

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM HEPATOLOGIA**

Uirá Fernandes Teixeira

**Análise da Influência do Polimorfismo
T309G do Gene MDM2 no Prognóstico
de Pacientes Cirróticos com Carcinoma
Hepatocelular Submetidos a
Tratamento Cirúrgico.**

UFCSPA
**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**

**Porto Alegre
2015**

Uirá Fernandes Teixeira

**Análise da Influência do Polimorfismo
T309G do Gene MDM2 no Prognóstico
de Pacientes Cirróticos com Carcinoma
Hepatocelular Submetidos a
Tratamento Cirúrgico.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Hepatologia da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Dr. Paulo Roberto Ott Fontes

**Porto Alegre
2015**

Catálogo na Publicação

Teixeira, Uirá Fernandes

Análise da influência do polimorfismo T309G do gene MDM2 no prognóstico de pacientes cirróticos com carcinoma hepatocelular submetidos a tratamento cirúrgico / Uirá Fernandes Teixeira. -- 2015.

45 f. : graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia, 2015.

Orientador(a): Prof. Dr. Paulo Roberto Ott Fontes.

1. Polimorfismo de nucleotídeo único. 2. Carcinoma hepatocelular. 3. Prognóstico. 4. Hepatectomia. 5. Transplante de fígado. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Uirá Fernandes Teixeira

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO T309G DO GENE
MDM2 NO PROGNÓSTICO DE PACIENTES CIRRÓTICOS COM
CARCINOMA HEPATOCELULAR SUBMETIDOS A TRATAMENTO
CIRÚRGICO**

Dissertação de Mestrado submetida à Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Hepatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Hepatologia. Área de Concentração: Hepatologia.

Aprovada em _____ de _____ de 2015.

Banca Examinadora:

Porto Alegre
2015

“Todos os dias penso inúmeras vezes que a minha vida exterior e interior assenta sobre o labor dos seres humanos presentes e dos que já faleceram, de modo que tenho de me esforçar por dar na mesma medida em que recebi e continuo a receber.”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **Abel Alfredo Filho** e **Neuza Fernandes Teixeira**, meus maiores exemplos, pelo apoio incondicional.

Ao **Prof. Dr. Paulo Roberto Ott Fontes**, pelas oportunidades a mim concedidas e pelo aprendizado diário.

À **Andréa Izaguirre**, pela participação e ajuda na elaboração desse trabalho.

Ao **Prof. Dr. Ajácio Brandão**, com extensão à equipe de transplante hepático da Santa Casa de Porto Alegre, pela ajuda na disponibilização de dados para estudo.

Às Sras. **Luciani** e **Maristela**, meus sinceros agradecimentos pela ajuda nestes dois anos de pós-graduação.

RESUMO

Introdução. A descoberta e incorporação de painéis de biomarcadores aos estudos do câncer permitiram o conhecimento de variações genéticas e sua interferência no processo de carcinogênese. A possibilidade de associação do polimorfismo de nucleotídeo simples T309G do gene MDM2 com o aumento da formação de tumores, dentre eles o carcinoma hepatocelular (CHC), tem sido alvo de diversos estudos. **Objetivo.** Analisar a influência do polimorfismo T309G do gene MDM2 na recidiva tumoral de pacientes cirróticos com CHC submetidos a tratamento cirúrgico. **Métodos.** Foram analisados retrospectivamente pacientes cirróticos com carcinoma hepatocelular submetidos a tratamento cirúrgico (hepatectomia parcial ou transplante hepático) no período de 2000 a 2009, no Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Foram coletadas amostras de fragmentos tumorais da peça operatória (fígado explantado ou segmento hepático), as quais foram preparadas para estudo em bloco parafinado. **Resultados.** A sobrevida global foi de 26,7 meses para o grupo HPT e 62,4 meses para o grupo TxH ($p < 0,01$), havendo um total de 66,7% de recidiva global no grupo HPT (10/15), e 17% no grupo TxH (8/47) ($X^2 = 13,602$, $p < 0,01$). Níveis de AFP > 200 ng/mL correlacionaram-se com a recidiva tumoral em ambos os subgrupos cirúrgicos. Observou-se que 83,3% dos pacientes com recidiva também apresentaram invasão microvascular ao exame anátomo-patológico ($p < 0,01$). Não houve significância estatística quando a recidiva neoplásica foi avaliada para os diferentes genótipos e analisada para cada subgrupo cirúrgico. A análise dos fatores prognósticos relacionados à recidiva do carcinoma hepatocelular, quando estratificados para cada padrão genotípico, também não se mostrou significativa. **Conclusão.** O nosso estudo revelou que o genótipo G/G não esteve associado a recidiva tumoral após o tratamento cirúrgico, seja nas hepatectomias parciais ou transplante hepático. Além disso, a presença desse genótipo não mostrou correlação com os fatores prognósticos estudados.

ABSTRACT

Introduction. The discovery and incorporation of biomarker panels to cancer studies allowed the knowledge of genetic variation and its interference in the process of carcinogenesis. The possible association of single nucleotide polymorphism MDM2-T309G with increased development of tumors, including hepatocellular carcinoma, has been the subject of several studies. **Objective.** Analyze the influence of T309G polymorphism of MDM2 gene in tumor recurrence in cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma who underwent surgical treatment. **Methods.** We retrospectively analyzed cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma treated by surgery (partial hepatectomy or liver transplantation) from 2000 to 2009, at Santa Casa Hospital in Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Tumor samples from surgical specimen were collected (explanted liver or hepatic segment), which have been prepared for study in paraffin blocks. **Results.** Overall survival was 26.7 months for the HPT group and 62.4 months for liver transplantation group ($p < 0.01$), with 66.7% overall recurrence in HPT group (10/15) and 17% in liver transplantation group (8/47) ($X^2 = 13.602$, $p < 0.01$). AFP levels > 200 ng / mL were correlated with tumor recurrence in both surgical subgroups. It was observed that 83.3% of patients with recurrence also had microvascular invasion in pathological examination ($p < 0.01$). There was no statistical significance when neoplastic recurrence was evaluated for different genotypes and analyzed for each surgical subgroup. Analysis of prognostic factors associated with recurrence of hepatocellular carcinoma, when stratified for each genotypic pattern, neither was statistically significant. **Conclusion.** Our study revealed that the G/G genotype was not associated with tumor recurrence after surgical treatment, in neither partial hepatectomy nor liver transplantation. In addition, the presence of this genotype showed no correlation with the studied prognostic factors.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características da amostra e resultados do estudo anátomo-patológico para cada paciente.....38

Tabela 2. Distribuição dos fatores prognósticos para cada genótipo.....39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma para detecção precoce e tratamento do câncer.....	13
Figura 2. Média de sobrevida após o tratamento cirúrgico, estratificada pelo tipo de cirurgia.....	35
Figura 3. Recidiva neoplásica estratificada pelo tipo de cirurgia.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFP – Alfa-fetoproteína

CHC – Carcinoma hepatocelular

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EM – Epidemiologia molecular

EUA – Estados Unidos da América

GG – Genótipo homozigoto (com o SNP 309 em ambos os alelos)

HPT – Grupo de pacientes submetidos a hepatectomias parcial

MDM2 – Proteína e gene *Murine Double Minute 2*

ODDS RATIO – Razão de chances

P53 – Proteína p53

PCR – Reação em cadeia da polimerase

SNP – Polimorfismo de nucleotídeo simples

TG – Genótipo heterozigoto com o SNP 309 em um alelo apenas

TT – Genótipo sem o SNP 309

TxH – Grupo de pacientes submetidos ao transplante hepático

VHC – Vírus da hepatite C

SUMÁRIO

1. REVISÃO DA LITERATURA.....	12
1.1 A Epidemiologia Molecular.....	12
1.2 As proteínas p53 e MDM2.....	13
1.3 Os polimorfismos de nucleotídeo único.....	15
1.4 O carcinoma hepatocelular.....	16
1.5 O tratamento cirúrgico do carcinoma hepatocelular.....	17
1.5.1 Ressecções hepáticas.....	17
1.5.2 O transplante hepático.....	18
1.6 Critérios prognósticos relacionados ao tratamento cirúrgico do CHC.....	19
1.7 O Carcinoma hepatocelular e o SNP T309G.....	20
2. JUSTIFICATIVA.....	22
3. OBJETIVOS.....	23
4. REFERÊNCIAS.....	24
5. ARTIGO A SER PUBLICADO.....	29
6. CONCLUSÃO.....	45

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1 A epidemiologia molecular

A epidemiologia molecular (EM), desde a idealização do conceito em 1982, vem ganhando importância como uma nova área de conhecimento nos estudos sobre o câncer. É o resultado da fusão da epidemiologia com a biologia molecular. Busca estudar os potenciais fatores causais das diversas neoplasias e, principalmente, atuar na sua prevenção¹.

Em meio às diversas contribuições prestadas no campo científico pela EM, talvez o conceito de variação entre indivíduos em relação ao risco de desenvolver o câncer seja um dos mais significativos². Sabe-se que são inúmeras as interações existentes entre os fatores ambientais e o hospedeiro no processo multifatorial da carcinogênese. Ou seja, além da exposição a determinados agentes com potencial carcinogênico, diferenças individuais em relação ao metabolismo, sistemas de reparo do DNA (ácido desoxirribonucleico) e atividades de genes supressores tumorais, por exemplo, irão influenciar no desenvolvimento da neoplasia em determinado organismo³.

