes com CCHSP são detetados defeitos no MMR, mas isto pode dever-se à insensibilidade dos testes ou a outros fatores desconhecidos ^{49,57}.

Esta síndrome pode ser detetada por biópsia do cólon, através de dois métodos convencionais: o teste da instabilidade em DNA microssatélite, que tem uma sensibilidade de 85% e o teste da imunohistoquímica tumoral, que deteta a falta de proteínas envolvidas em MMR (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2*), o qual tem uma sensibilidade de 83%. Para um rastreio mais concludente devem-se fazer ambos os testes ⁵¹.

3.2.2- Polipose adenomatosa familiar

A polipose adenomatosa familiar (PAF) é a segunda síndrome mais comum entre os casos de cancro colo-retal familiar e é responsável por, aproximadamente, 1% de todos os casos de cancro colo-retal. A PAF é uma doença hereditária autossómica dominante caracterizada pelo desenvolvimento de centenas a milhares de pólipos depois da primeira década da vida. Caso esta doença não seja tratada, resulta na completa penetrância do cancro aos 50 anos ^{46,47}.

Os pólipos são adenomatosos e indistinguíveis dos adenomas esporádicos. Contudo, a incidência de microadenomas é muito maior em doentes com PAF. Em geral, os pólipos, são menores que um centímetro e podem ser pediculados ou sésseis, com histologia tubular, túbulo-vilosa ou vilosa (Figura 3.6). O risco de cancro colo-retal é proporcional ao tamanho e ao número de pólipos e a sua distribuição predomina no cólon esquerdo ⁴⁶.

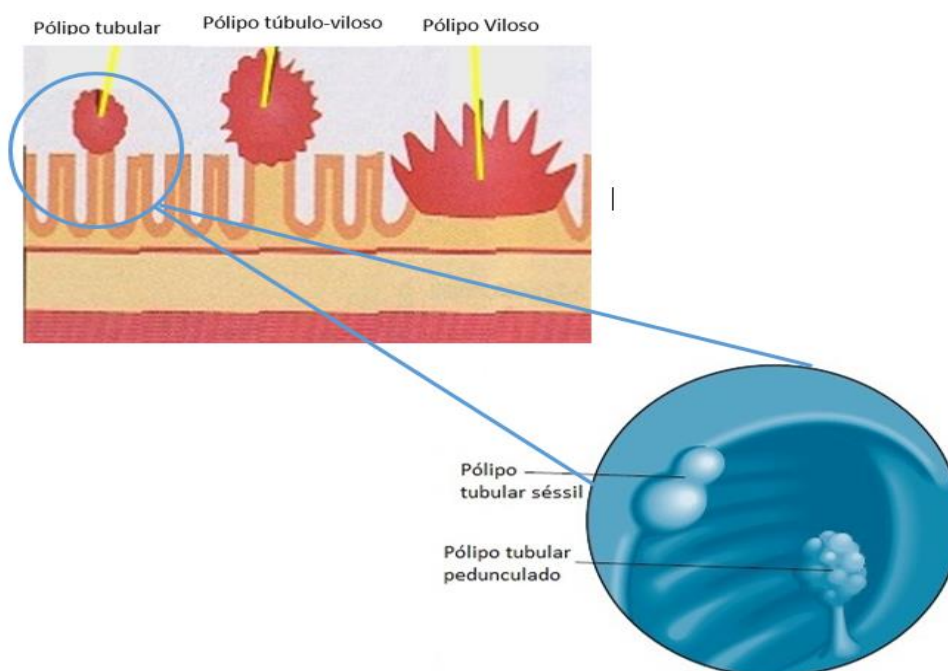


Figura 3.6- Anatomia dos pólipos pediculados ou sésseis, com histologia tubular, túbulo-vilosa ou vilosa. Adaptado de Levin B. ⁵³

Existem algumas características que, apesar de terem pouco significado clínico, podem ajudar no reconhecimento de indivíduos de famílias afetadas por esta síndrome. Os cistos epidérmicos são exemplos disso e aparecem em portadores de PAF mais jovens,

anos antes de aparecerem os pólipos no cólon. São caracterizados pela sua distribuição na face, couro cabeludo e extremidades. Também a hipertrofia congénita do epitélio pigmentado da retina pode aparecer como um sinal para esta síndrome. É uma condição assintomática e é caracterizada por hamartomas do epitélio pigmentado da retina; pode aparecer em toda a população, mas em indivíduos portadores de PAF, a sua localização é unilateral. Esta despistagem tem 68% de sensibilidade e 100% de especificidade no diagnóstico de indivíduos. Por fim, também os osteomas podem ajudar na identificação dos indivíduos portadores desta síndrome. Estas são lesões presentes nos ossos da face e do crânio e também se caracterizam por anormalidades dentárias como dentes supranumerários, atópicos ou fundidos^{46,57}. Outras características associadas a PAF encontram-se no Quadro 4 do Anexo III.

A principal alteração genética nos portadores de PAF foi descoberta em 1991 e está relacionada com uma mutação no gene *APC*. Todos os indivíduos que possuem uma mutação patogénica germinal no gene *APC* irão, eventualmente, desenvolver PAF. Portanto, os portadores desta síndrome possuem um dos alelos mutados e, caso haja mutação no outro alelo, ocorre um crescimento celular descontrolado, iniciando a polipose. Contudo, aproximadamente 30% dos casos de PAF apresentam uma mutação germinal *de novo* no gene *APC*, ou seja, não adquirem o alelo por herança genética^{46,47,52,57}.

Estudos demonstram que a completa inativação do gene *APC* é encontrada em lesões neoplásicas recentes, denominados focos de criptas aberrantes displásicas⁴⁹.

Apesar de existirem milhares de genes no genoma humano, a mutação em apenas um desses genes, o *APC*, origina o desenvolvimento de polipose e, apesar deste ser ubíquo, as mutações neste gene estão, geralmente, associadas a cancro colo-retal. Tal deve-se essencialmente ao facto de ele ser um *gatekeeper* das células epiteliais do cólon, ou seja, tem a capacidade de regular o ciclo celular das células. A mutação no *gatekeeper* leva a um desequilíbrio da divisão celular. Alguns estudos indicam que mutações em genes que codificam para o p53 e o KRAS não têm potencial para a formação de tumores, caso não hajam mutações no *APC*. Podemos observar na Figura 3.7 como as mutações nestes genes influenciam a oncogénese colo-retal⁴⁹.

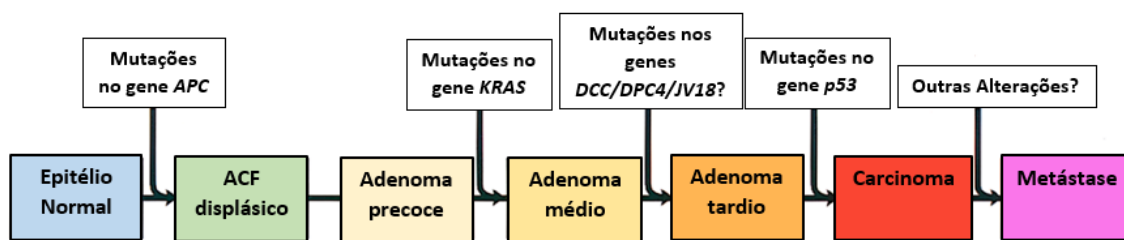


Figura 3.7- Evolução da oncogênese colo-retal. As mutações no *APC* iniciam o processo de neoplasia, e a progressão do tumor resulta de mutações noutros genes indicados. Doentes com PAF já tem mutação num dos alelos do *APC*. Os tumores dos doentes com CCHSP evoluem de uma forma semelhante, mas o MMR defeituoso acelera o processo. Os genes *DCC*, o *DPC4* e o *JV18-1* são candidatos a genes supressores de tumores que se encontram no cromossoma 18q21 Adaptado de Kinzler K ⁴⁹.

Mutações em certos codões ou regiões de codões estão associadas com fenótipos específicos. Por exemplo, uma mutação proximal ao codão 1249 do gene *APC* está associada com o aparecimento de menos de 1000 pólipos distribuídos pelo cólon, enquanto que mutações presentes entre os codões 1250 e 1330 têm uma expressão de mais de 5000 pólipos; por sua vez, mutações distais ao codão 1465 estão associadas a um número reduzido de pólipos. Aquelas que ocorrem entre os codões 312 e 1387 desenvolvem a hipertrofia congénita do pigmento retiniano e as mutações entre os codões 1445 e 1578 estão associadas aos osteomas e aos cistos epidérmicos. As mutações que acontecem na região 5' e distais ao codão 1578 na região 3' do gene *APC* ou mutações no gene human MUY homologue (*MYH*), aquando da ausência de mutações no gene *APC*, são associadas a uma condição clínica mais suave denominada PAF atenuada. Esta é caracterizada pelo reduzido número de pólipos colo-retais (<100). A idade de aparecimento dos pólipos é 10-15 anos mais tarde que na PAF normal e a presença de sintomas extraintestinais não é tão comum. É de salientar que nesta situação o risco de desenvolver cancro permanece igual. No caso da polipose *MYH* é necessário que ambas as cópias dos alelos herdados sejam mutadas, uma vez que a mutação é recessiva e esta representa 25% dos casos PAF atenuada que não apresentam mutação no gene *APC*.
46,52,57.

Nos indivíduos portadores de PAF, é importante que se façam regularmente rastreios do cancro colo-retal. É aconselhado a realização de sigmoidoscopias anuais a portadores maiores de 10 anos, pois a partir desta idade o risco de desenvolvimento do

cancro vai aumentando, chegando a 100% na quarta década da vida ⁴⁶. A colectomia profilática é a cirurgia de escolha para prevenir o aparecimento do cancro colo-retal, porque existem muitos tumores benignos em risco de se tornarem malignos ⁴⁸.

3.2.3- Síndrome Peutz-Jegher

A síndrome Peutz-Jegher (PJS) é uma polipose hereditária que tem como característica principal a formação de múltiplos pólipos hamartomatosos no trato gastrointestinal associado a pigmentações nas mucosas cutâneas, especialmente no canto dos lábios. ⁵⁷.

A PJS ocorre devido a uma mutação germinal no gene supressor de tumores *STK*, que codifica para uma cinase serina-treonina. Esta cinase tem uma papel importante na a proliferação celular e no ciclo energético celular, pelo facto de o seu produto agir como um inibidor da proteína cinase ativada pelo AMP cíclico (AMPC) que dá sinal para a inibição da via da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR). Isto provoca uma função anormal da via da mTOR, o que origina o começo da polipose, que pode originar uma situação neoplásica ⁵⁷.

Esta síndrome manifesta-se entre os 10 e 30 anos e a sua sintomatologia envolve hemorragias peri-retais, dores abdominais e obstrução do intestino ⁵⁷.

3.2.4- Síndrome polipose juvenil (SPJ)

A SPJ é definida por uma síndrome de pólipos hamartomatosos e é diagnosticada de três formas: pela presença de mais de 3-5 pólipos no cólon ou no reto, pela presença de pólipos juvenis no trato gastrointestinal ou por qualquer número de pólipos juvenis num indivíduo com história familiar de SPJ. Os pólipos SPJ aparecem como múltiplos pólipos no trato gastrointestinal afetado, com preferência para crianças ou indivíduos antes dos 20 anos, no entanto, também podem aparecer em adultos ⁵⁷.

A mutação associada a esta síndrome envolve genes como *SMAD4*, *BMPRIA* e *ENG*, que estão relacionados com a via do TGF- β , uma vez que todos estes genes codificam para proteínas envolvidas nesta via e na carcinogénese do cancro colo-retal ⁵⁷.

Capítulo 4- Rastreio e Diagnóstico

Um dos principais fatores de risco do cancro colo-retal é a presença de pólipos, como já foi referido. O seu lento crescimento de, aproximadamente, 10 anos providência a oportunidade de prevenção ou mesmo a deteção do cancro em estágios iniciais, diminuindo a taxa de mortalidade, tanto pela diminuição da incidência da doença como por proporcionar um tratamento mais eficaz ⁸.

Estima-se que 20% da população desenvolve pólipos adenomatosos durante a vida, mas apenas 5 a 6% da população desenvolve cancro colo-retal ⁸.

Assim, os rastreios tornam-se essenciais para a deteção da doença mesmo antes desta apresentar quaisquer sinais ou sintomas. Alguns dos testes possíveis para a deteção da doença são a pesquisa de sangue oculto nas fezes, a sigmoidoscopia, colonoscopia e a deteção de marcadores tumorais ¹⁵. No anexo IV pode-se observar o algoritmo clínico para rastreio do cancro colo-retal.

