



PUCRS

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA

**A INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO SUPERÓXIDO DISMUTASE
DEPENDENTE DE MANGANÊS 2 NA MORBI-MORTALIDADE PÓS-
OPERATÓRIA DE PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS
ONCOLÓGICAS**

CHRISTINA DUARTE PIANTÁ

Porto Alegre, dezembro de 2005

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

Av. Ipiranga, 6681 - Caixa Postal 1429

Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1564

www.pucrs.br

CEP 90619-900 Porto Alegre - RS

Brasil

**A INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO SUPERÓXIDO DISMUTASE
DEPENDENTE DE MANGANÊS 2 NA MORBI-MORTALIDADE
PÓS-OPERATÓRIA DE PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS
ONCOLÓGICAS**

CHRISTINA DUARTE PIANTÁ

Porto Alegre

2005

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
TESE DE DOUTORADO

**A INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO SUPERÓXIDO DISMUTASE
DEPENDENTE DE MANGANÊS 2 NA MORBI-MORTALIDADE
PÓS-OPERATÓRIA DE PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS
ONCOLÓGICAS**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Doutora em Medicina, área de concentração em Clínica Cirúrgica.

DOUTORANDA: CHRISTINA DUARTE PIANTÁ

ORIENTADORES: Prof. Dr. Gustavo Franco Carvalhal
Prof^a Dr^a. Denise Cantarelli Machado
Prof. Dr. Jarcedy Machado Alves

P581i Piantá, Christina Duarte

A influência do polimorfismo da SOD 2 na morbi-mortalidade pós-operatória de pacientes submetidos a cirurgias oncológicas / Christina Duarte Piantá; orient. Gustavo Franco Carvalhal; co-orient. Denise Cantarelli Machado e Jarcedy Machado Alves. Porto Alegre: PUCRS, 2005.

82f.: il. gráf. tab.

Tese (Doutorado) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de Concentração: Clínica Cirúrgica.

1. SUPERÓXIDO DISMUTASE. 2. POLIMORFISMO(GENÉTICA). 3. CAVIDADE ABDOMINAL/cirurgia. 4. PERÍODO PÓS-OPERATÓRIO. 5. NEOPLASIAS/cirurgia. 6. CUIDADOS PÓS-OPERATÓRIOS/mortalidade. 7. ANTIOXIDANTES. 8. COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS/epidemiologia. 9. ESTUDOS PROSPECTIVOS. I. Carvalhal, Gustavo Franco. II. Machado, Denise Cantarelli. III. Alves, Jarcedy Machado. IV. Título.

C.D.D. 617.01
C.D.U. 616-089.168:591.151(043.2)
N.L.M. QZ 268

CHRISTINA DUARTE PIANTÁ

**A INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO SUPERÓXIDO DISMUTASE
DEPENDENTE DE MANGANÊS 2 NA MORBI-MORTALIDADE
PÓS-OPERATÓRIA DE PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS
ONCOLÓGICAS**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Doutora em Medicina, área de concentração em Clínica Cirúrgica.

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Luiz Rohde

Prof. Dr. Bernardo Garicochea

Prof. Dr. Jefferson Luis Braga da Silva

Dr. Hamilton Petry de Souza

Porto Alegre
2005

Dedico este trabalho a todos que estão a minha volta e que de uma maneira ou de outra me ajudaram a construir cada página.

A mortalidade pelo câncer alarma a sociedade moderna! O numero de óbitos, por ele, cresce ininterruptamente! Tem-se a impressão de que é o maior flagelo da humanidade atual, o destino obrigatório da humanidade do futuro.

O câncer constitui hoje um problema que apaixona a opinião publica. Repetem-se os casos, numa mesma evolução, quase monótona, parecendo que a moléstia desafia a ciência, mostrando apenas a sua força destruidora no destino implacável, mas similar das suas vítimas.

O câncer já é responsável, entre nós, por 1/8 da mortalidade dos adultos!

O mundo assiste, atônito, o desenrolar da imensa tragédia, sentindo-se sem garantias, dada a ignorância das suas causas primeiras. E o homem lança suas súplicas àquela mãe, que não se cansa de velar por ele, que já lhe deu tantas e tantas garantias em situações semelhantes, que já o protegeu contra inimigos encarniçados: A CIÊNCIA.

No cadinho dos laboratórios cozinha-se a droga que salvará o mundo. Junto ao leito dos já condenados assiste o clínico, mais uma vez, as fases dolorosas da mesma tragédia, pesquisando sempre, indagando, procurando um sinal revelador, que será o ovo de Colombo, salvador das novas gerações. E a CIÊNCIA, analisando, na mesa de autópsia, as alterações produzidas pela moléstia, perscrutando com o auxílio de lentes maravilhosas a estrutura íntima dos tecidos, ainda não deu a ultima palavra sobre a questão.

Porém, se não conhecemos o autor de tanta calamidade, não devemos cruzar os braços, deixando-o agir a seu bel-prazer, mas, antes, fortificar-nos, evitando, na medida do possível, as suas investidas mortíferas.

Uma das formas de defesa contra o câncer é seguramente o conhecimento, por parte dos médicos, e mesmo dos leigos, dos seus primeiros sinais, para que possa ser tratado em tempo, pois, como veremos, na sua fase inicial o câncer é uma moléstia local.

Além disso, é preciso que o povo se convença de que o câncer é uma moléstia curável, desde que seja atacado nos primórdios do seu desenvolvimento.

Esses dois elementos, diagnóstico precoce e curabilidade, não só aos médicos e estudantes de medicina, como também, aos outros profissionais e aos indivíduos cultos em geral, pois, nele, além das idéias gerais básicos sobre a

moléstia, será encontrada documentação fotográfica e radiográfica das localizações mais comuns do câncer, assim como gráficos representativos da sua frequência.

Se conseguirmos com isto obter o tratamento precoce de alguns casos de câncer, por poucos que sejam, já teremos obtido uma grande vitória.

Extraído de "O Câncer", de Antônio Prudente (1939).

Cirurgia

*a fria lâmina
a cruel incisão indolor
o vermelho rutilante
a previsível caixa de pandora,
imprevisível*

*concentrados,
todos os sentidos em alerta.
olhos como olhos
mãos como mãos e olhos*

*intestino labirinto
os recessos e os desvãos
a oculta maquinária
em silenciosa e infatigável,
diligência*

*tocar o que foi feito
para não ser tocado
tangir o intangível
macular o imaculado*

*vê-se tudo
vê-se nada
o interior
é sempre mais dentro....*

Alem Chedid

AGRADECIMENTOS

A minha família, especial.

Ao meu amigo e mestre Jarcedy Machado Alves, que me ensina, ao longo de mais de uma década de trabalho, não só o dever cirúrgico, mas também o dever com o ser humano.

Ao Gustavo Carvalhal e a Denise Cantarelli Machado, meus amigos, mestres que percorreram comigo esta trajetória, muito obrigado, sem vocês...impossível.

A todos do Instituto de Pesquisas Biomédicas da PUCRS, em especial do Laboratório de Pneumologia, ao Christian Viezzer, Fernanda Cruz e Juliana Fernandes Ribeiro.

Ao Dr. Mário Bernardes Wagner pela ajuda inestimável na concretização da análise estatística deste trabalho.

À Sra. Sônia Mantovani , ao Maurício Gomes (Pós-Graduação em Medicina da PUCRS), à Tânia dos Santos (SAME do HSL-PUCRS), ao Leandro Rocha (Patologia) e em especial a Giquitibá Moraes de Melo (Serviço de Apoio em Imagem Digital), e a todos os que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigado!

Christina Duarte Piantá

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	XIII
LISTA DE FIGURAS	XIV
RESUMO.....	XV
ABSTRACT	XVII
1 INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO.....	2
1.1 O CÂNCER.....	4
1.2 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO, DANO OXIDATIVO E ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE DEPENDENTE DE MANGANÊS- (MNSOD OU SOD 2).....	8
1.3 GENÉTICA E EVOLUÇÃO DAS POPULAÇÕES.....	16
1.4 POLIMORFISMO GENÉTICO.....	18
1.5 CIRURGIA COMO TRATAMENTO DO CÂNCER	20
1.5.1 ANESTESIA – CLASSIFICAÇÃO DA AMERICAN SOCIETY OF ANESTHESIOLOGISTS (ASA)	23
2 OBJETIVO.....	26
3 PACIENTES E MÉTODOS.....	28
3.1 DELINEAMENTO.....	28
3.2 POPULAÇÃO INVESTIGADA.....	28
3.3 LOGÍSTICA DO ESTUDO.....	28
3.3.1 ANÁLISE LABORATORIAL.....	28
3.3.1.1 EXTRAÇÃO DE DNA.....	28
3.3.1.2 DETERMINAÇÃO DO GENÓTIPO DA SOD 2 POR POLIMORFISMO DO TAMANHO DOS FRAGMENTOS DE RESTRIÇÃO - RFLP.....	29
3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	30
3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	31
3.6 VARIÁVEIS ANALISADAS.....	31
3.6.1 Pré-operatórias:.....	31

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS.....	32
3.8 ÉTICA.....	32
4 RESULTADOS.....	34
4.1 PERFIL CIRÚRGICO DO PACIENTE.....	34
4.2 CO-MORBIDADES.....	35
4.3 ASA – CLASSIFICAÇÃO DA AMERICAN SOCIETY OF ANESTHESIOLOGISTS.....	36
4.4 COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS.....	37
4.5 TOPOGRAFIA DA(S) LESÃO(ÕES).....	38
4.6 TIPO HISTOLÓGICO.....	41
4.7 LINFONODOS COMPROMETIDOS.....	41
4.8 MORTE E CAUSAS DE MORTE.....	42
4.9 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DOS POLIMORFISMOS DA SOD 2 DOS PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS ONCOLÓGICAS..	43
4.10 ANÁLISE DO EQUILÍBRIO GÊNICO DOS POLIMORFISMOS DO GENE DA SOD 2 NA POPULAÇÃO ESTUDADA.....	44
4.11 ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DO GENE DA SOD 2 E OS ASPECTOS PRÉ-OPERATÓRIOS.....	45
4.11.1 POLIMORFISMO DA SOD 2 E IDADE.....	45
4.11.2 POLIMORFISMO DA SOD 2 E GÊNERO.....	45
4.11.3 POLIMORFISMO DA SOD 2 E ASA.....	45
4.11.4 POLIMORFISMO DA SOD 2 E CO-MORBIDADES.....	46
4.12 ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA SOD 2 E OS ASPECTOS PÓS-OPERATÓRIOS.....	46
4.12.1 POLIMORFISMO DA SOD 2 E COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS.....	46
4.12.2 POLIMORFISMO DA SOD 2 E TOPOGRAFIA DA(S) LESÃO(ÕES).....	47
4.12.3 POLIMORFISMO DA SOD 2 E TIPO HISTOLÓGICO.....	47
4.12.4 POLIMORFISMO DA SOD 2 E COMPROMETIMENTO DE LINFONODOS.....	47
4.13 POLIMORFISMO DA SOD 2 E MORTE ATÉ 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO.....	48
4.14 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO A DA SOD 2 E OS ASPECTOS PRÉ-OPERATÓRIOS.....	50
4.15 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO A DA SOD 2 E OS ASPECTOS PÓS-OPERATÓRIOS.....	50
4.15.1 COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS.....	50
4.15.2 TOPOGRAFIA DA(S) LESÃO(ÕES).....	50
4.15.3 TIPO HISTOLÓGICO.....	51
4.15.4 COMPROMETIMENTO DE LINFONODOS.....	51

4.16 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO A DA SOD 2 E MORTE ATÉ 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO	51
4.17 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO B DA SOD 2 E OS ASPECTOS PRÉ-OPERATÓRIOS.....	53
4.18 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO B DA SOD 2 E OS ASPECTOS PÓS-OPERATÓRIOS.....	53
4.18.1 COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS.....	53
4.18.2 TOPOGRAFIA DA(S) LESÃO(ÕES)	54
4.18.3 TIPO HISTOLÓGICO	54
4.18.4 COMPROMETIMENTO DE LINFONODOS.....	54
4.19 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO B DA SOD 2 E MORTE ATÉ 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO	54
5 DISCUSSÃO	57
5.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE O EQUILÍBRIO POPULACIONAL DA AMOSTRA.....	58
5.2 COMENTÁRIOS SOBRE OS PRINCIPAIS ACHADOS DESCRITOS NO ESTUDO.....	59
5.2.1 QUANTO À IDADE.....	59
5.2.2 QUANTO AO GÊNERO	59
5.2.3 QUANTO ÀS CO-MORBIDADES.....	60
5.2.4 QUANTO ÀS COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS	61
5.2.5 QUANTO À TOPOGRAFIA DA(S) LESÃO(ÕES)	62
5.2.6 QUANTO AO TIPO HISTOLÓGICO	64
5.2.7 QUANTO AO COMPROMETIMENTO LINFONODAL.....	64
5.2.8 QUANTO À MORTE ATÉ 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO E CAUSA DE MORTE	65
5.3 CONSIDERAÇÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES PRÁTICAS DOS RESULTADOS.....	67
6 CONCLUSÕES	71
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXOS	

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 TIPOS DE CIRURGIAS ONCOLÓGICAS REALIZADAS SEGUNDO A LOCALIZAÇÃO ANATÔMICA.....	40
TABELA 2 TIPOS HISTOLÓGICOS DOS TUMORES DE PACIENTES COM CÂNCER SUBMETIDOS A CIRURGIAS ONCOLÓGICAS.....	41
TABELA 3 CAUSAS DE MORTE ATÉ 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO DOS PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS ONCOLÓGICAS.....	42
TABELA 4 DISTRIBUIÇÃO DOS POLIMORFISMOS DO GENE DA SOD 2 NA POPULAÇÃO ESTUDADA E O ESPERADO SEGUNDO O PRINCÍPIO DE HARDY-WEINBERG.....	45
TABELA 5 ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DO GENE DA SOD 2 E OS ASPECTOS PRÉ-OPERATÓRIOS, OS ASPECTOS PÓS-OPERATÓRIOS, A MORTALIDADE OPERATÓRIA E AS CAUSAS DE MORTE EM ATÉ 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO.....	49
TABELA 6 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO A DO GENE DA SOD 2 E OS ASPECTOS PRÉ-OPERATÓRIOS, OS ASPECTOS PÓS-OPERATÓRIOS, A MORTALIDADE OPERATÓRIA E AS CAUSAS DE MORTE EM ATÉ 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO.....	52
TABELA 7 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO B DO GENE DA SOD 2 E OS ASPECTOS PRÉ-OPERATÓRIOS, OS ASPECTOS PÓS-OPERATÓRIOS, A MORTALIDADE OPERATÓRIA E AS CAUSAS DE MORTE EM ATÉ 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO.....	55

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 EVOLUÇÃO DA EXPECTATIVA DE VIDA NO BRASIL E PROJEÇÃO PARA OS PRÓXIMOS VINTE ANOS ADAPTADA DE CHAIMOWICZ ⁽¹⁾	3
FIGURA 2 PROCESSO DE DESENVOLVIMENTO ONTOGENÉTICO (SUSCETIBILIDADE AO CÂNCER).....	5
FIGURA 3 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS ROTAS PELAS QUAIS AS ROS LEVAM À CARCINOGENESE.....	13
FIGURA 4 PADRÃO DE RFLP PARA A SOD 2.....	30
FIGURA 5 DISTRIBUIÇÃO POR FAIXA ETÁRIA DE TODOS OS PACIENTES INVESTIGADOS.	34
FIGURA 6 DISTRIBUIÇÃO POR GÊNERO DOS PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS ONCOLÓGICAS.....	35
FIGURA 7 FREQUÊNCIAS DAS CO-MORBIDADES DOS PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS ONCOLÓGICAS.....	36
FIGURA 8 CLASSIFICAÇÃO PELA <i>AMERICAN SOCIETY OF ANESTHESIOLOGISTS</i> (ASA), DOS PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS ONCOLÓGICAS.....	36
FIGURA 9 COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS DOS PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS ONCOLÓGICAS.....	38
FIGURA 10 FREQUÊNCIAS DA TOPOGRAFIA DA(S) LESÃO(ÕES) DOS PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS ONCOLÓGICAS.....	39
FIGURA 11 FREQUÊNCIAS DO COMPROMETIMENTO LINFONODAL DOS PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS ABDOMINAIS POR CÂNCER.....	42
FIGURA 12 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS DOS POLIMORFISMOS NOS GENE DA SOD 2 DOS PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS ONCOLÓGICAS.....	43
FIGURA 13 FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS DOS POLIMORFISMOS DO GENE DA SOD 2 DOS PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS ONCOLÓGICAS.....	44

RESUMO

O câncer é uma das principais causas de morbi-mortalidade nos dias de hoje no Brasil e no mundo, e seu tratamento inicial é cirúrgico em grande parte das situações. A superóxido dismutase dependente de manganês (SOD 2) é a principal enzima antioxidante intracelular, participando ativamente na defesa da célula contra reações oxidativas, potenciais causadoras do processo de carcinogênese. A expressão reduzida da SOD 2 é verificada em diversas neoplasias, sendo correlacionada com prognóstico adverso em alguns tumores. O presente estudo objetivou correlacionar o polimorfismo do gene da SOD 2 e a morbi-mortalidade pós-operatória nos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas em um hospital universitário, bem como caracterizar as frequências das complicações pós-operatórias destes pacientes.

Foi realizado um estudo prospectivo, observacional, com 88 pacientes adultos submetidos a cirurgias oncológicas. A média das idades dos pacientes foi de $61 \pm 7,4$ anos; 59% dos pacientes eram do gênero masculino. Dos operados, 76% apresentavam alguma co-morbidade no pré-operatório, dentre as quais a hipertensão arterial sistêmica foi a mais comum (47,7%). A maioria das cirurgias foi realizada no trato gastrintestinal (85,2%), na maior parte dos casos abordando estômago e cólon. O adenocarcinoma do trato gastrintestinal foi o tipo histológico mais frequentemente encontrado (80,7%). Comprometimento linfonodal pela neoplasia foi verificado em 30,7% dos pacientes. Complicações pós-operatórias ocorreram em 57% dos pacientes, sendo que as mais frequentes foram sépsis (27,3%) e broncopneumonia (11,4%). A mortalidade operatória (até 30 dias) foi de 21,6%; a principal causa de óbito foi sépsis (63,2%). As frequências alélicas dos polimorfismos da SOD 2 foram: 54% para o alelo A e 45% para o alelo B. As frequências genotípicas observadas foram: 34,1% com genótipo AA, 25% com

genótipo BB, e 40,9% com genótipo AB. Não foi observada correlação estatística entre variáveis pré-operatórias e o polimorfismo do gene da SOD 2. Apenas uma das variáveis pós-operatórias avaliadas (infecção do trato urinário, a qual ocorreu somente entre os pacientes com genótipo AA) demonstrou associação com o polimorfismo do gene da SOD 2 ($P = 0,002$). Ao analisarmos a associação entre a presença do alelo A (genótipos AA e AB) da SOD 2 e os aspectos pré-operatórios observamos uma associação entre a mesma e a presença de diabetes mérito ($P = 0,04$). Não houve associação entre a presença do alelo A (genótipos AA e AB) e variáveis pós-operatórias. Ao avaliarmos a associação entre a presença do alelo B (genótipos AB e BB) da SOD 2 e variáveis pré-operatórias, observamos uma correlação positiva entre a mesma e doenças cardiovasculares ($P = 0,01$). Ao avaliarmos a associação entre a presença do alelo B (genótipos AB e BB) da SOD 2 e variáveis pós-operatórias, verificamos a associação entre a mesma e a ocorrência de infecção do trato urinário ($P = 0,001$) e acidente vascular cerebral ($P = 0,04$). Apresentou significância limítrofe a associação entre a presença do alelo B (genótipos AB e BB) da SOD 2 e a ocorrência de fístula êntero-cutânea ($P = 0,1$).

O presente estudo permite concluir que o polimorfismo do gene da SOD 2 não parece influenciar de maneira significativa a ocorrência de morbi-mortalidade pós-operatória em pacientes submetidos a cirurgias oncológicas.

Unitermos: superóxido dismutase, polimorfismo genético, complicações, mortalidade, cirurgia oncológica, câncer.

ABSTRACT

Cancer is one of the leading causes of morbidity and mortality in Brazil and worldwide, and surgery is very often its primary treatment. Manganese-dependent superoxide dismutase (SOD 2) is one of the main intracellular antioxidant enzymes, participating directly in the protection of the cell against oxidative reactions, which are thought to be pivotal in carcinogenesis. Diminished expression of SOD 2 is found in a number of different neoplasms, and in some of them is correlated to an adverse prognosis. The present study was designed to correlate SOD 2 genetic polymorphism with postoperative morbidity and mortality in patients submitted to oncologic surgery at a university hospital, and to characterize the postoperative complications observed.

We performed a prospective, observational study of 88 adult patients submitted to oncologic surgeries. Mean \pm SD age was 61 ± 7.4 years; 59% of patients were male. Some co-morbidity was present in 76% of patients in the preoperative evaluation, of which the most common was arterial hypertension (47.7%). Most surgeries were performed in the gastrointestinal tract (85.2%), in most cases approaching the stomach or colon. Adenocarcinoma of the gastrointestinal tract was the most commonly found histological tumor type (80.7%). In 30.7 of patients, there was lymph node involvement. Postoperative complications occurred in 57% of patients, with sepsis (27.3%) and bronchopneumonia (11.4%) being the most frequent. Operative mortality (up to 30 postoperative days) was of 21.6%; the main cause of death was sepsis (63.2%). Allelic frequencies of SOD 2 genetic polymorphisms were: allele A 54% and allele B 45%. Genotypic frequencies observed were: genotype AA 34.1%, genotype BB 25%, and genotype AB 40.9%. There was no statistically significant association between preoperative variables and SOD 2 genetic polymorphism. The only postoperative variable associated to SOD 2 genetic polymorphism was urinary tract infection, which occurred exclusively in AA

genotype patients ($P = 0.002$). When we evaluated the association between the presence of the A allele (genotypes AA and AB) of SOD 2 and preoperative variables, there was a positive correlation with diabetes mellitus ($P = 0.04$). There was no association between the presence of the A allele (genotypes AA and AB) and postoperative variables. When we evaluated the association of the presence of the B allele (genotypes AB and BB) of SOD 2 and preoperative variables, there was a positive correlation with cardiovascular disease ($P = 0.01$). When we evaluated the association of the presence of the B allele (genotypes AB and BB) of SOD 2 and postoperative variables, there was a positive correlation with urinary tract infections ($P = 0.001$) and stroke ($P = 0.04$). There was a borderline association between the presence of the B allele (genotypes AB and BB) of SOD 2 enterocutaneous fistula ($P = 0.1$).

The present study implies that SOD 2 gene polymorphism does not seem to significantly influence postoperative morbidity and mortality in patients submitted to oncologic surgery.

Key words: superoxide dismutase, genetic polymorphism, complications, oncologic surgery, cancer.

Introdução e Referencial Teórico

1 INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO

Nas últimas décadas, ocorreram importantes mudanças na morbi-mortalidade verificada na população brasileira. No início do século passado, o Brasil apresentava características demográfico-sanitárias encontradas em países tipicamente subdesenvolvidos, tendo como maior causa de mortalidade as doenças infecto-parasitárias⁽¹⁾. A partir de 1940, com o controle dessas doenças, associado a outras mudanças demográficas, ocorreu um aumento na expectativa de vida (Figura 1), resultando em um envelhecimento populacional que tornou evidente um novo grupo de enfermidades, as doenças não-transmissíveis (crônico-degenerativas). Estas passaram a representar a principal causa de morte da população até os dias de hoje⁽¹⁾.



