

Ana Patrícia Loureiro Machado Gomes de Araújo

O papel da glicoproteína-P nas interações fármaco-fármaco

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2015



Ana Patrícia Loureiro Machado Gomes de Araújo

O papel da glicoproteína-P nas interações fármaco-fármaco

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2015

**III**

Ana Patrícia Loureiro Machado Gomes de Araújo

O papel da glicoproteína-P nas interações fármaco-fármaco

Orientadora: Prof. Doutora Rita Catarino

Co-orientadora: Prof. Doutora Adriana Pimenta

Dissertação apresentada à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Assinatura da aluna, autenticando a originalidade do trabalho:

---

(Ana Patrícia L.M. Gomes de Araújo)

## Sumário

A glicoproteína-p (gp-P) foi descrita pela primeira vez em 1976 como uma glicoproteína de superfície presente na membrana citoplasmática. Esta é uma bomba de efluxo que pertence à família de transportadores ABC e que participa no fenómeno de resistência a múltiplos fármacos.

Encontra-se amplamente distribuída nos tecidos e participa em variadas funções fisiológicas importantes. É expressa nos pontos de entrada dos xenobióticos (trato gastrointestinal, fígado, rins, cérebro, placenta) e consegue efetuar o transporte destes para o exterior das células. É também expressa em barreiras hemato-teciduals e em células tumorais, impedindo a entrada de substâncias nestes tecidos graças ao seu transporte para fora das células.

Desempenha um papel crucial na absorção, distribuição, metabolização e excreção de muitos fármacos no organismo. Atua na proteção dos tecidos contra xenobióticos tóxicos e metabolitos endógenos, através da excreção destes compostos para o lúmen intestinal, biliar, urina e promovendo também a sua expulsão do sistema nervoso central.

As interações farmacológicas ocorrem quando os efeitos de um fármaco são alterados pela presença de outro fármaco, alimento, ou outro agente químico. Neste trabalho são discutidas algumas das interações fármaco-fármaco mais importantes envolvendo a gp-P.

A co-administração de fármacos que são indutores ou inibidores da gp-P pode originar uma interação farmacológica. Quando os fármacos atuam como inibidores de gp-P originam um aumento dos seus substratos a nível intracelular, graças ao decréscimo do transporte de efluxo de fármacos. Para além dos fármacos que têm a capacidade de inibir a gp-P, outras moléculas como os surfactantes (tween-20) usados na indústria farmacêutica podem também inibi-la. A gp-P é ainda considerada de fácil indução quer *in vivo* quer *in vitro*, sendo conhecidos vários tipos de indutores. Estes atuam aumentando o transporte de efluxo, diminuindo assim a biodisponibilidade dos fármacos que são transportados por esta proteína. Quanto maior o número de fármacos co-administrados maior é a probabilidade de ocorrer interação farmacológica.

**Palavras-chaves:** Glicoproteína-P; Interações fármaco-fármaco, indução, inibição transportador de múltiplos fármacos, bombas de efluxo.

Abstract

The p-glycoprotein (P-gp) was first described in 1976 as a surface glycoprotein present in the cytoplasmic membrane. It is an efflux pump that belongs to the ABC transporter family and is involved in multidrug resistance phenomenon.

It is widely distributed in tissues and participate in a variety of important physiological functions. Since it is expressed in the entry points of xenobiotics (gastrointestinal tract, liver, kidneys, brain and placenta) it can make the transportation of these substances outside of the cells. It is also expressed in the blood-tissue barriers and tumour cells, preventing the entry of xenobiotics in these tissues.

P-gp plays a crucial role in the absorption, distribution, metabolism and excretion of many drugs in the body. This protein protects tissues against toxic xenobiotics and endogenous metabolites through the excretion of these compounds into the intestinal lumen, bile, urine, and also promoting the expulsion of the central nervous system.

A drug interaction occurs when the effect of a drug is changed by the presence of another drug, food, or other chemical. A discussion of some of the most important drug-drug interactions involving P-gp is presented.

The co-administration of drugs that are P-gp inducers or inhibitors may lead to a pharmacological interaction. P-gp drug inhibitors may increase substrates intracellularly thanks to the decrease in drug efflux transport. In addition, other molecules such as surfactants (Tween-20) used in the pharmaceutical industry may also inhibit it. The P-gp is also easily induced both *in vivo* and *in vitro* and various types of inductors are known. These inductors act by enhancing the transport efflux and thereby decreasing the bioavailability of drugs that are transported by this protein. The likelihood of interactions rises as the number of drugs co-administered increases.

**Keywords:** P-Glycoprotein; Drug-Drug interactions; inhibition, induction, multidrug transporter; efflux pumps

Dedicatória

Aos meus pais que conscientes de que somos, permitiram-me ser livre, deram-me muito amor, compreensão, carinho sem nunca me virar as costas, obrigada por serem as pessoas maravilhosas que são e me permitirem chegar até aqui.

Aos meus avós Ondina Carmen, avô Araújo, avó Adelaide e tia Lurdinhas por nos ensinarem o que é a família, o que são princípios, palavra e carácter, pelos milhares de beijos recebidos, olhem por mim, espero que estejam bem onde estiverem.

### Agradecimentos

Aos meus pais sem eles nada seria possível desde a minha génese até aos dias de hoje, obrigada por nunca desistirem de mim e me guiarem com o intuito de fazer de mim um ser humano com conteúdo, princípios e coração apesar do todo o sofrimento que vos possa ter causado espero que se orgulhem de mim, de quem sou e serei.

A todos os que passaram e fizeram parte de algum período da minha vida, aos que me marcaram pela positiva fazendo-me acreditar no Homem, e aos que me tentaram derrubar pois aprendi a não ser como eles e acima de tudo nunca desistir, como dizia Fernando Pessoa “Pedras pelo caminho apanho-as todas, um dia vou constuir um castelo”.

Estes anos foram uma longa jornada de crescimento não só a nível pessoal, emocional, intelectual e profissional, sei que sem muito esforço nada se consegue, mas o impossível não existe.

Entreí nesta universidade como uma menina saio como uma mulher, seria impossível não agradecer a todos os funcionários, pela sua amabilidade e disponibilidade, ao corpo docente pela paixão, entrega demonstrada, por me apoiarem sempre que necessitei, ao Exmo Professor Doutor Salvato Trigo pelas suas palavras cheias de sabedoria, à Doutora Adriana Pimenta e a Doutora Rita Catarino, por nunca ter desistido de mim, por todo o apoio, gentileza e força fornecida.

## INDICE GERAL

Sumário.....	V
Abstract.....	VII
Dedicatória.....	VIII
Agradecimentos.....	IX
Índice de figuras.....	XII
Índice de tabelas.....	XIII
Índice de abreviaturas.....	XIV
I.Introdução.....	1
1. A glicoproteína-P.....	1
2. Interações farmacológicas.....	4
3. Objetivos, motivações e metodologia seguida na elaboração deste trabalho...	5
II.Desenvolvimento.....	6
1. Estrutura e mecanismo de ação da gp-P.....	6
2. Modulação da atividade da gp-P.....	10
i. Inibição da gp-P.....	14
ii. Indução da gp-P.....	18
3. O papel da gp-P nas interações fármaco-fármaco.....	20
i Interações fármaco-fármaco relacionadas com a alteração da absorção intestinal.....	21
ii Interações fármaco-fármaco relacionadas com a alteração na distribuição.....	27
iii Interações fármaco-fármaco relacionadas com a metabolização.....	31
iv Interações fármaco-fármaco relacionadas com a excreção.....	34
III.Conclusão.....	37

IV. Bibliografia.....39

### Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Distribuição da gp-P em vários tecidos no organismo humano.....	2
<b>Figura 2.</b> Expressão e função da gp-P em vários tecidos.....	3
<b>Figura 3.</b> Modelo bidimensional da glicoproteína-P humana.....	7
<b>Figura 4.</b> Modelos propostos para o mecanismo de efluxo de fármaco pela gp-P. (a) modelo de poro membranar, (b) modelo flipase, (c) modelo de aspirador hidrofóbico...8	8
<b>Figura 5.</b> Quatro locais distintos de interação das moléculas com a gp-P.....	11
<b>Figura 6.</b> O papel de agente excretor da gp-P pode ser observado na parte apical/luminal da membrana das células epiteliais intestinais.....	22
<b>Figura 7.</b> Representação da membrana canicular dos hepatócitos humanos, fígado e da membrana apical das células do túbulo proximal renal, rins.....	28

**Índice de tabelas**

**Tabela 1:** Principais substratos, inibidores e indutores da gp-P, organizados por diferentes classes .....13

**Tabela 2:** Interações fármaco-fármaco envolvendo a gp-P.....36

### Índice de abreviaturas

ABC, transportadores cassete de ligação a ATP do inglês *ATP Binding Cassette*

ADP, adenosina difosfato

AP-1, do inglês, *activation protein 1*

ATP, adenosina trifosfato

AUC, área sob a curva, do inglês *Area under the curve*

CYP, citocromo P450 humano

gp-P, glicoproteína-P

HIV, vírus da imunodeficiência humana, do inglês *human immunodeficiency virus*

MDR, resistência a múltiplos fármacos, do inglês *multidrug resistance*

mRNA, ácido ribonucleico mensageiro, do inglês *messenger ribonucleic acid*

NBD, local de ligação a nucleótidos, do inglês *nucleotide binding domain*

PXR, recetor X pregnano, do inglês *pregnane x receptor*

QSAR, estudos quantitativos de relação estrutura-atividade, do inglês *quantitative structure-activity relationships*

RXR, recetor de retinoide X, do inglês *retinoid X receptor*

SNC, sistema nervoso central

SXR, recetor de xenobióticos esteroide, do inglês *steroid xenobiotic receptor*

## I. Introdução

### 1. A glicoproteína-P

A glicoproteína-P (gp-P) foi pela primeira vez descrita em 1976, como uma glicoproteína de superfície, presente na membrana citoplasmática e implicada no surgimento de fenômenos de resistência a múltiplos fármacos (MDR, do inglês *Multidrug Resistance*) (Juliano e Ling., 1976). A gp-P é uma proteína da família de transportadores ABC (do inglês *ATP – binding cassette*) que atua como barreira fisiológica uma vez que expulsa toxinas e xenobióticos para o exterior das células (Lakshmie e Srivall., 2012, Sharom, 2011). Destaca-se por ser o transportador mais estudado e mais conhecido desta super-família de transportadores ABC (Sharom, 2011).