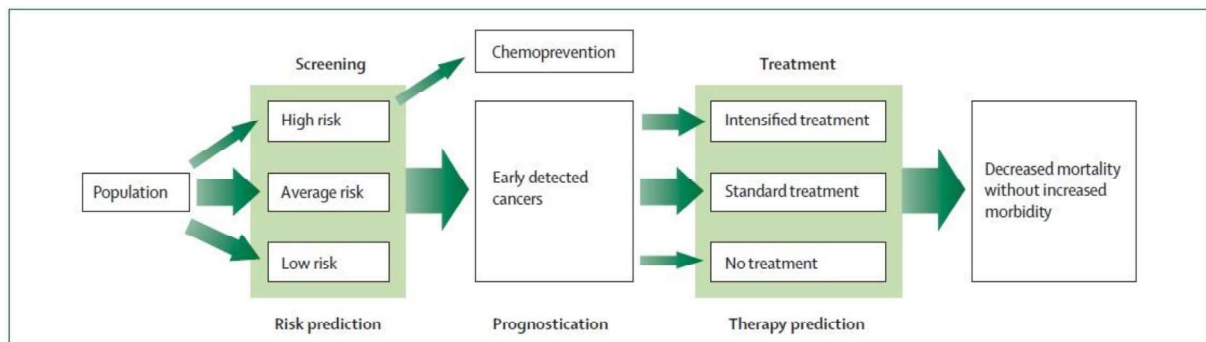
O objetivo final da EM é atuar na prevenção do câncer, uma doença que, segundo estimativas americanas, levará ao óbito mais de 500.000 pessoas nos Estados Unidos (EUA) em 2014, com aproximadamente 1,6 milhões de casos novos ocorrendo neste ano⁴. Este intento torna-se possível na medida em que os fatores implicados no surgimento desta doença são, na grande maioria, exógenos, possibilitando medidas que visem a sua prevenção³.

Até recentemente, a maioria dos estudos em EM ressaltava apenas a associação causal entre exposição e doença. A modulação dos fatores ambientais pela suscetibilidade do hospedeiro era raramente estudada. Com a descoberta e a incorporação de painéis de biomarcadores aos estudos do câncer, tornou-se possível o conhecimento das variações genéticas e a sua interferência no processo de carcinogênese⁵. Determinar, assim, o papel do polimorfismo genético na etiologia dos tumores esporádicos, através das relações entre suscetibilidade hereditária e fatores ambientais é o campo principal da pesquisa em EM⁶.

É preciso lembrar, entretanto, que a EM engloba algumas das limitações dos estudos epidemiológicos, como a suscetibilidade a fatores de confusão. Além disso, alguns biomarcadores utilizados em seus estudos ainda necessitam de validação adequada para que seu uso seja difundido e recomendado³.

Mesmo assim, esses novos recursos moleculares podem em muito beneficiar pacientes e acarretar ganhos na saúde pública. Indivíduos com maior risco de desenvolver o câncer podem ser identificados e favorecidos por medidas de prevenção. Ainda, a detecção precoce da doença em pacientes em acompanhamento estreito (em virtude de apresentarem uma predisposição molecular) pode propiciar tratamento mais efetivo e melhorar o prognóstico desses indivíduos⁷ (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma para detecção precoce e tratamento do câncer



1. Fonte: Hartman M, Loy EY, Ku CS, Chia KS. Molecular epidemiology and its current clinical use in cancer management. Lancet Oncol 2010;11:383-390⁷.

1.2 As proteínas p53 e MDM2

A transformação maligna de uma célula é atribuída a uma série de eventos genéticos e epigenéticos envolvendo alterações em vários oncogenes e genes supressores tumorais, tipicamente nas células somáticas⁸. A ativação de oncogenes

e inativação de genes supressores tumorais são os mecanismos mais estudados no desenvolvimento e progressão do câncer⁹.

O reparo do DNA é um mecanismo crucial de defesa do organismo que visa garantir a integridade do genoma. Sabe-se que há uma variação significativa entre indivíduos no que tange a essa capacidade de correção celular⁶. Berwick e colaboradores¹⁰ relataram que a grande maioria dos estudos reporta uma diferença (na habilidade de reparo do DNA) entre sujeitos com câncer e indivíduos saudáveis.

Neste contexto, a proteína p53 assume um papel primordial. Identificada, pela primeira vez, em 1979, assumiu posteriormente o posto de protetora do genoma celular, impedindo a proliferação celular inapropriada e direcionando células para apoptose¹¹. Tão grande é a sua importância que estudos revelam que mutação ou perda de seu gene está presente em aproximadamente 50% de todos os tipos de câncer em humanos¹².

Em decorrência de estímulos intra e extracelulares variados, tais como danos ao DNA e hipóxia, a p53 é ativada e emerge como uma proteína reguladora essencial que dispara diversas respostas biológicas, tanto em escala celular quanto no organismo como um todo. Há elevação em seus níveis, assim como mudanças qualitativas que vão permitir a sua atuação na supressão tumoral¹³.

Em circunstâncias habituais, a proteína p53 é mantida em baixas concentrações celulares, existindo basicamente na sua forma latente. A elevação em seus níveis é regulada primariamente através do aumento na sua meia-vida¹³.

A regulação da p53 se dá por uma rede complexa de proteínas, dentre elas a MDM2 (*murine double minute 2*), identificada pela primeira vez em ratos¹⁴. Trata-se de um regulador negativo da p53, que se liga ao seu domínio N-terminal, bloqueia a sua atividade transcricional e estimula a sua degradação¹⁵. MDM2 e p53 formam uma alça de *feedback* negativo, no qual a p53 induz a formação da MDM2, a qual, por sua vez, promove a degradação da primeira e reduz a sua atividade celular¹¹. Diversos estudos mostraram que a hiperatividade da MDM2 está implicada no surgimento de diversos tipos de câncer, dentre eles cerca de 30% dos sarcomas humanos¹⁶. Desde a publicação inicial¹⁷, diversos estudos mostraram que o alelo G do polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP) T309G no gene MDM2 estava associado a uma atenuação da função da p53, com aumento no risco de carcinogênese¹⁸. Por essa razão, a interação entre MDM2-p53 parece ser um alvo importante na terapêutica do câncer¹¹.

1.3 Os polimorfismos de nucleotídeo único

Para que ocorra hiperfunção da MDM2, é necessário que alguma mutação provoque uma alteração genética que estimule a sua função. Um dos tipos mais simples é representado pelos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), uma variação na sequência do DNA que altera apenas uma base¹⁹. Tecnicamente, um *locus* é considerado polimórfico quando a variação mais comum entre os seus alelos ocorre em uma frequência menor que 99% na população estudada²⁰.

Os SNPs representam 90% de todas as variações genômicas humanas, e aparecem, em média, a cada 1.350 bases¹⁹. Estudos revelam que o genoma humano contém aproximadamente 10 milhões de SNPs, sendo que, em 66% dos casos, ocorre substituição de citosinas por timinas²⁰.

Os SNPs ganharam grande visibilidade em virtude das vantagens do seu uso em pesquisa médica, comparativamente a outros tipos de polimorfismos. Primeiramente, a elevada frequência na qual são encontrados no genoma confere-lhes grande utilidade para descobertas relacionadas a genes causadores de doenças^{20,21}. Além disso, como são distribuídos por todo o genoma, são mais propensos a abrigar um alelo relevante que, em decorrência de simples substituições de pares de bases, podem influenciar diretamente na função de proteínas²⁰. Ainda, dada a sua simples estrutura de mudança de bases, os microarranjos possibilitam a genotipagem rápida e eficiente de inúmeros SNPs de diversos indivíduos^{20, 22}.

Nesse contexto, emerge o polimorfismo localizado no 1º íntron do gene MDM2, na posição 309, no qual há uma troca de timina por guanina (SNP T309G), culminando em um aumento dos níveis da proteína MDM2 nos indivíduos portadores do alelo G desse polimorfismo. Dessa forma, há uma atenuação dos níveis da proteína p53 e possibilidade de aceleração da formação de tumores em seres humanos^{17,18}. Os estudos revelam que o aumento nos níveis da MDM2 resulta em inibição direta da atividade transcricional da p53, possibilitando às células danificadas escaparem da verificação que ocorre no ciclo celular, tornando-as propensas à carcinogênese⁹.

Em virtude dessa plausibilidade biológica, nas últimas décadas, diversos estudos têm evidenciado uma associação entre o SNP T309G e a ocorrência de neoplasias. Tian e colaboradores²³, em metanálise publicada em 2013, encontraram

associação significativa entre a presença do genótipo GG e o risco aumentado de desenvolver câncer de estômago. Já Peng e colaboradores²⁴ revelaram que o polimorfismo MDM2 SNP 309 contribui para a suscetibilidade ao câncer de endométrio. Hu e colaboradores²⁵ demonstraram, em outra metanálise, que a presença do polimorfismo 309GG possuía associação positiva com diversos tipos de tumores.

1.4 O carcinoma hepatocelular

O carcinoma hepatocelular (CHC), em homens, é o quinto tipo de câncer mais comum do mundo, representando a segunda causa de morte entre todos os tipos de neoplasias. No sexo feminino, ocupa a sétima posição em incidência e responde pela sexta causa de morte por câncer²⁶.

A cada ano, mais de 600.000 pessoas vão ao óbito em decorrência deste tipo de câncer. Em várias regiões dos continentes asiático e africano, ocupa o primeiro lugar na lista de incidência das diversas neoplasias malignas, culminando também em elevado número de óbitos, principalmente devido à incapacidade de se reconhecer os indivíduos propensos a desenvolver a doença, da alta prevalência dos fatores de risco na população e, ainda, pela ausência de diagnóstico precoce e tratamento adequado²⁷.

As Américas do Sul e Norte, grande parte da Europa e Austrália são considerados de baixa incidência para o CHC, com menos de 5 casos por 100.000 habitantes/ano^{27, 28}. Nos Estados Unidos, entretanto, a incidência aumentou nos últimos 20 anos, provavelmente em decorrência da prevalência da hepatite crônica pelo vírus C (VHC)²⁹.

No Brasil, a incidência aproximada do CHC é de 3,6 casos por 100.000 habitantes/ano, sendo mais frequente nos estados do Espírito Santo, Bahia e Amazonas segundo estudos nacionais, correspondendo à oitava causa de mortalidade por câncer no país³⁰.