4.1- Pesquisa de sangue oculto nas fezes

O cancro colo-retal pode produzir sangue e outros componentes que podem ser detetados nas fezes, mesmo antes de aparecerem sintomas da doença. Assim, a pesquisa de sangue oculto nas fezes surge como um método de rastreio bastante utilizado.

Em Portugal, a norma da DGS 003/2014 ¹⁶ recomenda a utilização anual deste método, como forma de rastreio. Este é utilizado em pacientes assintomáticos com idades compreendidas entre 50 e 74 anos, exceto em casos de antecedentes pessoais de adenomas ou cancro colo-retal, doença inflamatória intestinal ou antecedentes familiares de adenomas de primeiro grau ou cancro colo-retal ou síndromes hereditários de cancro do cólon e reto.

Neste método de rastreio, é utilizado preferencialmente o método imunológico em comparação com o método pela resina de guaiaco, porque produz menos falsos positivos. Caso este método dê positivo passa-se para outro método de rastreio para uma confirmação, como as colonoscopias e sigmoidoscopias ^{15,16}.

4.2- Colonoscopia

A colonoscopia é um procedimento para procurar, no interior do cólon e reto, por pólipos, regiões anormais ou cancro. Neste procedimento é inserido um colonoscópio, um tubo fino com luz e uma lente para visualização, pelo reto até ao cólon para uma possível deteção de anomalias (Figura 4.1) ¹⁵.

Segundo a norma da DGS 003/2014 ¹⁶, a colonoscopia é utilizada quando o teste imunológico para pesquisa de sangue nas fezes dá positivo ou para as exceções à pesquisa de sangue oculto nas fezes. Caso a colonoscopia total se apresente normal, este procedimento apenas deve ser repetido passado 10 anos.

4.3- Sigmoidoscopia

A sigmoidoscopia é um procedimento para procurar no interior do reto e cólon sigmoide por pólipos, regiões anormais ou cancro. O procedimento é semelhante à colonoscopia com a diferença de que o sigmoide apenas chega ao cólon sigmoide (Figura 4.1) ¹⁵.

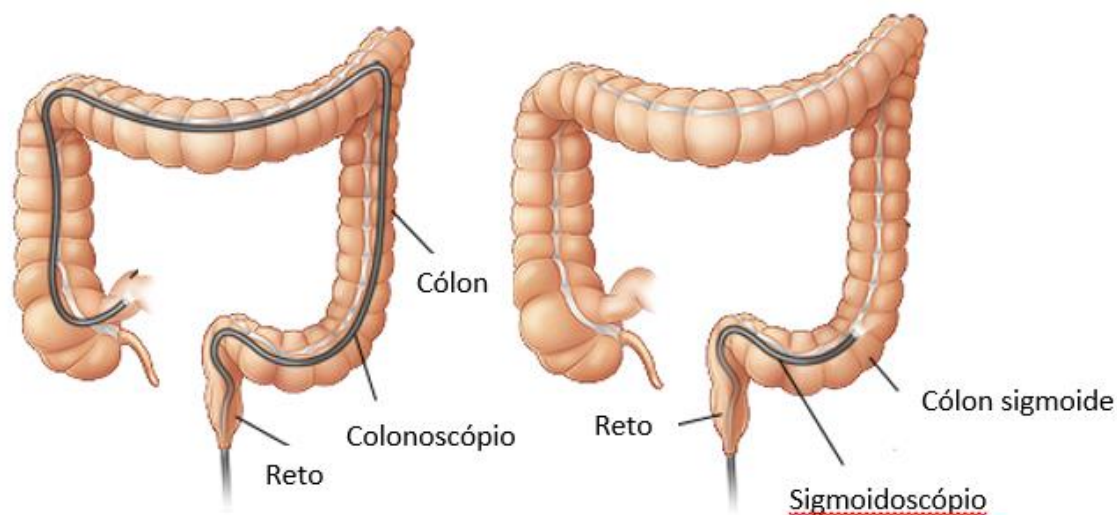


Figura 4.1- Diferença entre uma colonoscopia e uma sigmoidoscopia. Adaptado de Fairview Health Services ¹⁸.

4.4- Marcadores Tumorais

Na tentativa de estabelecimento de um diagnóstico precoce e um melhor tratamento destacam-se os marcadores tumorais. Os marcadores tumorais são substâncias que são produzidas pelo tumor ou secretadas pelo tecido como resposta ao tumor. Podem ser utilizados para o rastreio, diagnóstico e classificação dos tumores, como também para o prognóstico e a monitorização de recorrência do tumor ou de metástases nos casos de cancro. Podem ser hormonas, ácidos nucleicos, poliaminas, antigénios, enzimas, proteínas e lípidos específicos da membrana celular. É de realçar que os marcadores teciduais não têm a capacidade que os plasmáticos têm de determinar diagnóstico ou de indicar uma recidiva de um processo tumoral. Estes limitam-se a determinar o estadiamento, o prognóstico e uma possível resposta terapêutica. O antigénio carcinoembrionário (CEA) e o antigénio carbohidrato 19-9 (CA 19-9) são os marcadores tumorais mais estudados que têm sido utilizados para o controlo dos cancros gastrointestinais ⁶⁵.

O CEA foi descoberto na década de 1960 e constitui o marcador mais utilizado na prática clínica nas neoplasias colo-retais. É um conhecido membro da superfamília das imunoglobulinas, com função na adesão molecular intracelular. Uma concentração elevada de CEA no plasma é associada a várias patologias, incluindo os cancros da mama, colo-retal, gástricos e pancreáticos. Estudos demonstraram que um nível de CEA aumentado na fase pré-operatória, no plasma, estão associados com um aumento do risco de recorrência e fraco prognóstico. Além disso, demonstraram também que o efeito prognóstico do nível de CEA no plasma é independente do estágio das metástases do tumor ^{65,66}.

O CA 19-9 é um ligando para a e-seletina que tem um papel essencial na adesão das células cancerígenas às células endoteliais. Este tem sido utilizado como um marcador nos tumores gastrointestinais mas pode também estar aumentado em algumas doenças benignas, como os cálculos biliares, a pancreatite, a cirrose hepática e a colecistite. Muitos estudos demonstraram que um aumento de CA 19-9 indica um fraco prognóstico e níveis elevados de CEA e CA 19-9 em combinação, em doentes com cancro colo-retal, são fatores de fraco prognóstico significativo ^{65,66,73}.

A comparação dos níveis de CEA e CA 19-9 com os estádios dos doentes com cancro colo-retal revelaram que o aumento dos níveis de ambos é um indicador de estágio avançado (III-IV). Não há nenhuma correlação entre os valores de ambos e o grau

histológico, a localização do tumor e o diagnóstico patológico. Os marcadores ainda não se demonstraram eficientes no rastreamento populacional de indivíduos portadores de neoplasias colo-retais assintomáticos. No entanto, o uso de marcadores na determinação inicial do estadiamento demonstra-se efetivo, mas tem sido pouco utilizado. Entende-se, de forma geral, que a produção de marcadores tumorais pelo organismo é proporcional à dimensão da massa tumoral apresentada pelo doente. Nos doentes, cujo estadiamento clínico e cirúrgico demonstre estágios intermediários de desenvolvimento neoplásico (estádio II e III) e apresentem níveis elevados de marcadores tumorais, isto pode indicar a presença de micrometástases e determinar a opção de tratamento adjuvante (quimioterapia ou radioterapia). Por exemplo, a elevação pós-operatória do CEA, isoladamente, em doentes submetidos a tratamento cirúrgico considerado radical, supõe que a administração de métodos adjuvantes de tratamento não seja feita; sinaliza, antes, a necessidade de emprego de métodos endoscópicos e radiológicos para identificação de possível recidiva em estágio inicial ⁶⁶.

Não há correlação do nível inicial dos marcadores tumorais em relação ao grau de diferenciação de neoplasias colo-retais. Pode acontecer que tumores altamente indiferenciados não produzam determinados marcadores pela sua indiferenciação celular. No entanto, a deteção de marcadores pode ser eficaz no seguimento do doente submetido a tratamento, uma vez que níveis normais dos marcadores no pós-operatório indicam provável radicalidade no tratamento, e persistência de níveis elevados significa caráter paliativo da terapêutica. Estes também permitem a deteção precoce e com bastante acurácia de recidivas tumorais assintomáticas ⁶⁶.

É de salientar que o CA 19-9, assim como outros antigénios considerados marcadores tumorais (CA 242, CA 72-4, CA 50, CA 195), não proporcionam melhores resultados que o CEA. A sensibilidade para a determinação de índices prognósticos e deteção de recidivas tumorais destes marcadores no diagnóstico é, aproximadamente, 30%, inferior à do CEA que está em torno dos 40%. Quando em combinação destes com o CEA, a sua sensibilidade aumenta para 50-60%. A determinação em soro periférico do CEA persiste, atualmente, como melhor método no que se refere à utilização de marcadores tumorais no cancro colo-retal. O CEA não deve ser empregue como método de rastreamento populacional para identificação de portadores assintomáticos de neoplasias do cólon e do reto, como já foi anteriormente referido ⁶⁶.

Capítulo 5- Tratamento

O tratamento do cancro colo-retal varia consoante o estágio do cancro em que o doente esteja. Em estádios precoces como o I e o II, normalmente, é realizada uma cirurgia para retirar o tumor primário e nódulos linfáticos regionais. No entanto, pacientes nos estádios II ou III também podem ser tratados com quimioterapia neo-adjuvante e/ou com radioterapia, dependendo dos casos, apesar de que para o estágio II isto é um tanto controverso, pois o risco de recorrência do cancro varia entre os doentes. Nos casos de cancro colo-retal no estágio III, que apresentam envolvimento ganglionar, a administração de cirurgia após a quimioterapia é recomendada de modo a reduzir a possibilidade de relapso e aumenta a probabilidade de cura ¹⁹.

Cerca de metade dos casos de cancro colo-retal apresentam metástases e, nestes casos, a terapêutica é mais complexa. Em doentes com metástases em locais como o fígado e o pulmão deve-se tentar uma abordagem cirúrgica para retirada das metástases. Em locais onde a intervenção cirúrgica é muito difícil deve-se oferecer quimioterapia paliativa ou neo-adjuvante. No anexo II, pode-se observar o Quadro 2 com o tratamento mais detalhado para cada estágio do cancro ¹⁹.

Atualmente, existem 10 fármacos aprovados pela FDA para o tratamento do cancro colo-retal. Destes, a combinação de 5-fluorouracil (5-FU) com leucovorina tetraidrofolato, foi em tempos a terapia de referência para o cancro colo-retal com metástases. Fez-se ainda a associação da combinação anterior com o irinotecano (FOLFILI®) ou com a oxaliplatina (FOLFOX®), representando o tratamento de primeira linha para esta patologia durante muito tempo. A resistência do tumor a certos medicamentos, como o 5-FU e a necessidade de melhores tratamentos deram um impulso na descoberta de novos medicamentos. Com a introdução de novos fármacos no mercado, os regimes de quimioterapia alteraram-se para potenciar uma maior eficácia de tratamento. Os atuais regimes consistem em tratamentos baseados em fluoropirimidinas, como o 5-FU ou a cabecitabine, combinados com a oxaliplatina ou o irinotecano, e anticorpos monoclonais com alvo no fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), como o bevacizumab e, para pacientes sem mutações no gene *KRAS*, com alvo no recetor do fator de crescimento da epiderme (EGFR), como o cetuximab e panitumumab ^{19,20,21}.

Farmacogenómica do cancro colo-retal

Mais recentemente, foram lançados também o aflibercept, que foi desenvolvido para contornar as desvantagens do bevacizumab, como a resistência a este fármaco; e ainda o regorafenib que foi o último a ser aprovado com indicação para o tratamento de última linha no cancro colo-retal metastático ²².

Capítulo 6- Farmacogenómica

A farmacogenómica é o estudo da variabilidade na expressão de genes individuais relevantes para a doença e a terapêutica, bem como a resposta a nível celular, tecidual, individual ou populacional. Com a implementação da mesma, os prestadores de cuidados de saúde têm, agora, a possibilidade de prever qual vai ser a resposta individual do fármaco e otimizar os regimes terapêuticos, diminuindo os problemas associados ao tratamento ²³.