A gp-P é expressa seletivamente no ponto de entrada dos xenobióticos nos tecidos, encontrando-se maioritariamente nas células epiteliais que têm um papel na excreção, incluindo a superfície apical das células epiteliais que revestem o cólon, o intestino delgado (membrana luminal), hepatócitos (membrana apical), ductos pancreáticos, ductos biliares, epitélio dos túbulos próximos dos rins (membrana apical) e glândula adrenal.

Deste modo, a gp-P contribui para a expulsão de muitos fármacos dos hepatócitos e túbulos renais para o espaço luminal adjacente, conseguindo reduzir potencialmente a biodisponibilidade de várias moléculas (Amin, 2013; Ashokraj *et al.*, 2003).

É nas células epiteliais colunares do trato gastrointestinal inferior que se encontra a maior fração de gp-P no organismo, estando correlacionada com a excreção de fármaco para interior do lúmen do trato gastrointestinal, representando a via mais relevante na detoxificação (Gottesman *et al.*, 1987).

Também se localiza nas células endoteliais da barreira hematoencefálica (Alcorn *et al.*, 2005; Amin, 2013; Lin, 2003). A este nível a gp-P exerce uma ação protetora e auxilia no transporte de substâncias por via transepitelial ou transendotelial, das células epiteliais e das células endoteliais dos capilares dos vasos sanguíneos da barreira hematoencefálica (Yu, 1999).

A gp-P encontra-se ainda presente ao nível da placenta, onde desempenha um papel importante na proteção fetal relativamente à toxicidade exercida por moléculas endógenas e/ou exógenas (Sharom, 2011). A presença da gp-P na glândula adrenal, no endométrio do útero da grávida assim como na placenta, indica um potencial envolvimento no transporte de esteroides, libertando ou protegendo as membranas de efeitos tóxicos provenientes de esteroides dissolvidos. A progesterona assim como outros esteroides têm demonstrado a capacidade de interação com a gp-P (Yu, 1999).

A gp-P é também expressa por uma variedade de células imunitárias como monócitos, células T e B. Está envolvida no efluxo de moléculas inflamatórias tais como esteroides, prostaglandinas e citocinas (Alexander *et al.*, 2001; Raggars *et al.*, 2001).

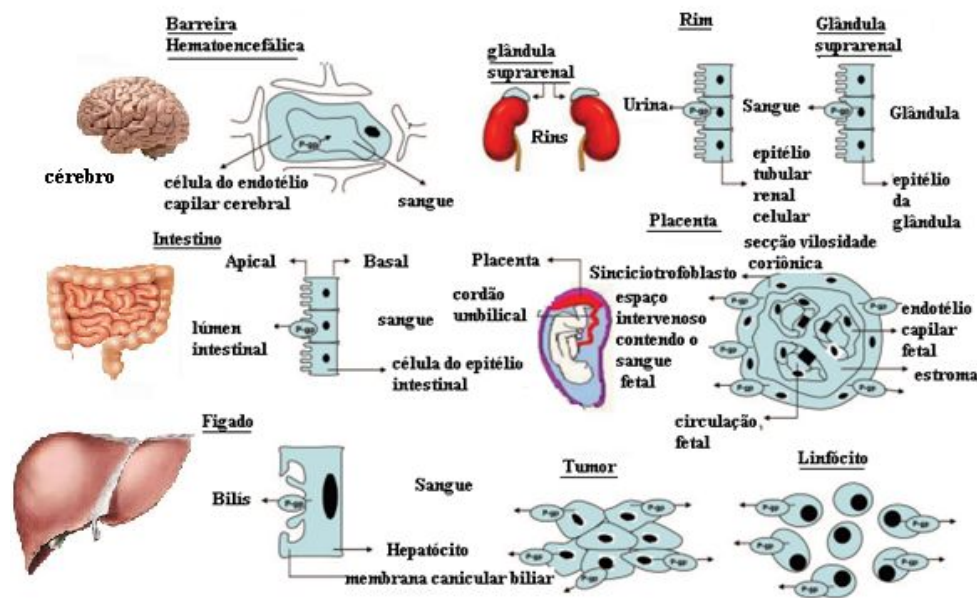


Figura.1 Distribuição da gp-P no organismo humano (adaptado de Beijnen *et al.*, 2007)

A localização celular da gp-P é, assim, consistente com o seu papel de proteína transportadora de fármacos (Gottesman *et al.*, 1987).

A superexpressão desta proteína ocorre na superfície de muitas células neoplásicas e restringe a entrada de vários antineoplásicos nas células tumorais, sendo por este facto também conhecida como MDR1 resistência a múltiplos fármacos, dado que tem sido

associada a fenômenos de multirresistência de determinadas células cancerígenas, onde os níveis elevados de gp-P originam um aumento do efluxo dos quimioterápicos e, desta forma, diminuem o seu efeito (Ambudkar *et al.*, 1999).

Devido à sua localização anatômica a gp-P pode desempenhar várias funções: (i) limitar a entrada de fármacos no organismo após administração oral como consequência da expressão de gp-P na membrana apical do enterócito. (ii) promover a eliminação de fármacos através da bÍlis e da urina, consequência da expressão de gp-P na membrana canicular dos hepatócitos e na porção luminal da membrana das células dos túbulos próximos dos rins. (iii) limitar a penetração de fármacos em tecidos sensÍveis, tais como, o cérebro, testÍculos, linfÓcitos (iv) limitar a circulação fetal de xenobiÓticos. A gp-P pode assim ser determinante no sucesso da terapêutica farmacológica uma vez que as concentrações de fármaco intracelular têm que ser as adequadas para que haja a efectividade terapêutica requerida (Fromm, 2004). A figura 2 resume a importância da gp-P na farmacocinética dos fármacos.

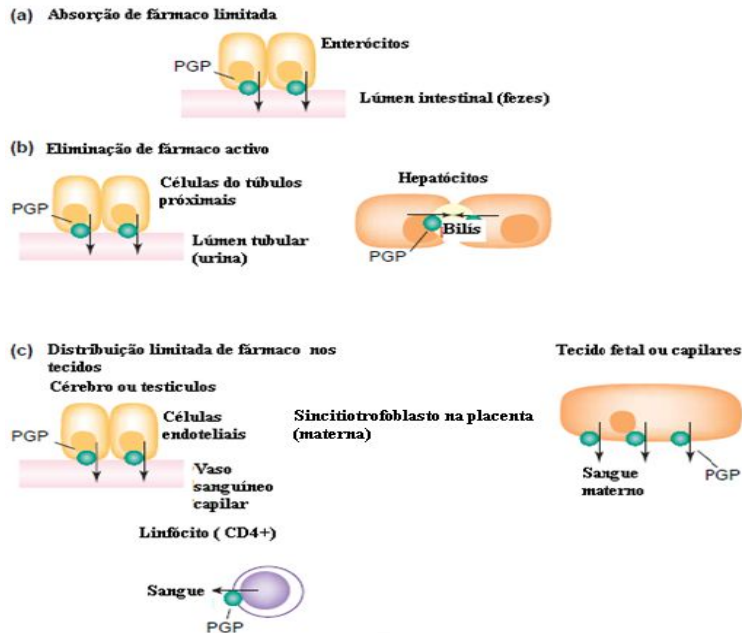


Figura.2 Expressão e função da gp-P em vários tecidos (adaptado de Fromm, 2004)

Atualmente são reconhecidos vários substratos, inibidores e indutores da gp-P (He *et al.*, 2000). A maior parte dos substratos da gp-P são pouco anfipáticos e relativamente

hidrofóbicos, podendo por vezes conter anéis aromáticos e um átomo de azoto carregado positivamente (Sharom, 2011).

Dos muito substratos capazes de interagir com a gp-P, a título de exemplo podem-se referir os agentes anticancerígenos, os imunossuppressores, os antibióticos antibacterianos e as hormonas esteroides (Ashokraj *et al.*, 2003, Sharom, 2011).

Os inibidores ou modeladores conseguem inibir por diferentes vias o transporte pela gp-P de diferentes moléculas, diminuir a multiresistência a determinados fármacos (por exemplo antineoplásicos) através da interferência no efluxo dos mesmos (Sharom, 2011).

## **2. Interações farmacológicas**

As interações farmacológicas podem ser definidas como a possibilidade de um fármaco poder alterar a intensidade das ações farmacológicas de outro administrado anteriormente ou em simultâneo. Como consequência pode ocorrer o aumento ou a diminuição do efeito de um ou de ambos os fármacos, um novo efeito também pode surgir, efeito este que não seria produzido pelos fármacos quando administrados sozinhos (Guimarães *et al.*, 2006).

Algumas das interações são benéficas podendo, por exemplo, resultar num aumento da eficácia terapêutica, redução de efeitos tóxicos ou obtenção de maior duração de efeito. Contudo, na maior parte das situações, é possível que a ocorrência de interações conduza à redução do efeito terapêutico e aparecimento de efeitos não desejados e prejudiciais, que podem resultar na necessidade de internamento do paciente ou até na sua morte (Guimarães *et al.*, 2006).

Algumas interações fármaco-fármaco podem ocorrer antes de os fármacos serem administrados, durante a preparação do medicamento, designando-se de interações farmacêuticas. Por exemplo, o tiopental quando adicionado à succinilcolina na mesma solução, ou no mesmo frasco, origina a formação de um precipitado (Guimarães *et al.*, 2006).