É de conhecimento geral uma série de fatores de risco para o surgimento do CHC, principalmente a cirrose decorrente das hepatites virais crônicas, sendo a hepatite C causa principal em nosso meio³¹. Com o entendimento da história natural dessa doença, foram desenvolvidas várias modalidades de tratamento, seja através

do manejo da cirrose, do controle das hepatites virais e, também, de terapias não cirúrgicas para o CHC localizado³⁰. Entretanto, mesmo com o avanço e difusão de vários métodos terapêuticos, o tratamento cirúrgico continua sendo o único eficaz, seja através de ressecções hepáticas parciais ou do transplante hepático³².

1.5 O tratamento cirúrgico do carcinoma hepatocelular

1.5.1 Ressecções hepáticas

As hepatectomias parciais com intuito curativo estão indicadas nos pacientes com doença restrita ao fígado, e nos quais o tamanho e localização das lesões (em conjunto com uma função hepática remanescente adequada) possibilitem esse tratamento, idealmente em centros de experiência em cirurgia hepática avançada^{33, 34}. Os resultados são melhores em pacientes com CHC limitado ao fígado, sem evidências de invasão vascular, com função hepática preservada e sem sinais de hipertensão portal³⁵. Cabe ressaltar, contudo, que apenas 50% dos pacientes inicialmente tidos como ressecáveis e encaminhados para avaliação cirúrgica realmente são passíveis de ressecção, seja por comprometimento extra-hepático do tumor ou reserva hepática inadequada³⁶.

É importante lembrar que nem a localização do tumor no fígado, nem o seu tamanho ou quantidade de lesões impossibilitam de início a ressecção cirúrgica³⁶. Com o avanço dos exames de imagem, do cuidado intensivo pós-operatório e do refinamento técnico do cirurgião, houve um incremento no número de hepatectomias complexas em centros de referência, com resultados satisfatórios e morbimortalidade reduzida³⁷. Mesmo assim, a ressecção apenas é considerada o tratamento de eleição em pacientes com CHC sem doença hepática sobrejacente ou naqueles com cirrose e função hepática preservada, nos quais são alcançados os melhores resultados³².

Andreou e colaboradores³⁸, em 2013, publicaram estudo multicêntrico com o objetivo de avaliar a sobrevida em longo prazo de pacientes com CHC submetidos a hepatectomias maiores. De um total de 1115 pacientes submetidos à ressecção cirúrgica, 539 foram por hepatectomias maiores, com tamanho tumoral médio de 10 cm. A sobrevida em 5 anos aumentou com o passar dos anos (de 30% de 1981 a 1989 para 51% de 2000 a 2008), assim como foi reduzida a mortalidade operatória.

Na análise multivariada, os fatores relacionados ao pior prognóstico foram AFP > 1.000 ng/mL, tumor > 5 cm, presença de invasão vascular maior, doença extra-hepática e margens cirúrgicas comprometidas.

Apesar de a ressecção cirúrgica oferecer ao paciente a chance de cura, a recorrência tumoral é elevada, com uma taxa cumulativa em 5 anos variando de 40 a 70% nos diversos estudos³⁹. Silva e colaboradores⁴⁰, em 2008, em estudo realizado na Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, analisando pacientes cirróticos com carcinoma hepatocelular submetidos à ressecção cirúrgica, observaram uma sobrevida média de 33,5 meses, sendo 61,9% em 1 ano, 16,67% em 3 anos e 11,11% em 5 anos. Verificaram, ainda, 68,40% de recidiva tumoral, sendo a maioria constatada no primeiro ano após a cirurgia.

Nos últimos anos, desde o primeiro relato de ressecção hepática laparoscópica⁴¹ e seu posterior aprimoramento, tornou-se factível a realização de hepatectomias (mesmo maiores) por via minimamente invasiva para pacientes com CHC, com resultados oncológicos semelhantes à técnica convencional e vantagens relacionadas à menor perda sanguínea, menor tempo de clampeamento portal, redução de complicações pós-operatórias e diminuição de tempo de internação hospitalar pós-cirúrgico⁴².

1.5.2 O transplante hepático

O transplante hepático, para pacientes com CHC, emerge como terapêutica atrativa, já que possibilita a ressecção do tumor maligno conjuntamente à troca do fígado doente⁴³. De uma experiência inicial ruim em pacientes com CHC irressecáveis^{44, 45} (com mortalidade elevada, sobrevida baixa), chegou-se a uma melhoria nos resultados cirúrgicos em pacientes nos quais CHC pequenos, incidentais, eram encontrados no fígado explantado⁴⁶.

Coube a Mazzaferro e colaboradores⁴⁷, em 1996, estabelecerem critérios para o transplante ortotópico de fígado em pacientes com CHC e, a partir de então, difundirem essa modalidade de tratamento. Estes autores mostraram que quando o transplante era restrito a pacientes com CHC precoce (lesão única < 5 cm, ou até 3 lesões menores que 3 cm, sem invasão vascular evidente, comprometimento linfático ou metástases), seria possível alcançar sobrevida de 75% em 4 anos,

consagrando então os Critérios de Milão, até hoje amplamente utilizados como diretrizes para o transplante hepático em pacientes com CHC.

Estudos observacionais sugerem que os resultados em longo prazo do transplante hepático são, no mínimo, equivalentes (muitas vezes superiores) aos da ressecção cirúrgica em alguns grupos, principalmente no que se refere à sobrevida a longo prazo⁴⁸. Entretanto, o tratamento cirúrgico de pacientes com CHC e cirrose inicial compensada (Child-Pugh A) que se encontram dentro dos Critérios de Milão permanece controverso. Se por um lado é alta a taxa de recorrência após ressecção (maior que 50% em 5 anos), por outro há o risco de saída de lista de espera (*dropout*) em virtude da progressão da doença em pacientes que aguardam pelo transplante³².

Cabe ressaltar, contudo, que metanálise recente reportou que pacientes submetidos a transplante hepático de resgate (que recidivaram o CHC após a ressecção, mas dentro dos Critérios de Milão) apresentaram sobrevida comparável à dos pacientes submetidos a transplante hepático ortotópico primário⁴⁹. Em muitos centros nos EUA, a decisão pelo tratamento cirúrgico inicial (ressecção ou transplante hepático) têm sido difícil, requerendo amplas discussões com equipes multidisciplinares³².

1.6 Critérios prognósticos relacionados ao tratamento cirúrgico do CHC

A tentativa de obtenção de parâmetros relacionados ao prognóstico de pacientes com carcinoma hepatocelular submetidos a tratamento cirúrgico tem sido um objetivo constante. Entre os diversos critérios elencados na literatura, alguns merecem considerações especiais, em virtude de diversos trabalhos que mostraram a sua influência na predição de resultados⁴⁰.

O número de nódulos tumorais é sabidamente um fator de mau prognóstico após o tratamento cirúrgico, associado tanto a uma taxa elevada de recorrência da doença quanto a uma baixa sobrevida⁵⁰. Em trabalho conduzido por Chen e colaboradores³⁹ em 2004, a presença de múltiplas lesões iniciais, juntamente com um intervalo curto de recorrência da neoplasia, representaram parâmetros associados a resultados adversos.

Além desses, tumores iniciais maiores que 5 cm, o grau de diferenciação tumoral, níveis elevados de AFP e a presença de invasão vascular são outros fatores que emprestam um mau prognóstico aos doentes³⁹. Park e colaboradores⁵¹ também reportaram, em 2013, parâmetros semelhantes em estudo conduzido na Coreia, no qual níveis de AFP maiores que 400ng/mL, CHC > 5 cm, tumores múltiplos e invasão vascular foram relacionados a desfecho adverso. Em contrapartida, quanto a este último fator, Shindoh e colaboradores⁵² (em 2013) concluíram que, em pacientes com CHC pequenos (menores que 2 cm), a sobrevida em longo prazo não era afetada pela presença de invasão microvascular, diferentemente do que ocorria em pacientes com lesões maiores que 2 cm.

1.7 O carcinoma hepatocelular e o SNP T309G

É de conhecimento geral que, principalmente no que tange ao transplante hepático, ainda vivemos um momento de relativa escassez de doações de órgãos, fortalecendo a ideia de que os mesmos devam ser disponibilizados ainda, de forma prioritária, para aqueles pacientes que tenham a perspectiva de melhores resultados após a cirurgia.

Nos últimos anos, diversos estudos têm buscado avaliar a associação entre o SNP T309G e o carcinoma hepatocelular, com resultados diversos. Leu e colaboradores⁵³, em 2007, analisaram os genótipos MDM2-SNP309 de 58 pacientes com CHC e vírus da hepatite B e/ou C em Taiwan, em comparação com pacientes saudáveis. Encontraram proporção semelhante do genótipo homozigoto MDM2-SNP 309 (G/G) em casos e controles, além de não observarem diferença na prevalência do genótipo GG e TT em pacientes com CHC.

Em contrapartida, Dharel e colaboradores⁵⁴, entre 2001 e 2003, estudaram 435 pacientes consecutivos com hepatite C, sendo 187 com e 248 sem CHC. Obtiveram, ainda, amostras de DNA de 48 indivíduos saudáveis com o intuito de estimar a distribuição genética do SNP309 na população japonesa. A proporção do genótipo G/G do SNP309 em pacientes com CHC foi significativamente maior do que nos indivíduos sem essa neoplasia. Além disso, na análise multivariada, o genótipo G/G mostrou-se associado ao CHC de forma independente, quando comparado ao genótipo T/T.

Di Vuolo e colaboradores⁵⁵, em 2011, analisaram a distribuição genotípica de 61 pacientes com CHC e hepatites virais em comparação a 122 indivíduos saudáveis. A frequência dos genótipos MDM2-SNP309 G/G e T/G foi significativamente maior em pacientes com CHC. Além disso, quando o grupo de genótipo MDM2-SNP309 T/T foi utilizado como referência, os genótipos G/G e T/G foram associados a um risco maior de CHC.