Figura 1 Evolução da expectativa de vida no Brasil e projeção para os próximos vinte anos adaptada de Chaimowicz⁽¹⁾.

Dentre as doenças que representam atualmente a maior causa de morbimortalidade no Brasil e no mundo, encontram-se em primeiro lugar as de causa cardiovascular e em segundo lugar o câncer. Nos países desenvolvidos, com o melhor controle das doenças cardiovasculares, o câncer aparece como a primeira causa de morte na faixa etária entre 25 e 64 anos⁽²⁾. No Brasil, o estado do Rio Grande do Sul destaca-se dos demais estados por apresentar um perfil epidemiológico e demográfico-sanitário similar ao dos países industrializados. Tendo em vista estes fatos, o Rio Grande do Sul necessita com urgência de desenvolvimento e estabelecimento de estratégias que auxiliem na prevenção de processos crônico-degenerativos, em grupos etários relativamente jovens (40-60 anos) e em idosos (acima de 60 anos), buscando diminuir e controlar a morbidade populacional nas próximas décadas⁽¹⁾.

1.1 O CÂNCER

O câncer é um dos maiores problemas de saúde enfrentados pela população mundial⁽³⁾. É a segunda causa de morte nos Estados Unidos e no Brasil. Mais de 60% de todos os cânceres ocorrem em indivíduos com idade igual ou superior a 65 anos de idade. Deste modo, sem dúvida, o risco de um paciente desenvolver câncer é certamente maior quanto maior for sua faixa etária⁽³⁻⁶⁾.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) afirma que mais de 10 milhões de pessoas tornam-se portadoras de câncer a cada ano. É estimado que 15 milhões de novos casos surgirão a cada ano até 2020. O câncer causa 6 milhões de mortes por ano, ou 12% das mortes em todo o mundo⁽⁷⁾.

Câncer é uma palavra derivada do grego "*karkinos*", pois Hipócrates de Cós, dissecando neoplasias de mama em cadáveres humanos, observou que o tumor se propagava em ramificações que sugeriam os braços de um caranguejo⁽²⁾. O câncer não é uma doença única. É um conjunto de mais de 200 doenças diferentes, caracterizadas por crescimento descontrolado e disseminação de células anormais (malignas), que invadem tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástases) para outras regiões do organismo.

Sabe-se que diversos fatores têm influencia no surgimento e desenvolvimento do câncer. Esses podem ser enquadrados dentro de dois grandes contextos, o ambiental (exógeno) e o genético (endógeno), durante todo o processo de desenvolvimento ontogenético (Figura 2), os quais incidem diretamente em todas as rotas e processos bioquímicos e moleculares.

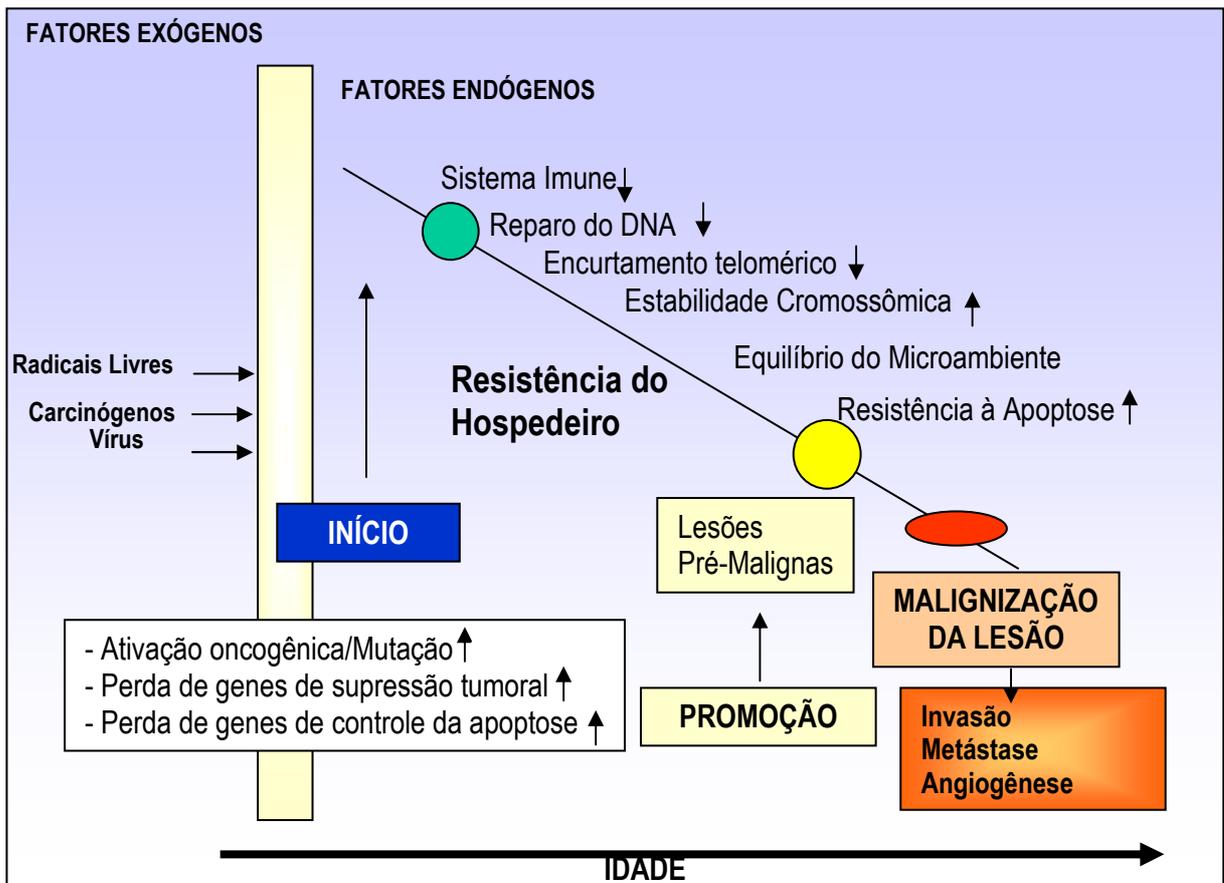


Figura 2 Processo de desenvolvimento ontogenético (susceptibilidade ao câncer). Modelo incorporando os vários fatores que podem aumentar a incidência do câncer com a idade. Modificada de Cohen⁽³⁾ e Laitano⁽⁸⁾.

Vários fatores tendem a influenciar ou predispor, isoladamente ou em conjunto, o surgimento de neoplasias. Dentre estes podemos destacar⁽⁴⁾:

- Exposição prolongada a carcinógenos;
- Células com maior susceptibilidade para a carcinogênese;
- Redução na capacidade de reparo do DNA;
- Ativação ou amplificação de oncogenes;
- Atividade reduzida dos genes supressores tumorais;
- Encurtamento dos telômeros e instabilidade genética;
- Alterações no micro-ambiente celular;
- Diminuição da imunidade.

Estes fatores são determinantes no desenvolvimento de um processo neoplásico que, de uma maneira geral, segue três estágios distintos: a iniciação, a promoção e a progressão⁽⁹⁾.

No primeiro estágio, de iniciação, carcinógenos químicos, físicos ou biológicos, como certos vírus, causam alterações nas células predispondo-as a uma posterior malignização devido a mutações irreversíveis no DNA. As pré-leucemias ou os carcinomas *in situ*, podem servir como exemplos deste estágio neoplásico⁽⁹⁾.

No próximo estágio, a promoção, ocorre um aumento na fase de proliferação celular. Agentes indutores da divisão celular (mitógenos), denominados promotores, estimulam a divisão da célula alterada. Investigações associadas ao fenômeno da divisão celular acentuada mostraram que o mesmo está relacionado com a ativação de um certo número de fatores de crescimento e fatores ativadores de transcrição, os quais estimulam a proliferação celular e que podem se originar de mudanças (mutações) nos oncogenes ou nos genes supressores tumorais. Parece que a promoção deve ser repetitiva, apesar de que a simples iniciação de uma lesão pode ser suficiente para sua transformação maligna. Pode-se afirmar também que ela é um processo dose-dependente e reversível⁽⁹⁾.

O estágio final, de progressão, parece ser um período multifásico, que envolve a transformação de uma célula de um estágio pré-maligno a um estágio maligno. Há a possibilidade do desenvolvimento de clones de um subconjunto de células malignas e um provável potencial de geração de metástases. O conceito da heterogeneidade das células tumorais explica as diferenças potenciais destas células durante suas fases proliferativas e metastáticas. Nem todas as células de um determinado tumor são iguais, isto explica o comportamento biológico variável das neoplasias. Outros fatores também são importantes para as células tumorais durante

a fase de progressão. Dentre estes, pode-se citar a sua capacidade de lesão dos elementos do estroma e a capacidade de promover a angiogênese⁽⁹⁾.

Há evidências de que a presença de estresse oxidativo, decorrente do excesso de radicais livres, pode ser um fato predominante na gênese das neoplasias malignas. A enzima superóxido dismutase dependente de manganês (SOD 2), protege a célula contra lesões por superóxidos⁽¹⁰⁾ e têm-se sugerido que alterações na sua expressão estejam associadas a processos de malignização. A carcinogênese do câncer colorretal, por exemplo, está associada ao excesso de radicais livres. Também está associada ao aumento da expressão do gene da SOD 2, sendo que seus índices foram fatores independentes de prognóstico na sobrevida global dos pacientes. Tais achados foram igualmente significativos para os carcinomas esofágicos e gástricos. O aumento na produção de radicais livres a partir de reações oxidativas (RO) faz com que as células malignas tornem-se mais vulneráveis à inibição da SOD 2 do que as células normais⁽¹¹⁾.

É cada vez maior o número de pesquisas que buscam elucidar como ocorre a interação entre os diferentes fatores predisponentes do processo neoplásico, com vistas a desenvolver tratamentos mais específicos, que possam evitar a ocorrência das neoplasias, ou mesmo retardar sua progressão.

Houve grandes progressos na descoberta de genes associados a neoplasias malignas. Supõe-se que as 20 doenças mais comuns, que matam cerca de 80% da população, estejam associadas à aproximadamente 200 genes, dentre as dezenas de milhares de genes que compõem o corpo humano. A iniciativa privada tem se dedicado mais intensamente ao estudo desses genes específicos e as indústrias farmacêuticas, especialmente, disputam esse conhecimento, que deverá levar a um

grande aperfeiçoamento da medicina nesse século XXI^(12,13). Alguns genes cujas mutações estão reconhecidamente associadas ao câncer são:

- **p53** – mutado na maioria dos tipos de câncer;
- **Ki-ras** – carcinomas de pulmão e cólon;
- **Ha-ras** - carcinomas de pele, bexiga e mama;
- **N-ras** - neuroblastoma, leucemias;
- **N-myc** – neuroblastoma;
- **abl** – leucemia mielóide crônica.

Em 1990, pela primeira vez a terapia gênica foi usada para curar uma criança cujo sistema imunológico era prejudicado pela falta de uma enzima. A partir daí, surgiu uma onda de euforia sobre o potencial de cura através da alteração do DNA, corrigindo genes defeituosos. Ainda existem hoje, no entanto, barreiras técnicas que têm impedido a concretização das grandes expectativas criadas a respeito da terapia gênica. O reconhecimento dos processos moleculares associados à gênese das neoplasias pode resultar em progressos terapêuticos sensíveis no futuro próximo.

1.2 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO, DANO OXIDATIVO E ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE DEPENDENTE DE MANGANÊS- (MnSOD OU SOD 2)

Há aproximadamente 50 anos, quase não se ouvia falar sobre radicais livres e anti-oxidantes na prática clínica e nas ciências biológicas, mas já se sabia muito a respeito por conta do estudo da radiação ionizante, dos polímeros e da tecnologia da combustão. Em 1956, um grupo de químicos relatou que altos níveis de oxigênio produziam efeitos tóxicos sobre organismos aeróbios, efeitos esses semelhantes aos da radiação ionizante. Uma das descobertas realizadas por esses estudos foi a de que o metabolismo do oxigênio humano resulta na formação de substâncias

tóxicas às células, as chamadas espécies reativas de oxigênio (ROS), ou simplesmente radicais livres⁽¹⁴⁾, o que resulta em um paradoxo, pois, ao mesmo tempo em que o oxigênio é vital ao organismo, pode ser danoso ao mesmo.

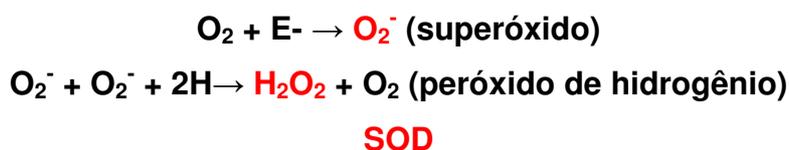
Conceitualmente, uma ROS ou radical livre é um átomo, ou molécula, que possui um elétron desemparelhado em sua órbita mais externa da eletrosfera. A presença de tal elétron torna este átomo ou molécula extremamente instável e reagente em uma tentativa de parear e, assim, de atingir a estabilidade⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Tal fato faz com que este reaja com outras moléculas e átomos, em óxido-redução, oxidando e gerando um processo em cascata, resultando em novas ROS. Porém, já que tais substâncias tóxicas derivam do metabolismo normal do oxigênio, o organismo humano possui meios de neutralizar tais metabólitos nocivos através de enzimas endógenas com ação anti-oxidante⁽¹⁷⁾.

No estado fisiológico, a quase totalidade do oxigênio é metabolizado na mitocôndria em trifosfato de adenosina (ATP), principal fonte de energia química dos processos vitais e água, através de uma reação de redução tetravalente, na qual os grandes doadores de hidrogênio e elétrons são NADH, FADH e Coenzima Q, como representado esquematicamente abaixo⁽¹⁸⁾.

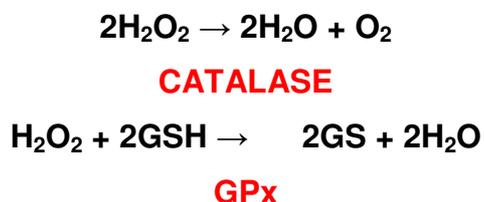


Entretanto, uma parcela menor (2 a 5%) deste oxigênio sofre, em condições metabólicas normais, uma reação de redução univalente, formando a primeira forma de ROS, a qual é denominada de superóxido (O_2^-). A mesma é inativada pela enzima anti-oxidante superóxido dismutase (SOD) e transformada em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que, do ponto de vista conceitual, não é um radical livre por não

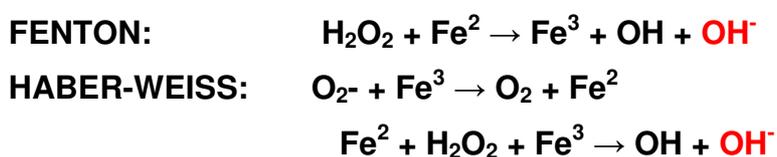
possuir um elétron desemparelhado na última órbita da eletrosfera. Porém o H_2O_2 , por ser extremamente instável, é fonte de deletérias formas de ROS, como o radical hidroxila, sendo considerado um radical livre ^(15,16,18).



O peróxido de hidrogênio é inativado por duas rotas distintas: pelas enzimas anti-oxidantes catalase e pelas glutathiona peroxidase (GPx). Na primeira rota, via catalase, o resultado dessa inativação é oxigênio e água, enquanto que na inativação via glutathiona peroxidase o resultado é água e glutathiona oxidada, conforme pode ser visto abaixo ^(15,16,18,19).



Porém, uma parcela do peróxido de hidrogênio não é inativado e, através das reações enzimáticas de Fenton e Haber-Weiss, combina-se com ferro livre circulante, formando o que talvez seja a forma mais nociva das ROS, para a qual não possuímos enzima anti-oxidante específica, denominada radical hidroxila (OH^\cdot), segundo as reações que seguem:



Como a superóxido dismutase (SOD) é a primeira enzima em nossa linha anti-oxidante, pode-se observar que alterações em suas funções transformam sobremaneira todo nosso sistema de defesa contra as ROS, já que a ação das demais enzimas anti-oxidantes fica prejudicada, pois estas agem a partir de substratos das reações da SOD, como exposto anteriormente.

A teoria do dano oxidativo, por radicais livres derivados do oxigênio, teve em Harman D., da Universidade de Nebraska, seu principal proponente, embora a base dessa idéia tenha sido introduzida inicialmente por Gerschman R., em 1954. Harman propôs o que chamamos de teoria dos radicais livres para o envelhecimento, a qual é sustentada pela descoberta de que as ROS, além de formarem os pigmentos da idade, produzem ligações cruzadas em algumas moléculas e podem danificar o DNA celular⁽²⁰⁾.

Diversas alterações ocorrem em nosso metabolismo corporal com o passar dos anos, como é o caso da modificação do perfil oxidativo⁽¹⁹⁾, o qual é o equilíbrio, entre a produção de ROS, oriundas de nosso metabolismo (assim como radicais livres exógenos), e as defesas contra estes danos, representadas por enzimas anti-oxidantes, bem como anti-oxidantes exógenos que são ingeridos^(15,19,21-28).

Dano oxidativo, por sua vez, é o desequilíbrio entre essas substâncias, seja por um aumento de substâncias oxidantes (ROS ou radicais livres exógenos), por uma diminuição das substâncias anti-oxidantes (enzimas endógenas ou anti-oxidantes exógenos) ou ambos^(14,15,19,20,28,29).

Com a modificação do perfil anti-oxidante, seja pela diminuição de enzimas anti-oxidantes com o envelhecimento⁽²⁹⁾, seja pela redução da capacidade anti-oxidante de determinada enzima^(15,27,30), como pode ocorrer, entre outras razões,

devido ao polimorfismo genético destas, a proteção do DNA contra as ROS pode ficar comprometida^(31,32).

As ROS provavelmente induzem o surgimento de neoplasias por duas rotas: causando dano na estrutura do DNA propriamente dita, o que leva à deleção, adição ou substituição de bases nitrogenadas, mutando o DNA - a denominada rota genética - ou modificando a expressão de um determinado gene, principalmente inibindo-o ou silenciando-o, fenômeno esse que pode ocorrer, por exemplo, se um gene de supressão tumoral for silenciado ou tiver sua expressão diminuída através da indução, pelas ROS, de mecanismos reguladores existentes no desenvolvimento humano. Tal via de indução tumoral denomina-se rota epigenética (Figura 3)^(33,34). É o que ocorre no caso da hipermetilação induzida por ROS, ou seja, um silenciamento genético maior que o desejado⁽³¹⁾.

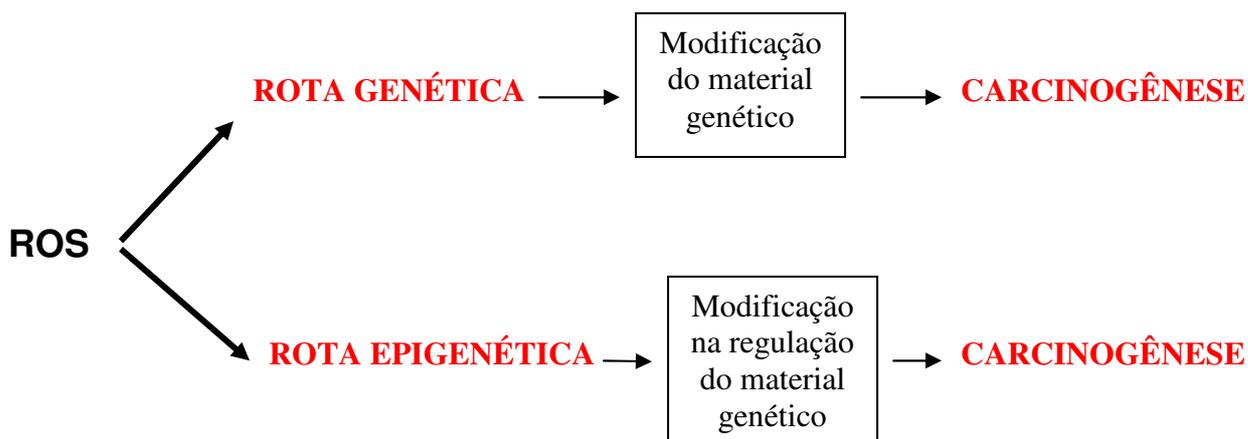


Figura 3 Representação esquemática das rotas pelas quais as ROS levam à carcinogênese.

A metilação é um processo no qual existe um silenciamento genético, ou seja, uma regulação gênica negativa, diminuindo dessa maneira a expressão de alguns genes. Parece fazer parte normal do desenvolvimento humano, já que genes de desenvolvimento, tais como os necessários para o crescimento intra-uterino e outros, não mais são necessários nos demais períodos da vida, sofrendo então processo de metilação para inativá-los ou, ao menos, diminuir sua expressão genética. A função precisa da metilação em células animais ainda não está completamente entendida. Imagina-se que a mesma exerça um papel principal na expressão gênica, regulando-a. Tal fato é de extrema importância, visto que um dos mecanismos de lesão gênica promovida pelas ROS é o aumento do processo de metilação; ou seja, uma hipermetilação, como mencionado anteriormente. Se tal reação ocorrer em um gene de supressão tumoral, o mesmo terá sua expressão gênica diminuída, favorecendo os oncogenes e, assim, elevando de maneira significativa a possibilidade de desenvolvimento de neoplasias⁽³⁴⁾.

A partir de 1980, com a aproximação entre as áreas da bioquímica e da microbiologia, surgiram importantes descobertas, como o sequenciamento do DNA e

a recombinação deste, a clonagem e o desenvolvimento do método de reação em cadeia através da polimerase (PCR), representando uma ferramenta biológica na exploração dos mecanismos de reação, onde as superóxido dismutases (SODs) surgem como um trunfo único e valioso.

Com o desenvolvimento das técnicas de cromatografia e eletroforese, utilizadas especialmente no estudo das proteínas, foram identificadas as enzimas superóxido dismutases (SODs)⁽³⁵⁾.

As enzimas superóxido dismutase Cobre/Zinco (SOD 1) e a superóxido dismutase dependente de manganês (SOD 2) são as primeiras e mais importantes enzimas intracelulares na defesa do organismo contra as reações oxidativas (RO)^(35,36). Outras enzimas com esta função são a mieloperoxidase e a catalase.

Até o presente, três formas distintas de superóxido dismutase foram encontradas em células humanas: a CuZnSOD (SOD 1, dependente de cobre e zinco), a MnSOD (SOD 2, dependente de manganês), intracelulares, e a CuZnSOD (SOD 3, dependente de cobre e zinco) extracelular. A SOD 1 localiza-se no citoplasma, no compartimento nuclear e nos lisossomas. A SOD 2 está localizada na mitocôndria e a SOD 3 localiza-se no plasma, linfa, ascite e fluído cérebro-espinhal⁽³⁵⁻³⁷⁾.

A SOD 2 assume papel importante na defesa celular contra as RO. A estrutura física do gene da SOD 2 é a de um homotetrâmero, com cada subunidade contendo 196 aminoácidos, codificada por um gene que possui cinco éxons e 4 íntrons localizado no cromossomo 6q25, conforme definido por fluorescência e mapeamento celular. Esta enzima é expressa pelo DNA nuclear, sintetizada no citosol e transportada para a mitocôndria, onde irá exercer sua atividade anti-oxidante. É a primeira linha na defesa contra superóxidos produzidos pela

fosforilação oxidativa. Os trabalhos sugerem que a SOD 2 é necessária para o funcionamento biológico normal de todos os tecidos, mantendo a integridade das enzimas mitocondriais suscetíveis à inativação direta pelos superóxidos⁽³⁶⁾.