No entanto, a grande maioria das interações fármaco-fármaco ocorre após a administração do medicamento – interações terapêuticas. Este tipo de interações pode ocorrer nos diferentes passos da farmacocinética ou da farmacodinâmica dos fármacos. Ao nível da farmacocinética a interação pode ocorrer durante a absorção, a distribuição, a biotransformação e a eliminação do fármaco e sofrer influência de factores genéticos (nomeadamente no que respeita à biotransformação de medicamentos) (Guimarães *et al.*, 2006).

Quando ocorre a co-administração de fármacos podem surgir interações medicamentosas como consequência da ação da gp-P, uma vez que é vasto o número de compostos que possuem a capacidade de interagir com esta proteína transportadora atuando como substratos, inibidores ou indutores. Estas interações podem diminuir a eficácia terapêutica ou potenciar efeitos secundários tóxicos (Alves *et al.*, 2011). Os fármacos que induzem a proteína podem diminuir a biodisponibilidade de outros e, por outro lado, a sua inibição pode aumentar a biodisponibilidade para níveis potencialmente perigosos, sobretudo quando o fármaco em questão apresenta uma margem terapêutica estreita (Cascorbi, 2012). Contudo também é possível a ocorrência de interações benéficas.

### **3. Objetivos, motivações e metodologia seguida na elaboração deste trabalho**

A glicoproteína-P é uma das proteínas mais importantes do nosso organismo, está presente nos tecidos epiteliais normais e possui a capacidade de interagir com inúmeros fármacos de diferentes classes de uso clínico, dos quais se podem referir os anti-neoplásicos, os anti-histamínicos, agentes imunossupressores, antiepiléticos, glicosídeos cardíacos, anti-hipertensivos, bloqueadores de canais de cálcio, antibióticos, entre outros. A eficácia destes fármacos pode ser condicionada pela glicoproteína-P, devido à sua capacidade de alterar a absorção e a distribuição nos tecidos. Foi sugerido o tema a aluna lançado pela orientadora e co-orientadora como forma de enriquecimento educacional de término de curso. O tema destacou-se dos outros temas presentes pois suscitou bastante curiosidade à autora, uma vez que já tinha ouvido falar sobre a gp-P, viu o tema proposto como uma forma de poder ampliar e solidificar os seus

conhecimentos, como forma de aprender quais as características que a tornam relevante, sobre qual o seu papel nas interações farmacológicas.

Sendo uma proteína amplamente estudada e com bastante ainda por descobrir, neste trabalho de conclusão de curso pretende-se explicar de forma simplificada, o que é a gp-P, e como poderá atuar, no qual são apresentados alguns exemplos de interações fármaco-fármaco nos quais o seu papel é crucial.

Para a realização deste trabalho, foi realizada uma revisão da literatura com recurso a pesquisa de referências bibliográficas nos motores de busca Pubmed e ScienceDirect, usando palavras - chave sobre o tema (P-glycoprotein; inhibition, induction, drug-drug interaction; multidrug transporter; efflux pumps; review). Foi ainda realizada uma pesquisa com recurso a livros científicos obtidos nas bibliotecas da Universidade Fernando Pessoa e de várias faculdades da Universidade do Porto. O período de realização desta pesquisa situou-se entre Setembro de 2014 e Abril de 2015.

## II. Desenvolvimento

### 1. Estrutura e mecanismo de ação da gp-P

A gp-P é uma proteína da membrana plasmática com uma cadeia de 1280 aminoácidos (peso molecular de aproximadamente 170 kDa) codificada, nos humanos, por dois genes MDR: o gene MDR1/ABCB1 e o gene MDR3/ABCB4 (também designado MDR2), localizados no cromossoma 7. O fenótipo MDR encontra-se associado com a isoforma MDR1. A isoforma MDR3 é responsável pela translocação dos fosfolípidos para a biliar (Bastos *et al.*, 2015).

A gp-P é expressa como uma cadeia única contendo duas porções homólogas de igual comprimento (610 aminoácidos), unidas por uma região de ligação (60 aminoácidos). Cada metade homóloga contém 6 domínios transmembranares hidrofóbicos e uma curva intracitoplasmática hidrofílica onde ocorre a ligação a nucleótidos (NBD, do inglês *nucleotide binding domain*). É ao nível desta última região que se verifica a ligação da

gp-P ao ATP (Bastos *et al.*, 2015, Chin *et al.*, 1989). A interação das duas partes de gp-P é crítica para o funcionamento desta proteína e a região de ligação flexível é necessária para uma correta interação entre as duas metades, concretamente para a comunicação entre os dois locais de ligação ao ATP (Ambukar *et al.*, 2003).

A figura 3 representa um modelo bidimensional da gp-P humana e baseia-se na análise hidropática da sequência de aminoácidos e nos seus domínios funcionais. Cada círculo presente na figura representa um resíduo de aminoácido. As regiões NBD estão representadas com um círculo preto.

Reconhece-se hoje em dia que muitos dos compostos transportados pela gp-P não se encontram estruturalmente relacionados. Alguns estudos de fotoafinidade revelaram que os resíduos associados à interação com os substratos se localizam nos domínios 4-6 e 10-12 (representados na figura 3 por duas barras). Outros estudos complementares revelaram que a cavidade interna da gp-P poderá encontrar-se preenchida por moléculas de água, contribuindo as hélices transmembranares 3, 5, 8 e 11 para 70 % da área do local de ligação aos substratos, implicando ativamente as hélices 6 e 12 na alteração conformacional que possibilita o processo de translocação (Ferreira, 2011).

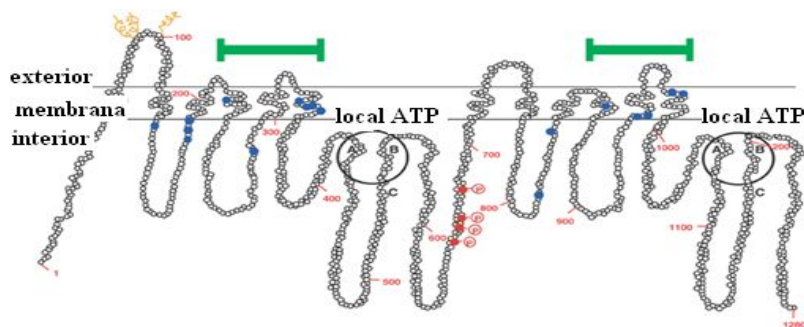


Figura.3 Modelo bidimensional da gp-P humana (Ambukar *et al.*, 2003 adaptado de Gottesman., 1988 e Ambukar *et al.*, 1999)

O transporte de fármaco mediado pela gp-P é um fenómeno dependente de energia, que necessita da hidrólise de ATP (Ambudkar *et al.*, 1992; Fardel *et al.*, 1996; Hagiwara *et al.*, 1987).

Está demonstrado que a ocorrência de mutações nos locais de ligação do ATP da gp-P se traduz na perda da sua actividade transportadora (Fardel *et al.*, 1996).

Tem sido demonstrado que a gp-P pode ser fosforilada em vários locais, através de diferentes cinases, incluindo proteína cinase C e a proteína cinase A que é cAMP (dependente de adenosina monofostto cíclica uma vez que necessita da sua presença para ser activada). Estas fosforilações têm uma implicação direta na ação da gp-P (Fardel *et al.*, 1996).

Muitos dos compostos que interagem com a gp-P são relativamente hidrofóbicos e, portanto, conseguem atravessar a membrana citoplasmática das células por difusão passiva (Sharom, 2011).

Apesar de ainda não estar completamente esclarecida a estrutura tridimensional da gp-P, foram avançados três modelos que pretendem clarificar o mecanismo de transporte de xenobióticos mediado pela gp-P, os quais se encontram esquematizados na figura 4 (Ashokraj *et al.*, 2003).

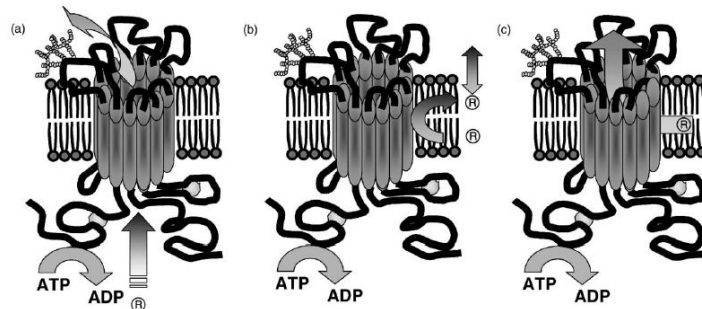


Figura.4 Modelos propostos para o mecanismo de efluxo de fármacos pela gp-P. (a) modelo de poro membranar, (b) modelo flipase, (c) modelo de aspirador hidrofóbico. (adaptado de Asokraj *et al.*, 2003)

No modelo do poro membranar a gp-P funciona como um canal, capturando moléculas do interior celular e enviando-as para o exterior. O modelo do aspirador hidrofóbico implica a remoção ativa da molécula a partir da face interna da membrana celular, transportando-a para o exterior celular. Este modelo pressupõe que o transportador (gp-

P) consiga interceptar substratos antes de eles terem a oportunidade de entrar no citosol, protegendo a célula da exposição a possíveis moléculas tóxicas (Sharom, 2011). Segundo este mecanismo, ocorre a formação de um gradiente de concentração do substrato ao longo da membrana plasmática, com um aumento da concentração do mesmo na fase aquosa externa (Sharom, 2011). O modelo da flipase consiste numa alteração ao modelo do aspirador hidrofóbico. Este modelo defende que os substratos são transportados a partir da camada interna da membrana citoplasmática para a camada externa da membrana ou diretamente para o ambiente extracelular. De acordo com este modelo é necessário um pequeno movimento espontâneo dos substratos entre as duas camadas da membrana (Bastos *et al.*, 2015). Devido ao rápido equilíbrio de compartimentação envolvido, torna-se difícil distinguir entre a actividade “flipase” e o transporte directo do fármaco da membrana para a fase extracelular aquosa (Sharom, 2011).