O possível papel do polimorfismo MDM2-SNP 309 no desenvolvimento do CHC tem sido analisado em outros estudos. O alelo MDM2-SNP G tem sido associado a um risco aumentado de desenvolver CHC em pacientes coreanos com hepatite B crônica⁵⁶, em marroquinos com hepatites virais⁵⁷ e em pacientes turcos⁵⁸. Jin e colaboradores⁵⁹ (2011) realizaram uma metanálise desses estudos, incluindo um total de 738 casos e 1062 controles, para avaliar a confiança da associação do alelo MDM2-SNP309 G com o CHC. A *Odds ratio* (razão de chances) agrupada alcançou 1,57 (IC 95%; 1,36-1,80) para o alelo G quando comparado ao T, indicando que esse SNP pode ser utilizado com um marcador molecular preditivo para o rastreamento de populações de alto risco para o CHC.

A literatura é escassa no que diz respeito à associação do SNP309 com fatores prognósticos relacionados ao CHC após tratamento cirúrgico. Apenas um estudo conduzido por Yang e colaboradores em 2013⁶⁰ estudou essa possível associação, e mostrou que os pacientes que tinham o genótipo G/G do gene MDM2 apresentaram sobrevida livre de doença e global semelhante à dos demais genótipos.

2. JUSTIFICATIVA

Com os avanços na Biologia Molecular, está tornando-se possível o mapeamento genético humano e dos diversos tipos de neoplasias, descobrindo-se mutações que acarretam alterações na história natural das doenças e suas interações com os indivíduos acometidos, servindo como fatores prognósticos. Assim, podem-se conhecer variações que provocam aumento na agressividade tumoral, maior tendência à recidiva de doenças e, por fim, incremento na mortalidade, possibilitando o direcionamento de recursos e métodos terapêuticos para determinada pessoa com aquele padrão específico de enfermidade: uma medicina personalizada.

A adequada regulação dos níveis da proteína MDM2 têm se mostrado essencial para a supressão tumoral realizada pela p53, sendo que mesmo uma alteração pequena nos níveis da primeira pode interferir nas vias regulatórias da segunda e, dessa forma, aumentar o risco de aparecimento de neoplasias^{9, 10}. O SNP 309, dessa forma, pode representar um dos polimorfismos relacionados a esse risco elevado de surgimento de neoplasias, merecendo novos estudos em que visem elucidar o seu real envolvimento no processo de carcinogênese em seres humanos, particularmente do carcinoma hepatocelular.

Assim, em virtude da ausência de estudos nacionais sobre o tema e de resultados ainda conflitantes na literatura científica mundial, foi realizado o presente trabalho, com o intuito de contribuir para o entendimento de fatores genéticos que possam influenciar o desfecho de pacientes cirróticos com CHC submetidos a tratamento cirúrgico.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Analisar a relação da presença do polimorfismo T309G do gene MDM2 com a recidiva do carcinoma hepatocelular em pacientes cirróticos submetidos a tratamento cirúrgico.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a associação dos diversos genótipos do polimorfismo T309G do gene MDM2 (G/G, T/G e T/T) com:
 - Níveis de AFP prévios à cirurgia
 - O tamanho tumoral
 - Número de nódulos
 - Grau de diferenciação histológica
 - Presença de invasão microvascular

4. REFERÊNCIAS

1. Perera FP, Weinstein IB. Molecular epidemiology and carcinogen-DNA adduct detection: new approaches to studies of human cancer causation. *J Chron Dis* 1982;35:581-600.
2. Perera FP. Environment and cancer: who are susceptible? *Science* 1997;278:1068-1073.
3. Perera FP, Weinstein IB. Molecular epidemiology: recent advances and future directions. *Carcinogenesis* 2000;21(3):517-524.
4. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014;64:9-29.
5. Spitz MR, Bondy ML. The evolving discipline of molecular epidemiology of cancer. *Carcinogenesis* 2010;31(1):127-134.
6. Zaridze DG. Molecular epidemiology of cancer. *Biochemistry* 2008;73(5):532-542.
7. Hartman M, Loy EY, Ku CS, Chia KS. Molecular epidemiology and its current clinical use in cancer management. *Lancet Oncol* 2010;11:383-390.
8. Croce CM. Oncogenes and cancer. *N Engl J Med* 2008;358:502-511.
9. Nag S, Qin J, Srivenugopal KS, Wang M, Zhang R. The MDM2-p53 pathway revisited. *J Biomed Res* 2013;27(4):254-271.
10. Berwick M, Vineis P. Markers of DNA repair and susceptibility to cancer in humans: an epidemiologic review. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(11):874-897.
11. Bai L, Zhu WG. P53: Structure, function and therapeutic applications. *J Cancer Mol* 2006;2(4):141-153.
12. Vousden KH, Lu X. Live or let die: the cell's response to p53. *Nat Rev Cancer* 2002;2:594-604.
13. Levine AJ. P53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997;88:323-331.
14. Cahilly-Snyder L, Yang-Feng T, Francke U, George DL. Molecular analysis and chromosomal mapping of amplified genes isolated from a transformed mouse 3T3 cell line. *Somat Cell Mol Genet* 1987;13:235-244.
15. Kubbutat MH, Jones SN, Vousden KH. Regulation of p53 stability by MDM2. *Nature* 1997;387:299-303.

16. Oliner JD, Kinzler KW, Meltzer PS, George DL, Vogelstein B. Amplification of a gene encoding a p53-associated protein in human sarcomas. *Nature* 1992;358:80-83.
17. Bond GL, Hu W, Bond EE et al. A single nucleotide polymorphism in the MDM2 promoter attenuates the p53 tumor suppressor pathway and accelerates tumor formation in humans. *Cell* 2004;119:591-602.
18. Alhopuro P, Ylisaukko-Oja SK, Koskinen WJ et al. The MDM2 promoter polymorphism SNP309T-G and the risk of uterine leiomyosarcoma, colorectal cancer and squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Med Genet* 2005;42:694-698.
19. Araújo KL, Madeira KP, Daltoé RD, Rangel LBA, Silva IV. O papel dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) Pvu II e Xba I e das pequenas repetições em tandem (STRs) (TA)_n e (GT)_n do receptor de estrogênio alfa (ESR1) na suscetibilidade do câncer de mama (BRCA). *Rev Bras Cancerol* 2009;55(2):185-192.
20. Schork NJ, Fallin D, Lanchbury S. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clin Genet* 2000;58:250-264.
21. Kruglyak L. The use of a genetic map of biallelic markers in linkage studies. *Nat Genet* 1997;17: 21–24.
22. Marshall A, Hodgson J. DNA chips: an array of possibilities. *Nature Biotech* 1998;16: 27–31.
23. Tian X, Tian Y, Ma P et al. Association between MDM2 SNP309 T>G and risk of gastric cancer: a meta-analysis. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2013;14(3):1925-1929.
24. Peng Q, Mo C, Qin A et al. MDM2 SNP309 polymorphism contributes to endometrial cancer susceptibility: evidence from a meta-analysis. *J Exp Clin Cancer Res* 2013;32(85):1-9.
25. Hu Z, Jin G, Wang L, Chen F, Wang X, Shen H. MDM2 promoter polymorphism SNP309 contributes to tumor susceptibility: evidence from 21 case-control studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:2717-2723.
26. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *Ca Cancer J Clin* 2011;61:69-90.

27. Ferenci P, Fried M, Labrecque D et al. Hepatocellular carcinoma: a global perspective. WGO Global guideline 2009;1-14.
28. Davila JA, Morgan RO, Shaib Y et al. Hepatitis C infection and the increasing incidence of hepatocellular carcinoma: a population-based study. *Gastroenterology* 2004; 127:1372.
29. El-Serag HB, Davila JA, Petersen NJ, McGlynn KA. The continuing increase in the incidence of hepatocellular carcinoma in the United States: an update. *Ann Intern Med* 2003; 139:817.
30. Pimenta JR, Massabki PS. Carcinoma hepatocelular: um panorama clínico. *Rev Bras Clin Med* 2010;8:59-67.
31. Mattos AZ, Mattos AA, Sacco FKF, Hoppe L, Oliveira DMS. Analysis of the survival of cirrhotic patients enlisted for liver transplantation in the pre- and post-meld era in southern brazil. *Arq Gastroenterol* 2014;51(1):46-52.
32. Khan AS, Fowler KJ, Chapman WC. Current surgical treatment strategies for hepatocellular carcinoma in North America. *World J Gastroenterol* 2014;20(41):15007-15017.
33. Zhou XD, Tang ZY, Yang BH et al. Experience of 1000 patients who underwent hepatectomy for small hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2001; 91:1479-1486.
34. Fan ST, Lo CM, Liu CL et al. Hepatectomy for hepatocellular carcinoma: toward zero hospital deaths. *Ann Surg* 1999;229:322-330.
35. Roayaie S, Jibara G, Taouli B, Schwartz M. Resection of hepatocellular carcinoma with macroscopic vascular invasion. *Ann Surg Oncol* 2013;20(12):3754-3760.
36. Pawlik TM, Poon RT, Abdalla EK et al. Critical appraisal of the clinical and pathologic predictors of survival after resection of large hepatocellular carcinoma. *Arch Surg* 2005;140(5):450-457.
37. Poon RT, Fan ST, Lo CM et al. Improving survival results after resection of hepatocellular carcinoma: a prospective study of 377 patients over 10 years. *Ann Surg* 2001;234:63-70.
38. Andreou A, Vauthey JN, Cherqui D et al. Improved long-term survival after major resection for hepatocellular carcinoma: a multicenter analysis based on a new definition of major hepatectomy. *J Gastrointest Surg* 2013;17(1):66-77.