A importância da SOD 2 foi confirmada por estudos em camundongos nos quais seu gene foi suprimido (camundongos nocautes), nos quais a falta da enzima foi letal para o camundongo, levando à degeneração nervosa e a alterações cardíacas. Polimorfismos têm sido descritos no gene da SOD 2. A substituição do aminoácido Alanina na posição 9 por Valina (Ala9Val) na sequência mitocondrial ocasionou envelhecimento precoce e está associada a um risco aumentado de doença motora neuronal, especialmente em fêmeas, e ainda, com cardiomiopatia idiopática não familiar. Recentemente, o polimorfismo Ala9Val também foi associado a um risco aumentado (1,5 vezes) para o desenvolvimento do câncer de mama⁽³⁶⁾.

Estudos têm demonstrado que níveis elevados da SOD 2 estão associados à inibição do crescimento de muitos tipos de células tumorais, e também, a um menor risco de invasão tumoral e a um menor índice de metástases. Índices reduzidos da SOD 2 também têm sido relacionados a uma maior agressividade tumoral, sendo que vários autores sugerem seu uso como fator prognóstico^(10,37-45).

A atividade da SOD 2 foi correlacionada ao conteúdo do RNA mensageiro (RNAm) e a alterações cromossômicas em seis linhagens celulares de fibroblastos humanos transformados e em linhagens de fibroblastos não-transformados. A diminuição da atividade da SOD 2 se correlacionou com baixo conteúdo de RNAm e com a presença de várias alterações cromossômicas, levando a deleções do braço longo do cromossoma no qual o gene é localizado. Por outro lado, o cromossoma 21, onde se localiza o gene da SOD 1, não mostrou alterações e a atividade da SOD 1 foi elevada. Isso indica que nas linhagens de fibroblastos humanos transformados

a atividade da SOD 2 é determinada em grande parte pela expressão do gene. Foi proposto que a atividade da SOD pode estar inversamente relacionada com a proliferação celular e que a atividade da SOD 2, especialmente, está relacionada à diferenciação celular. Logo, há uma série de eventos na transformação celular, que envolvem a desregulação gênica: deleções cromossômicas (gênicas), baixas concentrações de mRNA e conteúdo protéico, baixa atividade enzimática e a aquisição de uma vantagem no crescimento, associados à SOD 2, o que faz desta um possível gene supressor tumoral. Um dos desafios atuais é a capacidade de entender e manipular as funções desses genes, com a finalidade de evitar a ocorrência e promover o tratamento de neoplasias⁽⁴⁶⁾.

1.3 GENÉTICA E EVOLUÇÃO DAS POPULAÇÕES

O processo evolutivo é atualmente interpretado em termos de genética de populações. Uma população é definida geneticamente pela soma das frequências de seus genes (ou seus alelos), uma medida que dá o grau de variabilidade ou *heterozigose* da população. Sabe-se que um gene tem dois alelos (p. ex., um recessivo e um dominante). A esta variedade dá-se o nome de *polimorfismo* genético.

No entanto, do ponto de vista ecológico, uma população corresponde apenas a um conjunto de indivíduos que ocupa uma dada área geográfica num dado momento. Este tipo de definição não pode servir como unidade evolutiva, pois não implica em que os seres se reproduzam, condição fundamental para a mudança genética.

Por esse motivo, à unidade evolutiva convencionou-se chamar população mendeliana, ou seja, uma comunidade de indivíduos entrecruzáveis, que

compartilham determinado fundo genético. É formada, portanto, por indivíduos relacionados por acasalamento, descendência ou ascendência.

Os genes que constituem o fundo genético - *conjunto* de todos os genes presentes numa população num dado momento - são transmitidos de geração em geração, ao acaso e em novas combinações de alelos. Conclui-se facilmente que é do fundo genético dos progenitores que deriva, ao acaso, o fundo genético dos descendentes. Quanto maior o número de genes que constituem o fundo genético da população, maior a probabilidade de existir variação na geração seguinte.

A determinação das frequências gênicas de uma população em gerações sucessivas indica se existe, ou não, manutenção do fundo genético, onde atuam fatores de evolução. Produção de descendência com variação é a base da evolução. Estas variações podem ser fenotípicas e genotípicas. As fenotípicas decorrem de adaptações a variações ambientais tais como temperatura, concentração de uma substância, etc, uma vez que se transmitem às gerações e, além disso, a maioria das variações fenotípicas encontradas na natureza não se deve a adaptações, mas a variações genotípicas.

Considerando que a natureza permanece estável por longo tempo, os organismos que conhecemos em seus ambientes naturais podem ser considerados como bem adaptados ao seu meio. Deste modo, a maioria das mutações que ocorrem na descendência, que é devida inteiramente ao acaso, não é essencial ou então é deletéria para a espécie dependendo do genoma (conjunto de genes de um indivíduo) em que ocorre.

Os alelos não essenciais ou deletérios são introduzidos nas populações de espécies através de mutação ou de introgressão (entrada de organismos externos dentro da população). A reprodução sexuada confere uma vantagem ao retardar o

acúmulo destas mutações e reordenar constantemente os genes deletérios. Entretanto, os genes deletérios ou não essenciais só sofrem ação da seleção natural quando estão em homozigose, mas não em heterozigose, a menos que esta condição confira um valor pouco adaptativo à espécie. Deste modo, comparamos a presença de alelos deletérios a um *iceberg*: somente a ponta, a menor proporção, manifesta-se como homozigose, enquanto a maioria permanece visível sob a forma de heterozigose.

A Lei de Hardy Weinberg estabelece que "em uma população muito grande (uma espécie) com cruzamentos ocorrendo ao acaso, não haverá mudanças na frequência de genes a menos que mutações sejam introduzidas por introgressão ou aconteça variação da pressão seletiva".

Considerando p a frequência do alelo A e q a do alelo a (não essencial ou deletério), tal que $p + q = 1$. Estando presente em gametas, ao se formar o óvulo, teremos que as combinações possíveis serão determinadas pelo binômio $(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$, onde as frequências respectivas são:

$$AA = p^2 \quad Aa = pq \quad aA = qp \quad aa = q^2$$

A proporção de gametas A será $p^2 + 1/2 \cdot 2pq = p(p + q) = p$ (note que $p + q = 1$), e a proporção de gametas a será $q^2 + 1/2 \cdot 2pq = q(q + p) = q$, portanto as frequências não se alteram, e serão mantidas assim nas gerações F_1, F_2 , etc.^(47,48).

1.4 POLIMORFISMO GENÉTICO

O genoma humano, com 2,91 bilhões de pares de bases e 2,1 milhões de polimorfismos de nucleotídeos isolados (SNPs) é bastante variável, porém menos de

1% de todos SNPs resultam em variações nas suas proteínas. Entretanto, o desafio é determinar quais SNPs têm consequências funcionais⁽⁴⁹⁾.

Além de polimorfismos que produzem variações genéticas benignas, tais como a cor dos olhos, o genoma contém centenas de mutações denominadas de polimorfismos. Um gene polimórfico é aquele no qual os alelos variantes são comuns o suficiente para serem úteis como marcadores genéticos⁽¹⁷⁾. Estudos têm analisado a relação entre a expressão gênica, perfil oxidativo e neoplasias.

Estudos, entre outras coisas, observam a associação entre o polimorfismo genético de enzimas anti-oxidantes, tais como a superóxido dismutase dependente de manganês (MnSOD), a capacidade anti-oxidante de nosso organismo e patologias⁽⁵⁰⁻⁵⁴⁾. Tais polimorfismos fazem com que as defesas endógenas contra as espécies reativas de oxigênio (ROS) sejam abaladas, fazendo com que o DNA celular fique mais suscetível ao ataque de tais substâncias, aumentando a possibilidade de carcinogênese⁽¹⁵⁾.

O estudo dos polimorfismos, que são características diferentes de fenótipos, alelos diferentes na população, do gene da SOD 2 no contexto da morbi-mortalidade pós-operatória de pacientes submetidos a cirurgias oncológicas é um assunto inédito e relevante. As diferenças entre os indivíduos são a base para estudos de frequência. A identificação de fatores de risco para complicações pós-operatórias poderá, além de servir como fator prognóstico, alterar a rotina de cuidados pós-operatórios nestas situações. Levando em consideração que o trauma cirúrgico desencadeia ainda mais RO, individualizar o tratamento indicado (selecionando melhor os pacientes) pode auxiliar o cirurgião a obter melhores resultados.

1.5 CIRURGIA COMO TRATAMENTO DO CÂNCER

O tratamento primário da grande maioria das neoplasias (mais de 60%), em especial as da cavidade abdominal, é cirúrgico, seja com objetivos curativos ou paliativos. É o tratamento mais antigo para o câncer, e aquele que primeiro realmente alterou de maneira significativa o curso da doença neoplásica. Até recentemente, era a única modalidade terapêutica que podia curar estes pacientes⁽⁵⁵⁾. O tratamento cirúrgico do câncer mudou drasticamente nas últimas décadas. Com os avanços tecnológicos e anestésicos, e com o melhor conhecimento da fisiopatologia do câncer, os procedimentos cirúrgicos tornaram-se cada vez mais seguros, com melhores resultados⁽⁵⁾. Assim, quando bem indicados, estes podem determinar maior sobrevida, e melhor qualidade de vida. Nesse contexto, torna-se de extrema importância apurar dados que indiquem a propriedade de intervenções precoces no pós-operatório desses pacientes, com o ideal de prevenir ou minimizar qualquer evolução desfavorável.

Como em qualquer outro tratamento, a cirurgia deve trazer benefícios ao paciente oncológico que devem ser superiores aos riscos cirúrgicos. A incidência da mortalidade operatória (MO) é da maior importância no estabelecimento da conduta cirúrgica e varia para cada paciente. A MO é definida como tendo ocorrido em até 30 dias de pós-operatório. Nos pacientes oncológicos a doença básica é o maior determinante de MO. Pacientes que vão à cirurgia paliativa com doença metastática, até mesmo para alívio dos sintomas, apresentam maior MO.

O impacto do estado físico do paciente na MO foi analisado em função da idade. Em um estudo analisando a mortalidade pós-operatória de 17.199 pacientes submetidos à cirurgia geral, foi identificada uma taxa de mortalidade global de 0,25%

nos pacientes com menos de 70 anos, e de 9,2% nos pacientes com mais de 70 anos. As quatro principais causas de morte que acometeram 75% dos indivíduos com mais de 70 anos foram embolia pulmonar, pneumonia, doença cardiovascular, e a doença básica primária⁽⁵⁾.

Nos Estados Unidos da América (EUA) foram realizados 10 milhões de procedimentos cirúrgicos em 1990, e os pacientes acima de 65 anos foram responsáveis por 20 a 40% do total⁽⁵⁷⁾. Atualmente são realizadas 23 milhões de cirurgias por ano nos EUA. No Brasil, análises similares ainda são incipientes.

Existem investigações retrospectivas com grande tamanho amostral que estudam a morbi-mortalidade operatória em cirurgia geral, destacando-se o estudo realizado na Califórnia por Greenburg *et al*⁽⁶⁾ com 7.572 pacientes operados em um período de dez anos. Destes, 6.726 (88,8%) foram procedimentos eletivos e 846 (11,2%), procedimentos de urgência. Os resultados mostraram uma mortalidade total de 1,4%. Quando considerada a região anatômica abordada na cirurgia, a maior MO ocorreu em cirurgias do aparelho digestivo, destacando-se a cirurgia pancreática que apresentou uma taxa de mortalidade de 6,8% e 28,6% nas cirurgias eletivas e de urgência, respectivamente. As três principais causas de morte foram falência múltipla de órgãos (principalmente entre pacientes portadores de neoplasias), septicemia e complicações cardiovasculares. Tanto nas cirurgias eletivas quanto nas de urgência, a mortalidade foi maior em pacientes com idade acima de 60 anos, faixa etária na qual as neoplasias malignas são mais frequentes.

O intestino tem sido reconhecido como o desencadeador primário de lesões à distância em cirurgia abdominal. Estudos demonstram que a simples manipulação do intestino em uma laparotomia é capaz de produzir lesões celulares à distância para o pulmão, com infiltração de neutrófilos e liberação de radicais livres ao nível

pulmonar, provavelmente mediada por componentes gerados no intestino e transportados para a circulação sistêmica, visto que a inibição na formação desses mediadores intestinais oferece proteção contra as lesões pulmonares. Isto sugere que um dos mecanismos de indução do estresse oxidativo na cirurgia abdominal seja a manipulação de alças intestinais, com alterações e/ou lesões iniciais na mucosa intestinal. A manipulação cirúrgica leva a alterações bioquímicas nos enterócitos, com aumento da xantina-oxidase, resultando na produção de ânion superóxido⁽⁵⁷⁻⁵⁹⁾.

Em um estudo experimental em animais desenhado com a finalidade de elucidar o estresse oxidativo em cirurgia, ratos foram submetidos à abertura da cavidade abdominal e à manipulação intestinal, como realizado normalmente em laparotomias. As mitocôndrias dos enterócitos foram isoladas em tempos diferentes durante a laparotomia e estudadas. Encontraram-se alterações na respiração mitocondrial e nas reações de óxido-redução (REDOX). Também foi identificada maior atividade da enzima da matriz mitocondrial, uma diminuição na atividade da SOD 2, e edema da parede mitocondrial, o que pode resultar em disfunção do fluxo de cálcio nesta organela. Todas as alterações foram proeminentes nos primeiros 60 minutos da cirurgia, e voltaram ao normal após 24 horas⁽⁶⁰⁾.

As lesões intestinais por isquemia-reperfusão (IR) são encontradas em condições clínicas como choque hipovolêmico, obstrução por encarceramento de alças intestinais, cirurgia cardiovascular, cirurgia abdominal, cirurgia aórtica abdominal e transplante de intestino delgado. A lesão por IR intestinal é um fenômeno sistêmico gerador de reações oxidativas, podendo resultar em translocação bacteriana, endotoxemia, síndrome respiratória aguda e lesão hepática aguda^(61,62).

1.5.1 ANESTESIA – CLASSIFICAÇÃO DA AMERICAN SOCIETY OF ANESTHESIOLOGISTS (ASA)

Existem alterações anatômicas e fisiológicas entre os pacientes que são submetidos a cirurgias oncológicas. O resultado final destas alterações – diminuição da reserva fisiológica – é expresso pela menor capacidade do paciente em compensar os vários estresses associados à anestesia e à cirurgia. Isto torna o paciente com câncer mais sensível à morbidade e à mortalidade peri-operatória. Dentro deste contexto, é necessário um planejamento e controle dos fatores de risco peri-anestésicos, que aumentariam as complicações. Alguns desses fatores, abaixo citados, já foram reconhecidos e devem ser logicamente evitados ou controlados, na medida do possível^(5,63).

1. Local da cirurgia: as cirurgias torácicas e abdominais altas apresentam maior deterioração transitória na função pulmonar e maior índice de complicações pulmonares;
2. Idade avançada (mais de 70 anos);
3. Estado pré-operatório do paciente: pacientes com história de doenças pulmonares prévias, uso de fumo com tosse produtiva persistente, obesidade significativa, defeitos de parede torácica;
4. Cirurgia de urgência.

A presença de patologias coexistentes também deve ser destacada por contribuir de maneira significativa para a morbi-mortalidade peri-operatória e/ou peri-anestésica. Entretanto, estas co-morbidades podem ser quantificadas, utilizando-se a classificação do estado físico do paciente, de acordo com a *American Society of Anesthesiologists* (ASA), que fornece um dado prognóstico do paciente a ser operado.

Classe 1 – paciente saudável;

Classe 2 – paciente com doença sistêmica discreta;

Classe 3 – paciente com doença sistêmica grave, com limitação da atividade, mas não incapacitante;

Classe 4 – paciente com doença sistêmica incapacitante e que representa perigo de vida;

Classe 5 – paciente moribundo, sem esperança de vida nas próximas 24 horas, com ou sem cirurgia;

Adiciona-se “E” a esta classificação quando a cirurgia é de urgência. Os doadores de órgãos são considerados Classe 6.

O reconhecimento dos riscos pré-operatórios dos pacientes com câncer minimiza a chance de complicações pós-cirúrgicas.

Objetivos

2 OBJETIVO

Correlacionar o polimorfismo do gene da SOD 2 e a morbi-mortalidade pós-operatória nos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas, no período de novembro de 2004 a setembro de 2005, no Hospital São Lucas da PUCRS, em Porto Alegre.

Pacientes e Métodos

3 PACIENTES E MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO

O estudo realizado foi do tipo individuado, observacional, prospectivo, seguindo o referencial teórico epidemiológico descrito em Rouquayrol⁽⁶⁴⁾.

3.2 POPULAÇÃO INVESTIGADA

Pacientes com mais de 18 anos de idade que foram submetidos a cirurgias oncológicas, no Serviço de Cirurgia Abdominal do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (HSL-PUCRS), no período de novembro de 2004 a setembro de 2005.

3.3 LOGÍSTICA DO ESTUDO

Todos os pacientes com mais de 18 anos de idade que foram submetidos a cirurgias oncológicas, no período de novembro de 2004 a setembro de 2005, foram incluídos na pesquisa.

3.3.1 ANÁLISE LABORATORIAL

3.3.1.1 EXTRAÇÃO DE DNA

Para extração de DNA para genotipagem da SOD 2, foram realizadas coletas de sangue, utilizando-se o sistema de venóclise com aparato descartável a vácuo. De cada voluntário, foram coletados 5 ml de sangue em tubo contendo 0,1% de

EDTA para extração do DNA genômico. O DNA genômico foi extraído através do kit de purificação de DNA, GFX Genomic Blood DNA Purification (Amersham Biosciences, EUA), e armazenado a -20 °C para posterior genotipagem.

3.3.1.2 DETERMINAÇÃO DO GENÓTIPO DA SOD 2 POR POLIMORFISMO DO TAMANHO DOS FRAGMENTOS DE RESTRIÇÃO - RFLP

Foram analisados fundamentalmente, a mudança de bases e o polimorfismo genético, na posição 9 da sequência de aminoácidos que formam a SOD 2 (MnSOD), visto que uma mudança da Valina para Alanina nesta posição (GTT para GCT) pode fazer com que a capacidade anti-oxidante desta enzima seja diminuída, predispondo o DNA celular a um maior dano oxidativo pelos radicais livres, visto que estaria menos protegido por esta enzima degradante da primeira espécie reativa de oxigênio (ROS), que é o superóxido, fazendo então um dano neste DNA e o predispondo à formação de células neoplásicas.

Os possíveis genótipos encontrados foram denominados AA, AB e BB, conforme Ambrosone *et al*⁽¹⁵⁾.

A genotipagem da SOD 2 por PCR/RFLP (*polymerase chain reaction / restriction fragments length polymorphism*) foi realizada segundo Taufer *et al*⁽⁶⁵⁾ e é descrita a seguir:

1. PCR - A amplificação da sequência de gene da SOD 2, contendo o polimorfismo em questão, foi realizada utilizando-se 40 pmol dos oligonucleotídeos iniciadores (direto 5'GCCCAGCCTGCGTAGACGGTCCCGC3' reverso 5'TGCCTGGAGCCCAGATACCCAAG3'), TaqDNApolimerase (1,25 U) e dNTPs, utilizando tampão de reação [10 mM tampão Tris-HCl (pH8,3), 50 nM KCl e 1,0 mM MgCl₂].

2. RFLP - O produto amplificado contendo 110 pb, foi visualizado através de eletroforese em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio. Após, a genotipagem foi realizada por RFLP, onde o produto amplificado foi digerido com 15 U da endonuclease de restrição *Hae* III (Invitrogen, EUA), a 37°C por seis horas. Os fragmentos digeridos foram visualizados através de eletroforese em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio (Figura 4).

POLIMORFISMO DO TAMANHO DOS FRAGMENTOS DE RESTRIÇÃO

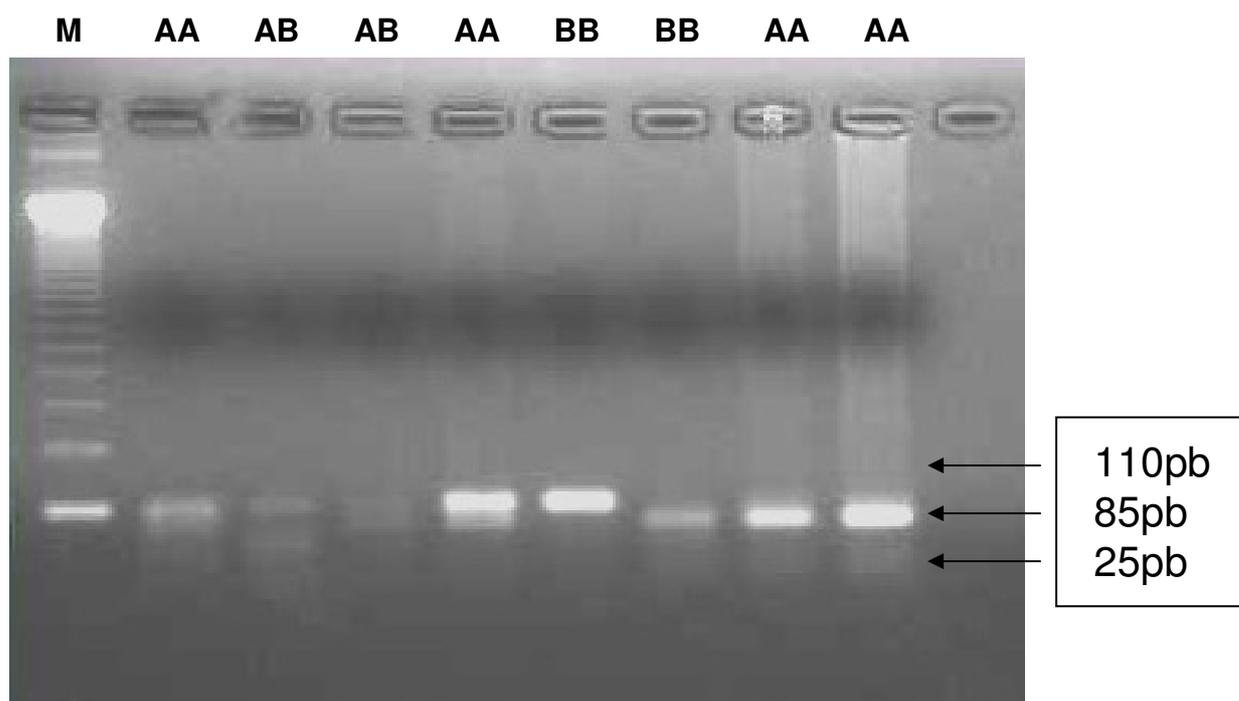


Figura 4 Padrão de RFLP para a SOD 2.

Fragmentos após digestão com a enzima de restrição *Hae* III após eletroforese em gel de agarose 2%.

3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Por se tratar de um estudo prospectivo, foram incluídos todos os pacientes com mais de 18 anos que foram submetidos a cirurgias oncológicas, realizadas pelo

Serviço de Cirurgia Abdominal do HSL-PUCRS, no período de novembro de 2004 a setembro de 2005, e que assinaram o consentimento informado para participação no estudo.

3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos pacientes submetidos a outros tipos de procedimentos cirúrgicos que não por câncer, ou pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos em outras especialidades cirúrgicas. Pacientes com idade inferior a 18 anos e aqueles que não assinaram o consentimento informado também foram excluídos do estudo.

3.6 VARIÁVEIS ANALISADAS

3.6.1 Pré-operatórias:

3.6.1.1 idade, gênero, co-morbidades, classificação da *American Society of Anesthesiologists* (ASA), e genótipo.