De entre os três modelos propostos os que reúnem um maior consenso são os dois últimos, ou seja, o modelo do aspirador hidrofóbico e o modelo flipase (Bastos *et al.*, 2015). De realçar que estes dois modelos assumem a necessidade de uma intercalação dos substratos com a dupla camada fosfolipídica da membrana citoplasmática antes de ocorrer a interação das moléculas com a gp-P.

Todos os mecanismos assumem como essencial a ocorrência de hidrólise de ATP, o que fornece a energia necessária para a alteração de conformação que permite a expulsão dos xenobióticos. São gastas duas moléculas de ATP por cada molécula expelida (Lin, 2003). Ambukar *et al.* (2001), propôs que o ciclo catalítico da gp-P é constituído por duas etapas onde o fármaco e o local de ligação dos nucleótidos funcionam em cooperação para o efluxo dos substratos, através de um processo dependente de energia. Nos seus locais de ligação o fármaco e o ATP ligam-se inicialmente à gp-P, ocorrendo a hidrólise do nucleótido, a ADP (Ambukar *et al.*, 2001).

A primeira etapa termina com a libertação de ADP do local de ligação do nucleótido seguido de uma alteração na conformação da gp-P que diminui a afinidade quer do substrato, quer do nucleótido. A segunda etapa envolve a hidrólise de outra molécula de ATP, sendo a energia libertada utilizada para reorientar a proteína para a sua formação original. A molécula de gp-P volta ao seu estado original, liga-se novamente ao substrato e ao nucleótido e inicia um novo ciclo (Ambukar *et al.*, 2001).

## 2. Modulação da atividade da gp-P

A gp-P possui a capacidade de interagir com um vasto número de compostos, os quais apresentam divergências ao nível da sua estrutura química e atividade farmacológica, tais como: produtos naturais, antineoplásicos, bloqueadores dos canais de cálcio, esteroides, pesticidas, entre outros (Bastos *et al.*, 2015).

A maioria destes substratos é relativamente hidrofóbica, ligeiramente anfipática e apresentam ao nível da estrutura química anéis aromáticos e um átomo de azoto carregado positivamente (Giacomini *et al.*, 2010, Sharom, 2011).

Uma vez que a gp-P desempenha um papel crucial na farmacocinética de inúmeros fármacos e se tem revelado igualmente determinante no aparecimento de fenómenos de MDR ao nível da terapêutica antineoplásica, têm vindo a ser desenvolvidos inúmeros estudos para clarificar as características moleculares necessárias para que ocorra interação substrato-gp-P (Bastos *et al.*, 2015).

O elevado número de substratos conhecidos da gp-P sugere a hipótese de haver mais do que um local de ligação. Em 2000, Berridge identificou quatro locais de interação distintos, de acordo com o esquematizado na figura 5.

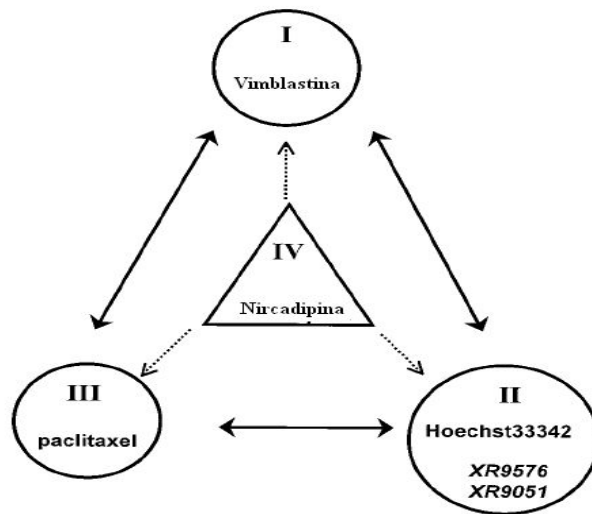


Figura.5 Quatro locais de interação distintos de interação de moléculas com a gp-P (adaptado Berridge *et al.*, 2000)

Os locais I, II e III correspondem às zonas onde ocorre o transporte uma vez que interagem com substratos de gp-P como a vinblastina (local I), paclitaxel (local III), entre outros. O local número IV aparenta desempenhar um papel regulador uma vez que interage com modeladores como a nicardipina e não interage com substratos (Berridge *et al.*, 2000).

O mesmo autor sugeriu que caso um dos locais de transporte fosse ocupado por um modelador, podia ocorrer um de dois eventos, o primeiro evento resultaria no impedimento do transporte do substrato, uma vez que provocaria um bloqueio do local de ligação até ao local da membrana; como segundo evento sugeriu que poderia ocorrer uma re-orientação normal no local de ligação, mas caso isso acontecesse, a separação do modelador seria quase nula quando chegasse ao outro lado da membrana, originando o bloqueio do transporte (Berridge *et al.*, 2000).

Berridge *et al.* 2000, defendeu ainda a possibilidade de existirem mais locais de interação substrato - gp-P para além dos quatro referidos (Berridge *et al.*, 2000).

Sabe-se hoje que o coeficiente de partição da molécula através da membrana lipídica é uma etapa limitante na interação da mesma com a gp-P, e que a dissociação do

complexo gp-P-substrato é determinada pelo número e pela força das ligações de hidrogénio estabelecidas entre ambos (Bastos *et al.*, 2015).

Alguns dos substratos da gp-P possuem simultaneamente a capacidade de modular a atividade desta proteína transportadora, quer pela sua inibição, quer pela sua indução. Desta forma, os fármacos podem atuar como inibidores (inibindo o *uptake* ou o efluxo mediado pela gp-P), indutores (melhorando a actividade de gp-P) ou como simples substratos (passando através das membranas via gp-P), podendo também ocorrer sobreposição de ações (Giugliano *et al.*, 2013).

A indução ou inibição da gp-P é semelhante à inibição ou indução de enzimas do citocromo P450 (CYP).

Na tabela 1 em baixo representada encontram-se alguns dos principais substratos, inibidores e indutores da gp-P, organizados por classes de fármacos.

Tabela.1-Principais substratos, inibidores e indutores da gp-P, organizados por diferentes classes \* Substrato, †inibidor, ‡ indutores (adaptado de Giugliano *et al.*, 2013).

Antineoplásicos	Anticoagulantes	Anti-hipertensores	Antimicrobianos
Actinomicina D*	Apixaban*	Aliskiren*	Azitromicina †
Colchicina*	Dabigatran*	Captopril†	Claritromicina †
Daunorubicina*	Rivaroxaban*	Carvedilol†	Eritromicina*†
Paclitaxel*	Edoxaban*	Diltizem*†	Itraconazole†
Tariquidar†	Vafarina*†	Labetalol*	Ivermactina*†
Taxol*		Losartan*†	Cetoconazol †
Topotecan*		Mibefradil†	Mefloquina †
Vaspoldar†		Propranolol*†	Ofloxacina †
Viblastina*		Tanilolol*	Posaconazol *
Vicristina*		Telmisartan†	Quinolona*
Doxorubicina*		Tinolol	Rifampicina*
Anti-ritmicos	Gastrointestinais	Neurológicos	Inibidores da protease
Amidarona †	Cimetidina*†	Carbamazepina†	Indinavir †
Bepiridil*	Domperidona*	Desipramina†	Lopinavir †
Dronedarone †	Loperamida*	Dissulfiram †	Maraviroc*
Digoxina*	Omeprazol*	Haloperidol †	Nelfinavir †
Felopidina	Ondacetrom*	Imipramina †	Ritonavir †
Propafenone †		Lidocaina*	Saquinavir †
Quidina*†		Feniltolna ‡	Tripranavir ‡
Verapamilo*†		Sertalina*	
		Venlafaxina‡	
Anti-plaquetários	Imunossupressores	Estatinas	Diversos
Aspirina	Ciclosporina*‡	Atorvastatina †	Berberina*
Clopidrogrel*	Dexametasona ‡	Lovastatina*	Conivaptan †
Dipuridamol†	Feverolimus*		Elacridar †
Prasugrel	Metotrexato*		Fexofenadina*
Tricaglor*†	Quinina*		Isoflavonas †
	Tracolimus*†		Quercetin †
			Terfenadina
			Terfenadina ‡
			Testosterona ‡

## 2. i Inibição da gp-P

Os inibidores da gp-P têm vindo a ser desenvolvidos e estudados tendo como principais intuitos a melhoria da biodisponibilidade de vários fármacos, a captação do fármaco no local alvo e a melhoria da eficácia dos anti-neoplásicos através do bloqueio seletivo da ação da gp-P (Assaraf *et al.*, 1995; Beijnen *et al.*, 2001; Jarry e Robert, 2003; Jewell, 2007; Ling e Shapiro, 1997).

De uma forma geral a gp-P pode ser inibida por três mecanismos: (i) por bloqueio competitivo ou não competitivo do local de ligação do fármaco; (ii) por interferência com a hidrólise de ATP; (iii) alterando a membrana celular dos lípidos (Bastos *et al.*, 2015, Giugliano *et al.*, 2013; Ling e Shapiro., 1997).

A inibição competitiva assume que dois substratos distintos competem pela ligação a um mesmo local da gp-P. Quando a inibição é não competitiva os dois substratos têm a capacidade de se ligar à molécula de gp-P mas em locais diferentes, que são funcionalmente independentes (Choo *et al.*, 2000).

Muitos inibidores da gp-P são moléculas farmacologicamente ativas, que sendo elas próprias também substratos desta proteína transportadora inibem competitivamente o efluxo de outras moléculas. São exemplos os bloqueadores dos canais de cálcio (verapamilo) e os imunossupressores (ciclosporina A). No caso do verapamilo ocorre inibição do transporte de forma competitiva sem provocar interrupção na actividade cíclica de gp-P (a hidrólise de ATP não é alterada); já a ciclosporina A inibe a gp-P através da sua interferência no transporte de substrato (inibição competitiva) e na hidrólise de ATP. Estes resultados demonstram que são vários os mecanismos responsáveis pela inibição de gp-P (Ford *et al.*, 1996).