Identificar os polimorfismos inter-raciais e inter-individuais nos genes que codificam para enzimas metabolizadoras de fármacos, transportadores, e alvos de fármacos providencia a melhor estratégia para maximizar a eficácia e minimizar a toxicidade associada ao tratamento do cancro ²³.

A aplicação da farmacogenómica no cuidado do doente está a crescer exponencialmente, aumentando a sobrevivência dos doentes ao mesmo tempo que diminui os efeitos adversos associados ao tratamento e ainda evita custos desnecessários em medicamentos do Sistema Nacional de Saúde. É de salientar que esta última vantagem pode ser um tanto controversa, uma vez que, por outro lado, também aumenta os custos em testes genéticos ²³.

Com o aumento da incorporação da farmacogenómica na área cancerígena, também no cancro colo-retal esta desempenha um papel essencial. Apesar de muitos agentes do tratamento do cancro ainda não terem testes genéticos obrigatórios para a prescrição de regimes terapêuticos é importante que os biomarcadores sejam estudados para serem incorporados na prática clínica do futuro ²³.

Têm sido feitos avanços na compreensão molecular do cancro colo-retal e estes têm demonstrado que a doença e a sua progressão envolve genes e proteínas por eles codificadas, incluindo o EGFR, a β -catenina envolvida na via de sinalização do Wnt, o RAS/RAF e o *Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-Kinase Catalytic subunit alfa (PI3K/AKT)* ²¹.

6.1- Irinotecano

O irinotecano, um inibidor da topoisomerase I (enzima que cataliza a quebra das ligações entre as cadeias de DNA durante o processo de replicação) vai bloquear a replicação do genoma, o que leva a uma inibição da divisão celular, sendo utilizado como tratamento de primeira linha do cancro colo-retal avançado. Este costuma ser utilizado em associação com o 5-fluorouracil e com a leucovorina ²³.

O irinotecano é um pro-fármaco que necessita de ser metabolizado a SN-38, via carboxilesterase, de modo a ser ativado e, assim, possuir atividade (Figura 6.1) ²³.

O gene *UGT1A1* localiza-se no locus *2q37* e codifica a enzima UDP glucuronosiltransferase que tem como função a conversão de moléculas lipofílicas, como a bilirrubina e outros fármacos em compostos hidrossolúveis e, assim, excretáveis. Aquando da utilização do irinotecano como fármaco, este gene tem um papel essencial na conversão do SN-38 na sua forma inativa, o SN-38G, através da glucoronidação, sendo possível a sua eliminação. Esta conversão é essencial uma vez que a exposição ao metabolito ativo SN-38 tem sido associada a toxicidade limitada pela dose, que pode acarretar diarreia e neutropenia (Figura 6.1) ^{23,24}.

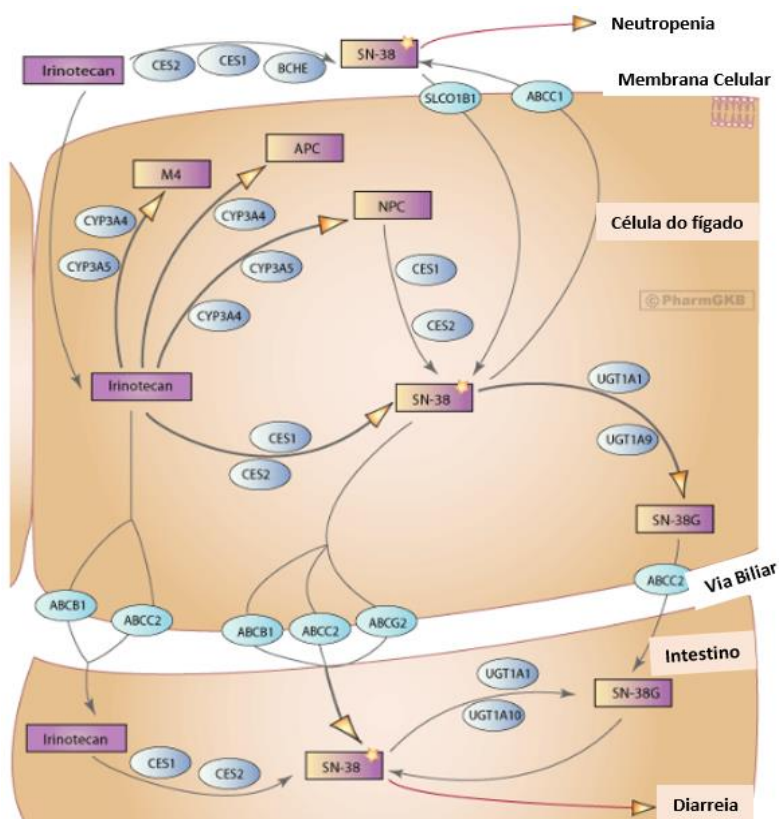


Figura 6.1- Vias de metabolização do irinotecano. Adaptado de *PharmaGKB* ⁵⁵.

O polimorfismo *UGT1A1**28 é o mais conhecido e prevalente na população afro-americana (42-45%) e caucasiana (26-31%), sendo menos comum na população asiática (9-16%)²⁵. Este polimorfismo corresponde a um alelo com sete repetições TA na *TATA* box do promotor do *UGT1A1*, comparado com o alelo de referência que apenas tem seis repetições (Figura 6.2). Este polimorfismo reduz a expressão genética da *UGT1A1*, originando um metabolismo lento, levando a um aumento da concentração de SN-38, em indivíduos homozigóticos *UGT1A1**28/*28. Doentes com este polimorfismo têm um risco cinco a nove vezes maior de sofrer de neutropenia com a dose padrão de irinotecano; no entanto, a ação deste fármaco é maior, uma vez que o seu composto ativo tem mais tempo para exercer o seu efeito, conduzindo a um tratamento mais eficaz. Para os doentes que têm este polimorfismo é necessário o ajuste da dose administrada para prevenir a toxicidade. É de salientar que apesar do tratamento ser mais eficaz, muitos doentes não suportam os efeitos secundários associados à neutropenia e diarreia, mesmo em menores doses, suspendendo assim o tratamento com irinotecano. É de referir ainda que apenas o polimorfismo *UGT1A1**28/*28 existente em indivíduos homozigóticos para o gene mutado apresentam um risco aumentado para toxicidade; o polimorfismo *UGT1A1**1/*28, existente em indivíduos heterozigotas não apresenta grande significado em comparação com o polimorfismo de referência (*UGT1A1**1/*1) e, portanto, não existindo risco aumentando, também não é necessário o ajuste de dose^{23,26}.

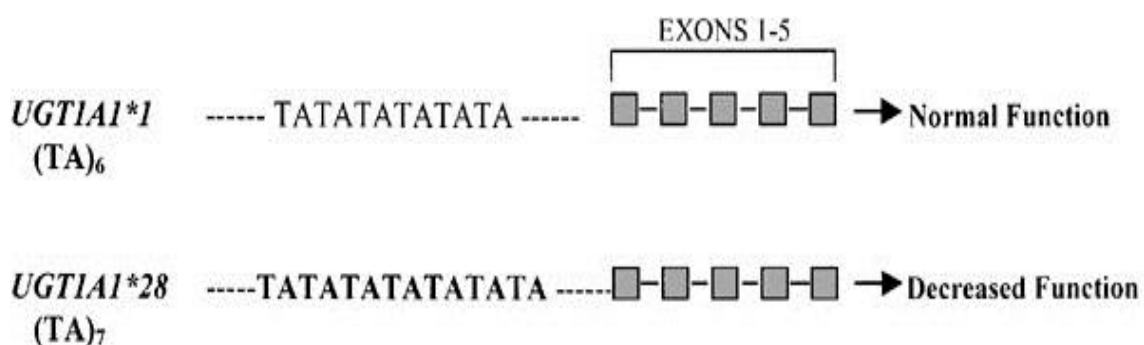


Figura 6.2- Variação da *TATA* box associado ao polimorfismo *UGT1A1**28, com sete repetições de TA, em comparação com o polimorfismo de referência com seis repetições de TA. Adaptado de Desai A *et al*⁶⁸.

Existem outros polimorfismos relacionados com o gene *UGT1A1* como o *UGT1A1*37* que tem oito repetições TA na região da TATA box e que resulta numa redução da atividade do promotor ainda maior que a redução associado ao polimorfismo *UGT1A1*28*. Por outro lado, existe também o polimorfismo *UGT1A1*36* que apresenta cinco repetições TA e tal origina um aumento da atividade do promotor e um risco reduzido de hiperbilirubinemia neonatal, uma condição benigna típica nos recém-nascidos. Ambos estes polimorfismos ocorrem quase exclusivamente em populações africanas e devido à menor frequência populacional apresentam menor significado que o polimorfismo *UGT1A1*28*. O polimorfismo *UGT1A1*36* e o *UGT1A1*37* apresenta uma frequência alélica de 3-10% e 2-7%, respetivamente ²⁵.

Outro polimorfismo, mais prevalente na população asiática (13%), é o *UGT1A1*6*. Nesta variante, ocorre uma substituição de aminoácidos, de uma glicina por uma arginina na posição 71 (Arg71Gly). Os indivíduos homozigóticos para este alelo apresentam uma redução da atividade enzimática da UGT1A1, que pode causar a síndrome de Gilbert, associado a uma acumulação de bilirrubina no organismo, uma vez que a UGT1A1 também é responsável pelo metabolismo desta ²⁵.

Apesar da existência de mais polimorfismos, apenas a variante *UGT1A1*28* é genotipada antes do tratamento com irinotecano, uma vez que esta é a mais frequente na população ²⁵.

6.2- 5-fluorouracil

Durante os últimos 40 anos, o 5-fluorouracil (5-FU) tem sido o principal fármaco utilizado em regimes de quimioterapia para o tratamento de doentes com cancro colo-retal. Este fármaco é um análogo pirimidínico pertencente à categoria dos antimetabolitos e atua através da inibição irreversível da timidilato sintase (TS), a enzima que é responsável pela síntese da timidina monofosfato. Esta inibição leva a um desequilíbrio de nucleótidos por originar uma falta de incorporação dos mesmos no RNA e DNA ^{19,20}.

Contudo, apesar dos benefícios das fluoropirimidinas serem bem conhecidos na quimioterapia, os efeitos adversos são a principal preocupação. Doentes que recebem 5-FU podem sofrer de mielossupressão, toxicidade cardíaca, mucosite, síndrome mão-pé,

náuseas e vômitos. Além disso, cerca de 10-30% destes doentes apresentam toxicidade severa associada à toma do fármaco, com 0,5% de mortalidade^{20, 27}.

Para diminuir a toxicidade associada às fluoropirimidinas, têm-se introduzido o capecitabine (CAP), o pró-fármaco que é transformado em 5-FU para ser ativado, na quimioterapia do cancro colo-retal e da mama²⁰. O CAP tem sido associado com uma maior ocorrência da síndrome mão-pé, mas com uma menor incidência de neutropenia e toxicidade gastrointestinal quando comparado com bólus 5-FU/leucovorina. Isto pode dever-se a polimorfismos SNP, ou seja, a polimorfismos de um nucleótido simples, que podem originar alterações da expressão da proteína, ou trocar o aminoácido e originar outra proteína diferente. Exemplos de polimorfismos SNP que estão associados à síndrome mão-pé são os rs2612091 ou rs2741171 (Figura 6.3)²⁸.