3.6.2 Pós-operatórias:

3.6.2.1 complicações pós-operatórias: sépsis, abscesso, fístula, broncopneumonia, oclusão arterial aguda, infecção do trato urinário, insuficiência renal aguda, trombose venosa profunda, acidente vascular cerebral, embolia pulmonar e coagulação intravascular disseminada.

3.6.2.2 topografia da(s) lesão(ões), tipo histológico e presença de linfonodos comprometidos.

3.6.2.3 morte: analisada em até 30 dias do procedimento cirúrgico, e causa de morte.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

A descrição das variáveis quantitativas foi realizada pela média e desvio padrão, e das categóricas por contagens e percentuais. As comparações entre os dados quantitativos foram feitas entre os grupos de polimorfismo pela análise de variância (ANOVA), seguida do teste *post hoc* de Tukey. Comparações entre dois grupos foram realizadas pelo teste *t* de Student. Para a comparação de dados categóricos usamos o qui-quadrado e, quando necessário, o teste exato de Fisher. A avaliação do equilíbrio de Hardy-Weinberg foi realizada por teste de adequação de ajuste de qui-quadrado seguindo as frequências esperadas para uma herança co-dominante. O nível de significância adotado foi de 5% e os dados foram analisados pelo programa SPSS versão 11.5.

3.8 ÉTICA

Foi solicitado consentimento informado por escrito do paciente e/ou familiar responsável.

Para a realização do trabalho, foi necessária uma amostra de sangue de todos os pacientes incluídos na pesquisa. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São Lucas da PUCRS.

Resultados

4 RESULTADOS

4.1 PERFIL CIRÚRGICO DO PACIENTE

Oitenta e oito pacientes com mais de 18 anos foram submetidos a cirurgias oncológicas no período de novembro de 2004 a setembro de 2005, no HSL-PUCRS e incluídos no estudo. A média (\pm desvio padrão) da idade dos pacientes foi de $61 \pm 7,38$ anos, sendo a idade mínima de 19 anos e a máxima de 97 anos (Figura 5). Quanto à distribuição por gênero, 52 (59,0%) eram do gênero masculino e 36 (41,0%) do gênero feminino (Figura 6).

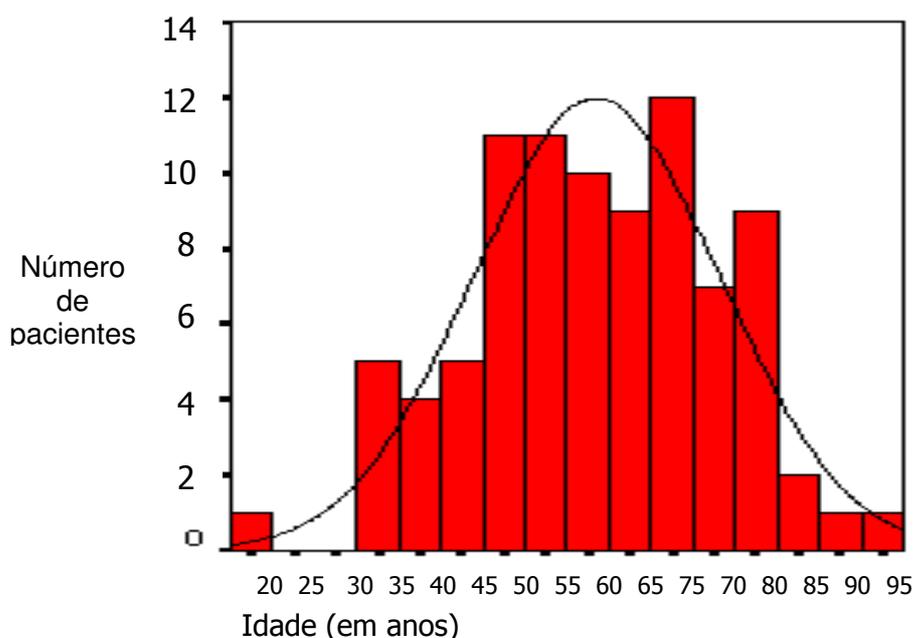


Figura 5 Distribuição por faixa etária de todos os pacientes investigados.

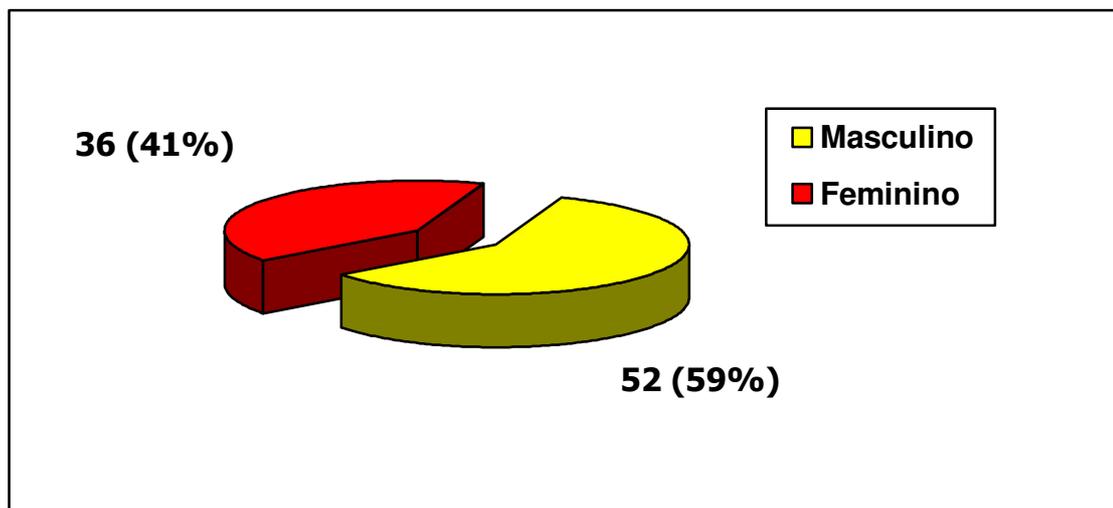


Figura 6 Distribuição por gênero dos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas.

4.2 CO-MORBIDADES

Dos 88 pacientes do estudo, 67 (76,1%) apresentavam co-morbidades na época da cirurgia. Destes, 54 (63,5%) apresentavam hipertensão arterial sistêmica, 9 (10,6%) com doença bronco-pulmonar obstrutiva crônica, 8 (9,4%) com doença cardiovascular, 10 (11,8%) com diabetes melito, 3 (3,1%) com cirrose, e 1 (1,2%) com neoplasia. Vinte e um pacientes (23,8%) do estudo não apresentavam co-morbidades.

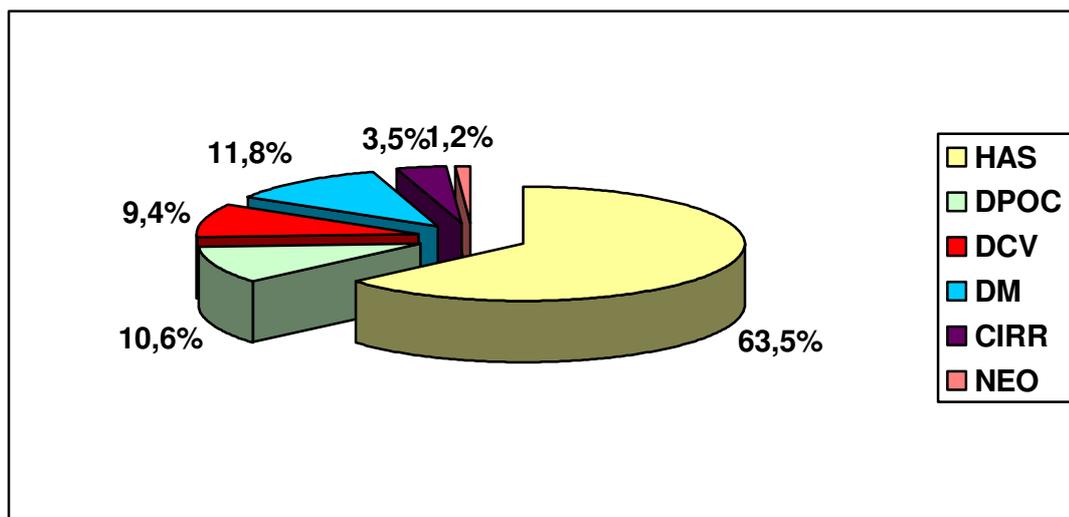


Figura 7 Frequências das co-morbidades dos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas.

HAS = hipertensão arterial sistêmica; DPOC = doença bronco-pulmonar obstrutiva crônica; DCV = doença cardiovascular; DM = diabete mérito

4.3 ASA – CLASSIFICAÇÃO DA AMERICAN SOCIETY OF ANESTHESIOLOGISTS

Dentre os 88 pacientes do estudo, 2 (2,3%) apresentavam ASA 1, 50 (56,8%) ASA 2, 35 (39,8%) ASA 3, e 1 (1,1%) ASA 4 no pré-operatório (Figura 8).

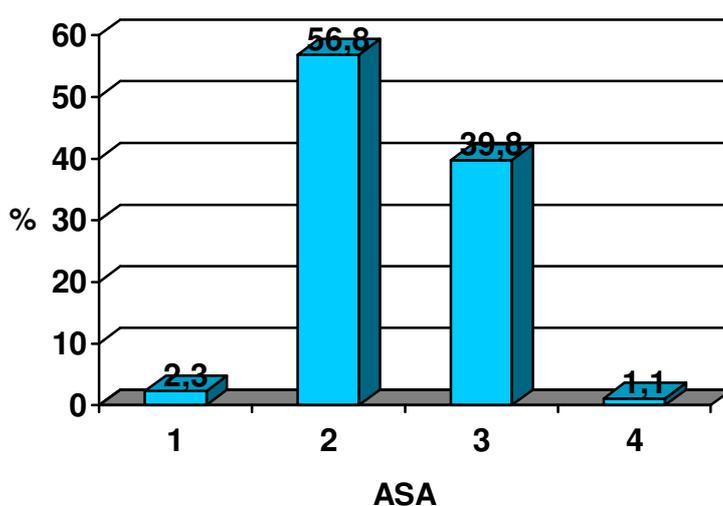


Figura 8 Classificação pela *American Society of Anesthesiologists* (ASA), dos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas.

4.4 COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS

Dos 88 pacientes operados, 50 (56,8%) apresentaram complicações pós-operatórias. As complicações observadas foram: sépsis em 24 (48,0%) pacientes, broncopneumonia em 10 (20,0%), fístula êntero-cutânea em 13 (26,0%), abscesso em 10 (20,0%) pacientes, insuficiência renal aguda em 9 (18,0%), embolia pulmonar em 7 (14,0%), infecção do trato urinário em 6 (12,0%), coagulação intravascular disseminada (CIVD) em 4 (8,0%), trombose venosa profunda em 3 (6,0%), oclusão arterial aguda em 2 (4,0%), acidente vascular cerebral em 2 (4,0%), e IAM em 1 (2,1%) (Figura 9). Destes, 34 (68,0%) pacientes sobreviveram os primeiros 30 dias de pós-operatório, 8 com adenocarcinoma de cólon, 8 com adenocarcinoma gástrico, 2 com hepatocarcinoma, 4 com metástase hepática (adenocarcinoma de cólon-3 e adenocarcinoma gástrico-1), 3 com adenocarcinoma de intestino delgado, 2 com GIST (1 metastático para o fígado e outro de intestino delgado), 2 pacientes com carcinoma epidermóide de esôfago/cárdia, 1 com melanoma, 2 com tumor retroperitoneal, 1 com adenocarcinoma de ovário e um com carcinoma epidermóide de colo de útero. Dos 16 (32,0%) pacientes que foram ao óbito, 6 (37,5%) apresentavam adenocarcinoma gástrico, 5 (31,3%) com adenocarcinoma de cólon, 2(12,5%) com carcinoma metastático sem sítio primário conhecido, 1 (6,3%) com carcinoma epidermóide de colo de útero, 1 com adenocarcinoma colo-retal metastático, 1 (6,3%) com adenocarcinoma de pâncreas e 1 (6,3%) com cistoadenocarcinoma de via biliar.

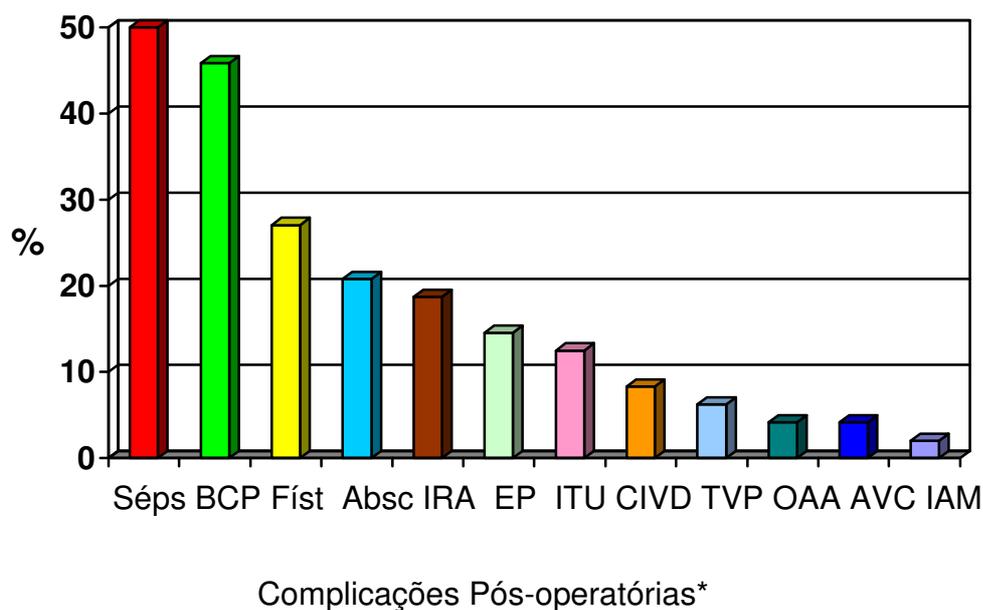


Figura 9 Complicações pós-operatórias dos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas.

Séps = Sépsis; BCP = broncopneumonia; Físt = fístula; Absc = abscesso; IRA = insuficiência renal aguda; EP = embolia pulmonar; ITU = infecção do trato urinário; CIVD = coagulação intravascular disseminada; TVP = trombose venosa profunda; OAA = oclusão arterial aguda; AVC = acidente vascular cerebral; IMA = infarto agudo do miocárdio.

4.5 TOPOGRAFIA DA(S) LESÃO(ÕES)

Quanto à topografia da(s) lesão(ões) dos 88 pacientes submetidos a cirurgias oncológicas, foram realizadas 75 (85,2%) cirurgias no trato gastrintestinal (TGI), 8 (9,1%) cirurgias no trato geniturinário (TGU), 4 (4,5%) cirurgias no retroperitônio, e uma (1,1%) cirurgia com sítio primário desconhecido (Figura 10). Nessas cirurgias foram realizados 122 procedimentos cirúrgicos. Na região do esôfago, estômago e intestino delgado a cirurgia mais frequente foi a gastrectomia. No fígado e vias biliares, a cirurgia mais frequente foi a hepatectomia e no cólon e reto, a retossigmoidectomia. Dez procedimentos cirúrgicos foram realizados no pâncreas, 9 procedimentos no trato geniturinário, 7 tumores retroperitoneais, 5 esplenectomias, 4

suprarrenalectomias, 2 laparotomias exploradoras e uma peritonietomia (Tabela 1).

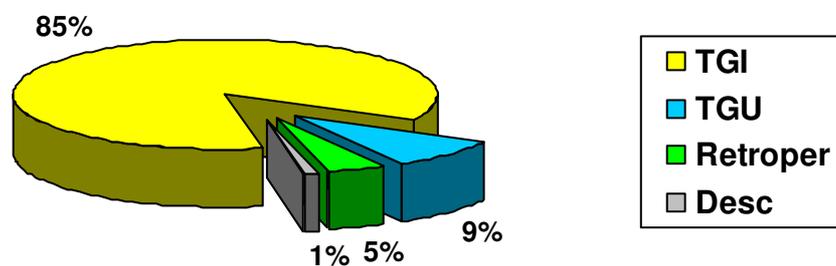


Figura 10 Frequências da topografia da(s) lesão(ões) dos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas.

TGI = trato gastrintestinal; TGU = trato geniturinário; Retroper = retroperitônio; Desc = sítio primário desconhecido.

Tabela 1 Tipos de cirurgias oncológicas realizadas segundo a localização anatômica.

Região anatômica	n(%)	Tipo de cirurgia
Esôfago, estômago e intestino delgado (n=32)	14 (43,8)	Gastrectomia parcial
	7 (21,9)	Gastrectomia total
	5 (15,6)	Enterectomia
	4 (12,5)	Esofagogastrectomia total
	1 (3,1)	Duodenostomia
	1 (3,1)	Degastrectomia
Intestino Grosso e Reto (n=35)	13 (37,1)	Retossigmoidectomia
	10 (28,6)	Ileocolectomia
	7 (20)	Colectomia parcial
	2 (5,8)	Amputação abdômino-perineal
	1 (2,9)	Colostomia
	1 (2,9)	By-pass cólon-cólon
	1 (2,9)	Apendicectomia
Fígado e vias biliares (n=18)	6 (33,5)	Trissegmentectomia
	5 (27,8)	Colecistectomia
	3 (16,6)	Hepatectomia parcial
	2 (11,1)	Devascularização hepática
	1 (5,5)	Coledocoplastia
	1 (5,5)	Ressecção tumor de via biliar
	1 (5,5)	Duodenopancreatectomia
Pâncreas (n=10)	4 (40)	Pancreatectomia parcial
	1 (10)	Pancreatojejunostomia
	2 (22,2)	Pan-histerectomia
Trato geniturinário (n=9)	2 (22,2)	Nefrectomia radical
	2 (22,2)	Ureterectomia
	1 (11,1)	Rafia vesical
	1 (11,1)	Cistectomia radical
	1 (11,1)	<i>Debulking</i>
	1 (11,1)	Exérese de tumor de retroperitônio
Tumor de Retroperitônio (n=7)	7 (100)	Exérese de tumor de retroperitônio
Outros (n=11)	5 (45,5)	Esplenectomia
	4 (36,3)	Suprarrenalectomia
	2 (18,2)	Laparotomia exploradora
	1 (9)	Peritoniectomia

4.6 TIPO HISTOLÓGICO

As principais doenças malignas diagnosticadas e suas respectivas frequências são apresentadas na Tabela 2. O adenocarcinoma do trato gastrintestinal foi o mais frequente, acometendo 71 (80,7%) dos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas.

Tabela 2 Tipos histológicos dos tumores de pacientes com câncer submetidos a cirurgias oncológicas.

n (%)	Diagnóstico
71 (80,7)	Adenocarcinoma do TGI
8 (9,1)	Tumores mesenquimais
3 (3,4)	Carcinoma epidermóide do TGI
3 (3,4)	Adenocarcinoma do TGU
2 (2,3)	Carcinoma epidermóide do TGU
1 (1,1)	Melanoma
88 (100%)	

4.7 LINFONODOS COMPROMETIDOS

Dos 88 pacientes operados, 27 (30,7%) apresentaram comprometimento linfonodal. Dentre as neoplasias a que mais frequentemente apresentou envolvimento linfonodal, foi o adenocarcinoma do trato gastrintestinal, acometendo 40% destes pacientes (Figura 11).

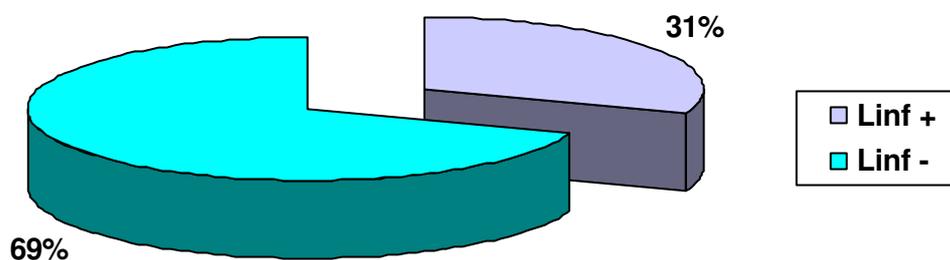


Figura 11 Frequências do comprometimento linfonodal dos pacientes submetidos a cirurgias abdominais por câncer.

Linf + = linfonodos comprometidos; Linf - = linfonodos não comprometidos.

4.8 MORTE E CAUSAS DE MORTE

A mortalidade operatória foi de 21,6%, 19 pacientes. Três causas de óbito até 30 dias de pós-operatório foram observadas no estudo: sépsis, falência múltipla de órgãos (FMO) e coagulação intravascular disseminada (CIVD). A frequência das causas de óbito observadas é descrita na Tabela 3. A causa mais frequente foi a sépsis.

Tabela 3 Causas de morte até 30 dias de pós-operatório dos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas.

Causas de morte	n (%)
Sépsis	12 (63,15)
Falência Múltipla de Órgãos (FMO)	5 (26,31)
CIVD	2 (10,52)
Total de óbitos	19 (100%)

4.9 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DOS POLIMORFISMOS DA SOD 2 DOS PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIAS ONCOLÓGICAS

As frequências alélicas observadas foram: alelo A = 0,54 ou 54% e o alelo B = 0,45 ou 45% (Figura 12).

Dos 88 pacientes estudados, 30 (34,1%) apresentaram genótipo AA, 22 (25,0%) apresentaram genótipo BB, e 36 (40,9%) apresentaram genótipo AB (Figura 13).

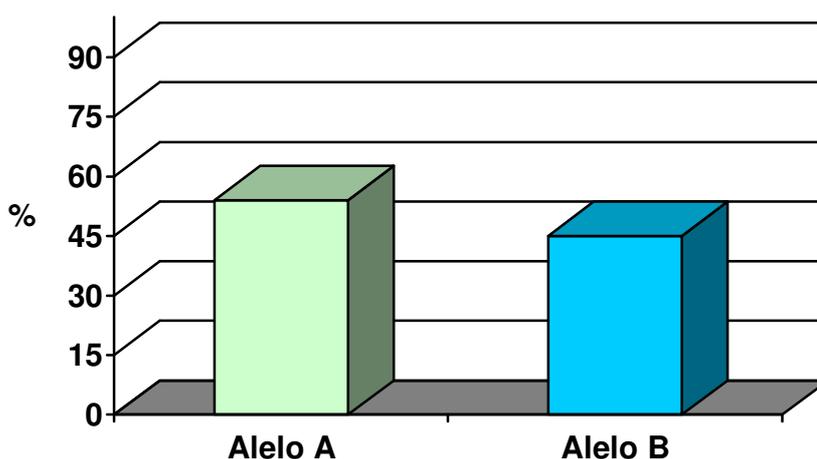


Figura 12 Frequências alélicas dos polimorfismos nos gene da SOD 2 dos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas.

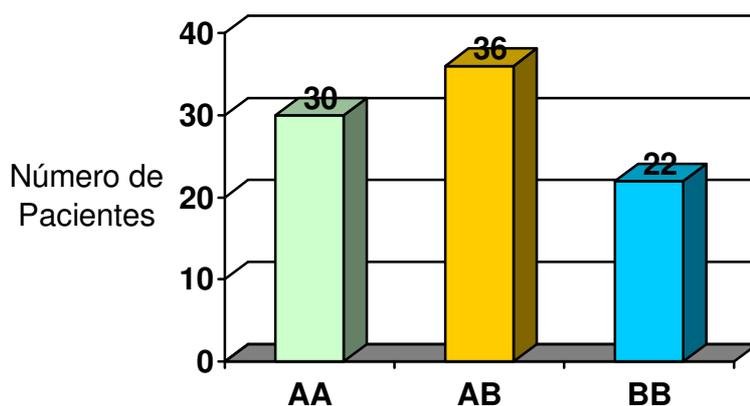


Figura 13 Frequências genótípicas dos polimorfismos do gene da SOD 2 dos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas.