Existem também substâncias que possuem a capacidade de inibir a hidrólise do ATP, por exemplo a quercetina. Estas substâncias conseguem igualmente inibir a ação da gp-P, apresentando a vantagem de poderem ser usadas em menores concentrações que os inibidores competitivos (Ashokraj *et al.*, 2003).

Por fim, muitos dos surfactantes usados vulgarmente na indústria farmacêutica (caso do Tween-20 ou dodecilsulfato de sódio) são atualmente aceites como inibidores da gp-P

dado que interferem com a integridade das membranas. Ao modificar a integridade da membrana lipídica ocorre alteração da estrutura secundária e terciária da gp-P sendo a função desta dificultada devido à perturbação criada no ambiente hidrofóbico (Ashokraj *et al.*, 2003; Werle., 2008).

Os inibidores da gp-P são classificados em quatro gerações de acordo com a sua potência, especificidade, afinidade e toxicidade (Bastos *et al.*, 2015).

A primeira geração diz respeito a moléculas farmacologicamente ativas, que são empregues em tratamentos específicos e que revelam em determinado ponto a capacidade de inibir a gp-P (Bostian e Lomovskaya., 2006; Lomovskaya *et al.*, 2007).

Na família de inibidores de primeira geração encontram-se os bloqueadores de canais de cálcio como o verapamilo, os imunossuppressores destacando-se a ciclosporina A, anti-hipertensivos e anti-estrogénios. Como limitação evidencia-se a toxicidade, devido às elevadas concentrações séricas atingidas com a dose que é necessária para inibir a gp-P. São também substratos para outros transportadores e sistemas enzimáticos, o que pode originar interações farmacocinéticas imprevisíveis (Bostian e Lomovskaya., 2006; Lomovskaya *et al.*, 2007).

Os inibidores de segunda geração não têm actividade farmacológica e possuem uma maior afinidade para a gp-P. Este grupo de inibidores da gp-P é constituído por análogos de inibidores de primeira geração, os quais foram obtidos através de modificações moleculares cujo objectivo foi reduzir a sua actividade farmacológica e aumentar a eficácia de inibição da gp-P (Bastos *et al.*, 2015). Também inibem a enzima CYP3A4 e outros transportadores ABC. Quando a taxa de metabolização diminui e ocorre a inibição de dois ou mais transportadores ABC, podem ocorrer sérias alterações farmacocinéticas assim como graves interações fármaco-fármaco (Beijnen *et al.*, 2001; Jewell., 2007).

Os inibidores de segunda geração possuem na sua família análogos não imunossuppressores da ciclosporina A, o D-isomero de verapamilo, dexaverapamilo, entre outros (Beijnen *et al.*, 2001; Jewell., 2007).

A terceira geração surge como uma tentativa de ultrapassar as limitações dos inibidores de primeira e segunda geração. Estas moléculas foram desenvolvidas através de estudos quantitativos de relação estrutura-atividade (QSAR do inglês *Quantitative Structure-Activity Relationships*), e têm demonstrado ser bastante específicas, eficazes com uma toxicidade diminuta (Bastos *et al.*, 2015; Beijnen *et al.*, 2001; Jewell., 2007). Constituem exemplos de inibidores de terceira geração o zosuquidar, elacridar, laniquidar. Esta classe de compostos é formada pelos inibidores de gp-P mais potentes e seletivos. As suas capacidades inibitórias destacam-se da primeira e segunda geração na sua duração de ação e potência (Bastos *et al.* 2015).

Outra característica interessante desta geração de inibidores é que estas moléculas não interagem com as enzimas CYP3A4, mesmo em concentrações significativas (Bastos *et al.*, 2015).

Apesar de todos os esforços desenvolvidos os inibidores das primeiras três gerações têm tido um uso clínico muito limitado, devido aos efeitos secundários que apresentam e às possíveis interações farmacocinéticas que originam. Uma outra limitação destes inibidores é a de que a sua coadministração com substratos da gp-P provoca um aumento mais acentuado da concentração de fármaco no cérebro do que no plasma (Choo *et al.*, 2000). Tem sido demonstrado que o cérebro e a placenta são muito sensíveis aos inibidores de gp-P, sendo aconselhada prudência na utilização de inibidores de gp-P de forma a evitar potenciais riscos de neurotoxicidade e teratogenese (Choo *et al.*, 2000; Huisman *et al.*, 1999).

Assim, têm vindo a ser exploradas novas estratégias, nomeadamente o recurso a produtos extraídos de fontes naturais, a surfactantes e de lípidos, os quais constituem a quarta geração de inibidores da gp-P (Bastos *et al.*, 2015).

Os agentes surfactantes são, usados com bastante frequência na tecnologia farmacêutica podem-se referir a título de exemplo o Spam-80 ou o Tween-20. Este agentes estão a emergir como uma classe distinta de inibidores da gp-P, atuam através da modificação da membrana lipídica, afetando a fluidez da membrana (Bastos *et al.*, 2015).

Aparentam interferir com a estrutura secundária e terciária da gp-P, originando uma perda da funcionalidade da gp-P, uma vez que provocam uma alteração no ambiente hidrofóbico (Bastos *et al.*, 2015).

O Tween-20 ou o Trinton X-100 têm a capacidade de modular MDR através da inibição do efluxo mediado da gp-P, sem afetar de forma relevante o movimento do fármaco entre camadas (Bastos *et al.*, 2015).

Um aspecto de realce desta geração é que como já foi referido a sua importância na formulação de fármacos e o facto de se encontrarem aprovados para utilização torna esta classe uma escolha interessante para a modulação da gp-P (Bastos *et al.*, 2015).

Os inibidores são tão diversificados estruturalmente quanto os substratos (Jarry e Robert., 2003).

Os inibidores da gp-P podem influenciar a absorção, a distribuição, o metabolismo e eliminação dos substratos gp-P. A literatura relata uma melhoria na farmacocinética e na distribuição nos tecidos de inúmeros fármacos quando co-administrados com inibidores da gp-P. Desta forma ocorre uma alteração nas doses, ou seja, a dose necessária para exercer efeito vai ser menor, diminuindo o custo associado à terapia (Ashokraj *et al.*, 2003).

Como limitação podem ocorrer interações fármaco-fármaco, uma vez que os inibidores da gp-P também modulam outros transportadores, refletindo-se na distribuição, metabolismo e eliminação dos seus substratos (Ashokraj *et al.*, 2003).

## **2. ii Indução da gp-P**

Através da indução das bombas de efluxo de fármacos, como a gp-P, as células conseguem adaptar-se à presença de xenobióticos, o que lhes permite alcançar uma maior longevidade (Bastos *et al.*, 2015).

Os indutores da gp-P possuem uma ampla diversidade estrutural, o que reforça a ideia de que existem muitas vias de sinalização capazes de regular a transcrição do MDR1,

assim como a capacidade do MDR1 de responder a vários estímulos químicos (Bastos *et al.*, 2015). Na tabela I já foram avançados alguns dos principais indutores da gp-P.

Estudos sugerem que a indução da expressão de gp-P também pode ser um processo dependente da dose de fármaco (Brunner e Liu., 2001).

Foi realizado um estudo no qual ratos foram sujeitos a administração de ciclosporina A oral, no qual conseguiram observar que a ciclosporina A induzia a gp-P renal de uma forma dependente da dose (Brunner e Liu., 2001).

Noutro estudo, a ciclosporina A foi administrada por via subcutânea. O pico máximo dos níveis de gp-P no fígado, rins, intestino e pulmões ocorreu ao décimo dia de tratamento na maioria dos tecidos dos ratos. O coração, baço e testículos tiveram um aumento elevado na expressão de gp-P em comparação ao grupo controlo: para o coração a indução foi máxima ao quinto dia de tratamento, no caso dos testículos e baço ocorreu ao décimo-quinto dia (Lin, 2002). O cérebro não registou qualquer tipo de alteração no decorrer do tratamento, ou seja, não foi registada a indução de gp-P. Isto ocorre devido ao elevado nível basal de gp-P nos capilares cerebrais. A gp-P encontra-se em elevada concentração neste tecido o que pode provocar uma rápida extrusão de ciclosporina A das células dos capilares endoteliais, impedindo a indução de gp-P (Lin, 2002). Este estudo permitiu demonstrar que a indução da expressão de gp-P pela ciclosporina A não só é dependente da dose mas também da duração da exposição do organismo ao fármaco e que não afeta todos os órgãos igualmente (Lin, 2002).

A regulação da expressão da gp-P também pode ocorrer ao nível da transcrição, sem a necessidade de ocorrer ligação direta entre um indutor e a gp-P. Atualmente é consensualmente aceite que em muitas linhagens celulares a expressão da gp-P aumenta através do aumento dos níveis de mRNA respeitante ao gene MDR1 (Bastos *et al.*, 2015).

Foram já identificados vários promotores do gene MDR1 humano, como por exemplo a proteína p53, a proteína ativadora 1 (AP-1, do inglês, *activation protein 1*) e o recetor de xenobióticos esteroide (SXR, do inglês, *steroid xenobiotic receptor*). Em

determinadas neoplasias, várias destas proteínas envolvidas na regulação da expressão da gp-P encontram-se alteradas, razão que pode justificar a maior resistência de determinadas células neoplásicas à quimioterapia (Bastos *et al.*, 2015).

A quimioterapia também pode induzir a gp-P através da activação do recetor SXR, também denominado de PXR (do inglês, *pregnane xenobiotic receptor*). O PXR pertence a um grupo de receptores nucleares (NRs), os quais são componentes importantes nos mamíferos na comunicação celular (Bastos *et al.*, 2015).

O PXR parece ter um papel importante, quer na regulação do metabolismo enzimático de fármacos, quer na modulação da gp-P (Burk *et al.*, 2001).