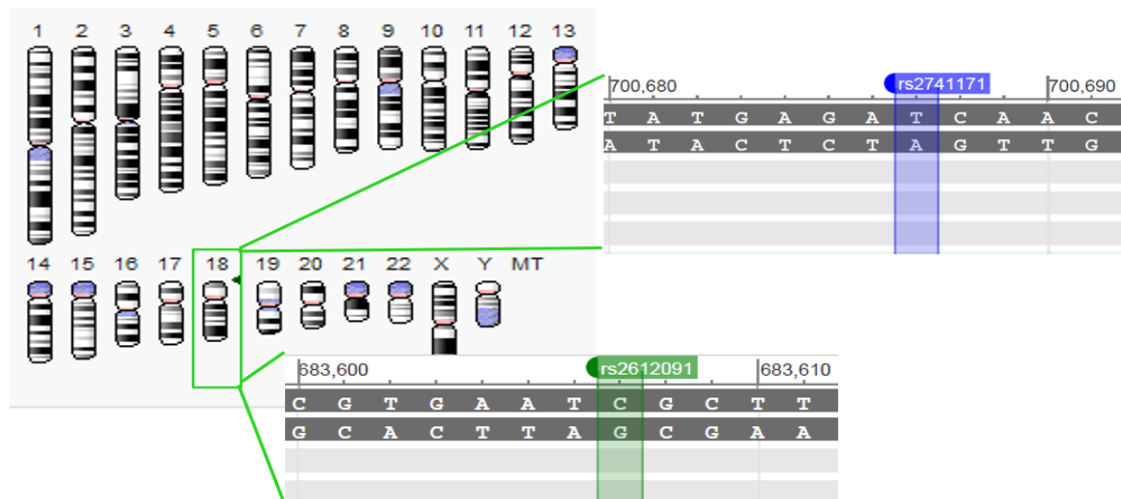


Figura 6.3- Localização dos SNP rs2741171 e rs2612091 no genoma humano. As sequências apresentadas na figura correspondem às sequências de referência. O principal polimorfismo para o rs2612091 corresponde a uma troca da base nucleotídica G→T. O principal polimorfismo para o rs2741171 corresponde à troca de ambas as bases nucleotídicas: T→C e A→T. Adaptado NCBI⁵⁶.

O 5-FU é extensivamente metabolizado (> 80%) à sua forma ativa pela enzima dihidropirimidina desidrogenase (DPD) presente no fígado. A DPD é codificada pelo gene *DPYD* e são conhecidas imensas variantes que podem originar a diminuição ou perda de função da enzima. Existe uma grande correlação entre a atividade reduzida da DPD e o aumento do risco de toxicidade severa associada à dose normal de 5-FU²⁷.

A mutação DPYD*2A é bastante conhecida e representa um polimorfismo no intrão 14 o que faz com que o exão 14 não seja lido e se forme uma enzima não funcional, originando toxicidade, nomeadamente mucosite e leucopenia (Figura 6.4). Isto ocorre em 73% dos portadores da mutação, comparado com 23% nos portadores do genótipo de referência para este gene. Doentes com este polimorfismo devem ser tratados com uma redução da dose de 25-50% do 5-FU ou CAP ou deve-se substituir a terapêutica por um fármaco alternativo, como o irinotecano ²⁷.

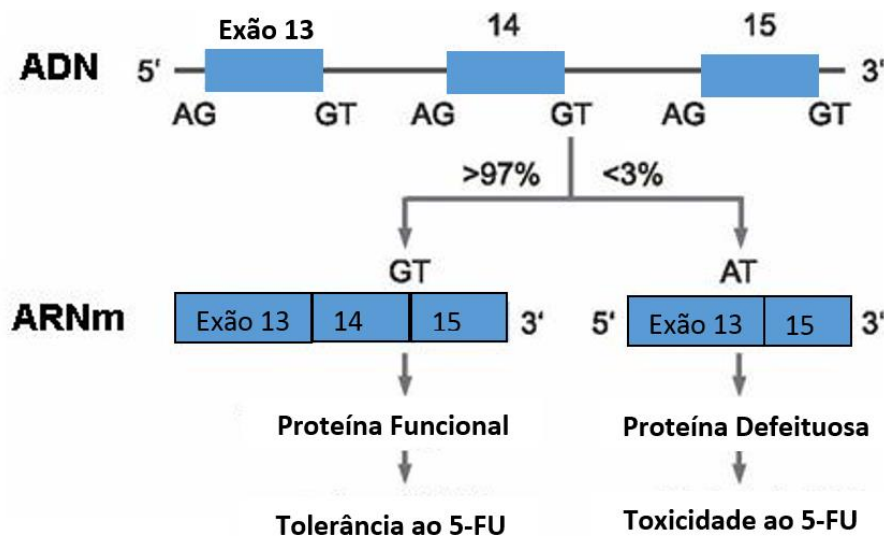


Figura 6.4- Polimorfismo DPYD*2A no genoma humano em comparação com a sequência de referência. Adaptado de Synevo ⁶⁹.

Outros polimorfismos mais raros, como o DPYD*13, o 2846A→T ou o 1236G→A também estão associados a uma redução de atividade da enzima DPD e a sua genotipagem também representa uma mais valia para a seleção da dose implementada no tratamento. Para doentes com variantes homozigóticas é recomendado uma redução de no mínimo 50% na dose implementada ou uma alteração da terapêutica. No entanto, mesmo fazendo a genotipagem das variantes conhecidas, é de salientar que não é possível prever todas as situações de toxicidade relacionadas com as fluoropirimidinas, uma vez que existem muito mais possibilidades de SNPs por descobrir que aumentariam a sensibilidade, mas tais rastreios seriam demasiado onerosos ^{27, 28}.

Para além do problema da sua toxicidade, esta terapêutica apresenta também uma falta de eficácia. Estudos demonstram que a sobreexpressão da enzima DPD pode levar a que as células cancerígenas sejam resistentes à terapêutica com fluoropirimidinas. Por esta razão, é importante associar o 5-FU e CAP a outros fármacos, como a leucovorina, a oxaliplatina e o irinotecano, de modo a não só aumentar a ação anticancerígena mas também a sensibilidade das células às fluoropirimidinas ²⁰.

A leucovorina é um folato reduzido que aumenta a afinidade do 5-FU à TS, originando um maior desequilíbrio nucleotídico ²⁹.

A associação da oxaliplatina ao 5-FU é complexa mas funciona essencialmente como um sinergismo, em que a oxaliplatina diminui ou inibe a produção de DPD, atrasando o catabolismo do 5-FU e, assim, aumenta a sua ação no organismo ²⁰.

A associação com o irinotecano é benéfica uma vez que complementa a ação no DNA do 5-FU, no âmbito antineoplásico ²⁹.

Como já foi referido, o 5-FU atua pela inibição da TS, uma enzima responsável pela síntese da timidina monofosfato, que é essencial para a replicação do DNA. O gene *TYMS* que codifica esta enzima, situa-se no cromossoma 18 e é polimórfico, uma vez que pode ter duas (2R) ou três sequências repetitivas (3R) de 28 pares de base (pb) na região do promotor ou pode também ter uma variação de 6 pb na região 3' não-traduzida (3'-UTR). Estes polimorfismos têm sido associados a uma expressão alterada da TS, resultando em respostas clínicas diferentes ²⁸.

A variação do número de sequências repetitivas está relacionada com a toxicidade severa associada ao 5-FU. Os genótipos 2R/3R ou 3R/3R foram associados com um risco baixo de diarreia e os doentes com o genótipo 2R/2R tiveram um risco aproximadamente 20 vezes maior de toxicidade severa relacionada com a quimioterapia. Os doentes com o haplótipo 2R e inserção de 6pb na região 3'-UTR foram os que tiveram mais efeitos adversos à quimioterapia com 5-FU ²⁸.

Assim, estudos farmacogenómicos concluíram que a DPD e o *TYMS* (gene que codifica para a TS) podem ser marcadores independentes que permitem prever a resposta ao 5-FU e que a medição dos dois marcadores aumenta a possibilidade de prever a resposta do tumor à quimioterapia ²⁰.

6.3- Oxaliplatina

A introdução do composto oxaliplatina (OXP) no tratamento do cancro colo-retal aumentou as taxas de resposta em mais de 25% nos doentes com recaídas, aquando da administração da combinação com 5-FU (FOLFOX®) ³⁰. Contudo, a quimioterapia baseada em OXP é limitada pela ocorrência de toxicidade severa num número considerável de doentes. A neurotoxicidade periférica é um dos efeitos adversos mais comuns. O aumento de doses cumulativas de OXP origina uma neuropatia periférica sensorial persistente associada à neoplasia dos doentes. Além disso, estudos parecem indicar que o FOLFOX® origina um efeito neurotóxico sinérgico entre a OXP e o 5-FU. A persistência de toxicidade neurológica mesmo após a interrupção do FOLFOX® tem sido reportada em 58-83% dos doentes. Tal origina uma urgente necessidade de identificar marcadores de previsão de toxicidade de modo a evitar a disfuncionalidade a longo prazo, especialmente em doentes com prognósticos favoráveis ³¹.

A OXP exerce um efeito farmacológico na excitabilidade dos neurónios sensoriais e nas células musculares pela interferência com os canais de sódio. Outro mecanismo sugerido é a deposição de adutos DNA-platina nos gânglios espinhais, induzindo dano neuronal e apoptose, com o envolvimento do sistema de destoxificação pela glutatona e do complexo de proteínas de reparação do DNA (Figura 6.5) ³⁰.

A resistência a agentes de platina e a inter-variabilidade na ocorrência de toxicidade associada à OXP têm sido relacionada com as variantes nos genes que codificam canais iónicos, enzimas de reparação do DNA e em vias de destoxificação ³⁰.

As proteínas do sistema de excisão de nucleótidos (NER) têm uma função muito importante na reparação do DNA danificado por compostos de platina. Este é composto por várias enzimas, nomeadamente o Xeroderma Pigmentosum grupo A (XPA), Xeroderma Pigmentosum grupo D (XPD) e o Reduced excision repair cross-complementation group 1 (ERCC1) ³⁰. O XPA está envolvido com o reconhecimento do dano no genoma e ajuda na estabilização do DNA enquanto ocorre o desenrolamento das hélices do DNA, de modo a ser feito o reparo do mesmo. O XPD e o ERCC1 são responsáveis pela incisão das regiões das cadeias 3' e 5' em que a lesão está presente, sendo possível remover o dano no genoma (Figura 6.5). Polimorfismos de nucleótidos

simples (SNP) nos genes do NER podem modular a reparação do DNA e contribuir para a variabilidade de respostas à quimioterapia ³².

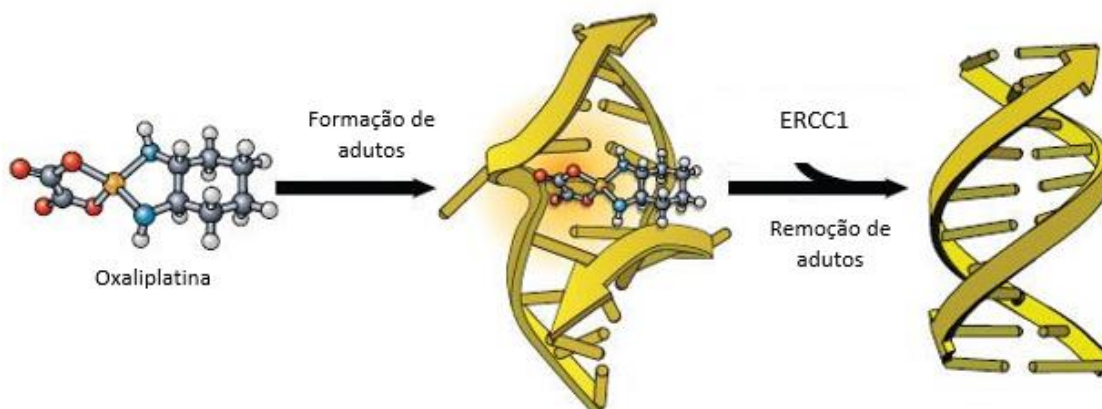


Figura 6.5- Papel da enzima ERCC1 na remoção de adutos de DNA formados pela oxaliplatina. Adaptado de Bhushan S *et al* ⁷⁰.

A ERCC1 é uma proteína que apresenta um papel crítico no reconhecimento do DNA danificado e na incisão nas cadeias de DNA. O polimorfismo no SNP rs11615 com a substituição C→T no codão 118 do gene ERCC1 é conhecido e resulta no mesmo aminoácido, a asparagina. Apesar do aminoácido não ser alterado, o alelo T leva a um aumento do mRNA para a ERCC1. Tal origina uma maior expressão da proteína e pode levar à resistência aos compostos de platina e a uma menor sobrevivência dos doentes portadores deste polimorfismo ³⁰. Assim, esta variante do ERCC1 é um biomarcador de baixa resposta, baixa sobrevivência livre de progressão (SLP) e baixa taxa de sobrevivência dos doentes tratados com compostos de platina ³².

O XPD, também conhecido por Reduced excision repair cross-complementation group 2 (ERCC2), apresenta polimorfismos que podem estar associados com a diferença da capacidade de reparação do DNA. Um polimorfismo significativo encontra-se no SNP rs13181 e corresponde a uma substituição T→G, ocorrendo a troca de uma lisina por uma glicina no codão 751: os doentes que têm um ou dois alelos G beneficiam menos da quimioterapia baseada em OXP quando comparada com os portadores de lisina. Foi sugerido que tal deve-se à proximidade deste codão com a cauda poli (A), que pode afetar a função da proteína XPD ³⁰. É de salientar que a prevalência da presença do alelo G em asiáticos é muito menor que em caucasianos, explicando a maior resposta à quimioterapia com oxaliplatina em doentes asiáticos ³².