39. Chen WT, Chau GY, Lui WY et al. Recurrent hepatocellular carcinoma after hepatic resection: prognostic factors and long-term outcome. *Eur J Surg Oncol* 2004;30:414-420.
40. Silva M, Mattos AA, Fontes PRO, Waechter FL, Pereira-Lima L. Evaluation of hepatic resection for hepatocellular carcinoma on cirrhotic livers. *Arq Gastroenterol* 2008;45(2):99-105.
41. Gagner M, Rheault M, Dubuc J. Laparoscopic partial hepatectomy for liver tumor. *Surg Endosc* 1992;6:97-98.
42. Mirnezami R, Mirnezami AH, Chandrakumaran K et al. Short- and long-term outcomes after laparoscopic and open hepatic resection: systematic review and meta-analysis. *HPB (Oxford)* 2011;13:295-308.
43. Brandão A, Fuchs SC, Gleisner AL, Marroni C, Zanotelli ML, Cantisani G. MELD and other predictors of survival after liver transplantation. *Clin Transplant* 2009;23:220-227.
44. Penn I. Hepatic transplantation for primary and metastatic cancers of the liver. *Surgery* 1991;110:726.
45. Ringe B, Pichlmayr R, Wittekind C, Tusch G. Surgical treatment of hepatocellular carcinoma: experience with liver resection and transplantation in 198 patients. *World J Surg* 1991;15:270.
46. Iwatsuki S, Starzl TE, Sheahan DG et al. Hepatic resection versus transplantation for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 1991;214:221.
47. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996;334:693.
48. Otto G, Heuschen U, Hofmann WJ et al. Survival and recurrence after liver transplantation versus liver resection for hepatocellular carcinoma: a retrospective analysis. *Ann Surg* 1998; 227:424.
49. Zhu Y, Dong J, Wang WL, Li MX, Lu Y. Short and long-term outcomes after salvage liver transplantation versus primary liver transplantation for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Transplant Proc* 2013;45:3329-3342.
50. Tsai TJ, Chau GY, Lui WY et al. Clinical significance of microscopic tumour venous invasion in patients with resectable hepatocellular carcinoma. *Surgery* 2000;127:603-608.

51. Park SK, Jung YK, Chung DH et al. Factors influencing hepatocellular carcinoma prognosis after hepatectomy: a single-center experience. *Korean J Intern Med* 2013;28:428-438.
52. Shindoh J, Andreou A, Aloia TA et al. Microvascular invasion does not predict long-term survival in hepatocellular carcinoma up to 2 cm: reappraisal of the staging system for solitary tumors. *Ann Surg Oncol* 2013;20(4):1-14.
53. Leu J-D, Lin I-F, Sun Y-F, Chen S-M, Liu C-C, Lee Y-J. Association between MDM2-SNP309 and hepatocellular carcinoma in Taiwanese population. *World J Gastroenterol* 2009;15(44):5592-5597.
54. Dharel N, Kato N, Muroyama R et al. MDM2 promoter SNP309 is associated with the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Clin Cancer Res* 2006;12:4867-4871.
55. Di Vuolo V, Buonaguro L, Izzo F et al. TP53 and MDM2 gene polymorphisms and risk of hepatocellular carcinoma among Italian patients. *Infect Agent Cancer* 2011;6:13.
56. Yoon YJ, Chang HY, Ahn SH et al. MDM2 and p53 polymorphisms are associated with the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Carcinogenesis* 2008;29:1192-1196.
57. Ezzikouri S, El Feydi AE, Afifi R et al. MDM2 SNP309T > G polymorphism and risk of hepatocellular carcinoma: a case-control analysis in a Moroccan population. *Cancer Detect Prev* 2009;32:380-385.
58. Akkiz H, Sumbul AT, Bayram S, Bekar A, Akgollu E. MDM2 promoter polymorphism is associated with increased susceptibility to hepatocellular carcinoma in Turkish population. *Cancer Epidemiol* 2010;34:448-452.
59. Jin F, Xiong WJ, Jing JC, Feng Z, Qu LS, Shen XZ. Evaluation of the association studies of single nucleotide polymorphisms and hepatocellular carcinoma: a systematic review. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011;137(7):1095-1104.
60. Yang Y, Xia T, Li N et al. Combined effects of p53 and MDM2 polymorphisms on susceptibility and surgical prognosis in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Protein Cell* 2013;4(1):71-81.

5. ARTIGO

(revista HPB: *International Hepato-Pancreato-Biliary Association*)

Análise da influência do polimorfismo T309G do gene MDM2 no prognóstico de pacientes cirróticos com carcinoma hepatocelular submetidos a tratamento cirúrgico.

Uirá Fernandes Teixeira¹, Andréa Gomes Coelho Izaguirre¹, Thadeu Czerski², Ajácio Brandão³, Paulo Roberto Ott Fontes³

¹ Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil

² Departamento de Patologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

³ Professor do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil

Dados para correspondência:

Uirá Fernandes Teixeira

Rua Professor Cristiano Fischer, 818/802 – Petrópolis. Porto Alegre, RS

CEP: 91410-000

Telefone: (55 51) 8136-2050

E-mail: uiraft@yahoo.com.br

Conflitos de interesse:

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

RESUMO

Introdução. A descoberta e incorporação de painéis de biomarcadores aos estudos do câncer permitiram o conhecimento de variações genéticas e sua interferência no processo de carcinogênese. A possibilidade de associação do polimorfismo de nucleotídeo simples T309G do gene MDM2 com o aumento da formação de tumores, dentre eles o hepatocarcinoma, tem sido alvo de diversos estudos.

Objetivo. Analisar a influência do polimorfismo T309G do gene MDM2 na recidiva tumoral de pacientes cirróticos com hepatocarcinoma submetidos a tratamento cirúrgico.

Métodos. Foram analisados retrospectivamente pacientes cirróticos com carcinoma hepatocelular submetidos a tratamento cirúrgico (hepatectomia parcial ou transplante hepático) no período de 2000 a 2009, no Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Foram coletadas amostras de fragmentos tumorais da peça operatória (fígado explantado ou segmento hepático), as quais foram preparadas para estudo em bloco parafinado.

Resultados. A sobrevida global foi de 26,7 meses para o grupo hepatectomias (HPT) e 62,4 meses para o grupo transplante hepático (TxH) ($p < 0,01$), havendo um total de 66,7% de recidiva global no grupo HPT (10/15), e 17% no grupo TxH (8/47) ($X^2 = 13,602$, $p < 0,01$). Níveis de AFP > 200 ng/mL correlacionaram-se com a recidiva tumoral em ambos os subgrupos cirúrgicos. Observou-se que 83,3% dos pacientes com recidiva também apresentaram invasão microvascular ao exame anátomo-patológico ($p < 0,01$). Não houve significância estatística quando a recidiva neoplásica foi avaliada para os diferentes genótipos e analisada para cada subgrupo cirúrgico. A análise dos fatores prognósticos relacionados à recidiva do hepatocarcinoma, quando estratificada para cada padrão genotípico, também não mostrou-se significativa.

Conclusão. O nosso estudo revelou que o genótipo G/G não esteve associado a recidiva tumoral após o tratamento cirúrgico, seja nas hepatectomias parciais ou transplante hepático. Além disso, a presença desse genótipo não mostrou correlação com os fatores prognósticos estudados.

ABSTRACT

Introduction. The discovery and incorporation of biomarker panels to cancer studies allowed the knowledge of genetic variation and its interference in the process of carcinogenesis. The possible association of single nucleotide polymorphism MDM2-T309G with increased development of tumors, including hepatocellular carcinoma, has been the subject of several studies. **Objective.** Analyze the influence of T309G polymorphism of MDM2 gene in tumor recurrence in cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma who underwent surgical treatment. **Methods.** We retrospectively analyzed cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma treated by surgery (partial hepatectomy or liver transplantation) from 2000 to 2009, at Santa Casa Hospital in Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Tumor samples from surgical specimen were collected (explanted liver or hepatic segment), which have been prepared for study in paraffin blocks. **Results.** Overall survival was 26.7 months for the HPT group and 62.4 months for liver transplantation group ($p < 0.01$), with 66.7% overall recurrence in HPT group (10/15) and 17% in liver transplantation group (8/47) ($X^2 = 13.602$, $p < 0.01$). AFP levels > 200 ng / mL were correlated with tumor recurrence in both surgical subgroups. It was observed that 83.3% of patients with recurrence also had microvascular invasion in pathological examination ($p < 0.01$). There was no statistical significance when neoplastic recurrence was evaluated for different genotypes and analyzed for each surgical subgroup. Analysis of prognostic factors associated with recurrence of hepatocellular carcinoma, when stratified for each genotypic pattern, neither was statistically significant. **Conclusion.** Our study revealed that the G/G genotype was not associated with tumor recurrence after surgical treatment, in neither partial hepatectomy nor liver transplantation. In addition, the presence of this genotype showed no correlation with the studied prognostic factors.

INTRODUÇÃO

Com o aprimoramento da epidemiologia molecular (EM), o conceito de modulação dos fatores ambientais pelos fatores de suscetibilidade do indivíduo (principalmente os genéticos) tornou-se foco de diversas pesquisas¹. A descoberta e incorporação de painéis de biomarcadores aos estudos do câncer possibilitou o conhecimento de variações genéticas e sua interferência no processo de carcinogênese².

O reparo do DNA (ácido desoxirribonucleico) representa mecanismo crucial de defesa do organismo que visa garantir a integridade do genoma³. Neste contexto, a proteína p53 assume um papel primordial. Identificada, pela primeira vez, em 1979, assumiu posteriormente o posto de protetora do genoma celular, impedindo a proliferação celular inapropriada e direcionando células para apoptose⁴. Sabe-se que na regulação da p53 participam uma série de outras proteínas, sendo a MDM2 (double murine minute 2) uma das mais importantes. Atua como um regulador negativo, promovendo a sua degradação e reduzindo sua atividade celular^{5,6}.

Desde a publicação inicial em 2004⁷, diversos estudos vêm tentando evidenciar a associação do polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP) T309G do gene MDM2 (no qual há uma troca de uma timina por uma guanina na posição 309 do gene explicitado) com a atenuação dos níveis da p53 e o possível aumento na formação de tumores. Essa interação MDM2-p53, na qual a hiperfunção da primeira em decorrência do SNP309 acarretaria redução da atividade da segunda, tem sido alvo de estudos no comportamento de diversos tipos de neoplasias⁸⁻¹⁰.