Foram realizados estudos nos quais utilizaram linhas celulares derivadas de humanos e animais (ratos e ratazanas). Os resultados indicaram que espécies diferentes têm respostas diferentes perante os indutores de gp-P (Lin e Yamazaki, 2003).

O recetor nuclear PXR e a gp-P são co-expressos no fígado e nos intestinos, bem como noutros tecidos, como a placenta e os rins (Hamilton *et al.*, 2000 e Lin e Yamazaki, 2003).

A inflamação pode induzir a gp-P e há estudos que referem que os genes da gp-P também podem ser induzidos perante a inflamação. A sua indução foi demonstrada no fígado de rato na fase aguda da inflamação (Bastos *et al.*, 2015).

A regulação da transcrição do gene MDR1 também sofre alterações resultantes de situações de stress. Assim, quer em situações de stress endógeno tais como a privação de glucose, acidose e hipoxia, quer em situações de stress exógeno (caso da quimioterapia e radioterapia), conduzem a uma alteração no equilíbrio espécies oxidantes, espécies antioxidantes, com um consequente aumento das espécies de oxigénio reativas (Callaghan *et al.*, 2008).

### 3. O papel da gp-P nas interações fármaco-fármaco

Têm sido reportadas na literatura várias interações fármaco-fármaco mediadas pela proteína transportadora gp-P, embora nem sempre seja fácil entender o envolvimento da gp-P nas interações fármaco-fármaco, pois muitos fármacos ao interagirem envolvem por vezes simultaneamente a gp-P e as enzimas CYP3A4 (Beijnen *et al.*, 2007).

A inibição e indução de enzimas do citocromo P450, em particular CYP3A4, é provavelmente a forma mais comum de interações farmacológicas (Lin, 2003). À medida que se vai conhecendo melhor o papel da gp-P, as referências bibliográficas vão reportando interações fármaco-fármaco mediadas pela inibição ou indução da gp-P e têm vindo a aumentar (Amin, 2013).

O risco de interações farmacológicas no tratamento de pacientes com cancro é dos mais elevados pois muitos dos fármacos são substratos da gp-P e/ou do CYP3A4, tanto os antineoplásicos utilizados como outros fármacos prescritos para aumentar a tolerância ao tratamento (como fármacos adjuvantes tais como a lorepamida, a domperidona, a morfina, entre outros) (Beijnen *et al.*, 2007).

Como já foi referido a gp-P encontra-se presente nas diferentes barreiras do organismo que impedem a entrada de xenobióticos. A gp-P diminui a biodisponibilidade oral de fármacos uma vez que limita a absorção intestinal (Sugiyama e Suzuki, 2000).

Tem a capacidade de transportar fármacos da circulação sanguínea para a biliar ou para o lúmen intestinal, através dos hepatócitos e enterócitos (Asperen *et al.*, 1997).

A farmacocinética dos diversos fármacos pode ser afectada na presença ou ausência de inibidores e/ou indutores de gp-P através: (i) da alteração da absorção através do tracto gastro-intestinal; (ii) interferência com o *uptake* celular de órgãos vitais, como por exemplo o cérebro; (iii) da modificação da clearance renal e hepática (Ashokraj *et al.*, 2003). Estas alterações na farmacocinética podem resultar em importantes interações fármaco-fármaco, as quais irão ser abordadas seguidamente.

### **3.i Interações fármaco-fármaco relacionadas com a alteração da absorção intestinal**

São diversos os mecanismos pelos quais a absorção de um fármaco pode ser modificada pela administração simultânea de outro (Guimarães *et al.*, 2006). A quelação entre as tetraciclina e os cátions divalentes, caso do cálcio, é um exemplo de interferência, pelo que o leite pode diminuir a absorção deste antibiótico em mais de 70% (Guimarães *et al.*, 2006). Fármacos que precipitem os ácidos biliares para além de diminuírem a absorção de gorduras impedem a absorção de griseoflavinina (Guimarães *et al.*, 2006).

No intestino a gp-P é expressa em toda a membrana apical desde o duodeno até ao recto (Fromm *et al.*, 2013).

Estudos imunohistológicos realizados em humanos no jejuno e cólon usando anticorpos MRK16 demonstraram que apenas na superfície apical das células epiteliais colunares se observam grandes quantidades de gp-P, mas que tal não ocorre em células da cripta (Gottesman *et al.*, 1987).

As células intestinais têm um tempo de vida curto. As células da cripta são maduras, não sofrem divisão e a sua maturação ocorre enquanto sobem nas vilosidades sendo extrudadas na sua ponta. Este processo demora entre 2 a 6 dias (Lin, 2003). Ao longo de todo o intestino a distribuição da gp-P não é uniforme (Fojo *et al.*, 1987). Devido à sua distribuição desigual ao longo do intestino é esperado que a gp-P intestinal tenha um grande impacto na absorção dos seus substratos (Arnold *et al.*, 2000). A noção que a absorção depende do local é coincidente com a noção de que a expressão da gp-P é maior na parte inferior do intestino, portanto a distribuição da gp-P não é uniforme e pode contribuir para a variabilidade da absorção do fármaco (Arnold *et al.*, 2000).

A figura 6 ilustra a localização da gpP no enterócito (Gottesman *et al.*, 1987).

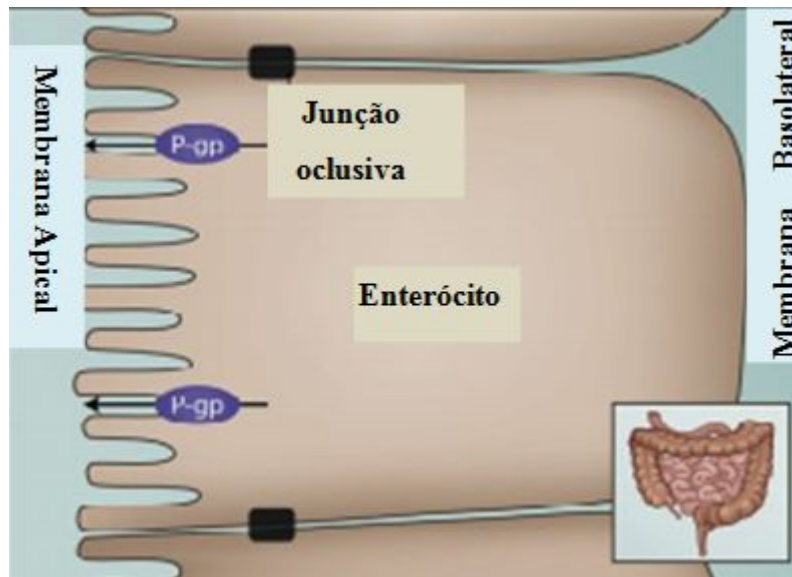


Figura.6 O papel de agente excretor da gp-P pode ser observado na parte apical/luminal da membrana das células epiteliais intestinais (adaptado de Amin, 2013)

A variabilidade inter-individual na expressão de gp-P intestinal poderá ser um dos factores que mais contribui para a variação na absorção de fármaco. Estudos demonstram que o polimorfismo genético é a maior fonte de variabilidade inter-individual na expressão de gp-P intestinal (Arnold *et al.*, 2000).

Durante o tratamento com tracolimo (fármaco imunossupressor) a um jovem paciente que foi sujeito a um transplante intestinal foi possível observar a variabilidade intra-individual na expressão de gp-P (Hashida *et al.*, 2000).

Os resultados obtidos nos estudos anteriormente citados indicam que a variabilidade inter-individual e a intra-individual na expressão de gp-P intestinal poderá influenciar na variação da absorção oral de fármacos que são substratos de gp-P (Arnold *et al.*, 2000; Hashida *et al.*, 2000).

Apesar de a gp-P diminuir a absorção de todos os seus substratos, do ponto de vista quantitativo, a sua ação não tem um impacto significativo na absorção de muitos dos fármacos que se sabe serem substratos da gp-P (Amin, 2013). Assim, no caso de

fármacos de rápida absorção em doses elevadas, o efluxo da gp-P possui um pequeno impacto na absorção dos mesmos, não sendo por isso relevante para a biodisponibilidade ou para as propriedades farmacocinéticas, devido ao transporte da gp-P ficar saturado, quando o fármaco se encontra em elevadas concentrações no lúmen intestinal (Amin, 2013). Contudo existem exceções, como é o caso da ciclosporina A. Estudos clínicos demonstram que embora este fármaco seja administrado em doses elevadas a gp-P limita a sua absorção oral, prejudicando a sua biodisponibilidade (Beijnen *et al.*, 1999; Benet *et al.*, 1992; Benet *et al.*, 1997).

Por sua vez, quando são necessárias pequenas doses de fármaco para que este exerça o seu efeito farmacológico, ou no caso de fármacos com taxas retardadas de dissolução e difusão, a mediação do efluxo pela gp-P assume um papel importante interferindo com a absorção (Amin, 2013). À medida que a absorção de fármaco abranda, a pequena quantidade de fármaco presente não consegue chegar à corrente sanguínea na quantidade esperada, podendo ter consequências fatais. A libertação das doses programadas de fármaco nos locais activos pode ser comprometida, por limitar a sua absorção (Amin, 2013).

Os enterócitos assim como os hepatócitos expressam em simultâneo as enzimas CYP3A4 e gp-P, originando uma aliança de metabolismo-efluxo. Os níveis da expressão de CYP3A4 diminuem no intestino delgado da zona próximal para a distal, enquanto os níveis da gp-P aumentam da zona proximal para distal (Fromm, 2004). Após a administração por via oral de um substrato da gp-P, este irá atravessar as membranas apicais das células epiteliais do lúmen intestinal, e uma vez no interior das células uma parte das moléculas de fármaco consegue atravessar para os capilares sanguíneos, a gp-P leva outra parte para fora da célula de novo para o lúmen intestinal e existe ainda uma outra porção que pode sofrer metabolismo intestinal (Alves *et al.*, 2011).