Concluindo, a genotipagem do ERCC1 e ERCC2 podem ser úteis como marcadores da resposta clínica a quimioterapias baseadas em OXP para o tratamento do cancro colo-retal ³².

6.4- Cetuximab e panitumumab

O desenvolvimento de estratégias de novas combinações para a quimioterapia de referência, incluindo o 5-FU, o irinotecano e a oxaliplatina, é essencial para a melhoria da sobrevivência ao cancro colo-retal. Tais estratégias, como os anticorpos monoclonais contra o recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) ou contra o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), trazem benefícios, mas também resultam num aumento de toxicidade e custos de tratamento. Para contornar este problema, é necessário identificar ferramentas para selecionar os doentes que irão beneficiar destes fármacos ³³.

O cetuximab e o panitumumab são dois exemplos de anticorpos monoclonais utilizados na terapia associado ao cancro colo-retal. O panitumumab reconhece o EGFR e é indicado para doentes com cancro colo-retal metastático que já utilizaram a terapêutica de referência ³⁴. O cetuximab é um anticorpo monoclonal IgG1 que tem provado eficiência no cancro colo-retal metastático resistente ao irinotecano que expressa o EGFR, com taxas de resposta de 8,8% quando usado em monoterapia e 22,9% quando utilizado em combinação com o irinotecano ³³.

O cetuximab liga-se ao EGFR, com uma elevada especificidade, bloqueando a fosforilação do domínio da tirosina cinase, localizado no domínio intracelular. Tal vai fazer com que não ocorra ativação de elementos envolvidos no sinal intracelular, como as proteínas codificadas pelos genes *KRAS* e *BRAF* (Figura 6.6). Consequentemente, foi sugerido que mutações no gene *KRAS* ou no gene *BRAF* podiam afetar a resposta clínica dos anticorpos monoclonais. As mutações nos codões 12, 13, 61 e 146 do gene *KRAS* e mutações no codão 600 do gene *BRAF* mostraram ter um efeito significativo na resposta ao cetuximab. Quando estas mutações estão presentes, o tratamento com este fármaco não é benéfico e a sobrevivência do doente é muito menor quando comparada com os que não têm uma das mutações ³⁵.

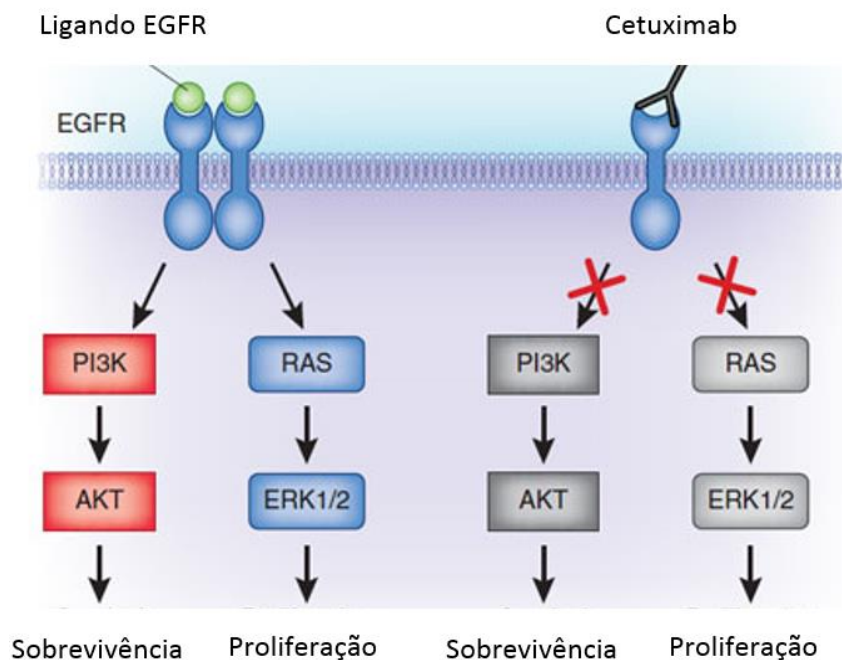


Figura 6.6- Mecanismo de ação do anticorpo monoclonal cetuximab. O cetuximab liga-se ao recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), com uma elevada especificidade, bloqueando a fosforilação do domínio da tirosina cinase, localizado no domínio intracelular. Tal vai fazer com que não ocorra ativação de elementos envolvidos no sinal intracelular, como as proteínas codificadas pelos genes *KRAS* e *BRAF*, comprometendo a sobrevivência e proliferação da célula. Adaptado de Bardelli A *et al* ⁷¹.

Apenas as mutações no codão 12 e 13 do *KRAS* são frequentes na população. Portanto, é racional que se teste para as restantes apenas se os codões 12 e 13 apresentarem genótipo de referência ³⁵.

É de referir que doentes com mutações no *KRAS* e no *BRAF* também revelaram uma falta de resposta para o outro anticorpo monoclonal anti-EGFR, o panitumumab, sendo o tratamento benéfico apenas para os que possuem o genótipo de referência para ambos os genes ^{36, 37}.

Deve-se ainda salientar que em casos de *KRAS* com genótipo de referência, as mutações em genes como o *NRAS* e o *PIK3CA*, que são outros genes ativados aquando da ligação do cetuximab ou do panitumumab ao recetor EGFR, podem ser genotipadas, uma vez que mutações nesses podem também indicar a falta de resposta aos anticorpos anti-EGFR ³⁸.

O EGFR também apresenta significado clínico na resposta ao cetuximab. Um aumento do número de cópias do EGFR, com uma ampliação definida em seis ou mais sinais por núcleo em mais de 50% das células cancerígenas ou por uma cópia de um grupo

de genes, origina que todos os doentes com esta amplificação sejam responsivos a esta terapêutica³³.

Em conclusão, as mutações nos genes *KRAS* e *BRAF* estão associadas a resistência ao cetuximab e ao panitumumab e a uma menor sobrevivência no cancro colo-retal metastático EGFR positivo. Portanto, a genotipagem destes genes constitui uma mais valia na identificação dos doentes que beneficiarão desta terapêutica, evitando custos e toxicidade desnecessários. Relativamente, à amplificação do EGFR, devido a estudos contraditórios, esta permanece como um marcador potencial para a previsão da resposta ao cetuximab^{33, 35, 37}.

Atualmente, são necessários mais critérios e um cuidado adicional na escolha de novos agentes para a prática clínica. Por exemplo, apesar de a maioria das células cancerígenas serem sensíveis a estes agentes, podem existir pequenas populações de células resistentes que podem proliferar rapidamente causando o crescimento do tumor e novas metástases. Além disso, o uso do cetuximab e do panitumumab, apesar de limitado, aumentam o risco de efeitos adversos, incluindo reações na pele, uma vez que o EGFR é muito expresso em folículos da pele e do cabelo e em queratinócitos e a sua inibição resulta na apoptose deste tipo de células^{34, 38}.

6.5- Bevacizumab

O bevacizumab é um anticorpo monoclonal humanizado recombinado que tem como alvo o VEGF. Este alvo age nas células endoteliais para estimular a angiogénese que facilita o crescimento do tumor (Figura 6.7). O bevacizumab bloqueia o fornecimento de sangue ao tumor, sendo assim utilizado como adjuvante na quimioterapia de referência para o tratamento do cancro colo-retal metastático. No entanto, as complicações deste fármaco são bem conhecidas: aumenta a incidência de hemorragia em doentes com metástases, uma vez que pode alterar a integridade vascular ou pode inibir a cascata da coagulação; gera complicações gastrointestinais, perfurações arteriais e tromboembolismos venosos, hipertensão, proteinúria e difícil cicatrização^{39, 40}. Tais efeitos adversos requerem marcadores de eficácia para diminuir a toxicidade severa associada. Além disso, para doentes com a mutação no gene *KRAS*, a terapêutica dos anti-EGFR (cetuximab ou panitumumab) não é benéfica, sendo, por isso, necessário também

encontrar biomarcadores para a seleção de doentes que irão beneficiar do tratamento com bevacizumab ^{40, 41}.

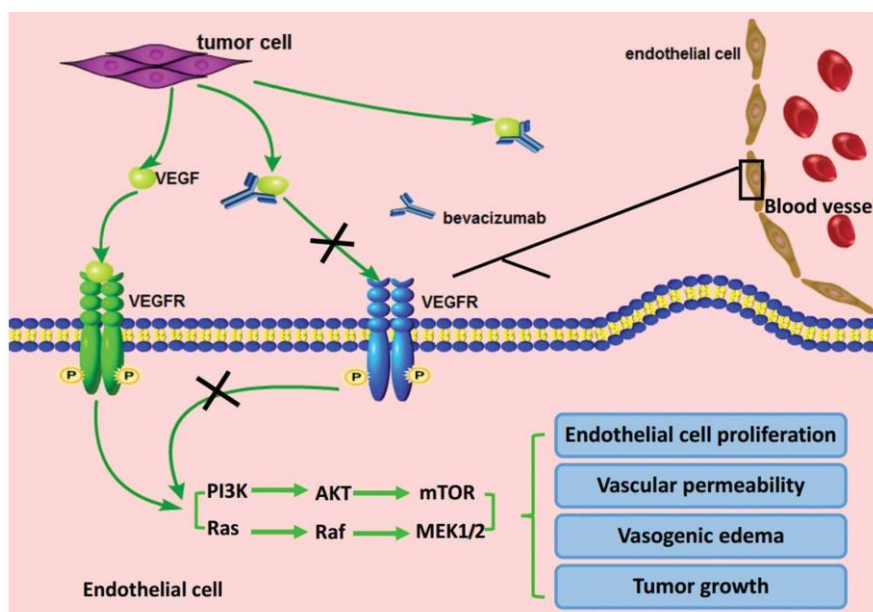


Figura 6.7- Mecanismo de ação do bevacizumab. O bevacizumab é um anticorpo monoclonal humanizado recombinado que tem como alvo o VEGF. Quando ele se liga ao seu alvo, vai impedir a ligação do VEGF ao VEGFR. Consequentemente, as vias de sinalização do *Ras* e do *PI3K* são inibidas, impedindo a proliferação das células endoteliais, a permeabilidade vascular, o edema vasogênico e o crescimento tumoral. Adaptado de Liu P *et al* ⁷².

Alguns estudos reportaram que SNPs do VEGF parecem afetar a transcrição do gene, com a consequente variação da expressão do VEGF. Estudos relacionados com o bevacizumab quando em combinação com o FOLFIRI®, demonstraram que o polimorfismo no SNP rs833061, localizado no cromossoma 6, com a substituição -1498 C→T tem algum significado clínico. O genótipo homozigótico TT apresentou uma sobrevivência livre de progressão (SLP) e uma taxa de sobrevivência mais baixas, enquanto que o polimorfismo heterozigótico apenas revelou uma SLP menor ⁴⁰. Já os polimorfismos nos *loci* -2578 A→C e no -1154 G→A do VEGF foram associados a uma maior taxa de sobrevivência dos doentes tratados com bevacizumab. O genótipo AA para ambos os *loci* foram associados com uma maior SLP quando comparado com os outros genótipos. O polimorfismo -634 G→C não teve associação com a SLP; no entanto, apresentou uma taxa de resposta ao fármaco significativa, sendo o genótipo GG o que apresentou uma pior resposta ao tratamento com bevacizumab. No entanto, estas evidências não são definitivas e alguns resultados são muito contraditórios na associação

destes polimorfismos ao fármaco. Por esta razão estes ainda não podem ser considerados como biomarcadores da progressão da doença ⁴².

Mais recentemente, têm sido feitos estudos para avaliar o papel do óxido nítrico sintase endotelial (*eNOS*) no tratamento com este fármaco. O *eNOS* é um gene expresso no endotélio envolvido na produção do óxido nítrico (NO), que apresenta um papel essencial na manutenção da integridade das células endoteliais, na redução da hemodinâmica e no estabelecimento da circulação colateral. A produção adequada de NO é essencial para prevenir processos trombóticos a aterogénicos. Tem-se demonstrado que a inibição do VEGF induz a diminuição da expressão do *eNOS* e consequentemente, da produção de NO. Este fenómeno está relacionado com a indução da hipertensão, um dos efeitos adversos mais comuns dos inibidores de VEGF como o bevacizumab. Apesar do significado entre a hipertensão e os polimorfismos no *eNOS* ainda serem incertos, também o prognóstico da doença pode estar relacionado com estes polimorfismos ⁴¹.