Para o carcinoma hepatocelular, câncer responsável por taxa anual de incidência e mortalidade expressivas em todo o mundo¹¹, essa associação ainda é incerta. É de conhecimento geral uma série de fatores de risco para o seu surgimento, de modalidades terapêuticas e de critérios prognósticos para essa neoplasia, dentre eles os relacionados ao tratamento cirúrgico, método que ainda desponta como único que traz a possibilidade de cura¹²⁻¹⁴. A possível interferência de alterações genéticas do indivíduo acometido com o desfecho após o tratamento cirúrgico padrão desse tumor ainda não é bem conhecida, nem a sua associação com fatores que sabidamente emprestam um prognóstico pior aos pacientes que os possuem.

Dessa forma, em virtude da ausência de estudos nacionais sobre o tema, foi realizado o presente trabalho, com o intuito de analisar a influência do polimorfismo T309G do gene MDM2 na recidiva tumoral de pacientes cirróticos com hepatocarcinoma submetidos a tratamento cirúrgico. Além disso, relatar a associação dos diversos genótipos com fatores prognósticos conhecidos, como número de nódulos, níveis de alfafetoproteína, tamanho tumoral, grau histológico e invasão microvascular. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética da instituição sob o parecer 350.488 de 17.07.2013.

MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de estudo observacional, retrospectivo, no qual foram selecionados pacientes cirróticos com carcinoma hepatocelular submetidos a tratamento cirúrgico (hepatectomia parcial ou transplante hepático) no período de 2000 a 2009, no Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Foram coletadas amostras de fragmentos tumorais da peça operatória (fígado explantado ou segmento hepático), as quais foram preparadas para estudo em bloco parafinado. Todos os pacientes tiveram a confirmação histológica da cirrose e da neoplasia em questão através do estudo anátomo-patológico.

De um número inicial de 124 amostras, 8 foram descartadas por material insuficiente e 24 por excesso de necrose. Das 92 restantes, em 11 delas não se obteve sucesso na extração do DNA e em 14 não foi possível a amplificação para genotipagem. Por fim, das 67 amostras remanescentes, foi possível o estudo de apenas 62 pacientes, pois 3 deles foram excluídos do trabalho por apresentarem dados incompletos no prontuário e outros 2 em virtude do óbito haver sido atribuído ao procedimento cirúrgico em si.

As amostras parafinadas foram cortadas em fragmentos de 4µm com a utilização de micrótomo e navalhas próprias. Após preparação, o DNA foi extraído pelo Kit de Extração Bioneer (*Bionner Corporation, EE.UU.*), conforme a indicação do fabricante, sendo a integridade e a quantidade de DNA por amostra analisadas no aparelho *NanoDrop (NanoDrop Technologies, Wilmington, EUA)*. O DNA de cada amostra foi extraído, quantificado e armazenado a -20°C.

A identificação molecular do polimorfismo T309G no gene MDM2 foi realizada pela técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase) por meio do ensaio *TaqMan* em termociclador *Step One Plus* (*Applied Biosystems, Foster City, CA*), sendo utilizado um par de *primers* a fim de identificar a sequência de DNA que continha o polimorfismo, (*Foward* 5'CGGGAGTTCAGGGTAAAGGT 3' e *Reverse*:5'ACAGGCACCTGCGATCATC 3'). Foram empregadas duas sondas, uma para identificar o alelo com o polimorfismo e a outra para o alelo sem o polimorfismo (VIC-5'-CTCCCGCGCCGAAG-3' e a sonda FAM-5'-TCCCGCGCCGCAG-3' (*primers* e sondas da *Applied Biosystems, Foster City, CA*).

Os dados referentes aos pacientes foram coletados em prontuário médico da instituição. Os níveis de alfafetoproteína (AFP) correspondem à última medida antes do tratamento cirúrgico, sendo estratificada por grupos em decorrência de grande variabilidade de valores. A presença de hepatite viral foi confirmada por sorologia específica. O número de nódulos, o tamanho do maior nódulo, a presença de invasão vascular e o grau histológico foi avaliado pelo estudo anátomo-patológico, sendo este último classificado em bem diferenciado (1), moderadamente diferenciado (2) e pouco diferenciado (3). A recidiva tumoral foi considerada por critérios padronizados de imagem (tomografia computadorizada trifásica ou ressonância nuclear magnética) ou biópsia hepática nos quais o exame complementar não foi definitivo.

A análise estatística foi realizada pelo programa PSPP versão 0.8.4 através do teste qui-quadrado de homogeneidade e independência, considerando um nível de significância de 5%.

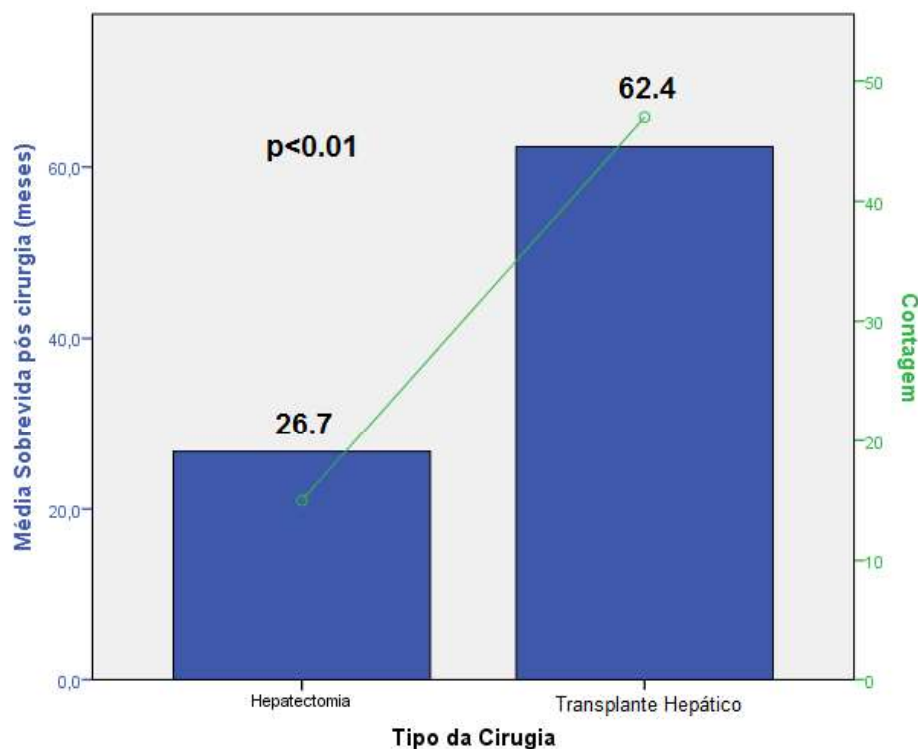
RESULTADOS

As características da amostra estão evidenciadas na tabela 1. De um total de 62 pacientes, 52 (83.9%) eram do sexo masculino e 10 (16.1%) do sexo feminino. A média de idade foi de aproximadamente 65 anos, variando de 50 a 84 anos, e o vírus da hepatite C foi verificado na maioria dos pacientes (87.1%). A classificação por níveis de AFP mostrou que a maior parte dos pacientes (67.7%) possuía valores menores ou iguais a 50 ng/mL. A maior parte dos pacientes (64.5%) apresentou apenas 1 nódulo ao estudo anátomo-patológico, sendo que em 40 deles (64.5%) o

tamanho do maior nódulo era de até 3 cm. Na avaliação global do polimorfismo e distribuição dos genótipos, verificou-se que 22 pacientes eram do genótipo G/G, 17 do T/G e 23 do T/T.

Todos os pacientes foram seguidos por ao menos 5 anos. A sobrevida global foi de 26.7 meses para o grupo HPT e 62.4 meses para o grupo TxH ($p<0.01$) (figura 2). O índice global de recidiva foi de 29% (18 pacientes), dos quais 10 pacientes eram do grupo hepatectomias e 8 do grupo transplantes. Dessa forma, houve um total de 66.7% de recidiva global no grupo HPT (10/15), e 17% no grupo TxH (8/47) ($X^2 = 13,602$, $p<0.01$) (figura 3).

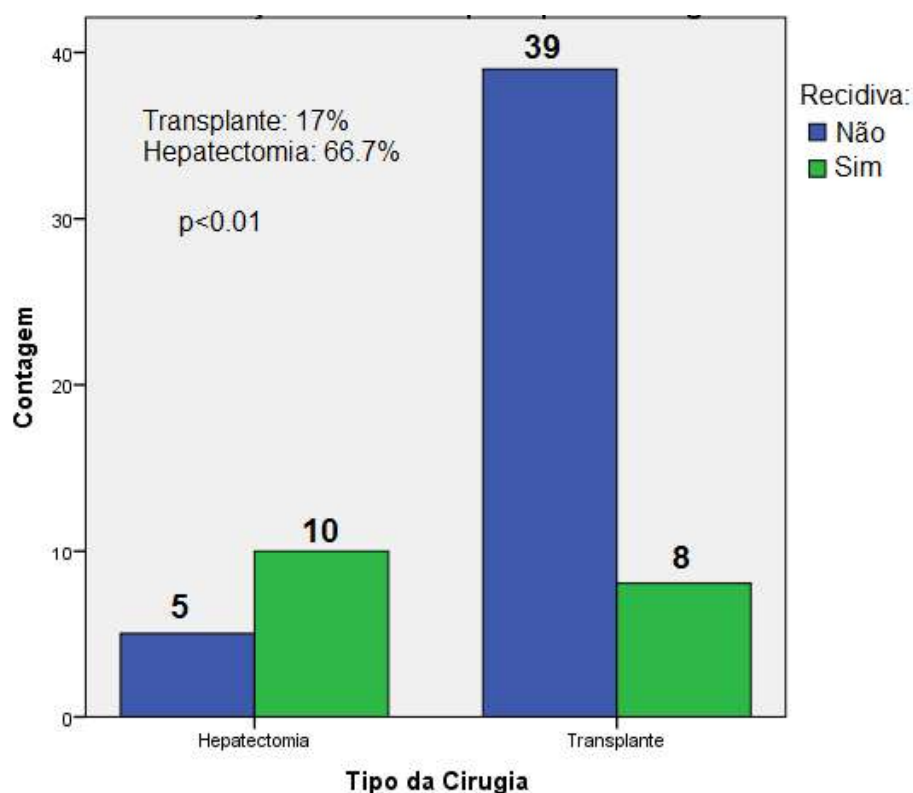
Figura 2. Média de sobrevida após o tratamento cirúrgico, estratificada pelo tipo de cirurgia.