Existe o risco de interações fármaco-fármaco devido à gp-P intestinal uma vez que diferentes fármacos competem pelo transportador de efluxo, e a via oral é a mais utilizada para administração de fármacos (Alves *et al.*, 2011).

De seguida serão referidas as interações fármaco-fármaco mais relevantes a este nível.

### **Interação digoxina – quinidina**

A digoxina pertence a um grupo de fármacos designados de glicosídeos cardíacos e é usada farmacologicamente no tratamento de insuficiência cardíaca e arritmias. A dose terapêutica é próxima da dose tóxica, pelo que é necessário um especial cuidado no acompanhamento dos pacientes medicados com este fármaco, uma vez que a intoxicação digitalica pode ser fatal. É comum a terapêutica combinada na área das doenças cardiovasculares, o que pode resultar na ocorrência de interações fármaco-fármaco potencialmente graves (Dresser, 2007).

A quinidina é um antiarrítmico, cujo seu mecanismo de ação pertence ao grupo I, atuando como bloqueador dos canais de sódio (classificação Vaughan Williams), utilizada no tratamento crónico de taquicardia supraventricular rebelde. É rapidamente absorvida por via oral, 75% do fármaco é metabolizado e 25% eliminado, sem alteração na urina. Liga-se facilmente as proteínas plasmáticas tendo uma duração de ação 4 a 6 horas (Guimarães *et al.*, 2006).

A perfusão de um dos segmentos com quinidina provocou um acréscimo na absorção de digoxina passando de 22,3% para 55,8%. Esta alteração está de acordo com os valores de AUC de plasma. Estes dados demonstram que a quinidina inibe a gp-P intestinal, aumentando concludentemente a absorção e biodisponibilidade de digoxina (Dresser, 2007).

A quinidina é um inibidor da gp-P com a capacidade de inibir a gp-P cardíaca, pelo que conduz igualmente a um aumento da concentração de digoxina no tecido cardíaco (Asperen, 1999).

### **Interação digoxina – verapamilo**

O verapamilo é um bloqueador da entrada de cálcio, é lipossolúvel, apresenta uma ligação às proteínas plasmáticas superior a 90%, sofre um intenso efeito de primeira

passagem no fígado, o que faz com que a sua biodisponibilidade ronde os 20 a 60%, originando metabolitos ativos que pode influenciar regimes posológicos na terapêutica crónica. As suas doses orais diárias são 20 a 40% maiores que as doses ministradas por via intravenosa (Guimarães *et al.*, 2006).

O verapamilo inibe o sistema de transporte de fármacos mediado pela gp-P, podendo ter interferências ao nível da absorção intestinal e a distribuição tecidual de múltiplos fármacos como é o caso da digoxina (Guimarães *et al.*, 2006).

Pode ser utilizado no tratamento várias patologias como a angina de peito, hipertensão arterial, cardiomiopatia hipertrófica, enxaqueca, fibrilação auricular, taquicardia supraventricular, o seu pico máximo de ação tem uma duração que oscila entre as 4 a 6h, com tempo de semi-vida plasmático de 5 a 12h (Guimarães *et al.*, 2006).

Uma dose diária de 160 mg de verapamilo provoca um aumento de 40% na concentração plasmática de digoxina, enquanto uma dose diária de 240 mg do mesmo fármaco provoca um aumento de 60 a 80%, sugerindo que a inibição de gp-P depende da dose (Lin e Yamazaki, 2003).

Uma vez que a digoxina nos humanos é exclusivamente eliminada por excreção renal sem sofrer qualquer modificação, com um baixo metabolismo, é bastante provável que as interações farmacológicas observadas entre a digoxina e o verapamilo sejam uma consequência da inibição da actividade de gp-P, originando um aumento na absorção de digoxina e uma diminuição na sua excreção (Ling e Yamazaki, 2003).

### **Interação paclitaxel-ciclosporina A**

O paclitaxel é um citotóxico utilizado no tratamento de cancro. A ciclosporina A pertence ao grupo dos imunossuppressores, inibe de forma altamente selectiva a ativação das células T. Provoca uma diminuição acentuada da produção de interleucinas mais concretamente a interleucina-2. É utilizada na prevenção da rejeição de transplantes, na anemia aplástica, artrite reumatóide, dermatomiosite, doença de crohn, psoríase, síndrome nefrótico, uveíte. Pode ser ministrada por via oral ou intravenosa. Por via oral

a sua biodisponibilidade ronda os 20 a 50% e atinge o pico máximo entre 1 a 4 horas. Devido á forte afinidade que possui com uma proteína citoplasmática denominada de ciclofilina e a abundância desta proteína no sangue a ciclosporina tem uma acumulação elevada nos eritrócitos 50 a 60% e nos leucócitos de 10 a 20%. A sua biotransformação ocorre no fígado, tem um tempo de semi-vida de cerca de 6h (Guimarães *et al.*, 2006).

Num estudo clínico realizado com catorze pacientes, cinco pacientes receberam uma dose oral de paclixatel e nove receberam paclixatel combinado com ciclosporina A (Lin e Yamazaki, 2003).

A biodisponibilidade oral sem a ciclosporina A foi de 5%, quando combinados foi de 50%. Tal ocorre porque a ciclosporina A é um potente inibidor da gp-P. O estudo demonstra o papel que a gp-P desempenha como barreira no intestino limitando a absorção de fármacos, neste caso o paclixatel (Lin e Yamazaki, 2003).

### **Interação rifampicina-talinolol**

A rifampicina é um medicamento anti-infeccioso, antibacteriano.

A rifampicina diminui a biodisponibilidade do  $\beta$ -bloqueador talinolol em humanos e a expressão de gp-P intestinal demonstrou estar relacionada com a clearance sistémica do talinolol (Fromm *et al.*, 2013). Um estudo foi observado um aumento da clearance do talinolol administrado por via intravenosa após administração de rifampicina. Este aumento pode ser atribuído, à intensificação da clearance intestinal através da gp-P. O aumento da clearance renal e a eliminação através da bilis aparentam ser de menor relevância (Frank *et al* 2000).

Os autores também defendem que acreditam que a indução de rifampicina resulta numa indução bastante selectiva da gp-P na parede intestinal, referindo que observaram uma diminuição acentuada de talinolol na AUC e conseqüentemente um aumento da clearance quando a rifampicina foi administrada e a diminuição significativa do tempo de semi-vida do talinolol após a coadministração de rifampicina, sendo este fenómeno explicado pela indução ativa da secreção intestinal do talinolol, que providencia uma maior via de clearance diminuindo desta forma o tempo de semi-vida. A excreção

cinética do talinolol é considerada uma mistura complexa da modulação da absorção intestinal pela gp-P e pela secreção que decorre em paralelo com a eliminação renal e clearance através da biliar (Frank *et al.*, 2000).

### **Interações entre digoxina-rifampicina**

A biodisponibilidade oral da digoxina foi avaliada num estudo realizado com oito voluntários sãos, no qual se observou um decréscimo de 30% durante o tratamento com rifampicina. As biopsias intestinais fornecidas pelos mesmos voluntários antes e após a administração de rifampicina revelou um aumento significativo da expressão da gp-P intestinal após a administração do antibiótico, este resultado encontra-se correlacionado inversamente com a AUC da digoxina oral (Beijnen *et al.*, 2007).

O pré tratamento com a rifampicina demonstrou pouca eficácia na clearance renal de digoxina. Estes resultados indicam que a interação entre estas duas moléculas ocorre maioritariamente a nível intestinal e que a exposição crónica à rifampicina pode originar a indução de gp-P (Beijnen *et al.*, 2007).

### **3.ii Interações fármaco-fármaco relacionadas com a alteração na distribuição**

Na sua grande maioria os fármacos são administrados em locais distantes e diferentes do seu local de ação, e portanto para que o efeito farmacológico se manifeste é necessário que o fármaco seja absorvido e transportado do local onde é administrado (atravessando várias membranas biológicas) até ao local de ação, para aí exercer o seu efeito. O processo que permite que os fármacos atravessem as membranas celulares é complexo, está dependente das características físicas e bioquímicas das membranas em questão assim como das propriedades físico-químicas do fármaco. As características físicas e bioquímicas das membranas, como a estrutura da camada lipídica, desempenham um papel relevante na penetração do fármaco. As propriedades físico-químicas mais relevantes do fármaco são a sua hidrofobia, perfil de ionização, tamanho molecular e o número de pontes de hidrogénio (Lin e Yamazaki, 2003).

O efluxo de gp-P encontra-se presente em inúmeros órgãos que integram diferentes barreiras tecido-sangue, como a título de exemplo a barreira hematoencefálica ou a placenta. Uma alteração da atividade nas estruturas deste transportador pode alterar a distribuição de fármaco no organismo, aumentando a exposição e induzindo toxicidade em determinados tecidos (Authier *et al.*, 2005). A distribuição da gp-P e a sua ação a nível da mucosa intestinal foi já abordada no ponto anterior, pelo que se irá de seguida debater o papel da gp-P nas outras barreiras fisiológicas.

A gp-P localiza-se no lado luminal dos canaliculos da biliar e dos tubulos proximais, do fígado e dos rins. A sua localização encontra-se representada na figura 7. Estes são órgãos extremamente irrigados, recebem cerca de 20 a 25 % do débito cardíaco (Arboix *et al.*, 1997).