O polimorfismo +894 G→T também tem algum significado, uma vez que o genótipo TT está associado com uma menor atividade do eNOS, originando maiores SLP e taxa de sobrevivência, mas também maiores efeitos adversos como a hipertensão e a proteinúria. No entanto, é de salientar que o eNOS não é um alvo direto do bevacizumab, podendo outros fatores estarem envolvidos na relação entre a atividade do eNOS e a eficácia do fármaco ^{41, 43}.

6.6-Regorafenib

Uma vez que a angiogénese tem um papel essencial nesta patologia, a sobreexpressão do VEGF e a densidade vascular elevada no cancro colo-retal primário estão associadas ao aumento de recorrência do tumor e da formação de metástases. Além disso, o VEGF-C e o seu recetor VEGFR3 são elementos reguladores da linfagiogénese e a sua expressão tem mostrado promover a disseminação das células tumorais para os nódulos linfáticos em modelos pré-clínicos.

O regorafenib é um inibidor de proteínas cinases com atividade antiangiogénica recentemente aprovado para o tratamento do cancro colo-retal metastático para doentes em que as outras terapias falharam. Este fármaco inibe os mediadores chave da

angiogénese e linfangiogénese, como o VEGFR2 e o VEGFR3 e também previne a formação ou o crescimento de novas metástases no fígado. Além disso, quando combinado com o irinotecano, origina um significativo atraso no crescimento do tumor, pelo facto de o regorafenib normalizar a vasculatura do tumor, facilitando o acesso do irinotecano ⁴⁴.

A inibição do VEGFR2 pode induzir a redução dos microvasos e aumentar a apoptose em células tumorais metastáticas. A inibição do VEGFR3 pode contribuir para o efeito antiangiogénico pela supressão do desenvolvimento do endotélio e da formação da vasculatura e pode afetar o desenvolvimento metastático por bloquear a linfangiogénese do tumor ⁴⁴.

No entanto, estudos sugerem que apenas 50% dos doentes tratados com o regorafenib obtêm benefício deste fármaco, uma vez que há um grande risco de potenciais efeitos adversos severos. Por isso, a identificação dos doentes mais suscetíveis de beneficiar deste fármaco é essencial para a eficácia terapêutica e para evitar o dano provocado pela toxicidade associada ⁴⁵.

Para a identificação desses doentes foi avaliado o papel dos polimorfismos do VEGF e do VEGFR nos doentes com cancro colo-retal tratados com regorafenib. O polimorfismo VEGF-A rs2010963 com a substituição G→C no codão 405, reflete um potencial para a seleção dos casos que beneficiarão do fármaco. Este polimorfismo está localizado na região 5'-UTR, perto da região promotora, e pode influenciar a expressão do VEGF-A, resultando num aumento da angiogénese do tumor que leva a um pior prognóstico. Assim, doentes com o genótipo CC para este polimorfismo parecem não beneficiar do tratamento com regorafenib. Além disso, indivíduos com este genótipo podem padecer de uma progressão da doença mais rápida do que indivíduos com o genótipo GG ⁴⁵.

Capítulo 7- Papel do Farmacêutico na doença

A profissão farmacêutica tem um papel essencial na saúde pública e, nos últimos anos, tem-se verificado uma tendência para o farmacêutico se afastar do seu objetivo inicial: a dispensa de medicamentos.

Na reunião da Organização Mundial de Saúde (OMS), realizada em Tóquio em 1993, sobre “ o papel do farmacêutico nos sistemas de saúde” foi proposto um maior envolvimento dos farmacêuticos com o objetivo de melhorar os resultados clínicos obtidos com a utilização de medicamentos. Este conceito, em que o farmacêutico se responsabiliza pelas necessidades assistenciais do paciente e da comunidade foi designado cuidados farmacêuticos ⁷⁴.

Os cuidados farmacêuticos têm portanto como finalidade melhorar a qualidade de vida dos doentes, que pode ser traduzida pela cura da doença, pela eliminação ou redução de uma sintomatologia, pelo controlo ou diminuição do progresso de uma doença ou pela prevenção de uma doença ou de uma sintomatologia ⁷⁵.

No exercício diária da sua profissão, o farmacêutico comunitário é confrontado com diversas situações, nas quais, ele pode exercer um papel essencial para a saúde do utente que tem diante de si. Para uma vigilância eficaz da saúde dos utentes, o farmacêutico deve estar informado e exercer uma escuta ativa, de modo, a detetar situações passíveis de requerer ajuda médica.

Hoje em dia, a farmácia surge como um local de primeira linha, por parte dos utentes, para busca do alívio da sintomatologia. O papel do farmacêutico é saber aconselhar a melhor terapêutica para o alívio dos seus sintomas e saber detetar quando é necessária a ajuda médica.

Como falado anteriormente, os sintomas do cancro colo-retal não são exclusivos e quando presentes podem ser indicadores de outras doenças como tumores benignos. No entanto, caso o farmacêutico suspeite que os sintomas apresentados pelo utente sejam semelhantes aos característicos do cancro colo-retal, que foram anteriormente falados, este deve reencaminhar o utente para o médico. Depois de este ter feito os meios de diagnóstico e estes se apresentarem positivos para cancro colo-retal, o farmacêutico continuará a apresentar um papel essencial na manutenção da qualidade de vida do utente.

Quando o doente está em tratamentos, o papel do farmacêutico é garantir o aconselhamento para a minimização dos sintomas associado à toxicidade da quimioterapia e radioterapia. Além disso, este deve garantir que a terapia medicamentosa do doente está bem indicada e que é a mais eficaz e segura.

O aconselhamento do doente oncológico deve abranger a terapêutica utilizada, os efeitos adversos dos citotóxicos, as técnicas de administração e as interações medicamentosas. Os serviços farmacêuticos devem estar presentes continuamente durante os ciclos terapêuticos, por complementaridade com os cuidados médicos ⁷⁵.

Os serviços farmacêuticos centrados no doente têm sido associados a uma melhoria da saúde, diminuição dos custos associados, redução dos efeitos adversos, melhoria da qualidade de vida e redução da morbilidade e mortalidade ⁷⁵.

Capítulo 8- Conclusão

Os principais desafios para a terapêutica do cancro é maximizar a eficácia, especificar o tratamento e minimizar a toxicidade e resistência dos regimes terapêuticos. A implementação da farmacogenómica na terapêutica do cancro foi um meio para o melhor cumprimento desses desafios. No entanto, a implementação desta trás consigo novos desafios um tanto difíceis de superar: a consideração dos custos e efetividade destes testes. Uma razão para a qual muitos dos testes de polimorfismos não estão, atualmente, a serem conduzidos para o tratamento dos doentes deve-se ao facto de haver uma incerteza se o seguro cobre os custos destes testes (ex: a UGT1A1 para o irinotecano só é testada quando os doentes apresentam diarreia severa) ²³. Isto leva a que a descoberta de biomarcadores não esteja a ser compensada pelo uso dos mesmos na deteção precoce do cancro ou da toxicidade associada ao mesmo.

As novas terapêuticas seletivas desenvolvidas na área do cancro colo-retal, nas quais se incluem fármacos como os anticorpos monoclonais, nomeadamente, o cetuximab, o panitumumab, o regorafenib e o bevacizumab levaram consequentemente a um aumento significativo das taxas de sucesso terapêutico e de sobrevivência até então mais reduzidas.

Apesar deste desafio, no futuro, mais biomarcadores e fármacos irão ser descobertos e a terapia cancerígena vai melhorar. Com mais biomarcadores identificados irá ser mais fácil introduzir a farmacogenómica na decisão clínica do doente ²³.

Bibliografia

1. World Health Organization. WHO Cancer Control Programme. (2017) <http://www.who.int/cancer/en/> [Acedida em 11 de fevereiro de 2017].
2. National Cancer Institute. O que é o cancro? -National Cancer Institute. (2017) <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer> [Acedida a 11 de fevereiro de 2017].
3. Instituto CUF de Oncologia. Oncologia I. Cancro do cólon e reto - O que é? (2017) <https://www.saudecuf.pt/oncologia/o-cancro/cancro-do-colon-e-reto> [Acedida a 11 de fevereiro de 2017].
4. Globocan.iarc.fr. Fact Sheets by Population http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx [acedido a 11 de fevereiro de 2017].
5. American Cancer Society. (2015) Colorectal Cancer Facts & Figures (2014-2016) (2017) <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/colorectal-cancer-facts-and-figures/colorectal-cancer-facts-and-figures-2014-2016.pdf> [Acedida a 11 de Fevereiro de 2017].
6. Direção Geral de Saúde. Portugal- Doenças oncológicas em números- 2015; (2017) http://www.apah.pt/media/publicacoes_tecnicas_sector_saude_2/Doencas_Oncologicas.pdf [Acedida a 11 de fevereiro de 2017].
7. Liga Portuguesa Contra o Cancro. Cancro do cólon e do recto (2017)<https://www.ligacontracancro.pt/cancro-do-colon-e-do-recto/> [Acedida a 11 de fevereiro 2017].
8. Hobbs R; Kerr C; Young A; (2001) ABC of Colorectal. 1st ed. Londres. (2017) <http://osp.mans.edu.eg/tmahdy/surgeons/ebooks/Books/ABC%20of%20Colorectal%20Cancer.pdf> [Acedida a 11 de fevereiro de 2017].
9. Programa Harvard Medical School Portugal. Pólipos do cólon. (2017) <https://hmsportugal.wordpress.com/2012/03/30/polipos-do-colon/> [Acedida a 11 de fevereiro de 2017].
10. National Cancer Institute. Dicionario de cáncer (2017) <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario?cdrid=45675> [Acedida a 11 de fevereiro de 2017].
11. Liga Portuguesa Contra o Cancro. Estadiamento (2017) <https://www.ligacontracancro.pt/cancro-do-colon-e-do-recto-estadiamento/> [Acedida a 13 de fevereiro de 2017].
12. Liga Portuguesa Contra o Cancro. Sintomas. (2017) <https://www.ligacontracancro.pt/cancro-do-colon-e-do-recto-sintomas/> [Acedida a 14 de fevereiro de 2017].

13. Instituto CUF de Oncologia. Oncologia I. Cancro do cólon e reto - Fatores de risco (2017) <https://www.saudecuf.pt/oncologia/o-cancro/cancro-do-colon-e-reto/fatores-de-risco> [Acedida a 14 de fevereiro de 2017].
14. Liga Portuguesa Contra o Cancro. Sinais de Alerta (2017) <https://www.ligacontracancro.pt/cancro-do-colon-e-do-recto-sinais-de-alerta/> [Acedida a 14 de fevereiro de 2017].
15. National Cancer Institute. Colorectal Cancer Screening. https://www.cancer.gov/types/colorectal/patient/colorectal-screening-pdq#section/_13 [Acedida a 14 de fevereiro de 2017].
16. Direção Geral de Saúde. Norma 003/2014. Lisboa; 2014.
17. Instituto CUF de Oncologia. Oncologia I. Cancro do cólon e reto - O órgão. (2017) <https://www.saudecuf.pt/oncologia/o-cancro/cancro-do-colon-e-reto/o-orgao> [Acedida a 13 de fevereiro de 2017].
18. Fairview Health Services. Cuando su hijo necesita una colonoscopia o sigmoidoscopia - <https://www.fairview.org/espanol/BibliotecadeSalud/art%C3%ADculo/88610> [Acedida a 14 de fevereiro de 2017].
19. De Mattia E, Cecchin E, Toffoli G. Pharmacogenomics of intrinsic and acquired pharmacoresistance in colorectal cancer: Toward targeted personalized therapy. *Drug Resistance Updates*. 2015; **20**: 39-70.
20. Negrei C, Hudita A, Ginghina O, Galateanu B, Voicu S, Stan M et al. Colon Cancer Cells Gene Expression Signature As Response to 5- Fluorouracil, Oxaliplatin, and Folinic Acid Treatment. *Frontiers in Pharmacology*. 2016; **7**: 172.
21. Schmieder R, Hoffmann J, Becker M, Bhargava A, Müller T, Kahmann N et al. Regorafenib (BAY 73-4506): Antitumor and antimetastatic activities in preclinical models of colorectal cancer. *International Journal of Cancer*. 2014; **135**: 1487-1496.
22. Lobo J. Estado atual do paradigma da terapia dirigida no cancro colo-retal metastizado, ilustrado com um caso clínico [Mestrado]. Universidade do Porto; 2013.
23. Zhang Y, Somtakoune S, Cheung C, Listiawan M, Feng X. Therapeutic Application of Pharmacogenomics in Oncology. *The AAPS Journal*. 2016; **18**: 819-829.
24. Hu Z, Yu Q, Pei Q, Guo C. Dose-Dependent Association between UGT1A1*28 Genotype and Irinotecano-Induced Neutropenia: Low Doses Also Increase Risk. *Clinical Cancer Research*. 2010; **16**: 3832-3842.
25. Dean L (2015) Irinotecano Therapy and UGT1A1 Genotype. National Center for Biotechnology Information, Bethesda, MD.
26. Hu Z, Yu Q, Pei Q, Guo C. Dose-Dependent Association between UGT1A1*28 Genotype and Irinotecano-Induced Neutropenia: Low Doses Also Increase Risk. *Clinical Cancer Research*. 2010; **16**: 3832-3842.
27. Lunenburg C, van Staveren M, Gelderblom H, Guchelaar H, Swen J. Evaluation of clinical implementation of prospective DPYD genotyping in 5-fluorouracil- or capecitabine-treated patients. *Pharmacogenomics*. 2016; **17**: 721-729.