Ao se comparar o índice de recidivas com os níveis pré-operatórios de AFP em subgrupos cirúrgicos, observou-se que dos 8 pacientes com recidiva no subgrupo TxH, 50% apresentaram AFP > 200ng/mL, 37.5% apresentaram níveis <50ng/mL e 12.5% valores entre 50.1 e 200ng/mL ($p=0.042$). No grupo HPT, dos 10 pacientes com recidiva, 70% possuíam níveis de AFP>200ng/mL, 20% níveis entre 50.1 e 200ng/mL e 10% AFP<50ng/mL ($p<0.024$). Em relação à presença de

invasão microvascular, observou-se que 83.3% dos pacientes com recidiva exibiam essa característica ao exame anátomo-patológico ($p<0.01$). Estratificados pela cirurgia, nota-se que 66.7% dos pacientes do grupo HPT apresentaram invasão microvascular e destes 80% recidivaram a doença ($p>0.05$). No grupo TxH, 25.5% apresentaram invasão microvascular e destes, 58.3% apresentaram recidiva ($p<0.01$).

Figura 3. Recidiva neoplásica estratificada pelo tipo de cirurgia.



Dos 18 pacientes com recidiva tumoral, 10 (55.6%) apresentavam lesões pouco diferenciadas, 6 (33.3%) lesões moderadamente diferenciadas e 2 (11.1%) lesões bem diferenciadas, também com significância estatística ($P=0.034$).

Na análise de subgrupos pelos genótipos, observou-se que 50% dos pacientes que recidivaram no grupo HPT eram G/G, seguidos por 30% T/T e 20% T/G. Não houve diferença estatística ($p=0.221$). Em relação ao grupo TxH, 50% das recidivas eram portadoras do genótipo G/G, seguidos por 37.5% T/G e 12.5 T/T ($p>0.05$).

A análise dos fatores prognósticos relacionados ao carcinoma hepatocelular evidenciou que dos 22 pacientes que apresentaram invasão microvascular, 45.5% eram do genótipo G/G, 31.8% T/G e 22.7% T/T. No grupo com níveis de AFP > 200, 60% eram T/G, 50% G/G e 40% T/T ($p>0.05$). Dos 16 tumores pouco diferenciados da amostra, 43.8% eram do genótipo G/G, 37.4% T/T e 18.8% T/G. Não houve significância estatística ($p>0.05$). Quando analisamos os indivíduos com apenas 1 nódulo, a distribuição por genótipos foi de 42.5% para T/T, 27.5% T/G e 30% G/G. E por fim, nos pacientes com nódulos de até 3 cm, a proporção de cada genótipo foi de 37.5% G/G, 35% T/G e 25.5% T/T. Não houve associação significativa ($p>0.05$). (Tabela 2)

DISCUSSÃO

A tentativa de obtenção de parâmetros relacionados ao prognóstico de pacientes com carcinoma hepatocelular submetidos a tratamento cirúrgico têm sido um objetivo constante. É fundamental o conhecimento não apenas da presença de alterações genéticas que possam contribuir diretamente para o seu desfecho, mas também elucidar a interferência (se presente) dessa identidade genotípica do indivíduo em fatores sabidamente relacionados a resultados desfavoráveis.

Em nossa casuística, o tipo de cirurgia (hepatectomia) foi fator importante relacionado à recidiva da neoplasia, comparativamente ao transplante hepático. Apesar da ressecção cirúrgica oferecer ao paciente a chance de cura, a recorrência tumoral é elevada, com uma taxa cumulativa em 5 anos variando de 40 a 70% nos diversos estudos¹⁵. Silva e colaboradores¹⁶, em 2008, em estudo realizado na Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, analisando pacientes cirróticos com carcinoma hepatocelular submetidos a ressecção cirúrgica, observaram uma sobrevida média de 33.5 meses, sendo 61.9% em 1 ano, 16.67% em 3 anos e 11.11% em 5 anos. Verificaram, ainda, 68.40% de recidiva tumoral, sendo a maioria constatada no primeiro ano após a cirurgia. Em nosso estudo, a sobrevida média nesse grupo foi de 26.7 meses, com recidiva neoplásica de 66.7%.

Outros fatores relacionados à recidiva tumoral em nossa série foram níveis pré-operatórios de AFP > 200ng/mL, lesões pouco diferenciadas e com invasão microvascular. Esses resultados estão de acordo com a literatura, que revela que

Tabela 1. Características da amostra e resultados do estudo anátomo-patológico para cada paciente.

Variável	N = 62
Idade (anos)	65±
Sexo, nº (%)	
Masculino	52 (83.9)
Feminino	10 (16.1)
AFP, ng/mL (%)	
≤ 50.0 ng/ml	42 (67.7)
50.1 a 200.0 ng/ml	5 (8.1)
> 200.0 ng/mL	15 (24.2)
Vírus da hepatite, nº (%)	
VHC	54 (87.1)
VHB	2 (3.2)
VHC + VHB	1 (1.6)
Número de nódulos (%)	
1	40 (64.5)
2	14 (22.6)
3	5 (8.1)
≥ 4	3 (4.8)
Tamanho do maior nódulo	
até 3cm	40 (64.5)
3,1 a 5 cm	18 (29.0)
> 5cm	4 (6.5)
Tipo de cirurgia, nº (%)	
Hepatectomia parcial	15 (24.2)
Transplante hepático	47 (75.8)
Grau histológico, nº (%)	
Bem diferenciado (1)	10 (16.1)
Moderadamente diferenciado (2)	36 (58.1)
Pouco diferenciado (3)	16 (25.8)
Invasão microvascular, nº (%)	
Sim	22 (35.5)
Não	40 (64.5)
Genótipo, nº (%)	
G/G	22 (35.5)
T/G	17 (27.4)
T/T	23 (37.1)

Tabela 2. Distribuição dos fatores prognósticos para cada genótipo.

FATORES PROGNÓSTICOS	GENÓTIPO			P VALOR
	TT	TG	GG	
AFP, ng/mL				
≤ 50,0	18	9	15	p > 0.05
50,1 a 200,0	1	2	2	
> 200,0	4	6	5	
INVASÃO VASCULAR				
SIM	5	7	10	p > 0.05
NÃO	18	10	12	
DIFERENCIAÇÃO TUMORAL				
BEM	4	2	4	p > 0.05
MODERADO	13	12	11	
POUCO	3	6	7	
NÚMERO DE NÓDULOS				
1	17	11	12	p > 0.05
2	2	5	7	
3	3	0	2	
≥ 4	1	1	1	
TAMANHO MAIOR NÓDULO				
Até 3,0cm	11	14	15	p > 0.05
3,1 a 5,0cm	10	3	5	
≥ 5,0cm	2	0	2	

tumores iniciais maiores que 5 cm, menos diferenciados, com níveis elevados de AFP e com presença de invasão vascular emprestam um mau prognóstico aos doentes¹⁵. Park e colaboradores¹⁷ também reportaram parâmetros semelhantes em estudo conduzido na Coréia, no qual níveis de AFP maiores que 400ng/mL, CHC > 5cm, tumores múltiplos e invasão vascular foram relacionados a desfecho adverso. Em contrapartida, quanto a este último fator, Shindoh e colaboradores¹⁸ concluíram que, em pacientes com CHC pequenos (menores que 2 cm), a sobrevida a longo prazo não era afetada pela presença de invasão microvascular, diferentemente do que ocorria em pacientes com lesões maiores que 2 cm.

A divergência, em nosso trabalho, coube ao número de nódulos e ao tamanho da maior lesão, que não estiveram associados à recidiva tumoral, diferentemente do que revelam esses estudos. Uma possibilidade para tal ocorrência seria a pequena amostra estudada em nosso trabalho, já que o número de nódulos tumorais é notoriamente um fator de mau prognóstico após o tratamento cirúrgico, associado tanto à uma taxa elevada de recorrência da doença quanto a uma baixa sobrevida¹⁹.

Além disso, a grande maioria dos pacientes em nossa série possuía apenas um nódulo menor que 3 cm, o que dificultou a comparação entre grupos. Em trabalho conduzido por Chen e colaboradores¹⁵ em 2004, a presença de múltiplas lesões iniciais, juntamente com um intervalo curto de recorrência da neoplasia, representaram parâmetros associados a resultados adversos.

Em relação à presença do polimorfismo T309G, a literatura traz resultados conflitantes. Nos últimos anos, diversos estudos têm buscado avaliar associação entre o SNP T309G e o carcinoma hepatocelular, com resultados diversos. Leu e colaboradores²⁰, em 2007, analisaram os genótipos MDM2-SNP309 de 58 pacientes com CHC e vírus da hepatite B e/ou C em Taiwan, em comparação com controles sadios. Encontraram proporção semelhante do genótipo homozigoto MDM2-SNP 309 (G/G) em casos e controles, além de não observarem diferença na prevalência do genótipo G/G e T/T em pacientes com CHC.

Em contrapartida, Dharel e colaboradores²¹, entre 2001 e 2003, estudaram 435 pacientes consecutivos com hepatite C, sendo 187 com e 248 sem CHC. Obtiveram, ainda, amostras de DNA de 48 indivíduos sadios com o intuito de estimar a distribuição genética do SNP309 na população japonesa. A proporção do genótipo G/G do SNP309 em pacientes com CHC foi significativamente maior do que nos indivíduos sem essa neoplasia. Além disso, na análise multivariada, o genótipo G/G mostrou-se associado ao CHC de forma independente, quando comparado ao genótipo T/T.