4.10 ANÁLISE DO EQUILÍBRIO GÊNICO DOS POLIMORFISMOS DO GENE DA SOD 2 NA POPULAÇÃO ESTUDADA

O princípio de Hardy-Weinberg postula que a frequência alélica esperada para a população do estudo seria de 30 pacientes com genótipo AA (34,1%), 36 pacientes com genótipo AB (40,9%) e 22 pacientes com genótipo BB (25,0%). A distribuição gênica encontrada em nossa população não foi estatisticamente diferente da esperada ($P=0,11$), o que sugere que o gene da SOD 2 encontra-se em equilíbrio na população estudada.

Tabela 4 Distribuição dos polimorfismos do gene da SOD 2 na população estudada e o esperado segundo o princípio de Hardy-Weinberg.

	N (%)	N (%)
	observado	Esperado
AA	30 (34,1)	22 (25,0)
BB	22 (25,0)	22 (25,0)
AB	36 (40,9)	44 (50,0)
Total	88 (100,0)	

4.11 ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DO GENE DA SOD 2 E OS ASPECTOS PRÉ-OPERATÓRIOS

4.11.1 POLIMORFISMO DA SOD 2 E IDADE

Não foi observada associação entre o polimorfismo do gene da SOD 2 e idade na população submetida a cirurgias oncológicas ($P=0,61$) (Tabela 5).

4.11.2 POLIMORFISMO DA SOD 2 E GÊNERO

Não foi observada associação entre o polimorfismo do gene da SOD 2 em relação ao número de homens e mulheres ($P=0,88$) (Tabela 5).

4.11.3 POLIMORFISMO DA SOD 2 E ASA

Não foi observada diferença significativa do polimorfismo do gene da SOD 2 em relação à classificação do estado físico do paciente ($P=0,39$) (Tabela 5).

4.11.4 POLIMORFISMO DA SOD 2 E CO-MORBIDADES

Seis principais co-morbidades foram analisadas quanto a sua associação com o polimorfismo do gene da SOD 2 nos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas: hipertensão arterial sistêmica (HAS), doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), doença cardiovascular (DCV), diabetes mérito (DM), cirrose e outra neoplasia maligna associada. Não foi observada diferença significativa do polimorfismo do gene da SOD 2 em relação à HAS ($P=0,55$), ao DPOC ($P=0,55$), à DCV ($P=0,46$), ao DM ($P=0,16$), à cirrose ($P=0,16$), e a outra neoplasia maligna ($P=0,49$) (Tabela 5).

4.12 ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA SOD 2 E OS ASPECTOS PÓS-OPERATÓRIOS

4.12.1 POLIMORFISMO DA SOD 2 E COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS

Doze principais complicações pós-operatórias foram encontradas e analisadas quanto a sua associação com o polimorfismo do gene da SOD 2 nos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas: sépsis, abscesso, fístula, broncopneumonia, oclusão arterial aguda, infecção do trato urinário, insuficiência renal aguda, trombose venosa profunda, acidente vascular cerebral, infarto agudo do miocárdio, embolia pulmonar e coagulação intravascular disseminada. Não foi observada associação entre o polimorfismo do gene da SOD 2 em relação à sépsis ($P=0,81$), ao abscesso ($P=0,51$), à fístula ($P=0,23$), à broncopneumonia (BCP) ($P=0,42$), à oclusão arterial aguda (OAA) ($P=0,23$), à insuficiência renal aguda (IRA) ($P=0,62$), à trombose venosa profunda (TVP) ($P=0,44$), ao acidente vascular cerebral (AVC) ($P=0,14$), à embolia pulmonar (EP) ($P=0,79$), e à coagulação intravascular disseminada (CIVD) ($P=0,76$). Entretanto, na análise da associação entre o polimorfismo do gene da

SOD 2 e infecção do trato urinário no pós-operatório dos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas foi estatisticamente significante para os pacientes AA ($P=0,002$). Nenhum paciente apresentou infarto agudo do miocárdio (Tabela 5).

4.12.2 POLIMORFISMO DA SOD 2 E TOPOGRAFIA DA(S) LESÃO(ÕES)

Quanto à topografia da(s) lesão(ões), foram divididos em 4 localizações: Trato gastrointestinal, trato geniturinário, tumores retroperitoneais e sítio desconhecido. Não foi observada associação entre o polimorfismo do gene da SOD 2 em relação à topografia da(s) lesão(ões) ($P=0,59$).

4.12.3 POLIMORFISMO DA SOD 2 E TIPO HISTOLÓGICO

Foram identificados 6 tipos histológicos distintos de câncer: o adenocarcinoma do trato gastrointestinal, o carcinoma epidermóide do trato gastrointestinal, o adenocarcinoma do trato geniturinário, o carcinoma epidermóide do trato geniturinário, os tumores mesenquimais e o melanoma. Não foi observada associação entre o polimorfismo do gene da SOD 2 e os tipos histológicos identificados ($P=0,85$).

4.12.4 POLIMORFISMO DA SOD 2 E COMPROMETIMENTO DE LINFONODOS

Trinta e nove (44,3%) pacientes apresentaram comprometimento linfonodal. Não foi observada associação entre o polimorfismo do gene da SOD 2 e o comprometimento linfonodal ($P=0,85$).

4.13 POLIMORFISMO DA SOD 2 E MORTE ATÉ 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

Não foi observada associação entre o polimorfismo do gene da SOD 2 e a mortalidade operatória ocorrida em até 30 dias da cirurgia ($P=0,37$) (Tabela 5).

Tabela 5 Associação entre o polimorfismo do gene da SOD 2 e os aspectos pré-operatórios, os aspectos pós-operatórios, a mortalidade operatória e as causas de morte em até 30 dias de pós-operatório.

	AA *	AB *	BB *	P**
	n = 30	n = 36	n = 22	
Idade	59,60 ± 13,8	60,70 ± 15,2	63,70 ± 15,2	0,61
Gênero M, %	18 (60,0)	22 (61,1)	12 (54,5)	0,88
ASA 3	15 (50,0)	13 (36,1)	7 (31,8)	0,39
Co-morbidades	25 (83,3)	28 (77,8)	14 (63,6)	0,25
HAS	17 (56,7)	23 (63,9)	14 (63,6)	0,55
DPOC	3 (10,0)	5 (13,9)	1 (4,5)	0,55
DCV	6 (20,0)	1 (2,8)	1 (4,5)	0,46
DM	4 (13,3)	6 (16,7)	0 (0,0)	0,16
Cirrose	2 (6,7)	1 (2,8)	0 (0,0)	0,49
Neoplasia	1 (3,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,60
Complicações Pós-operatórias				
Sépsis	8 (26,7)	11 (30,6)	5 (22,7)	0,81
Abscesso	4 (13,3)	5 (13,9)	1 (4,5)	0,51
Fístula	7 (23,3)	3 (8,3)	3 (13,6)	0,23
BCP	10 (33,3)	7 (19,4)	5 (22,7)	0,42
OAA	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (5,6)	0,23
ITU	6 (20,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,001
IRA	2 (6,7)	5 (13,9)	2 (9,1)	0,62
TVP	0 (0,0)	2 (5,6)	1 (4,5)	0,44
AVC	2 (6,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,14
IAM	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	-
EP	3 (10,0)	2 (5,6)	2 (9,1)	0,79
CIVD	2 (6,7)	1 (2,8)	1 (4,5)	0,76
Topografia da(s) lesão(ões)				
Trato gastrointestinal	25 (83,3)	33 (91,7)	17 (77,3)	0,59
Tipo Histológico				
Adenocarcinoma do TGI	24 (80,0)	30 (83,3)	17 (77,3)	0,85
Comprometimento linfonodal	15 (50,0)	17 (47,2)	7 (31,8)	0,39
Mortalidade Operatória (até 30 dias)	4 (13,3)	10 (27,8)	5 (22,7)	0,37
Causa de morte até 30 dias				
Sépsis	4 (13,3)	6 (16,7)	3 (13,6)	0,94
FMO	0 (0,0)	3 (8,3)	1 (4,5)	0,30
CIVD	1 (3,3)	0 (0,0)	1 (4,5)	0,52

*Os dados são apresentados como média ± desvio padrão ou contagem (%).

** P = significância estatística

4.14 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO A DA SOD 2 E OS ASPECTOS PRÉ-OPERATÓRIOS

Não foi observada associação entre a presença do alelo A do gene da SOD 2 (com predomínio do alelo A sobre o B) e os aspectos pré-operatórios: idade (P=0,24), gênero (P=0,40), ASA 3 (P=0,55), e co-morbidades (P=0,12). Foi observada associação entre a presença do alelo A e diabetes mérito (P=0,04) (Tabela 6).

4.15 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO A DA SOD 2 E OS ASPECTOS PÓS-OPERATÓRIOS

4.15.1 COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS

Não foi observada associação entre a presença do alelo A da SOD 2 (com predomínio do alelo A sobre o B) e os aspectos pós-operatórios: sépsis (P=0,40), abscesso (P=0,23), fístula (P=0,59), broncopneumonia (P=0,51), oclusão arterial aguda (P=0,41), infecção do trato urinário (P=0,15), insuficiência renal aguda (P=0,60), trombose venosa profunda (P=0,59), acidente vascular cerebral (P=0,41), embolia pulmonar (P=0,56) e coagulação intravascular disseminada (P=0,70). Nenhum paciente apresentou infarto agudo do miocárdio (Tabela 6).

4.15.2 TOPOGRAFIA DA(S) LESÃO(ÕES)

Quanto a topografia da(s) lesão(ões), foram divididos em 4 localizações: trato gastrointestinal, trato geniturinário, tumores retroperitoneais e sítio desconhecido. Não foi observada associação entre a presença do alelo A do gene da SOD 2 e a topografia da(s) lesão(ões) (P=0,47).

4.15.3 TIPO HISTOLÓGICO

Foram identificados 6 tipos histológicos distintos de câncer: o adenocarcinoma do trato gastrintestinal, o carcinoma epidermóide do trato gastrintestinal, o adenocarcinoma do trato geniturinário, o carcinoma epidermóide do trato geniturinário, os tumores mesenquimais e o melanoma. Não foi observada associação entre o alelo A do gene da SOD 2 e os tipos histológicos identificados ($P=0,73$).

4.15.4 COMPROMETIMENTO DE LINFONODOS

Não foi observada associação entre o alelo A do gene da SOD 2 (com predomínio do alelo A sobre o B) e o comprometimento linfonodal ($P=0,13$).

4.16 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO A DA SOD 2 E MORTE ATÉ 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

Não foi observada associação entre o alelo A do gene da SOD 2 e a mortalidade operatória (ocorrida em até 30 dias da cirurgia) ($P=0,55$) (Tabela 6).

Tabela 6 Associação entre o alelo A do gene da SOD 2 e os aspectos pré-operatórios, os aspectos pós-operatórios, a mortalidade operatória e as causas de morte em até 30 dias de pós-operatório.

	AA/AB *	BB *	P**
	n = 66	n = 22	
Idade	61,79 ± 14,47	63,64 ± 15,20	0,24
Gênero M, %	40 (60,6)	12 (54,5)	0,40
ASA 3	28 (42,4)	7 (31,8)	0,55
Co-morbidades	53 (80,3)	14 (63,6)	0,12
HAS	40 (60,6)	14 (63,6)	0,51
DPOC	8 (12,1)	1 (4,5)	0,29
DCV	7 (10,6)	1 (4,5)	0,36
DM	10 (15,2)	0 (0,0)	0,04
Cirrose	3 (4,5)	0 (0,0)	0,30
Neoplasia	1 (1,5)	0 (0,0)	0,57
Complicações Pós-operatórias			
Sépsis	19 (28,8)	5 (22,7)	0,40
Abscesso	9 (13,6)	1 (4,5)	0,23
Fístula	10 (15,2)	3 (13,6)	0,59
BCP	17 (25,8)	5 (22,7)	0,51
OAA	2 (3,0)	0 (0,0)	0,41
ITU	6 (9,1)	0 (0,0)	0,15
IRA	7 (10,6)	2 (9,1)	0,60
TVP	2 (3,0)	1 (4,5)	0,59
AVC	2 (3,0)	0 (0,0)	0,41
IAM	0 (0,0)	0 (0,0)	-
EP	5 (7,6)	2 (9,1)	0,56
CIVD	3 (4,5)	1 (4,5)	0,70
Topografia da(s) lesão(ões)			
Trato gastrointestinal (TGI)	59 (87,9)	17 (77,3)	0,47
Tipo Histológico			
Adenocarcinoma do TGI	54 (81,8)	17 (77,3)	0,73
Comprometimento linfonodal	32 (48,5)	7 (31,8)	0,13
Mortalidade Operatória (até 30 dias)	14 (21,2)	5 (22,7)	0,55
Causa de morte até 30 dias			
Sépsis	10 (15,2)	3 (13,6)	0,28
FMO	3 (4,5)	1 (4,5)	0,44
CIVD	1 (1,5)	1 (4,5)	0,38

*Os dados são apresentados como média ± desvio padrão ou contagem (%).

** P = significância estatística

4.17 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO B DA SOD 2 E OS ASPECTOS PRÉ-OPERATÓRIOS

Não foi observada associação entre o alelo B do gene da SOD 2 com os aspectos pré-operatórios: idade ($P=0,26$), gênero ($P=0,55$), ASA 3 ($P=0,38$) e comorbidades ($P=0,20$). Foi observada a associação entre o alelo B e doenças cardiovasculares ($P=0,01$) (Tabela 7).

4.18 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO B DA SOD 2 E OS ASPECTOS PÓS-OPERATÓRIOS

4.18.1 COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS

Não foi observada associação entre o alelo B do gene da SOD 2 com os aspectos pós-operatórios: sépsis ($P=0,57$), abscesso ($P=0,46$), broncopneumonia ($P=0,15$), oclusão arterial aguda ($P=0,30$), insuficiência renal aguda ($P=0,35$), trombose venosa profunda ($P=0,20$), embolia pulmonar ($P=0,45$), e coagulação intravascular disseminada ($P=0,42$). Quando os pacientes submetidos a cirurgias oncológicas com genótipos BB e AB foram agrupados e comparados aos pacientes com genótipo AA e associados à infecção do trato urinário e acidente vascular cerebral, a análise observada foi significativa para os pacientes AA ($P=0,001$ e $P=0,04$, respectivamente). A associação apresentou significância limítrofe com fístula êntero-cutânea ($P=0,10$) Nenhum paciente apresentou infarto agudo do miocárdio (Tabela 7).

4.18.2 TOPOGRAFIA DA(S) LESÃO(ÕES)

Quanto a topografia da(s) lesão(ões), foram divididos em 4 localizações: trato gastrintestinal, trato geniturinário, tumores retroperitoneais e sítio desconhecido. Não foi observada associação entre o alelo B do gene da SOD 2 e a topografia da(s) lesão(ões) (P=0,55).

4.18.3 TIPO HISTOLÓGICO

Foram identificados 6 tipos histológicos distintos de câncer: o adenocarcinoma do trato gastrintestinal, o carcinoma epidermóide do trato gastrintestinal, o adenocarcinoma do trato geniturinário, o carcinoma epidermóide do trato geniturinário, os tumores mesenquimais e o melanoma. Não foi observada associação entre o alelo B do gene da SOD 2 e os tipos histológicos identificados (P=0,73).

4.18.4 COMPROMETIMENTO DE LINFONODOS

Não foi observada associação entre o alelo B do gene da SOD 2 e o comprometimento linfonodal (P=0,29).

4.19 ASSOCIAÇÃO ENTRE O ALELO B DA SOD 2 E MORTE ATÉ 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

Não foi observada associação entre o alelo B do gene da SOD 2 e a mortalidade operatória ocorrida em até 30 dias da cirurgia (P=0,14) (Tabela 7).

Tabela 7 Associação entre o alelo B do gene da SOD 2 e os aspectos pré-operatórios, os aspectos pós-operatórios, a mortalidade operatória e as causas de morte em até 30 dias de pós-operatório.

	BB/AB *	AA *	P**
	n = 58	n = 30	
Idade	61,79 ± 15,14	59,60 ± 13,77	0,26
Gênero M, %	34 (58,6)	18 (60,6)	0,55
ASA 3	20 (34,5)	15 (50,0)	0,38
Co-morbidades			
HAS	37 (63,8)	17 (56,7)	0,34
DPOC	6 (10,3)	3 (10,0)	0,64
DCV	2 (3,4)	3 (20,0)	0,01
DM	6 (10,3)	4 (13,3)	0,47
Cirrose	1 (1,7)	2 (6,7)	0,23
Neoplasia	0 (0,0)	1 (3,3)	0,17
Complicações Pós-operatórias			
Sépsis	16 (27,6)	8 (26,7)	0,57
Abscesso	6 (10,3)	4 (13,3)	0,46
Fístula	6 (10,3)	7 (23,3)	0,10
BCP	12 (20,7)	10 (33,3)	0,15
OAA	2 (3,4)	0 (0,0)	0,30
ITU	0 (0,0)	6 (20)	0,001
IRA	7 (12,1)	2 (6,7)	0,35
TVP	3 (5,2)	0 (0,0)	0,20
AVC	0 (0,0)	2 (6,7)	0,04
IAM	0 (0,0)	0 (0,0)	-
EP	4 (6,9)	3 (10)	0,45
CIVD	2 (3,4)	2 (6,7)	0,42
Topografia da (s) lesão(ões)			
Trato gastrointestinal (TGI)	50 (86,2)	25 (83,3)	0,55
Tipo Histológico			
Adenocarcinoma do TGI	47 (81,0)	24 (80,0)	0,70
Comprometimento linfonodal	24 (41,4)	15 (50,0)	0,29
Mortalidade Operatória (até 30 dias)	15 (25,9)	4 (13,3)	0,14
Causa de morte até 30 dias			
Sépsis	9 (15,5)	4 (13,3)	0,25
FMO	4 (6,9)	0 (0,0)	0,19
CIVD	1 (1,7)	1 (3,3)	0,46

*Os dados são apresentados como média ± desvio padrão ou contagem (%).

** P = significância estatística

Discussão

5 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o perfil dos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas e o polimorfismo do gene da SOD 2 dos pacientes frente às intervenções cirúrgicas oncológicas, principalmente do abdômen com vistas a morbimortalidade pós-operatória. O conjunto dos resultados mostrou uma inclusão da maior parte dos indivíduos que se submeteram a cirurgias oncológicas nos anos de 2004 e 2005. A mortalidade foi inferior a 25% em 30 dias de pós-operatório e houve uma frequência maior de cirurgias no trato gastrointestinal. Quanto à presença de comorbidades, a mais prevalente foi a hipertensão arterial sistêmica. Os tipos de cirurgia mais frequentes foram a gastrectomia, a hepatectomia e a retossigmoidectomia. Os principais diagnósticos das doenças malignas foram o adenocarcinoma de estômago e de cólon. Complicações pós-operatórias ocorreram em 50% dos pacientes investigados. As causas de morte foram sépsis, falência múltipla de órgãos e coagulação intravascular disseminada. Os resultados mostraram a associação negativa entre o polimorfismo do gene da SOD 2 de pacientes submetidos a cirurgias oncológicas em 30 dias de pós-operatório e idade, gênero, co-morbidade, ASA, e complicações pós-operatórias, com exceção a infecção do trato urinário na qual foi observada diferença significativa. Não foi observada associação entre o polimorfismo da SOD 2 e topografia da (s) lesão(ões), tipo histológico, comprometimento linfonodal, e morte em até 30 dias de pós-operatório (mortalidade operatória). Quanto à presença do alelo A foi detectado diferença estatística com presença de diabete mérito no pré-operatório. Quanto à

presença do alelo B, foi observada diferença estatística com a presença de doença cardiovascular, infecção do trato urinário e acidente vascular cerebral no pré-operatório. Foi observado significância limítrofe entre a presença do alelo B e a ocorrência de fístula êntero-cutânea.

5.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE O EQUILÍBRIO POPULACIONAL DA AMOSTRA

A teoria da evolução é hoje essencialmente o que Darwin estabeleceu ainda no século XIX. Ele postulou que as espécies teriam se originado de um ancestral comum diversificando-se através de mutações ao acaso, com as espécies melhor adaptadas sendo naturalmente selecionadas, prevalecendo por terem maior vigor reprodutivo e, conseqüentemente, passando esta vantagem às suas descendências. Pouco depois, Mendel demonstrou que a herança era determinada por elementos discretos (genes), que segregavam independentemente nas gerações, confirmando a segunda parte da teoria de Darwin. Posteriormente, a variabilidade randômica observada por Darwin como uma lei natural básica foi identificada às modificações estáveis nos genes que eram transmitidas às gerações seguintes. Chamou-se este efeito de mutação⁽⁶⁶⁾. Entretanto, o conceito unificador da genética de populações, veio a partir da lei Hardy Weinberg: 1. Se a população é suficientemente grande, 2. os acasalamentos ocorrem ao acaso, 3. o ambiente permanece estável por longo tempo (isto é, não há pressões seletivas) e 4. as forças evolucionárias (introgressão, mutação) não estão atuando sobre a população, então as frequências dos genes transmitidos ao longo das gerações permanecem estáveis, ou seja, em equilíbrio. Assim, as frequências genotípicas devem manter-se em 3 combinações: AA – 25%, BB – 25%, e AB – 50%. Na comparação entre estes genótipos esperados para o gene da SOD 2 e os encontrados em nosso estudo nos pacientes submetidos a

cirurgias oncológicas: AA – 34%, BB – 25% e AB – 41%, não foi detectada diferença significativa, confirmando que esta amostra é representativa de uma população estável, em equilíbrio.

5.2 COMENTÁRIOS SOBRE OS PRINCIPAIS ACHADOS DESCRITOS NO ESTUDO

5.2.1 QUANTO À IDADE

Os resultados obtidos não mostraram associação da idade do paciente com o polimorfismo do gene da SOD 2 na morbi-mortalidade pós-operatória até 30 dias. Mesmo que o estresse oxidativo tenha sido associado ao envelhecimento, estudos relacionando a idade com o polimorfismo genético do gene da SOD 2 são escassos. Análise adicional dividindo-se os pacientes em dois grupos (até 59 anos e acima de 60 anos) e correlacionando-os ao polimorfismo do gene da SOD 2 na morbi-mortalidade PO até 30 dias (dados não explicitados nos resultados) não detectou diferença significativa entre os dois grupos. Pode-se observar que o procedimento cirúrgico oncológico pode ser indicado e realizado independentemente da idade do paciente e do polimorfismo do gene da SOD 2.

5.2.2 QUANTO AO GÊNERO

Observou-se uma frequência relativamente maior de homens do que de mulheres entre os pacientes que foram submetidos a cirurgias oncológicas. Apesar da grande quantidade de evidências demonstrando diferenças demográficas, biológicas e clínicas, na morbi-mortalidade por câncer entre os gêneros, apenas um estudo relacionando gênero e o polimorfismo genético da SOD 2 foi encontrado. Na publicação citada, a associação da carcinogênese hepática com o gênero e o

polimorfismo da SOD 2, em ratos, foi determinada pela dosagem das enzimas superóxido dismutase, peroxidase glutaciona e catalase (enzimas anti-oxidantes). Neste estudo, houve associação positiva para o gênero masculino, que apresentou um aumento no estresse oxidativo, maior incidência de tumores hepáticos e dano oxidativo acumulado⁽⁶⁷⁾. Nosso estudo não demonstrou diferença significativa entre o gênero dos pacientes e o polimorfismo da SOD 2.