28. Matsusaka S, Lenz H. Pharmacogenomics of fluorouracil-based chemotherapy toxicity. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 2015; **11**: 811-821.
29. Irinotecano plus Fluorouracil and Leucovorin for Metastatic Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2001; **344**: 305-307.
30. Stoecklacher J, Park D, Zhang W, Yang D, Groshen S, Zahedy S et al. A multivariate analysis of genomic polymorphisms: prediction of clinical outcome to 5-FU/oxaliplatin combination chemotherapy in refractory colorectal cancer. *British Journal of Cancer*. 2004; **91**: 344-354.
31. Cecchin E, D'Andrea M, Lonardi S, Zanusso C, Pella N, Errante D et al. A prospective validation pharmacogenomic study in the adjuvant setting of colorectal cancer patients treated with the 5-fluorouracil/leucovorin/oxaliplatin (FOLFOX4) regimen. *The Pharmacogenomics Journal*. 2012; **13**: 403-409.
31. Monzo M, Moreno I, Navarro A, Ibeas R, Artells R, Gel B et al. Single Nucleotide Polymorphisms in Nucleotide Excision Repair Genes XPA, XPD, XPG and ERCC1 in Advanced Colorectal Cancer Patients Treated with First-Line Oxaliplatin/Fluoropyrimidine. *Oncology*. 2008; **72**: 364-370.
32. Yin M, Yan J, Martinez-Balibrea E, Graziano F, Lenz H, Kim H et al. ERCC1 and ERCC2 Polymorphisms Predict Clinical Outcomes of Oxaliplatin-Based Chemotherapies in Gastric and Colorectal Cancer: A Systemic Review and Meta-analysis. *Clinical Cancer Research*. 2011; **17**: 1632-1640.
33. Lievre A. KRAS Mutation Status Is Predictive of Response to Cetuximab Therapy in Colorectal Cancer. *Cancer Research*. 2006; **66**: 3992-3995.
34. Peeters M, Siena S, Van Cutsem E, Sobrero A, Hendlisz A, Cascinu S et al. Association of progression-free survival, overall survival, and patient-reported outcomes by skin toxicity and KRAS status in patients receiving panitumumab monotherapy. *Cancer*. 2009; **115**: 1544-1554.
35. Loupakis F, Ruzzo A, Cremolini C, Vincenzi B, Salvatore L, Santini D et al. KRAS codon 61, 146 and BRAF mutations predict resistance to cetuximab plus irinotecano in KRAS codon 12 and 13 wild-type metastatic colorectal cancer. *British Journal of Cancer*. 2009; **101**: 715-721.
36. Bordonaba F. Wild-Type KRAS Is Required for Panitumumab Efficacy in Patients With Metastatic Colorectal Cancer. *Yearbook of Pathology and Laboratory Medicine*. 2009; **2009**: 213-214.
37. Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, Sartore-Bianchi A, Arena S, Saletti P et al. Wild-Type BRAF Is Required for Response to Panitumumab or Cetuximab in Metastatic Colorectal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2008; **26**: 5705-5712.
38. Katsios C, Ziogas D, Roukos D. Colorectal cancer: cetuximab, KRAS, BRAF, PIK3CA mutations and beyond. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*. 2010; **4**: 525-529.
39. Ina K, Furuta R, Kataoka T, Sugiura S, Kayukawa S, Kanamori T et al. Adverse Effects of Bevacizumab During Treatment for Metastatic Colorectal Cancer. *Journal of Analytical Oncology*. 2015; **4**: 24-29.

40. Loupakis F, Ruzzo A, Salvatore L, Cremolini C, Masi G, Frumento P et al. Retrospective exploratory analysis of VEGF polymorphisms in the prediction of benefit from first-line FOLFIRI plus bevacizumab in metastatic colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2011; **11**: 247.
41. Ulivi P, Scarpi E, Passardi A, Marisi G, Calistri D, Zoli W et al. eNOS polymorphisms as predictors of efficacy of bevacizumab-based chemotherapy in metastatic colorectal cancer: data from a randomized clinical trial. *Journal of Translational Medicine*. 2015; **13**: 258.
42. Formica V, Palmirotta R, Del Monte G, Savonarola A, Ludovici G, De Marchis M et al. Predictive value of VEGF gene polymorphisms for metastatic colorectal cancer patients receiving first-line treatment including fluorouracil, irinotecano, and bevacizumab. *International Journal of Colorectal Disease*. 2010; **26**: 143-151.
43. Di Salvatore M, Pietrantonio F, Orlandi A, Del Re M, Berenato R, Rossi E et al. IL-8 and eNOS polymorphisms predict bevacizumab-based first line treatment outcomes in RAS mutant metastatic colorectal cancer patients. *Oncotarget*. 2017; **8**: 16887-16898.
44. Schmieder R, Hoffmann J, Becker M, Bhargava A, Müller T, Kahmann N et al. Regorafenib (BAY 73-4506): Antitumor and antimetastatic activities in preclinical models of colorectal cancer. *International Journal of Cancer*. 2014; **135**: 1487-1496.
45. Giampieri R, Salvatore L, Del Prete M, Prochilo T, D'Anzeo M, Faloppi L et al. Angiogenesis genotyping and clinical outcome during regorafenib treatment in metastatic colorectal cancer patients. *Journal of Clinical Oncology*. 2015; **33**: 595-595.
46. Valadão M, Castro L. CÂNCER COLO-RETAL HEREDITÁRIO. *Rev. Col. Bras*. 2007; **34**: 193-200.
47. Valle L. Genetic predisposition to colorectal cancer: Where we stand and future perspectives. *World Journal of Gastroenterology*. 2014; **20**: 9828.
48. Lynch H, Chapelle A. Genetic susceptibility to non-polyposis colorectal cancer. *Journal of Medical Genetics*. 1999; **36**: 801-818.
49. Kinzler K, Vogelstein B. Lessons from Hereditary Colorectal Cancer. *Cell*. 1996; **87**: 159-170.
50. Syngal S, Fox E, Li C, Dovidio M, Eng C, Colodner R et al. Interpretation of genetic tests results for hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *JAMA*. 1999; **282**: 247-253.
51. Abbas E, Rezayat K, Mozaffari H, Bahari A, Ghanaei O, Ganji A, Mokhtarifar A, Khorram M, Goshayeshi L. Prevalence of hereditary nonpolyposis colorectal cancer in patients with colorectal cancer in Iran: a systematic review. *Reviews in Clinical Medicine*. 2016; **3**: 98-104.
52. Plawski A, Slomski R. APC gene mutations causing familial adenomatous polyposis in Polish patients. *Journal of Applied Genetics*. 2008; **49**: 407-414.
53. Levin B. Colorectal cancer. *ACP Medicine*. 2006; 1-16
54. Neoplasias- Carcinogenese sequencial. (2017) <https://pt.slideshare.net/uc3med/neoplasias-carcinogenese-sequencial> (Acedida a 19 de Março de 2017)

55. PharmGKB. Irinotecan Pathway, Pharmacokinetics <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA2001> (Acedida a 4 de abril)
56. NCBI. 1000 Genomes Browser. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/?chr=NC_000018.10&from=683107&to=684107&mk=683607:683607|rs2612091>s=rs2612091 (Acedida a 4 de abril)
57. Beggs A, Hodgson S. The Genomics of Colorectal Cancer: State of the Art. *Current Genomics*. 2008; **9**: 1-10.
58. Pancione M, Remo A, Colantuoni V. Genetic and Epigenetic Events Generate Multiple Pathways in Colorectal Cancer Progression. *Pathology Research International*. 2012; **2012**: 1-11.
59. Murcia O, Juárez M, Hernández-Illán E, Egoavil C, Giner-Calabuig M, Rodríguez-Soler M et al. Serrated colorectal cancer: Molecular classification, prognosis, and response to chemotherapy. *World Journal of Gastroenterology*. 2016; **22**: 3516.
60. Duffy M, van Dalen A, Haglund C, Hansson L, Holinski-Feder E, Klapdor R et al. Tumour markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines for clinical use. *European Journal of Cancer*. 2007; **43**: 1348-1360.
61. Bronner C, Baker S, Morrison P, Warren G, Smith L, Lescoe M et al. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH 1 is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. *Nature*. 1994; **368**: 258-261.
62. Ogino S, Kawasaki T, Kirkner G, Kraft P, Loda M, Fuchs C. Evaluation of Markers for CpG Island Methylator Phenotype (CIMP) in Colorectal Cancer by a Large Population-Based Sample. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 2007; **9**: 305-314.
63. Zhou S, Buckhaults P, Zawel L, Bunz F, Riggins G, Le Dai J et al. Targeted deletion of Smad4 shows it is required for transforming growth factor and activin signaling in colorectal cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998; **95**: 2412-2416.
64. Fernandes de Pina M. Caracterização histopatológica e diagnóstico molecular das mutações no gene KRAS em pacientes com carcinoma coloretal metastático: Importância para a definição da sensibilidade e especificidade de diferentes técnicas moleculares [Mestrado]. Faculdade de Medicina da Universidade do Porto; 2013.
65. Sisik A, Kaya M, Bas G, Basak F, Alimoglu O. CEA and CA 19-9 are Still Valuable Markers for the Prognosis of Colorectal and Gastric Cancer Patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2013; **14**: 4289-4294.
66. Fernandes L, Matos D. Marcadores tumorais no câncer colo-retal. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*. 2002; **29**: 106-111.
67. Geraldo M. Regulação da via de sinalização de TGF- β pelo microRNA miR-146b-5p no câncer de tiróide [Doutoramento]. Universidade de São Paulo; 2011.
68. Desai A, Innocenti F, Ratain M. Pharmacogenomics: road to anticancer therapeutics nirvana?. *Oncogene*. 2003; **22**: 6621-6628.

69. Deficiente DPD (DPYD IVS14+1 G>A)-toxicitate 5-FU. 2017 <https://www.synevo.ro/deficienta-dpd-dpyd-ivs141-ga-toxicitate-5-fu/> (Acedido a 22 de maio)
70. Bhushan S, McLeod H, Walko C. Role of Pharmacogenetics as Predictive Biomarkers of Response and/or Toxicity in the Treatment of Colorectal Cancer. *Clinical Colorectal Cancer*. 2009; **8**: 15-21.
71. Bardelli A, Jänne P. The road to resistance: EGFR mutation and cetuximab. *Nature Medicine*. 2012; **18**: 199-200.
72. Liu P, Yao Q, Li N, Liu Y, Wang Y, Li M et al. Low-dose bevacizumab induces radiographic regression of vestibular schwannomas in neurofibromatosis type 2: A case report and literature review. *Oncology Letters*. 2016; **11**: 2981–2986.
73. Costa C, Magalhães H, Félix R, Costa A, Cordeiro S. O cancro e a qualidade de vida. 1ª ed. Sintra; 2005.
74. Ordem dos Farmacêuticos. (2009) Boas Práticas de Farmacêuticas para a farmácia comunitária. http://www.ordemfarmaceuticos.pt/xFiles/scContentDeployer_pt/docs/Doc3082.pdf [Acedida a 28 de julho de 2017]
75. Rita Isabel Caldeira Monteiro de Sousa. Cuidados Farmacêuticos no Doente Oncológico [Licenciatura]. Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa do Porto; 2010.
76. American Joint Committee on Cancer. Cancer Staging Manual (2017) <https://cancerstaging.org/references-tools/deskreferences/Pages/default.aspx> [Acedido a 3 de Agosto de 2017]
77. Cancro Colorretal. Anticancer Fund; 2016.