Di Vuolo e colaboradores²², em 2011, analisaram a distribuição genotípica de 61 pacientes com CHC e hepatites virais em comparação a 122 controles sadios. A frequência dos genótipos MDM2-SNP309 G/G e T/G foi significativamente maior em pacientes com CHC. Além disso, quando o grupo de genótipo MDM2-SNP309 T/T foi utilizado como referência, os genótipos G/G e T/G foram associados a um risco maior de CHC.

O possível papel do polimorfismo MDM2-SNP 309 no desenvolvimento do CHC tem sido analisado em outros estudos. O alelo MDM2-SNP G têm sido associado a um risco aumentado de desenvolver CHC em pacientes coreanos com hepatite B crônica²³, em marroquinos com hepatites virais²⁴ e em pacientes turcos²⁵. Jin e colaboradores²⁶ (2011) realizaram uma metanálise desses estudos, incluindo um total de 738 casos e 1062 controles, para avaliar a confiança da associação do alelo MDM2-SNP309 G com o CHC. A *Odds ratio* (razão de probabilidades)

agrupada alcançou 1.57 (IC 95%; 1.36-1.80) para o alelo G quando comparado ao T, indicando que esse SNP pode ser utilizado com um marcador molecular preditivo para o rastreamento de populações de alto risco para o CHC.

A literatura é escassa no que diz respeito à associação do SNP309 com fatores prognósticos relacionados ao CHC após tratamento cirúrgico. Apenas um estudo conduzido por Yang e colaboradores em 2013²⁷ estudou essa possível associação, e mostrou que os pacientes que tinham o genótipo G/G do gene MDM2 apresentaram sobrevida livre de doença e global semelhante à dos demais genótipos.

Em nosso estudo, 50% dos pacientes que recidivaram a doença em cada um dos grupos era portador do genótipo G/G. Entretanto, essa diferença, apesar de epidemiologicamente expressiva, não foi estatisticamente significativa, possivelmente devido à pequena amostra avaliada. Em relação aos fatores prognósticos estudados, os pacientes com invasão microvascular e com tumores pouco diferenciados possuíam o genótipo G/G em sua maioria (45.5% e 43.8%, respectivamente), resultado que pode expressar uma tendência para esses grupos, embora de forma não significativa. Além disso, analisando ainda o fator invasão microvascular, observamos que o genótipo normal T/T estava presente na maior parcela de pacientes (45%) sem essa característica, o que reforça uma vez mais uma possível influência da mutação genética estudada para ocorrência desse fator. Para as outras características avaliadas, a distribuição genotípica mostrou-se heterogênea, não seguindo tendência em relação ao tipo do genótipo.

Se analisássemos o estado de portador, utilizando o genótipo TT como controle e agrupando os pacientes TG e GG em uma mesma categoria, observaríamos a ocorrência de algumas características estudadas em uma parcela amplamente maior de pacientes (portadores do alelo G). Já está em andamento um novo trabalho que visa analisar a significância estatística desta informação genética.

Vale ressaltar que o fato de tratar-se de estudo retrospectivo possibilita a ocorrência de erros inerentes a esse tipo de desenho. Entretanto, como as variáveis estudadas representavam medidas laboratoriais e resultados de patologia, a coleta dos dados foi facilitada. O tamanho pequeno da amostra e o fato de trabalharmos com pacientes de um único centro foram outros fatores limitantes do estudo e, ainda, pela ausência de grupo controle formado por indivíduos sadios, não conhecemos a prevalência do SNP T309G nessa população.

REFERÊNCIAS

1. Perera FP, Weinstein IB. Molecular epidemiology: recent advances and future directions. *Carcinogenesis* 2000;21(3):517-524.
2. Spitz MR, Bondy ML. The evolving discipline of molecular epidemiology of cancer. *Carcinogenesis* 2010;31(1):127-134.
3. Zaridze DG. Molecular epidemiology of cancer. *Biochemistry* 2008;73(5):532-542.
4. Bai L, Zhu WG. P53: Structure, function and therapeutic applications. *J Cancer Mol* 2006;2(4):141-153.
5. Cahilly-Snyder L, Yang-Feng T, Francke U, George DL. Molecular analysis and chromosomal mapping of amplified genes isolated from a transformed mouse 3T3 cell line. *Somat Cell Mol Genet* 1987;13:235-244.
6. Kubbutat MH, Jones SN, Vousden KH. Regulation of p53 stability by MDM2. *Nature* 1997;387:299-303.
7. Bond GL, Hu W, Bond EE et al. A single nucleotide polymorphism in the MDM2 promoter attenuates the p53 tumor suppressor pathway and accelerates tumor formation in humans. *Cell* 2004;119:591-602.
8. Alhopuro P, Ylisaukko-Oja SK, Koskinen WJ et al. The MDM2 promoter polymorphism SNP309T-G and the risk of uterine leiomyosarcoma, colorectal cancer and squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Med Genet* 2005;42:694-698.
9. Peng Q, Mo C, Qin A et al. MDM2 SNP309 polymorphism contributes to endometrial cancer susceptibility: evidence from a meta-analysis. *J Exp Clin Cancer Res* 2013;32(85):1-9.
10. Hu Z, Jin G, Wang L, Chen F, Wang X, Shen H. MDM2 promoter polymorphism SNP309 contributes to tumor susceptibility: evidence from 21 case-control studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:2717-2723.
11. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *Ca Cancer J Clin* 2011;61:69-90.
12. Khan AS, Fowler KJ, Chapman WC. Current surgical treatment strategies for hepatocellular carcinoma in North America. *World J Gastroenterol* 2014;20(41):15007-15017.

13. Fan ST, Lo CM, Liu CL et al. Hepatectomy for hepatocellular carcinoma: toward zero hospital deaths. *Ann Surg* 1999;229:322-330.
14. Pawlik TM, Poon RT, Abdalla EK et al. Critical appraisal of the clinical and pathologic predictors of survival after resection of large hepatocellular carcinoma. *Arch Surg* 2005;140(5):450-457.
15. Chen WT, Chau GY, Lui WY et al. Recurrent hepatocellular carcinoma after hepatic resection: prognostic factors and long-term outcome. *Eur J Surg Oncol* 2004;30:414-420.
16. Silva M, Mattos AA, Fontes PRO, Waechter FL, Pereira-Lima L. Evaluation of hepatic resection for hepatocellular carcinoma on cirrhotic livers. *Arq Gastroenterol* 2008;45(2):99-105.
17. Park SK, Jung YK, Chung DH et al. Factors influencing hepatocellular carcinoma prognosis after hepatectomy: a single-center experience. *Korean J Intern Med* 2013;28:428-438.
18. Shindoh J, Andreou A, Aloia TA et al. Microvascular invasion does not predict long-term survival in hepatocellular carcinoma up to 2 cm: reappraisal of the staging system for solitary tumors. *Ann Surg Oncol* 2013;20(4):1-14.
19. Tsai TJ, Chau GY, Lui WY et al. Clinical significance of microscopic tumour venous invasion in patients with resectable hepatocellular carcinoma. *Surgery* 2000;127:603-608.
20. Leu J-D, Lin I-F, Sun Y-F, Chen S-M, Liu C-C, Lee Y-J. Association between MDM2-SNP309 and hepatocellular carcinoma in Taiwanese population. *World J Gastroenterol* 2009;15(44):5592-5597.
21. Dharel N, Kato N, Muroyama R et al. MDM2 promoter SNP309 is associated with the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Clin Cancer Res* 2006;12:4867-4871.
22. Di Vuolo V, Buonaguro L, Izzo F et al. TP53 and MDM2 gene polymorphisms and risk of hepatocellular carcinoma among Italian patients. *Infect Agent Cancer* 2011;6:13.
23. Yoon YJ, Chang HY, Ahn SH et al. MDM2 and p53 polymorphisms are associated with the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Carcinogenesis* 2008;29:1192-1196.

24. Ezzikouri S, El Feydi AE, Afifi R et al. MDM2 SNP309T > G polymorphism and risk of hepatocellular carcinoma: a case-control analysis in a Moroccan population. *Cancer Detect Prev* 2009;32:380-385.
25. Akkiz H, Sumbul AT, Bayram S, Bekar A, Akgollu E. MDM2 promoter polymorphism is associated with increased susceptibility to hepatocellular carcinoma in Turkish population. *Cancer Epidemiol* 2010;34:448-452.
26. Jin F, Xiong WJ, Jing JC, Feng Z, Qu LS, Shen XZ. Evaluation of the association studies of single nucleotide polymorphisms and hepatocellular carcinoma: a systematic review. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011;137(7):1095-1104.
27. Yang Y, Xia T, Li N et al. Combined effects of p53 and MDM2 polymorphisms on susceptibility and surgical prognosis in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Protein Cell* 2013;4(1):71-81.

7. CONCLUSÃO

Com os avanços na Biologia Molecular, está tornando-se possível o mapeamento genético humano e dos diversos tipos de neoplasias, descobrindo-se mutações que acarretam alterações na história natural das doenças e suas interações com os indivíduos acometidos, servindo como fatores prognósticos. Assim, pode-se conhecer variações que provocam aumento na agressividade tumoral, maior tendência à recidiva de doenças e, por fim, incremento na mortalidade, possibilitando o direcionamento de recursos e métodos terapêuticos para determinada pessoa com aquele padrão específico de enfermidade: uma medicina personalizada.

O SNP T309G, dessa forma, pode representar um dos polimorfismos relacionados a esse risco elevado de surgimento de neoplasias e de seus fatores prognósticos. A literatura traz resultados conflitantes, merecendo novos estudos que visem elucidar o seu real envolvimento no processo de carcinogênese em seres humanos, particularmente do carcinoma hepatocelular e de seu tratamento cirúrgico.