5.2.3 QUANTO ÀS CO-MORBIDADES

Na cirurgia do paciente oncológico, as enfermidades prévias têm um papel importante no sucesso do procedimento. Liu e Leung⁽⁶⁸⁾ demonstraram que os eventos intra-operatórios foram menos importantes que as co-morbidades na predição de respostas adversas pós-operatórias. Destacam-se as seguintes enfermidades, que devem ser consideradas no paciente que será submetido a um procedimento cirúrgico: (1) HAS; (2) DPOC; (3) doenças cardiovasculares (doença arterial coronariana, como a angina e o infarto agudo do miocárdio e arritmias cardíacas) e (7) diabete mérito. A HAS e o DPOC foram as co-morbidades mais frequentemente encontradas nos pacientes cirúrgicos por nós investigados (64% e 18%, respectivamente). Uma frequência similar de co-morbidades foi encontrada em um estudo multicêntrico realizado por Lopez-Encuentra *et al*⁽⁶⁹⁾, com pacientes portadores de câncer de pulmão tratados cirurgicamente. Na amostra investigada por tais autores, 73% dos pacientes apresentavam as seguintes co-morbidades: DPOC, HAS, outra neoplasia associada, DCV e DM. No nosso estudo, a associação entre as co-morbidades prévias, e o polimorfismo da SOD 2 nos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas, não revelou diferença significativa. Já foi demonstrado que as doenças como HAS⁽⁷⁰⁻⁷²⁾, DPOC⁽⁷³⁾, DCV^(74,75) e DM^(76,77) apresentam-se associadas à expressão do gene da SOD 2 e seu polimorfismo,

porém, no que diz respeito ao polimorfismo da SOD 2 e as co-morbidades nos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas, não existem dados na literatura.

5.2.4 QUANTO ÀS COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS

A frequência de complicações pós-operatórias observadas no estudo foi relativamente alta (50%), em relação a outros estudos semelhantes. Norton *et al*⁽⁷⁸⁾ investigaram pacientes submetidos a cirurgias abdominais por tumores neuroendócrinos e encontraram uma taxa de complicações pós-operatórias de 30%. Chuwa *et al*⁽⁷⁹⁾, analisando a ressecção cirúrgica abdômino-perineal de tumores colo-retais encontraram uma frequência de complicações pós-operatórias de 13,6%. Por outro lado, Portanova *et al*⁽⁸⁰⁾ demonstraram que no tratamento cirúrgico do câncer gástrico a morbidade pode chegar à 22%. Diversos fatores podem alterar o curso pós-operatório dos pacientes, Velasco *et al*⁽⁸¹⁾ realizaram um estudo prospectivo em amostras sanguíneas de pacientes submetidos a cirurgias oncológicas para avaliar a epidemiologia, a microbiologia e o valor prognóstico da infecção. Encontraram um índice de 57,1% de complicações pós-operatórias infecciosas.

Em nosso estudo, um terço dos pacientes que apresentaram algum tipo de complicação morreu até os trinta dias após a cirurgia. Das complicações observadas, a sépsis foi a mais frequente, acometendo 50% dos pacientes que apresentaram complicações, e ao mesmo tempo sendo a causa da morte da metade deles, seguida da broncopneumonia, que afetou praticamente a metade (45,83%) dos pacientes que apresentaram complicações. Os pacientes do nosso estudo que apresentaram genótipo AA para o gene da SOD 2 foram os únicos que apresentaram infecções do trato urinário no pós-operatório (em 20% das vezes, $P = 0.002$). Ao estudarmos a relação entre a presença de algum alelo A e complicações,

não foi detectada nenhuma correlação. Quando estudamos a influência da presença de algum alelo B com a ocorrência de complicações pós-operatórias, verificamos que este pode ser um fator protetor contra infecção do trato urinário (não houve nenhum caso entre portadores de alelo B; $P = 0,001$), e contra acidente vascular cerebral (não foi verificado nenhum caso de AVC entre pacientes com algum alelo B; $P = 0,04$). Houve também uma associação com significância limítrofe entre a proteção contra fístulas êntero-cutâneas e a presença de algum alelo B ($P = 0,10$). Na literatura atual, não existe, à parte de nosso estudo, nenhum trabalho que compare a influência do polimorfismo do gene da SOD 2 com a ocorrência de complicações pós-operatórias.

5.2.5 QUANTO À TOPOGRAFIA DA(S) LESÃO(ÕES)

Considerando a localização da(s) lesão(ões) associada(s) aos diagnósticos mais frequentes observados no estudo, as cirurgias oncológicas no trato gastrointestinal foram as mais frequentes (85%). Este achado não foi inesperado. Um levantamento de morbidades a partir dos dados de internações hospitalares, utilizando como fonte o DATASUS⁽⁸²⁾, mostrou que no estado do Rio Grande do Sul houve, em 2003, 3.749 internações para a realização de procedimentos cirúrgicos por neoplasias do trato gastrointestinal, demonstrando a alta prevalência destas condições.

No que se refere às neoplasias do trato gastrointestinal, é importante considerar o câncer gástrico. A prevalência e a mortalidade desta doença são significativamente maiores nos indivíduos do sexo masculino. A proporção geral do câncer gástrico em relação ao gênero é de dois homens para cada mulher. Na etiologia do adenocarcinoma gástrico, cabe salientar que a incidência desta doença, a exemplo do que se conhece sobre as neoplasias de cólon, pode ser explicada por diversas

teorias, provavelmente complementares, que relacionam fatores intrínsecos e extrínsecos. No caso do cólon, segunda localização mais frequente de acometimento tumoral nos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas deste estudo, elas incluem exposição da mucosa colônica por um período prolongado a agentes carcinogênicos, hiperproliferação das células crípticas e o aumento da suscetibilidade da mucosa colônica à transformação maligna, com o passar do tempo⁽⁵⁾.

Não foi observada associação entre a topografia da(s) lesão(ões) e o polimorfismo da SOD 2 em nosso estudo. Cullen *et al*⁽³⁸⁾ demonstraram, através de um estudo em várias linhagens tumorais de células pancreáticas, que estas células apresentavam níveis reduzidos da enzima superóxido dismutase dependente de manganês (SOD 2) em comparação com as células pancreáticas normais, sugerindo que esta proteína pode ser um gene de supressão tumoral em neoplasias pancreáticas. A carcinogênese do câncer colo-retal foi associada a um importante estresse oxidativo, o que foi confirmado pelas alterações nos níveis das enzimas anti-oxidantes⁽⁸³⁾. Associação positiva ocorreu entre a suscetibilidade ao carcinoma hepatocelular e o polimorfismo da SOD 2⁽⁸⁴⁾. Por outro lado, Terry *et al*⁽⁸⁵⁾ não estabeleceram associação entre o polimorfismo genético da SOD 2 e risco de desenvolvimento do câncer de bexiga. Em outro estudo associando o polimorfismo da SOD 2 e câncer gástrico não foi encontrada diferença estatística⁽⁸⁶⁾.

Algumas considerações ainda podem ser feitas sobre a topografia da(s) lesão(ões):

1. A cirurgia abdominal por câncer e, em especial, as do trato gastrointestinal, como a maioria das cirurgias realizadas e analisadas por este estudo, está relacionada ao processo inicial de formação de

radicais livres e conseqüentemente estresse oxidativo, pela simples manipulação das alças de intestino delgado;

2. A cirurgia do trato gastrintestinal, por menor que seja a intervenção, tem na manipulação intestinal um passo fundamental na realização técnica da cirurgia;
3. A simples manipulação do intestino delgado oferece risco de lesão tecidual à distância, para o pulmão e fígado, comprovadamente.
4. O estresse oxidativo causado pelo trauma de uma laparotomia e conseqüente manipulação intestinal é responsável pela disfunção na mitocôndria da célula intestinal e conseqüente lesão no enterócito;

5.2.6 QUANTO AO TIPO HISTOLÓGICO

Aproximadamente 80% dos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas apresentavam adenocarcinoma do trato gastrintestinal. Bergman *et al*⁽⁵²⁾ associaram o polimorfismo genético da SOD 2 com o risco de desenvolver câncer de mama em mulheres jovens. A redução da expressão desta proteína foi observada em muitos tecidos neoplásicos. Resultados semelhantes foram encontrados em um estudo de caso-controle com mulheres portadoras de câncer de mama⁽⁸⁷⁾. E, ainda, a associação positiva entre o polimorfismo da SOD 2 e a carcinogênese do câncer de ovário foi descrita por Olson *et al*⁽⁸⁸⁾.

5.2.7 QUANTO AO COMPROMETIMENTO LINFONODAL

Os tumores podem metastatizar-se por três vias principais: 1) sistema linfático para linfonodos regionais, como mama, estômago, cólon; 2) corrente sanguínea para órgãos distantes, frequentemente fígado, pulmões, encéfalo ou ossos; 3) pelas cavidades corporais, como carcinoma ovariano. Geralmente, os carcinomas

disseminam-se inicialmente para linfonodos regionais e depois para locais distantes. Em contrapartida, os sarcomas podem disseminar-se, através da corrente sanguínea, para órgãos distantes sem envolvimento de linfonodos regionais. Muitos tumores exibem padrões característicos de disseminação ou uma predileção por metástases quanto a órgãos específicos. Estes dependem dos padrões anatômicos de drenagem linfática e venosa e da capacidade das micrometástases colonizarem e proliferarem em um determinado microambiente.

Considerando o envolvimento linfonodal e sua associação com o polimorfismo da SOD 2, não foi detectada diferença significativa nesta investigação. Poucos estudos relatam uma correlação positiva entre a expressão do gene da SOD 2 e a invasão venosa, assim como a invasão linfonodal, sugerindo maior agressividade tumoral. A enzima superóxido dismutase manganês está reduzida em uma grande variedade de neoplasias malignas, sugerindo sua ação supressora tumoral; por outro lado, a expressão aumentada da SOD 2 pode diminuir os efeitos tóxicos de uma série de modalidades anti-câncer, como o fator de necrose tumoral, a radiação ionizante, algumas drogas quimioterápicas, e a hipertermia^(41,89).

5.2.8 QUANTO À MORTE ATÉ 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO E CAUSA DE MORTE

A mortalidade operatória dos pacientes que participaram deste estudo foi de 21,6%, comparando-se a análises semelhantes. Não foi observada relação entre o polimorfismo genético da SOD 2 e a mortalidade operatória. A causa de morte mais frequentemente observada no estudo foi por sépsis, FMO e CIVD. A sépsis, que neste estudo foi desencadeada por complicações pós-operatórias, apresenta graus variados de gravidade, dependendo da região abordada, devido ao tipo da flora local

e da carga bacteriana. Além disto, as condições gerais do paciente são cruciais para que se obtenha uma resolução favorável da doença.

Quanto à segunda causa de mortalidade nos pacientes investigados, a falência múltipla de órgãos, provavelmente advém dos efeitos irreversíveis do estresse oxidativo e da progressão da doença, tendo sido esgotadas todas as estratégias terapêuticas disponíveis.

A coagulação intravascular disseminada, terceira e última causa de morte detectada nos pacientes deste estudo é consequência da ativação do mecanismo da coagulação que tem início pelo caminho extrínseco, às custas do fator tecidual (FT). Esse fator fica exposto quando a célula endotelial é ativada pela trombina, ou por outras substâncias, ou quando os constituintes da parede vascular e/ou o tecido perivascular entram em contato com o sangue após lesão do endotélio. Por outro lado, o nível de FT pode ficar elevado na circulação ao ser liberado por diversos tipos de células malignas, como as da leucemia promielocítica. As células malignas, também podem liberar outros tipos de substâncias com atividade tromboplástica. Nas infecções, assim como na sépsis, o nível de FT, no sangue, pode estar elevado devido à ação de endotoxinas, fator de necrose tumoral, interleucina-1 e de outras substâncias, geradas em processos inflamatórios, sobre a célula endotelial. O FT fica livre no sangue circulante quando ultrapassa o nível de seu inibidor específico - o inibidor da via do fator tecidual (TFPI = *tissue factor pathway inhibitor*). A manifestação clínica por hemorragia decorre, principalmente, quando a ativação do mecanismo fibrinolítico suplanta a da coagulação (CIVD)⁽⁹²⁾.

A mortalidade cirúrgica em cirurgia geral inicialmente variava de 8 a 33%, com morbidade em torno de 75%. Após a década de 80, a mortalidade cirúrgica atingiu taxas de 0 a 20%, associada à queda concomitante na morbidade que hoje ocorre

em cerca de 50% dos pacientes. Houve aumento das taxas de sobrevivência aos cinco anos, que passaram de 23 a 41% para 27 a 61% ⁽⁹¹⁻⁹³⁾. Como fatores relacionados aos melhores resultados da cirurgia, observa-se a melhor avaliação pré-operatória, o desenvolvimento das técnicas de anestesia, cuidados intensivos pré e pós-operatórios, uso racional de antibióticos e profilaxia da trombose venosa profunda⁽⁹²⁾.

5.3 CONSIDERAÇÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES PRÁTICAS DOS RESULTADOS

Com base nos resultados obtidos no presente estudo e na discussão sobre o polimorfismo da SOD 2 nos pacientes submetidos a cirurgias oncológicas, destacam-se os seguintes aspectos:

- O tratamento cirúrgico para o câncer, desde a Antiguidade é uma das melhores maneiras de conduzir a doença. Mesmo hoje, com os avanços percebidos em biologia molecular, a cirurgia ainda é a base do tratamento da maioria das neoplasias;
- Para tanto, deve ocorrer a ruptura de alguns mitos correntes relacionados com a cirurgia, que incluem: (1) que o paciente com doença metastática tenha uma doença incurável; (2) que os pacientes podem não tolerar o tratamento adequado, visto que o procedimento pode atingir grandes dimensões, como ocorre em cirurgias radicais, com grande volume tumoral, extensas ressecções, enfim, cirurgias oncológicas. Porém já existe um consenso sobre estas cirurgias; (3) que os pacientes não suportarão a anestesia; (4) como o paciente oncológico tem um prognóstico reservado, não se justifica expô-lo a possíveis tratamentos tóxicos. Entretanto, se tal exposição garantir melhora na qualidade de vida e preservação da

qualidade funcional do doente, ela deve ser considerada; (5) entender que a qualidade do tratamento sempre depende da qualidade do diagnóstico, estudos que avaliem problemas específicos para esta população, são de vital importância; (6) a predição de morbi-mortalidade no paciente oncológico está centrada na saúde clínica. Na tentativa de buscar outros fatores associados à morbi-mortalidade operatória, os estudos genéticos proporcionaram um conhecimento extraordinário.

O fato de não havermos identificado grandes correlações entre o polimorfismo do gene da SOD 2 e a morbi-mortalidade pós-operatória em nosso estudo, leva-nos a tecer ainda duas considerações. Em primeiro lugar, isto pode ter ocorrido devido à insuficiência de uma amostragem suficiente para detectar diferenças sutis percebidas. Talvez, com um maior tamanho amostral, estas diferenças pudessem ser salientadas. Em segundo lugar, a ausência de associações importantes pode refletir o fato de que a via dos mecanismos de proteção celular contra ações oxidativas possa ser mais complexa do que o até agora estudado, com a ação da SOD 2 sendo apenas parte de um mecanismo mais complexo, com a participação de outras enzimas relevantes na prevenção das complicações pós-operatórias e da mortalidade em pacientes submetidos a cirurgias oncológicas.

Para que haja um tratamento cada vez mais adequado do paciente oncológico, em todas as especialidades médicas, incluindo a cirurgia, deve ser salientada a necessidade de um elevado grau de capacitação do médico, incluindo informações a respeito do comportamento biológico do paciente e a formação de equipes interdisciplinares. Uma criteriosa indicação terapêutica, em equipe, que conte com uma cuidadosa avaliação pré-operatória, anestesia segura e meticoloso cuidado

pós-operatório, são imprescindíveis para o sucesso terapêutico, com perspectiva de diminuição das taxas de morbidade e mortalidade ⁽⁵⁾.

Conclusões

6 CONCLUSÕES

De um total de 88 pacientes que foram submetidos a cirurgias oncológicas nos anos de 2004 e 2005, com idade média de $61,0 \pm 7,38$, sendo 59% do sexo masculino e 41% do sexo feminino:

- A distribuição genotípica dos pacientes foi : AA – 34,1%; BB – 25,0%; e AB – 40,9%, para o gene da SOD 2;
- A população investigada apresentava-se em equilíbrio segundo as proporções esperadas pela equação de Hardy-Weinberg;
- Cinquenta pacientes (56,8%) apresentaram alguma complicação pós-operatória relacionada à cirurgia oncológica. A complicação mais frequente foi sépsis, ocorrendo em 24 pacientes (27,3%) do total de pacientes. Broncopneumonia foi a segunda complicação em frequência, afetando 10 pacientes (11,4% do total). Dezenove pacientes (21,6%) foram ao óbito no primeiros 30 dias de pós-operatório, sendo sépsis a causa mais comum de óbito (63,2% dos óbitos).
- As seguintes variáveis foram associadas ao polimorfismo da SOD 2: infecção do trato urinário ocorreu exclusivamente em pacientes com genótipo AA, sendo que a presença do alelo B foi fator de proteção contra este evento. A presença do alelo B também foi fator de proteção contra acidentes vasculares cerebrais no pós-operatório, havendo significância limítrofe contra a

ocorrência de fístulas êntero-cutâneas. Não houve outras associações com as demais complicações ou com mortalidade.

Referências Bibliográficas

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chaimowicz F. A saúde dos idosos brasileiros às vésperas do século XXI: problemas, projeções e alternativas. *Rev. Saúde Pública*; 1997;31(2):184-200.
2. <http://www.cancer.org>. Acesso em 01/09/2005.
3. Cohen M. Oncology and aging: general principles of cancer in elderly. In: Hazzard WRBJ, Ettinger WIL Halter JB, Ouslander JG, et al, eds. *Principles of geriatric medicine and gerontology*. 1st edition New York: McGraw-Hill; 1999. p. 117-131.
4. McDermott U, Johnston PG. Princípios e prática da oncologia. In: Spence RA, Johnston PG. *Oncologia*. 2003; 1:3-10.
5. Rosenberg S. Principles of Cancer Management: Surgical Oncology. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer – Principles & Practice of Oncology*. 6th Ed 2000. 15:253-262.
6. Greenburg A, Saik R, Farris J, *et al*. Operative mortality in general surgery. *Am J Surg*; 1982; 144:22-28.
7. <http://www.who.int/en>.
8. Laitano F. Análise da idade como fator de risco, independente do gênero e local anatômico, na prevalência de lesões malignas da pele [Dissertação de Mestrado]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2002.
9. S Perwez Hussain CCH. Molecular Epidemiology and Carcinogenesis: Endogenous and Exogenous Carcinogens. *Mutation Research* 2000; 462:311-322.
10. Hristozov D, Gadjeva V, Vlaykova T, Dimitrov G. Evaluation of oxidative stress in patients with cancer. *Arch Physiol Biochem*. 2001 Oct;109(4):331-6.

11. Miranda A, Janssen L, Bosman C, Duijin W, Ruit O, Kubben F, Griffioen G, Lamers C, Han Krieken J, Velde C, Verspaget H. Superoxide dismutase in gastric and esophageal, cancer and the prognostic impact in gastric cancer. *Clin Cancer Res.* 2000 Aug;6(8):3183-92.
12. http://www.geocities.com/-esabio/genoma/projetogenoma_fim.htm.
13. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Damell JE. *Cancer. Molecular Cell Biology 3d ed* New York, 1995:1247-94.
14. Bradford RW, Allen HW, Culbert ML. In: *Oxidology -The study of reactive oxygen toxic species and their metabolism in health and disease.* The Robert W Bradford Foundation, Los Altos, California, 1985.
15. Ambrosone CB, Freudennhelm JL, Thompson P A, Bowman E, Vepa JE, Marshall IR, et al. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) genetic polymorphisms, dietary antioxidants, and risk of breast cancer. *Cancer Res.* 1999 Feb; 59:602-606.
16. Olszewer EK. Flam S, Ellovitch. *Radicais Livres em cardiologia: Isquemia e Reperfusão.* São Paulo: Tecnopress 1997.
17. Champe PC, Harvey RA. *Bioquímica Ilustrada 28 Edição-Porto Alegre,* Artes Médicas 1996.
18. Li S, Yan T, Yang IQ, Oberley ID, Oberley L W. The role of celular glutathione peroxidase redox regulation in the suppression of tumor cell growth by manganese superoxide dismutase. *Cancer Res.* 2000; 60:3927-9.
19. Halliwell B. Antioxidant defense mechanism: from beginning to the end (of the beginning). *Free Radic Res.* 1999; 31(4):261-72.
20. Hayflick L. *Como e porque envelhecemos.* 10ª edição. São Paulo: Ed. Campus. 1996.
21. Fleshner NE, Klotz LH. Diet, androgens, oxidative stress and prostate cancer susceptibility. *Cancer Metastases. Rev.* 1998-99; 17(4):325-30.
22. Hietanen E, Bartsch H, Bereziat IC, Camus AM, McClinton S, Eremin O, et al. Diet and oxidative stress in breast, colon and prostate cancer patients: a case-control study. *Eur J Clin Nutr.* 1994 Aug; 48(8):575-64.

23. Kushi LH, Folsom AR, Prineas RI, Mink PI, Wu Y, Bostick RM. Dietary antioxidant vitamins and death from coronary heart disease in postmenopausal women. *N Engl J Med.* 1996;334:1156-62.
24. Schwenke DC, Behr SR. Vitamin E combined with Selenium inhibits atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits independently of effects on plasma cholesterol concentrations. *Circ Res.* 1998; 83:366-77.
25. Meydani M, Lipman RD, Han SN, Wu D, Beharka A, Martin KR, et al. The effect of long term dietary supplementation with antioxidants. *Ann N Y Acad Sci.* 1998 Nov; 854:352-60.
26. Klipstein-Grobush K, Geleijnse J, den Breeijen JH, Boieng H, Hofman A, Grobbee DE, et al/. Dietary antioxidant and risk of myocardial infarction in the elderly: the Rotterdam Study. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69:261-66.
27. Zou JG, Huang YZ, Chen Q, Wei EH, Hsieh TC, Wu IM. Resveratrol inhibits copper ion induced and azo compound-initiated oxidative modification of human low density lipoprotein. *Biochem Mol Biol Int.* 1999 Jun; 47(6):1089-96.
28. Biri H, Ozturk HS, Kacmaz M, Karaca K, Tokucoglu H, Durak I. Activities of DNA turnover and free radical metabolizing enzymes in cancerous human prostate tissue. *Cancer Invest.* 1999; 17(5):314-19.
29. Panssarasa O, Bertorelli L, Vecchiet J, Felzani G, Marzatico F. Age-dependent changes of antioxidant activities and markers of free radical damage in human skeletal muscle. *Free Radic Biol Med.* 1999; 27(5-6):617-22.
30. Van Landeghem GF, Tabatabaie P, Kucinskas V, Saha N, Beckman G. Ethnic variation in the mitochondrial targeting sequence polymorphism of MnSOD. *Hum Hered.* 1999; 49(4):190-3.
31. Lee WH, Morton RA, Epstein JI, et al. Cytosine methylation of regulatory sequences near the pi class glutathione s-transferase gene accompanies human prostatic carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994; 91:11733-37.
32. Isaacs WB, Bova GS, Morton RA, et ai. Molecular genetics and chromosomal alterations in prostate cancer. *Cancer.* 1995; 75:2004-12.
33. Skrzydlewska E, et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2005 Jan; 11(3):403-6.