Anexos

ANEXO I: Estadiamento do cancro colo-retal

Quadro 1- Estadiamento do cancro colo-retal, de acordo com o sistema de classificação TNM proposto pelo American Joint Committee on Cancer ⁷⁶.

Estádio	Tumor primário (T)	Nódulos linfáticos Regionais (N)	Metástases distantes (M)
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N2b	M0
IIIA	T1-T2	N2a	M0
	T1		
IIIB	T3-T4a	N2b	M0
	T2-T3		
	T1-T2		
IIIC	T4a	N1-N2	M0
	T3-T4a		
	T4b		
IVA	Qualquer T	Qualquer N	M1a
IVB	Qualquer T	Qualquer N	M1b

Tis: carcinoma in situ; T1: o tumor invade a submucosa; T2: o tumor invade a muscularis própria; T3: o tumor invade os tecidos pericoloretais; T4a: o tumor invade a superfície do peritoneu visceral; T4b: o tumor invade diretamente outras estruturas e órgãos.

N0: Não existem metástases nos nódulos linfáticos; N1: Existem metástases em 1-3 nódulos linfáticos regionais; N2: metástases em 4 ou mais nódulos linfáticos regionais; N2a: metástases em 4-6 nódulos linfáticos regionais; N2b: metástases em 7 ou mais nódulos linfáticos regionais. M0: Sem metástases distantes; M1a: metástases distantes confinadas a um órgão ou estrutura; M1b: metástases confinadas a mais de um órgão ou sítio ou no peritoneu.

ANEXO II: Tratamento para cada estágio do cancro colo-retal

Quadro 2- Tratamento para cada estágio do cancro colo-retal segundo a European Society for Medical Oncology⁷⁷.

Estádio	Tratamento
Estádio 0	Cirurgia com retirada do segmento que contém o tumor.
Estádio I	Cirurgia com retirada do segmento que contém o tumor, assim como os gânglios linfáticos regionais.
Estádio II	Cirurgia com retirada do segmento que contém o tumor, assim como os gânglios linfáticos regionais; Quimioterapia com administração do FOLFOX® para cancro do cólon; Quimiorradioterapia ou radioterapia para cancro retal.
Estádio III	Cirurgia com retirada do segmento que contém o tumor, assim como os gânglios linfáticos regionais; Quimioterapia com administração do FOLFOX® ou uma administração de capecitabina e OXP para cancro do cólon; Quimiorradioterapia para cancro retal.
Estádio IV	Cirurgia ao tumor principal; Resseção cirúrgica de metástases; Quimioterapia com administração de FOLFOX® ou FOLFIRI® ou a combinação de 5-FU, leucovorina, oxaliplatina e irinotecano ou a combinação de capecitabina e OXP. Pode ser combinado ainda a terapia biológico (Aflibercept, Bevacizumab, Cetuximab, Panitumumab e Regorafenib) Radioterapia preferencialmente em combinação com a quimioterapia.

ANEXO III: Características clínico-patológicas do cancro colo-retal hereditário sem polipose da Polipose adenomatosa familiar.

Quadro 3- Características clínico-patológicas do Cancro colo-retal hereditário sem polipose. Adaptado de Valle L⁴⁷.

Características clínico-patológicas

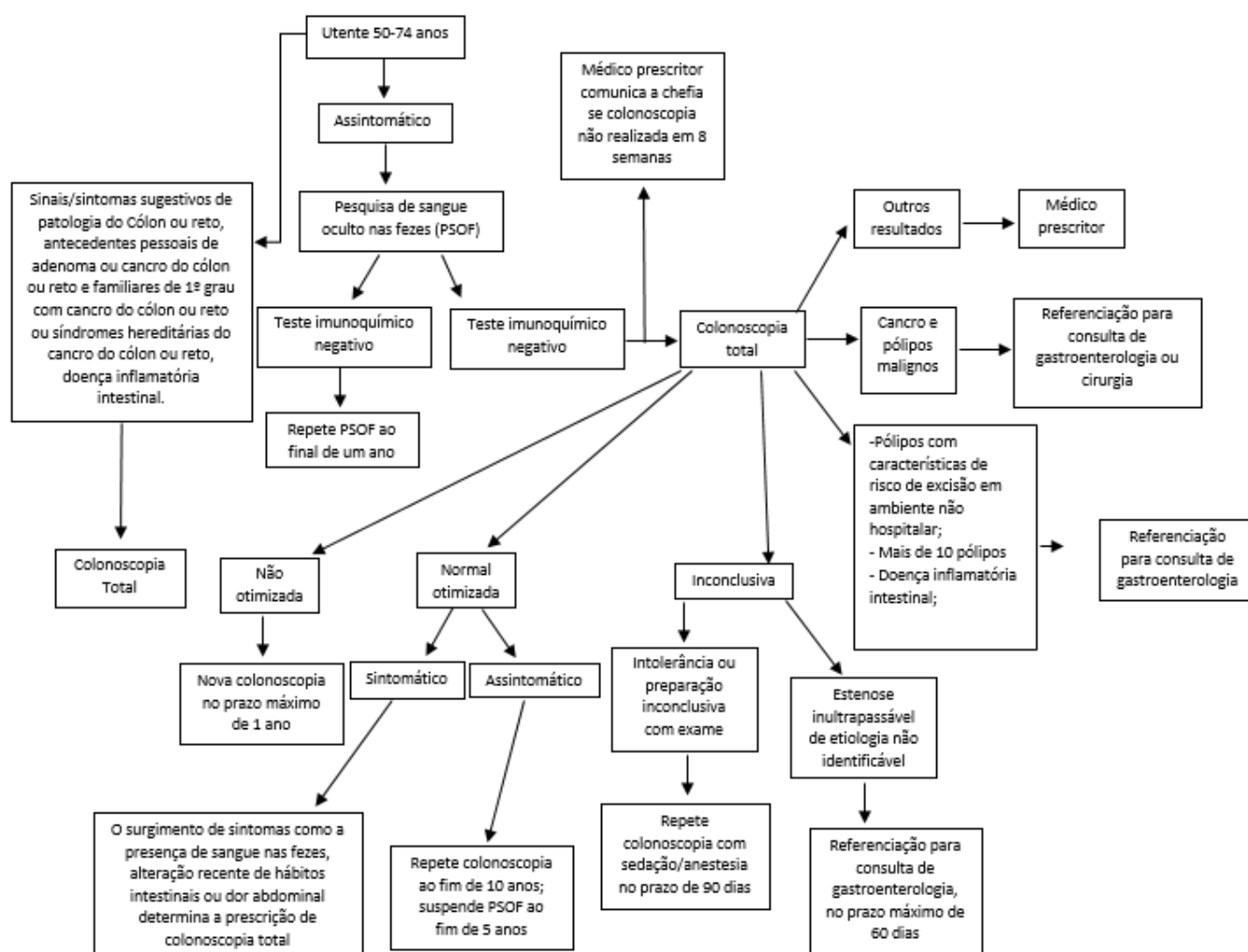
- Aparece numa idade precoce (média aos 45 anos);
- Prevalência do desenvolvimento no cólon direito;
- Alto risco de múltiplos cancros colo-retais primários;
- Características patológicas específicas, tais como:
 - Pobre diferenciação;
 - Mucinoso;
 - Células Signet;
 - Excesso de linfócitos infiltrados no tumor
- Aumento da sobrevivência ao cancro;
- Carciogénese acelerada;
- Risco aumentado de cancro em regiões extracolónicas:
 - Endométrio;
 - Ovário;
 - Estômago;
 - Trato hepatobiliar;
 - Intestino delgado;
 - Trato uroepitelial superior;
 - Cérebro (síndrome de Turcot);
 - Adenomas sebáceos, carcinomas e queratocantomas (Síndrome Muir-Torre).

Quadro 4- Características clínico-patológicas da Polipose adenomatosa familiar. Adaptado de Valle L.⁴⁷.

Características clínico-patológicas

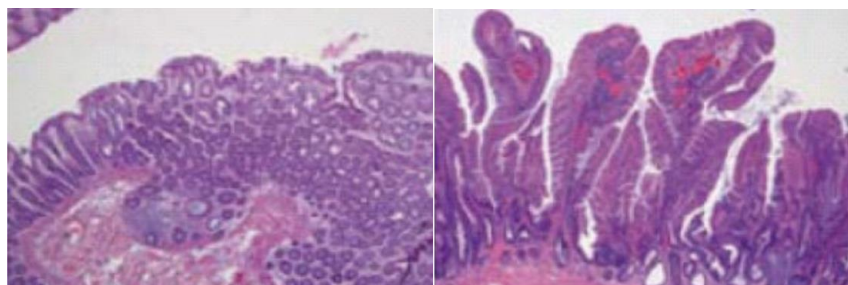
- Centenas a milhares de pólipos adenomatosos no cólon (com idade média de início aos 16 anos);
- Cancro colo-retal (idade média aos 39 anos)
- Outros pólipos ou lesões malignas gastrointestinais:
 - Pólipos das glândulas fúndicas no estômago;
 - Pólipos adenomatosos no estômago e no intestino delgado;
 - Cancro duodenal
- Hipertrofia congénita do epitélio pigmentado retinal;
- Outras manifestações menos comuns:
 - Tumores embrionares;
 - Carcinoma pancreatobiliar;
 - Carcinoma da tiróide papilar;
 - Tumor cortical adrenal;
- Síndrome de Gardner:
 - Polipose adenomatosa do cólon;
 - Tumor desmoide;
 - Cistos de inclusão epitelial;
 - Osteomas osteoides;
 - Dentes supranumerários;
- Síndrome de Turcot:
 - Polipose adenomatosa do cólon;
 - Tumores do sistema nervoso central (meduloblastoma);
- Prevalência de desenvolvimento no cólon esquerdo.

ANEXO IV: Algoritmo clínico para rastreio oportunístico do cancro do colo-retal ¹⁶.



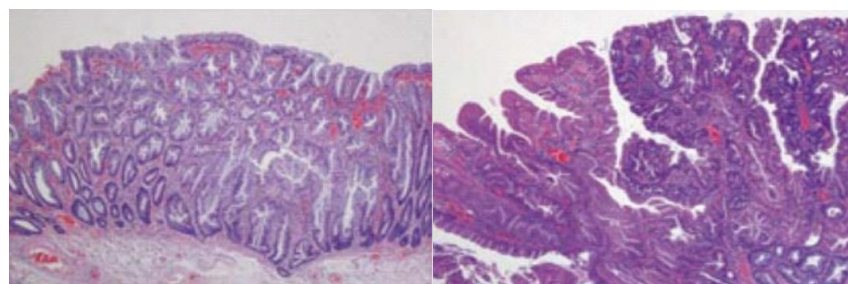
Anexo V: Características dos vários tipos de lesões serradas.

Quadro 5- Características dos pólipos hiperplásticos microvesiculares (MVHP) e dos pólipos hiperplásticos células globo (GCHP). Adaptado de Murcia O *et al* ⁵⁹.



Tipos de pólipos serrados	MVHP	GCHP
Morfologia	Alguns pólipos largos	Muitos pólipos pequenos
Localização preferencial	Cólon direito	Cólon esquerdo
Fenótipo de CIMP-H (%)	41-73	8-18
MSI (%)	Não reportados	8
Mutação <i>BRAF</i> (%)	67-88	20-83
Mutação <i>KRAS</i> (%)	6-17	8-73

Quadro 6- Características dos adenomas serrados sesséis (SSA) e dos adenomas serrados tradicionais (TSA). Adaptado de Murcia O *et al* ⁵⁹.



Tipos de pólipos serrados	SSA	TSA
Prevalência	10-25	1-2
Localização preferencial	Cólon direito	Cólon esquerdo
Fenótipo de CIMP-H (%)	44-77	43-80
MSI (%)	Raramente observado	3
Mutação <i>BRAF</i> (%)	32-83	60-76
Mutação <i>KRAS</i> (%)	7-25	0-28