34. Griffiths AJF, Miller JH, Suzuki DT, Lewontin RC, Gelbart WM. *Introdução à Genética*. 6ª Edição. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 1996. 856p.
35. Gutteridge JMC, Halliwell B. Free Radicals and Antioxidants in the Year 2000: A Historical Look to the Future. *Ann New York Academy of Sciences*. 2000; 899: 136-147.
36. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RI. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med*. 2002 Aug 1; 33(3):337-49.
37. Huang P, Feng L, Oidham EA, Keating MJ, Plunkett W. Superoxide dismutase as a target for the selective killing of cancer cells. *Nature* 2000 Sep 21; 407(6802):309-11.
38. Cullen JJ, Weydert C, Hinkhouse MM, Ritchie J, Domann FE, Spitz D, Oberley L W. The role of manganese superoxide dismutase in the growth of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res*. 2003. Mar 15;63(6):1297-303.
39. Bostwick DG, Alexander EE, Singh R, Shan A, Qian J, Santella RM, Oberley LW, Yan T, Zhong W, Jiang X, Oberley ID. Antioxidant enzyme expression and reactive oxygen species damage in prostatic intraepithelial neoplasia and cancer. *Cancer* 2000 Jul 1;89(1):123-34.
40. Plymate SR, Haugk KH, Sprenger CC, Nelson PS, Tennant MK, Zhang Y, Oberley L W, Zhong W, Drivdahl R, Oberley ID. Increased manganese superoxide dismutase (SOD-2) is part of the mechanism for prostate tumor suppression by Mac25/insulin-like growth factor binding-protein-related protein-1. *Oncogene*. 2003 Feb 20;22(7):1024-34.
41. Toh Y, Kuninaka S, Oshiro T, Ikeda Y, Nakashima H, Baba H, Kohnoe S, Okamura T, Mori M, Sugimachi K. Overexpression of manganese superoxide dismutase mRNA may correlate with aggressiveness in gastric and colorectal adenocarcinomas. *Int J Oncol*. 2000 Jul;17(1):107-12.
42. Kim KH, Rodriguez AM, Carrico PM, Melendez IA. Potential mechanisms for the inhibition of tumor cell growth by manganese superoxide dismutase. *Antioxid Redox Signal*. 2001 Jun; 3(3):361-73.

43. Xu Y, Krislman A, Wan XS, Majima H, Yeh CC, Ludewig G, Kasarskis EI, St Clair DK. Mutations in the promoter reveal a cause for the reduced expression of the human manganese superoxide dismutase gene in cancer cells. *Oncogene*. 1999 Jan 7;18(1):93-102.
44. Oberley LW. Anticancer therapy by overexpression of superoxide dismutase. *Antioxid Redox Signal*. 2001 Jun; 3(3):461-72.
45. Lin MT, Wang MY, Liaw KY, Lee PH, Chien SF, Tsai JS, Lin-Shiau SY. Superoxide dismutase in hepatocellular carcinoma affects patient prognosis. *Hepatogastroenterology* 2001 Jul-Aug; 48(40):1102-5.
46. Bravard A, Sabatier L, Hoffschir F, Ricoul M, Luccioni C, Dutrillaux B. SOD2: a new type of tumor-suppressor gene? *Int J Cancer* 1992 May 28; 51(3):476-80.
47. Andreassen CN, Alsner J, Overgaard M. Prediction of normal radiosensitivity from polymorphisms in candidate genes. *Radiother Oncol*. 2003 Nov; 69(2):121-5.
48. Venter JC, et al. The sequence of the human genome. *Science*. 2001 Feb; 291(5507):1304-51.
49. www.microbiologia.uftj.br.
50. Hileman EA, Achanta G, Huang P. Superoxide dismutase: an emerging target for cancer therapeutics. *Expert Opin Ther Targets*. 2001 Dec; 5(6):697-710.
51. Kocabas NA, Sardas S, Cholerton S, Daly AI, Elhan AH, Karakaya AE. Genetic polymorphism of manganese superoxide dismutase (MnSOD) and breast cancer susceptibility. *Cell Biochem Funct*. 2005 Jan-Feb; 23(1):73-6.
52. Bergman M, Ahnstrom M, Palmeback Wegman P, Wingren S. Polymorphism in the manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene and risk of breast cancer in young women. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2005 Jul; 131(7):439-44.
53. Stoehlmacher J, Ingles SA, Park DJ, Zhang W, Lenz HJ. The -9Ala/-9Val polymorphism in the mitochondrial targeting sequence of the manganese superoxide dismutase gene (MnSOD) is associated with age among Hispanics with colorectal carcinoma. *Oncol Rep*. 2002 Mar-Apr; 9(2):235-8.
54. Tamini RM, Hankinson SE, Spiegelman D, Colditz GA, Hunter DJ. Manganese superoxide dismutase polymorphism, plasma antioxidants, cigarette smoking,

- and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2004 Jun; Vol13,989-96.
55. Moraes MF, Souza Filho O, Machado JC. Introdução e Princípios da Cirurgia Oncológica. In: Princípios da cirurgia oncológica. Clin Bras Cir. CBC ano II. 1996. Vol. 1:1-10.
56. Bottger TC, Engelmann R, Junginger T. Is age a risk factor for major pancreatic surgery? An analysis of 300 resections. *Hepatogastroenterology*; 1999; 46(28):2589-98.
57. Lonergan E. The older surgical patient. Special medical problems in surgical patients. *Current - surgical diagnosis and treatment*; 1991; 63-66.
58. Thomas S, Karnik S, Balasubramanian KA. Surgical manipulation of the small intestine and its effect on the lung. *J Surg Res*; 2002; 106(1):145-56.
59. Thomas S, Pulimood A, Balasubramanian KA. Heat preconditioning prevents oxidative damage in the intestine and lung following surgical manipulation. *Br J Surg*; 2003; 90(4):473-81.
60. Anup R, Apama V, Puhmood A, Balasubramanian KA. Surgical stress and the small intestine: role of oxygen free radicals. *Surgery*; 1999; 125(5):560-9.
61. Ramachandran A, Patra S, Balasubramanian KA. Intestinal mitochondrial dysfunction in surgical stress. *J Surg Res*. 2001 Jul; 99(1):120-8.
62. Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Ischemic preconditioning improves microvascular perfusion injury of the intestine. *British J Surg*. 2005; 92:1169-1176.
63. Penna AM. Avaliação pré-anestésica. *Manica: Anestesiologia* 1997; 6: 62-79.
64. Rouquayrol MZ. *Epidemiologia e Saúde*. 4a ed. São Paulo: MEDSI; 1994.
65. Taufer M. Associação do polimorfismo do gene da dismutase dependente de manganês (SOD2) com doenças degenerativas associadas ao envelhecimento. Tese de Doutorado apresentada ao programa de pós-graduação em biomédica da PUCRS. 2003, 16-118.

66. Câmara FP. Variabilidade e adaptação: As bases genéticas da teoria da evolução I. Universidade do Brasil (UFRJ). Disponível em <http://www.microbiologia.ufrj.br/>.
67. Sverko V, Sobocanec S, Balog T, Marotti T. Age and gender differences in antioxidant enzyme activity: potential relationship to liver carcinogenesis in male mice. *Biogerontology*. 2004;5(4):235-42.
68. Liu L, Leung J. Predicting Adverse Postoperative outcomes in Patients Aged 80 years or Older. *Journal of American Geriatrics Society* 2000; 48:405-412.
69. Lopez-Encuentra A, Bronchogenic Carcinoma Co-operative Group. Comorbidity in operable lung cancer: a multicenter descriptive study on 2992 patients. *Lung Cancer*. 2002 Mar;35(3):263-9.
70. Paravicini TM, Drummond GR, Sobey CG. Reactive oxygen species in the cerebral circulation: physiological roles and therapeutic implications for hypertension and stroke. *Drugs*. 2004;64(19):2143-57.
71. Sato M, Kurihara N, Moridaira K, Sakamoto H, Tamura J, Wada O, Yanagisawa H. Dietary Zn deficiency does not influence systemic blood pressure and vascular nitric oxide signaling in normotensive rats. *Biol Trace Elem Res*. 2003 Feb;91(2):157-72.
72. Sato M, Yanagisawa H, Nojima Y, Tamura J, Wada O. Zn deficiency aggravates hypertension in spontaneously hypertensive rats: possible role of Cu/Zn-superoxide dismutase. *Clin Exp Hypertens*. 2002 Jul;24(5):355-70.
73. Sadowska AM, van Overveld FJ, Gorecka D, Zdral A, Filewska M, Demkow UA, Luyten C, Saenen E, Zielinski J, De Backer WA. The interrelationship between markers of inflammation and oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease: modulation by inhaled steroids and antioxidant. *Respir Med*. 2005 Feb;99(2):241-9.
74. Barandier C, Tanguy S, Pucheu S, Boucher F, De Leiris J. Effect of antioxidant trace elements on the response of cardiac tissue to oxidative stress. *Ann N Y Acad Sci*. 1999 Jun 30;874:138-55.
75. Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 2000 Aug 18;47(3):446-56.

76. Nomiya T, Tanaka Y, Piao L, Nagasaka K, Sakai K, Ogihara T, Nakajima K, Watada H, Kawamori R. The polymorphism of manganese superoxide dismutase is associated with diabetic nephropathy in Japanese type 2 diabetic patients. *J Hum Genet.* 2003;48(3):138-41.
77. Sozmen EY, Sozmen B, Delen Y, Onat T. Catalase/superoxide dismutase (SOD) and catalase/paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycaemic control. *Arch Med Res.* 2001 Jul-Aug;32(4):283-7.
78. Norton JA, Kivlen M, Schneider D, Jensen RT. Morbidity and mortality of aggressive resection in patients with advanced neuroendocrine tumors. *Arch Surg.* 2003 Aug;138(8):859-66.
79. Chuwa EW, Seow-Choen F. Outcomes for abdominoperineal resections are not worse than those of anterior resections. *Dis Colon Rectum.* 2005 Nov 16; [Epub ahead of print].
80. Portanova M, Vargas F, Lombardi E, Carbajal R, Palacios N, Rodriguez C, Orrego J, Ferrevra M. Surgical treatment for gastric cancer in a specialized service: the Rebagliati Hospital experience. *Rev Gastroenterol Peru.* 2005 Jul-Sep;25(3):239-47.
81. Velasco E, Soares M, Byington R, Martins CA, Schirmer M, Dias LM, Gonçalves VM. Prospective evaluation of the epidemiology, microbiology, and outcome of bloodstream infections in adult surgical cancer patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004 Aug;23(8):596-602.
82. DATASUS. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br>
83. Skrzydlewska E, Sulkowski S, Koda M, Zalewski B, Kanczuga-Koda L, Sulkowska M. Lipid peroxidation and antioxidant status in colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2005 Jan 21;11(3):403-6.
84. Nahon P *et al.* Genetic dimorphism in superoxide dismutase and susceptibility to alcoholic cirrhosis, hepatocellular carcinoma, and death. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005 Mar;3(3):292-8.
85. Terry PD, Umbach DM, Taylor JA. No association between SOD 2 or NQO1 genotypes and risk of bladder cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005 Mar;14(3):753-4.

86. Martin Rc, Lan Q, Hughes K, Doll MA, Martini BD, Lissowska J, Zatonski W, Rothman N, Hein DW. No apparent association between genetic polymorphisms (-102 C>T) and (-9 t>C) in the human manganese superoxide dismutase gene and gastric cancer (1). *J Surg Res.* 2005 Mar;124(1):92-7.
87. Millikan RC, Player J, de Cotret AR, Moorman P, Pittman G, Vannappagari V, Tse CK, Kedu T. Manganese superoxide dismutase Ala-9Val polymorphism and risk of breast cancer in a population-based case-control study of African Americans and whites. *Breast Cancer Res.* 2004;6(4):R264-74.
88. Olson SH, Carlson MD, Ostrer H, Harlap S, Stone A, Winters M, Ambrosone CB. Genetic variants in SOD 2, MPO, and NQO1, and risk of ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2004 Jun;93(3):615-20.
89. Satomi A, Murakami S, Hashimoto T, Ishida K, Matsuki M, Sonoda M. Significance of superoxide dismutase (SOD) in human colorectal tissue: correlation with malignant intensity. *J Gastroenterol.* 1995 Apr;30(2):177-82.
90. <http://www.lcfamadas.hpg.ig.com.br/cid.html>.
91. Lopes MJ, Standiford SB, Shibba JL, Total pelvic exenterations: a 50 year experience at the Ellis Fischel Cancer Center. *Arch. Surg.* 1994; 129:390-5.
92. Goldberg JM, Piver S, Hempling RE, et al., Improvements in pelvic exenteration: factors responsible for reducing morbidity and mortality. *Ann Surg. Oncol* 1998; 5:399-406.
93. Crowe PJ, Temple WJ, Lopes MJ, et al., Pelvic exenteration for advanced pelvic malignancy. *Semin Surg Oncol* 1999; 17:152-60.

Anexos

ANEXO 1 – Número de registro dos pacientes do estudo.

PACIENTE	REGISTRO	PACIENTE	REGISTRO
1	613848	45	431847
2	574098	46	604157
3	420255	47	531402
4	631959	48	654765
5	438047	49	182899
6	632635	50	654641
7	633251	51	654551
8	594299	52	655912
9	506610	53	653822
10	621633	54	189214
11	564957	55	655394
12	633448	56	654583
13	628259	57	595447
14	636520	58	655707
15	636011	59	648010
16	636518	60	656197
17	636444	61	655178
18	588020	62	655750
19	636716	63	655356
20	637174	64	607063
21	636538	65	656667
22	633289	66	642642
23	638426	67	658369
24	436870	68	658391
25	638439	69	657651
26	639305	70	565303
27	639557	71	660674
28	632719	72	643831
29	640606	73	654548
30	626909	74	658535
31	639589	75	658943
32	613032	76	659777
33	641362	77	539147
34	641355	78	660607
35	607574	79	661098
36	640415	80	662220
37	641530	81	659919
38	642703	82	659920
39	642805	83	662604
40	641854	84	661609
41	643902	85	663380
42	628913	86	663823
43	577019	87	664354
44	525832	88	663930

ANEXO 2

**Association between Manganese Superoxide Polymorphism and
Postoperative Morbidity and Mortality in Oncologic Surgery**

**Christina D. Piantá¹, Gustavo F. Carvalhal, Denise C. Machado, Ariane N. Barkes,
Jarcedy M. Alves**

*Department of Surgery [C.D.P., G.F.C., J.M.A.]; and Institute of Biomedical Research
[D.C.M], Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil*

To whom address reprints should be addressed, at Department of Surgery, School of
Medicine, Pontifical Catholic University, Av. Ipiranga, 6690, cj. 601, CEP 90.610-000,
Porto Alegre, RS, Brazil.

ABSTRACT

Manganese superoxide dismutase (SOD 2) is one of the main intracellular antioxidant enzymes, participating directly in the protection of the cell against oxidative reactions, which are thought to be pivotal in carcinogenesis. Diminished expression of SOD 2 is found in a number of different neoplasms, and in some of them is correlated to an adverse prognosis. The present study was designed to correlate SOD 2 genetic polymorphism with postoperative morbidity and mortality in patients submitted to oncologic surgery at a university hospital, and to characterize the postoperative complications observed. We performed a prospective, observational study of 88 adult patients submitted to oncologic surgeries. Mean \pm SD age was 61 ± 7.4 years; 59% of patients were male. Most surgeries were performed in the gastrointestinal tract (85.2%), in most cases approaching the stomach or colon. Postoperative complications occurred in 57% of patients, with sepsis (27.3%) and bronchopneumonia (11.4%) being the most frequent. Operative mortality (up to 30 postoperative days) was of 21.6%; the main cause of death was sepsis (63.2%). Allelic frequencies of SOD 2 genetic polymorphisms were: allele A 54% and allele B 45%. Genotypic frequencies observed were: genotype AA 34.1%, genotype BB 25%, and genotype AB 40.9%. The only postoperative variable associated to SOD 2 genetic polymorphism was urinary tract infection, which occurred exclusively in AA genotype patients ($P = 0.002$). There was no association between the presence of the A allele (genotypes AA and AB) and postoperative variables. When we evaluated the association of the presence of the B allele (genotypes AB and BB) of SOD 2 and postoperative variables, there was a positive correlation with urinary tract infections ($P = 0.001$) and stroke ($P = 0.04$). There was a borderline association between the presence of the B allele (genotypes AB and BB) of SOD 2 enterocutaneous fistula ($P = 0.1$). The present study implies that SOD 2 gene polymorphism does not seem to significantly influence postoperative morbidity and mortality in patients submitted to oncologic surgery.

INTRODUCTION

During the last decades, there were important changes in the morbidity and mortality profile of the Brazilian population. In the beginning of the twentieth century, infectious diseases were major mortality causes; since the 1940s, the greater control of these diseases, in association with other demographic changes increased life expectancy substantially, which resulted in a sharp rise in the incidence of chronic and degenerative conditions. Nowadays, causes of morbidity and mortality in Brazil approach those of developed countries, with cancer being one of the major causes of death (1).

There are strong evidences indicating that the presence of oxidative stress, due to the excess of free radicals, is one of the key factors in the genesis of cancer (2, 3). Endogenous defenses against oxidative stress include the enzymes glutathione peroxidase, catalase, and superoxide dismutases. So far, three distinct forms of superoxide dismutases were found in humans: Cu/Zn SOD (SOD 1, dependent on cooper and zinc), Mn SOD (SOD 2, dependent on manganese), and the extracellular Cu/Zn SOD (SOD 3, dependent on cooper and zinc). SOD 1 is found in the cytoplasm, nucleus and lyzosomes, SOD 2 is located in the mitochondria, and SOD 3 is found in plasma, lymph, ascites, and cerebrospinal fluid. SOD 1 and SOD 2 are the main intracellular enzymes involved in the defense against oxidative reactions (4, 5, 6).

Data suggest that SOD 2 is necessary for the normal biological functioning of all tissues, helping to maintain the integrity of the mitochondrial enzymes susceptible to direct inactivation by superoxides. The importance of SOD 2 was confirmed by studies of knock-out mice models in which the lack of the enzyme was lethal, leading to neural degeneration and cardiac malfunction (5). Studies have demonstrated that increased expression of SOD 2 is associated to the inhibition of the growth of many tumor cell types, and also to a lower risk of

tumor invasion and metastases. Decreased expression of SOD 2 has been correlated with greater tumor aggressiveness, and many authors suggest its use as a possible prognostic factor. Polymorphisms of the SOD 2 gene were described. The substitution of an Alanine by a Valine in the position 9 (Ala9Val) was associated to early senescence and to a heightened risk (1.5 times) of motor neuronal disease. Recently, Ala9Val polymorphism was also associated to an increased risk (1.5 times) of breast cancer (2,7-14).

Surgery is still the mainstay of the treatment of most cancers, and oxidative stress is thought to be increased in the postoperative period, especially in major oncologic procedures (15-19). Little is known, however, about the role of SOD 2 polymorphism in the prevention of morbidity and mortality associated with the surgical treatment of cancer. Our objective was to evaluate for the first time the occurrence of SOD 2 gene polymorphism in an oncologic surgical population, and to correlate this with the occurrence of postoperative complications and death.

MATERIALS AND METHODS

Study Population. Ours was a prospective, observational study which included all patients of 18 years or older who were submitted to oncologic surgeries from November, 2004 to September, 2005 at a University Hospital. The study was approved by the Committee of Ethics in Research of our Hospital, and all patients signed a written informed consent on the participation in the study.

Laboratory Analysis. In order to extract DNA for SOD 2 genotyping, blood was collected with disposable vacuum collection devices. Of each volunteer, were collected 5 cc of peripheral blood in a tube containing 0.1% EDTA. Genomic DNA was extracted using DNA purification kit GFX Genomic Blood DNA Purification (Amersham Biosciences, EUA), and stored at -20°C for later genotyping. We basically evaluated base changes and genetic polymorphism in the position 9 of the sequence of aminoacids which form SOD 2, since the change of a Valine to Alanine in this position (GTT to GCT) may diminish the antioxidant capacity of this enzyme, predisposing to greater oxidative damage of the cellular DNA by free radicals such as the superoxide. The possible genotypes encountered were denominated AA, AB, and BB, according to Ambrosone *et al.* (20) SOD 2 genotyping through polymerase chain reaction / restriction fragments length polymorphism (PCR/RFLP) was performed according to Taufer *et al.* (21), and is described bellow:

1. PCR – The amplification of the SOD 2 gene sequence containing the polymorphism studied was performed using 40 pmol of the initiator oligonucleotides (direct 5'GCCCAGCCTGCGTAGACGGTCCCGC3' and reverse 5'TGCCTGGAGCCCAGATAC-CCCAAG3'), TaqDNApolymerase (1,25 U) and dNTPs, using reaction buffer [10 mM buffer Tris-HCl (pH8,3), 50 nM KCl and 1,0mM MgCl₂].

2. RFLP – The amplified product containing 110 pb was visualized through 2% agarose gel eletrophoresis stained with ethidium bromide. Afterwards, genotyping was performed through RFLP, in which the amplified product was digested with 15 U of restriction endonuclease *Hae* III (Invitrogen, EUA), at 37°C, for six hours. Digested fragments were visualized through 2% agarose gel stained with ethidium bromide (Figure 1).

POLYMORPHISM OF RESTRICTION FRAGMENTS

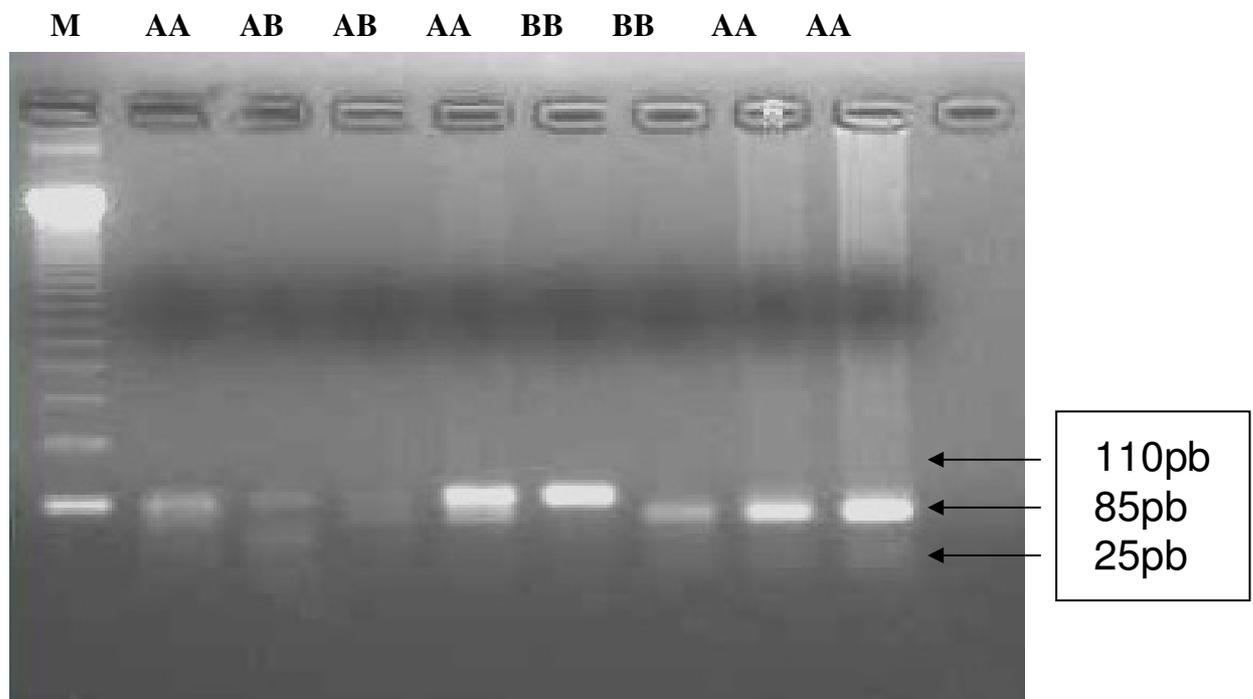


Fig. 1. SOD 2 genetic polymorphism. Fragments after digestion with restriction enzyme *Hae* III after 2% agarose gel eletrophoresis.

Statistical Analysis. Quantitative variables were described using means and standard deviations, and discreet variables with counts and percentages. Comparisons between quantitative data and the groups of polymorphisms were done using analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's *post hoc* test. Comparisons between two groups were done with Student's *t* test. To compare discreet data, we used Chi-square and Fisher's exact tests. The level of significance was 5%; data were analyzed with the software SPSS version 11.5.

RESULTS

Eighty-eight patients older than 18 years were included in the study. Mean patient age \pm SD was 61 ± 7.38 years, ranging from 19 to 97 years. Fifty-two patients were male (59%), and 36 (41%) were female. Of the 88 patients, 50 (56.8%) developed postoperative complications. Sepsis was present in 24 (27.3%), pneumonia in 10 (11.4%), enterocutaneous fistula in 13 (14.8%), abscess in 10 (11.4%), acute renal insufficiency in 9 (10.2%), pulmonary embolism in 7 (8%), urinary tract infection in 6 (6.8%), disseminated intravascular coagulation (DIVC) in 4 (4.5%), deep venous thrombosis in 3 (3.4%), acute arterial occlusion in 2 (2.7%), cerebrovascular accident in 2 (2.7%), and acute myocardial infarction in 1 (1.1%). Of these, 34 (68.0%) patients survived the first 30 postoperative day, 8 with colonic adenocarcinoma, 8 with gastric adenocarcinoma, 2 with hepatocarcinoma, 4 with hepatic metastasis, 3 with adenocarcinoma of the small intestine, 2 with gastrointestinal stromal tumors, 2 with esophageal/cardiac epidermoid carcinoma, 1 with melanoma, 2 with retroperitoneal tumors, 1 with ovarian carcinoma, and 1 with uterine epidermoid carcinoma. Of the 16 (32.0%) patients who died, 6 (37.5%) presented gastric adenocarcinoma, 5 (31.3%) presented colonic adenocarcinoma, 2 (12.5%) with unknown primary metastatic carcinoma, 1 (6.3%) with epidermoid carcinoma or the uterine cervix, 1 with metastatic colorectal adenocarcinoma, 1 (6.3%) with pancreatic adenocarcinoma and 1 (6.3%) with biliary cystoadenocarcinoma.

Table 1 shows the type of 122 surgeries performed in the 88 patients, according to anatomic location. The most common site of surgery was the gastrointestinal tract, in which 75 (85.2%) surgeries were performed; 8 surgeries involved the genitourinary tract (9.1%), 4 (4.5%) were in the retroperitoneum, and 1 (1.1%) had unknown primary origin. Overall, gastrectomy was the most commonly performed surgical procedure.

Table 1. *Type of oncologic surgery procedures according to anatomic location*

Anatomic location	n(%)	Type of surgery
Esophagus, stomach and small bowel (n=32)	14 (43.8)	Partial Gastrectomy
	7 (21.9)	Total Gastrectomy
	5 (15.6)	Enterectomy
	4 (12.5)	Esophagogastrectomy
	1 (3.1)	Duodenostomy
	1 (3.1)	Degastrectomy
Colon and rectum (n=35)	13 (37.1)	Retosigmoidectomy
	10 (28.6)	Ileocelectomy
	7 (20)	Partial Colectomy
	2 (5.8)	Abdominoperineal amputation
	1 (2.9)	Colostomy
	1 (2.9)	Colon-colonic bypass
Liver and Biliary tract (n=18)	1 (2.9)	Apendicectomy
	6 (33.5)	Trisegmentectomy
	5 (27.8)	Cholecystectomy
	3 (16.6)	Partial Hepatectomy
	2 (11.1)	Hepatic Devascularization
	1 (5.5)	Choledocoplasty
Pancreas (n=10)	1 (5.5)	Biliary tumor resection
	5 (50)	Duodenopancreatectomy
	4 (40)	Partial Pancreatectomy
	1 (10)	Pancreatojejunostomy
Genitourinary tract (n=9)	2 (22.2)	Pan-histerectomy
	2 (22.2)	Radical Nephrectomy
	2 (22.2)	Ureterectomy
	1 (11.1)	Partial Cystectomy
	1 (11.1)	Radical Cystectomy
Retroperitoneum (n=7)	1 (11.1)	<i>Debulking</i>
	7 (100)	Retroperitoneal tumor resection
Other (n=11)	5 (45.5)	Esplenectomy
	4 (36.3)	Adrenalectomy
	2 (18.2)	Exploratory Laparotomy
	1 (9)	Peritonectomy

Postoperative complications occurred in 57% of patients, with sepsis (27.3%) and bronchopneumonia (11.4%) being the most frequent. Operative mortality was 21.6% (19 patients). Three were the causes of death in our study: sepsis (12 patients; 63.2%), multiple

organ failure (5 patients; 26.6%), and disseminated intravascular coagulation (2 patients; 10.5%).

The allele frequencies observed for SOD 2 were: allele A = 0.54 or 54% and allele B = 0.45 or 45%. Of the 88 patients in the study, 30 (34.1%) were of AA genotype, 22 (25%) were genotype BB, and 36 (40.9%) were genotype AB for SOD 2. According to the Hardy-Weinberg postulate, the genotype frequencies observed were not statistically different than those expected (P=0.11), what suggests that the SOD 2 gene was in equilibrium in the study population.

Table 2 shows the correlations between SOD 2 gene polymorphism and postoperative morbidity, mortality, and cause of death in up to 30 postoperative days.

Table 2. Correlations between SOD 2 gene polymorphism and postoperative morbidity and mortality in up to 30 postoperative days.

	AA *	AB *	BB *	P**
	n = 30	n = 36	n = 22	
Postoperative complications				
Sepsis	8 (26.7)	11 (30.6)	5 (22.7)	0.81
Abscess	4 (13.3)	5 (13.9)	1 (4.5)	0.51
Fistula	7 (23.3)	3 (8.3)	3 (13.6)	0.23
Pneumonia	10 (33.3)	7 (19.4)	5 (22.7)	0.42
Acute arterial occlusion	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (5.6)	0.23
Urinary tract infection	6 (20.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.001
Acute renal insufficiency	2 (6.7)	5 (13.9)	2 (9.1)	0.62
Deep venous thrombosis	0 (0.0)	2 (5.6)	1 (4.5)	0.44
Cerebrovascular accident	2 (6.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.14
Acute myocardial infarction	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
Pulmonary embolism	3 (10.0)	2 (5.6)	2 (9.1)	0.79
DIVC***	2 (6.7)	1 (2.8)	1 (4.5)	0.76
Postoperative mortality	4 (13.3)	10 (27.8)	5 (22.7)	0.37
Cause of death				
Sepsis	4 (13.3)	6 (16.7)	3 (13.6)	0.94
Multiple organ failure	0 (0.0)	3 (8.3)	1 (4.5)	0.30
DIVC	1 (3.3)	0 (0.0)	1 (4.5)	0.52

*Data presented as mean \pm Standard deviation or count (%).

** P = statistical significance.

*** Disseminated intravascular coagulation.

The only postoperative variable associated to SOD 2 genetic polymorphism was urinary tract infection, which occurred exclusively in AA genotype patients (P = 0.002).

Table 3 shows the association between the presence of A allele (genotypes AA and AB) and postoperative morbidity, mortality and causes of death in the study population. There was no association between the presence of the A allele (genotypes AA and AB) and postoperative variables.

Table 3. Correlations between the presence of A allele of SOD 2 (genotypes AA and AB) and postoperative morbidity, mortality, and causes of death.

	AA/AB *	BB *	P**
	n = 66	n = 22	
Postoperative complications			
Sepsis	19 (28.8)	5 (22.7)	0.40
Abscess	9 (13.6)	1 (4.5)	0.23
Fistula	10 (15.2)	3 (13.6)	0.59
Pneumonia	17 (25.8)	5 (22.7)	0.51
Acute arterial occlusion	2 (3.0)	0 (0.0)	0.41
Urinary tract infection	6 (9.1)	0 (0.0)	0.15
Acute renal insufficiency	7 (10.6)	2 (9.1)	0.60
Deep venous thrombosis	2 (3.0)	1 (4.5)	0.59
Cerebrovascular accident	2 (3.0)	0 (0.0)	0.41
Acute myocardial infarction	0 (0.0)	0 (0.0)	-
Pulmonary embolism	5 (7.6)	2 (9.1)	0.56
DIVC	3 (4.5)	1 (4.5)	0.70
Postoperative mortality	14 (21.2)	5 (22.7)	0.55
Cause of death			
Sepsis	10 (15.2)	3 (13.6)	0.28
Multiple organ failure	3 (4.5)	1 (4.5)	0.44
DIVC	1 (1.5)	1 (4.5)	0.38

*Data presented as mean \pm Standard deviation or counts (%).

** P = statistical significance.

***Disseminated intravascular coagulation.

Table 4 shows the correlation between the presence of the B allele and postoperative morbidity, mortality and cause of death.

Table 4. Correlations between the presence of the B allele of SOD 2 (genotypes BB and AB) and postoperative morbidity, mortality and cause of death

	BB/AB *	AA *	P**
	n = 58	n = 30	
Complicações Pós-operatórias			
Sepsis	16 (27.6)	8 (26.7)	0.57
Abscess	6 (10.3)	4 (13.3)	0.46
Fistula	6 (10.3)	7 (23.3)	0.10
Pneumonia	12 (20.7)	10 (33.3)	0.15
Acute arterial occlusion	2 (3.4)	0 (0.0)	0.30
Urinary tract infection	0 (0.0)	6 (2.0)	0.001
Acute renal insufficiency	7 (12.1)	2 (6.7)	0.35
Deep venous thrombosis	3 (5.2)	0 (0.0)	0.20
Cerebrovascular accident	0 (0.0)	2 (6.7)	0.04
Acute myocardial infarction	0 (0.0)	0 (0.0)	-
Pulmonary embolism	4 (6.9)	3 (10)	0.45
DIVC	2 (3.4)	2 (6.7)	0.42
Postoperative mortality	15 (25.9)	4 (13.3)	0.14
Cause of death			
Sepsis	9 (15.5)	4 (13.3)	0.25
Multiple organ failure	4 (6.9)	0 (0.0)	0.19
DIVC	1 (1.7)	1 (3.3)	0.46

*Data presented as mean \pm standard deviation or count (%).

** P = statistical significance.

***Disseminated intravascular coagulation

When we evaluated the association of the presence of the B allele (genotypes AB and BB) of SOD 2 and postoperative variables, there was a positive correlation with urinary tract infections (P = 0.001) and stroke (P = 0.04). There was a borderline association between the presence of the B allele (genotypes AB and BB) of SOD 2 enterocutaneous fistula (P = 0.1).

DISCUSSION

Surgery, either with curative or with palliative intent, is still the mainstay of treatment of most malignant neoplasms. Indeed, until not very long ago, when radiotherapy and systemic chemotherapy were introduced, it was the only potentially curative therapy available for cancer. During the last decades, technological and anesthetic advances, allied with better

understanding about the physiopathology of cancer, and better postoperative care (intensive care, rational use of antibiotics, prophylaxis of deep venous thrombosis) improved greatly both efficacy and safety of surgical procedures (22). For instance, before the 1980s, surgical mortality of abdominal procedures varied between 8% and 33%, with complication rates around 75%. After the 1980s, surgical mortality dropped to 0% to 20%, and complication rates started to occur in less than 50% of patients (23-25). However, there is still a substantial morbidity and mortality associated with surgery in oncologic patients, very frequently of advanced age, with concomitant morbidities and debilitated by a protracted course of disease.

The frequency of postoperative complications observed in our study was relatively high (57%), compared to the data of similar patient populations. Sepsis was the most frequent complication in our series, affecting 50% of the patients who presented with some kind of complication, and being responsible for the death of practically half of them. Pneumonia, also affected almost half of the patients presenting postoperative complications, (45.83%). Norton *et al* have reported a 30% rate of postoperative complications in a subset of patients submitted to abdominal operations to treat neuroendocrine tumors (26). Chuwa *et al*, found a 13.6% rate of postoperative complications in a subset of patients submitted to abdominoperineal resections of colorectal cancers (27). Portanova *et al* reported a 22% morbidity rate in surgeries for the treatment of gastric cancer (28). However, in a prospective study evaluating a group of patients submitted to oncologic surgeries, Velasco *et al* described a complication rate of 57,1% of some postoperative infectious complication (29). The high incidence of postoperative complications in our study may indicate that when we look at complications prospectively, they are more commonly noticed or registered than in retrospective studies. Another consideration might be that the clinical status of the patients treated in our University Hospital is sometimes far from ideal, due to difficulties in access to the public health system

in Brazil, which may bring to care patients with diseases in more advanced stages of progression.

Operative mortality in our series was 21.6%. Actually, about one third of the patients in our study who developed some postoperative complication died during the first 30 postoperative days. The main cause of death was sepsis, followed by multiple organ failure and disseminated intravascular coagulation. There are retrospective studies with large numbers of patients looking at mortality rates in general surgery procedures. Greenburg *et al* studied 7,572 patients operated during a period of ten years. Of these, 6,726 (88.8%) were elective surgeries and 846 (11.2%) were urgent procedures. Results showed a greater mortality when surgeries considered the gastrointestinal tract, with the greatest mortality rates concerning pancreatic surgery: 6.8% and 28.6%, respectively in elective and urgent procedures. The main cause of death in his study was multiple organ failure, especially in oncologic patients (30). In our study, as most oncologic surgeries involved the gastrointestinal tract, we have to think of the impact that intestinal manipulations may have in postoperative mortality. For long, the intestines have been known to be the primary generators of distant lesions. The simple manipulation of the bowel during laparotomy is capable of producing distant cellular lesions in the lungs, with neutrophilic infiltration and the liberation of free radicals at pulmonary level. This implies that one of the mechanisms of induction of oxidative stress in oncologic gastrointestinal surgeries is the manipulation of bowel itself (15, 16). In an experimental study in animals designed to elucidate the mechanisms of oxidative stress in surgery, rats were submitted to the opening of the abdominal cavity and to intestinal manipulation, as usually performed during laparotomies. The mitochondriae of the enterocytes were isolated at different times during laparotomy, and studied. The authors found alterations in mitochondrial respiration and in the oxidation-reduction (redox) reactions. It was also verified a greater activity of the mitochondrial matrix enzyme, a reduction in the

activity of SOD 2, and mitochondrial wall edema. All these alterations were prominent in the first 60 minutes of surgery, and returned to normal after 24 hours (17). In addition, oncologic surgery is susceptible to intestinal ischemia-reperfusion lesions found in situations such as hypovolemic shock, intestinal obstruction and manipulation, with the potential to induce bacterial translocation, endotoxemia, acute respiratory syndromes and acute hepatic failure (19).

Therefore, being one of the pivotal enzymes associated to cellular protection against oxidative stress, we have speculated that SOD 2 polymorphisms might play a role in the incidence and type of postoperative morbidity and mortality in oncologic surgery. However, our data shows a weak correlation between SOD 2 genotype polymorphism and either morbidity and mortality in the postoperative period. In fact, the only association perceived was the incidence of urinary tract infections exclusively among patients with the AA genotype ($P=0.002$). The presence of the allele B may also be a protective factor against urinary tract infections, since there was no case in BB or AB patients ($P=0.001$). Similarly, the presence of the B allele may be protective against the occurrence of cerebrovascular accidents ($P=0.04$). There was also a borderline correlation between the presence of the B allele and protection against enterocutaneous fistula ($P=0.1$).

There are two caveats in our study that may be partly responsible for the lack of a significant association between SOD 2 genetic polymorphism and postoperative findings. First, the number of patients may have been insufficient to detect subtle changes related to the polymorphism of the gene. A larger sample, with power to detect minor differences may change our results substantially. Secondly, the lack of important correlations may suggest that the mechanisms of cellular protection against oxidative actions released by surgery are more complex, including the participation of other relevant enzymes.

It is of firm belief that, in spite of the improvements perceived in recent years in complications and mortality rates in oncologic surgery, there is still much more to learn and to perfect. The knowledge about the biomolecular mechanisms associated with cancer and with the surgical procedures may improve surgeons capabilities in treating cancer in years to come.

REFERENCES

1. Chaimowicz F. A saúde dos idosos brasileiros às vésperas do século XXI: problemas, projeções e alternativas. *Rev. Saúde Pública*; 1997; 31(2): 184-200.
2. Hristozov D, Gadjeva V, Vlaykova T, Dimitrov G. Evaluation of oxidative stress in patients with cancer. *Arch Physiol Biochem*. 2001 Oct;109(4):331-6.
3. Miranda A, Janssen L, Bosman C, Duijin W, Ruit O, Kubben F, Griffioen G, Lamers C, Han Krieken J, Velde C, Verspaget H. Superoxide dismutase in gastric and esophageal, cancer and the prognostic impact in gastric cancer. *Clin Cancer Res*. 2000 Aug;6(8):3183-92.
4. Griffiths AJF, Miller JH, Suzuki DT, Lewontin RC, Gelbart WM. Introdução à Genética. 63 Edição. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 1996. 856p.
5. Gutteridge JMC, Halliwell B. Free Radicals and Antioxidants in the Year 2000: A Historical Look to the Future. *Ann New York Academy of Sciences*. 2000; 899: 136-147.
6. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RI. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med*. 2002 Aug 1; 33(3):337-49.
7. Cullen JJ, Weydert C, Hinkhouse MM, Ritchie J, Domann FE, Spitz D, Oberley L W. The role of manganese superoxide dismutase in the growth of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res*. 2003. Mar 15;63(6):1297-303.
8. Bostwick DG, Alexander EE, Singh R, Shan A, Qian J, Santella RM, Oberley LW, Yan T, Zhong W, Jiang X, Oberley ID. Antioxidant enzyme expression and reactive oxygen species damage in prostatic intraepithelial neoplasia and cancer. *Cancer* 2000 Jul 1 ;89(1): 123-34.
9. Plymate SR, Haugk KH, Sprenger CC, Nelson PS, Tennant MK, Zhang Y, Oberley L W, Zhong W, Drivdahl R, Oberley ID. Increased manganese superoxide dismutase (SOD-2) is part of the mechanism for prostate tumor suppression by Mac25/insulin-like growth factor binding-protein-related protein-1. *Oncogene*. 2003 Feb 20;22(7):1024-34.
10. Toh Y, Kuninaka S, Oshiro T, IkOOa Y, Nakashima H, Baba H, Kohnoe S, Okamura T, Mori M, Sugimachi K. Overexpression of manganese superoxide dismutase mRNA may correlate with aggressiveness in gastric and colorectal adenocarcinomas. *Int J Oncol*. 2000 Jul;17(1):107-12.
11. Kim KH, Rodriguez AM, Carrico PM, Melendez IA. Potential mechanisms for the inhibition of tumor cell growth by manganese superoxide dismutase. *Antioxid Redox Signal*. 2001 Jun; 3(3):361-73.
12. Xu Y, Krislman A, Wan XS, Majima H, Yeh CC, Ludewig G, Kasarskis EI, St Clair DK. Mutations in the promoter reveal a cause for the rOOucOO expression of the human manganese superoxide dismutase gene in cancer cells. *Oncogene*. 1999 Jan 7;18(1):93-

102.

13. Oberley LW. Anticancer therapy by overexpression of superoxide dismutase. *Antioxid Redox Signal*. 2001 Jun; 3(3):461-72.
14. Lin MT, Wang MY, Liaw KY, Lee PH, Chien SF, Tsai JS, Lin-Shiau SY. Superoxide dismutase in hepatocellular carcinoma affects patient prognosis. *Hepatogastroenterology* 2001 Jul-Aug; 48(40):1102-5.
15. Thomas S, Karnik S, Balasubramanian KA. Surgical manipulation of the small intestine and its effect on the lung. *J Surg Res*; 2002; 106(1):145-56.
16. Thomas S, Pulimood A, Balasubramanian KA. Heat preconditioning prevents oxidative damage in the intestine and lung following surgical manipulation. *Br J Surg*; 2003; 90(4):473-81.
17. Anup R, Apama V, Puhmood A, Balasubramanian KA. Surgical stress and the small intestine: role of oxygen free radicals. *Surgery*; 1999; 125(5):560-9.
18. Ramachandran A, Patra S, Balasubramanian KA. Intestinal mitochondrial dysfunction in surgical stress. *J Surg Res*. 2001 Jul; 99(1):120-8.
19. Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Ischemic preconditioning improves microvascular perfusion injury of the intestine. *British J Surg*. 2005; 92:1169-1176.
20. Ambrosone CB, Freudennhelm JL, Thompson P A, Bowman E, Vepa JE, Marshall IR, et al. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) genetic polymorphisms, dietary antioxidants, and risk of breast cancer. *Cancer Res*. 1999 Feb; 59:602-606.
21. Taufer M. Associação do polimorfismo do gene da dismutase dependente de manganês (SOD2) com doenças degenerativas associadas ao envelhecimento. Tese de doutorado apresentada ao programa de pós-graduação em biomédica da PUCRS. 2003, 16-118.
22. Rosenberg S. Principles of Cancer Management: Surgical Oncology. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer – Principles & Practice of Oncology*. 6th Ed 2000. 15:253-262.
23. Lopes MJ, Standiford SB, Shibus JL, Total pelvic exenterations: a 50 year experience at the Ellis Fischel Cancer Center. *Arch. Surg*. 1994; 129:390-5.
24. Goldberg JM, Piver S, Hempling RE, et al., Improvements in pelvic exenteration: factors responsible for reducing morbidity and mortality. *Ann Surg. Oncol* 1998; 5:399-406.
25. Crowe PJ, Temple WJ, Lopes MJ, et al., Pelvic exenteration for advanced pelvic malignancy. *Semin Surg Oncol* 1999; 17:152-60.
26. Norton JA, Kivlen M, Schneider D, Jensen RT. Morbidity and mortality of aggressive resection in patients with advanced neuroendocrine tumors. *Arch Surg*. 2003 Aug;138(8):859-66.
27. Chuwa EW, Seow-Choen F. Outcomes for abdominoperineal resections are not worse than those of anterior resections. *Dis Colon Rectum*. 2005 Nov 16; [Epub ahead of print].
28. Portanova M, Vargas F, Lombardi E, Carbajal R, Palacios N, Rodriguez C, Orrego J, Ferrevra M. surgical treatment for gastric cancer in a specialized service: the Rebagliati Hospital experience. *Rev Gastroenterol Peru*. 2005 Jul-Sep;25(3):239-47.
29. Velasco E, Soares M, Byington R, Martins CA, Schirmer M, Dias LM, Gonçalves VM. Prospective evaluation of the epidemiology, microbiology, and outcome of bloodstream infections in adult surgical cancer patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004 Aug;23(8):596-602.
30. Greenburg A, Saik R, Farris J, *et al*. Operative mortality in general surgery. *Am J Surg*; 1982; 144: 22-28.