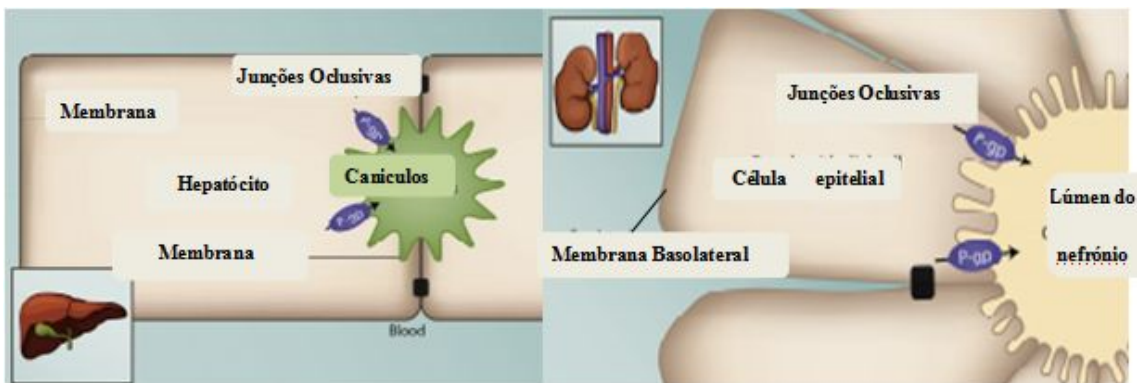


Figura. 7 Representação da membrana canicular dos hepatócitos humanos, fígado (imagem da esquerda) e da membrana apical das células do túbulo proximal renal, rins (imagem da direita) (Giugliano *et al.*, 2013)

São dois órgãos de extrema importância para a biodisponibilidade, mas também podem ser alvo das reações adversas provocadas pelas interações da gp-P (Arboix *et al.*, 1997). A inibição de glicoproteína-P vai ter como consequência a acumulação de xenobióticos nas células destes dois órgãos, expondo-os a uma toxicidade específica. A ciclosporina

A e o verapamilo associados levaram a um aumento de vinblastina e dos seus metabolitos nos rins e fígado perante a inibição da gp-P (Arboix *et al.*, 1997).

Uma elevada quantidade de gp-P encontra-se no cérebro, mais precisamente nas células endoteliais dos capilares, fazendo parte da barreira hematoencefálica (Beijnen *et al.*, 1999; Benet *et al.*, 1997; Benet *et al.*, 1992; Lin e Yamazaki, 2003).

A barreira hematoencefálica é um dos elementos que compõe o sistema nervoso central e é importante na relação entre o sangue e o cérebro. É composta por células endoteliais e selada por fortes junções, forrando os capilares cerebrais, tem como intuito proteger o cérebro da ação de xenobióticos e regular a homeostase no cérebro (Eyal *et al.*, 2009).

A barreira líquido cefalorraquidiano - sangue é formada por células epiteliais do plexo coróide, estas pequenas junções diminuem a transferência de fármaco com o sangue e o líquido cefalorraquidiano - sangue, dificultando a acessibilidade do cérebro a fármacos polares, a menos que sejam transferidos por sistemas de transporte (Eyal *et al.*, 2009).

A expressão de gp-P nesta barreira desempenha um papel relevante impedindo a entrada de vários fármacos para o sistema nervoso central. Fromm (2004) , refere que a ausência da gp-P afecta as concentrações de xenobióticos no cérebro de forma mais relevante que em outros tecidos, apontando a importância da gp-P nesta barreira (Fromm, 2004).

As consequências do aumento da exposição do fármaco no cérebro podem ser benéficas ou prejudiciais, dependendo do fármaco em causa (Eyal *et al.*, 2009).

As células endoteliais dos vasos sanguíneos capilares do cérebro estão muito próximas umas das outras, não havendo espaço entre elas. Apenas os fármacos lipofílicos conseguem atravessar estas células e penetrar a barreira através de difusão passiva, existindo uma forte correlação entre a lipofilia e a penetração cerebral de fármacos (Lin e Yamazaki, 2003).

Quanto maior o número de ligações de hidrogénio ou tamanho molecular dos fármacos, menor será a penetração na barreira, apesar de a lipofilia ser um factor importante na penetração dos fármacos na barreira hematoencefálica, existem fármacos que são lipófilos e têm baixa penetração (Authier *et al.*, 2005). Os transportadores de fármaco

como a gp-P que se encontram presentes na membrana luminal das células endoteliais dos capilares cerebrais, limitam o acesso do fármaco ao cérebro sendo apontados como a causa deste fenómeno (Alves, 2004).

Na infeção por HIV os vírus atingem o cérebro logo nos momentos iniciais da infeção. A redução da carga viral, por recurso aos fármacos atualmente disponíveis, torna-se particularmente complexa ao nível deste órgão, provavelmente porque a maioria dos antiretrovirais não consegue atingir as concentrações necessárias para eliminar o vírus ao nível do cérebro (Fromm, 2004). Muitos dos referidos fármacos revelam ser bons substratos da gp-P o que limita a sua penetração no cérebro (caso dos inibidores da protease do HIV). O recurso a inibidores da gp-P pode traduzir-se numa vantagem terapêutica (Fromm, 2004). A gp-P também é expressa nas células CD4+, que constituem o alvo mais importante do HIV (Fromm, 2004).

#### **Interação verapamilo - carbamazepina**

A carbamazepina é um composto tricíclico, que atua por bloqueio dos canais de sódio dependentes da voltagem ao longo do disparo neuronal rápido, repetitivo e sustentado, é utilizado no tratamento da epilepsia desde 1968 (Guimarães *et al.*, 2006). É uma substância cristalina insolúvel em água, é bastante instável devendo por isso ser protegida do calor, uma alteração pode originar uma diminuição de 50% na sua biodisponibilidade (Guimarães *et al.*, 2006). A sua fração livre no plasma oscila entre os 20 a 25% do total, no líquido cefalorraquidiano ronda os 17 a 31%. É extensivamente biotransformada no fígado e induz a sua própria biotransformação, aumentando a sua depuração e diminuindo os níveis plasmáticos, nas primeiras semanas de tratamento ocorre uma diminuição de 50% da semivida plasmática. A semivida de eliminação ronda as 5-26h após administração repetida (Guimarães *et al.*, 2006).

Um dos mecanismos apontado como responsável pela resistência farmacológica de fármacos anti-epiléticos é a existência de uma superexpressão de transportadores do fármaco no tecido epiléptogénico devido à diminuição no *uptake* de fármaco para o cérebro (Fromm, 2004).

O verapamilo é um inibidor da gp-P e consegue aumentar as concentrações cerebrais de fármacos antiepiléticos como a carbamazepina ou o fenobarbitol entre outros (Fedrowitz *et al.*, 2002).

A placenta é outra barreira tecido-sangue relevante, que expressa vários transportadores de fármacos, incluindo a gp-P. A função dos transportadores consiste na proteção do feto durante a exposição da mãe a xenóbioticos (Fromm, 2004).

Na placenta humana a gp-P encontra-se expressa em grande quantidade nos trofoblastos (Authier *et al.*, 2005).

Não é aconselhada a administração de inibidores de gp-P durante a gravidez uma vez que podem bloquear a função da gp-P, e expor o feto em demasia aos xenobioticos (Authier *et al.*, 2005).

### **3.iii Interações fármaco-fármaco relacionadas com a metabolização**

É a este nível que se verificam o maior número de interações farmacológicas relevantes com conteúdo clínico, sendo também as mais imprevisíveis e graves. As enzimas responsáveis pela biotransformação são as pertencentes ao sistema citocromo P450, tanto de substâncias endógenas como exógenas, na maioria dos medicamentos (Guimarães *et al.*, 2006).

O sistema microsómico hepático é composto por isoenzimas metabólicas, sendo de extrema importância considerar o mais relevante na biotransformação, pelo número de reações oxidativas a que dá lugar e pela variedade de fármacos que o utilizam (Guimarães *et al.*, 2006).

As enzimas presentes neste sistema podem ser classificadas em citocromo P450 (também denominado de CYP) e NADPH - citocromo P450 redutase (Guimarães *et al.*, 2006).

O citocromo P450, deve a sua designação ao facto de absorver luz a um comprimento de onda de 450 nm quando combinado com o monóxido de carbono, corresponde a uma família de hemoproteínas (Guimarães *et al.*, 2006).

No ser humano foram designadas três grandes classes denominadas de CYP 1,2,3, dividindo-se subclasses de A a E. Após a abreviatura segue-se um número que indica a família genética, seguida de uma letra que corresponde a uma subfamília e um número para o gene. As mais relevantes são CYP3A4 e CYP2D6, correspondendo a 80% do valor absoluto das diferentes isoformas (Guimarães *et al.*, 2006).

O fígado é o órgão que possui estas enzimas em maior número, contendo 90 a 95% do total do organismo, estando preferencialmente localizadas na região centrolobular do fígado, sendo por isso, esta a zona mais afectada pela toxicidade dos medicamentos.

Estas enzimas também exercem actividade em outros órgãos, nomeadamente o intestino e os pulmões e no organismo são responsáveis por 70 a 80 % da biotransformação. A CYP3A4 é responsável por cerca de 50%, a CYP2C por 20%, a CYP1A2 por 10-12% e a CYP2E1 por 3 a 6% do metabolismo dos medicamentos utilizados no homem (Guimarães *et al.*, 2006).

A gp-P encontra-se presente na farmacocinética de inumeros fármacos, esta proteína de efluxo participa nas fases de absorção, distribuição, metabolização e eliminação, ao passo que as enzimas do citocromo P450 apenas estão envolvidas no metabolismo do fármaco (Authier *et al.*, 2005).

Os substratos de gp-P também são substratos de enzimas metabolizadoras de fármacos como a CYP3A4, uma vez que a gp-P e a CYP3A4 compartilham os mesmos substratos e inibidores, muitas das interações fármaco-fármaco são originadas pela inibição simultânea de gp-P e CYP3A4. Fromm *et al.*, 2013, indica que a importância clínica da inibição da gp-P *versus* a inibição do CYP deve ser avaliada caso a caso (Fromm, 2004; Fromm *et al.*, 2013).

A gp-P pode controlar o acesso do metabolismo intracelular dos fármacos pela CYP3A4, esta ideia é suportada pela separação espacial da gp-P que se encontra na zona apical da

membrana plasmática e da CYP3A4 localizada no retículo endoplasmático (Benet *et al.*, 2013).

Os fármacos quando são absorvidos no epitélio intestinal podem interagir com a gp-P e ser fortemente extrudados de volta para o lúmen intestinal. Se os processos de difusão e transporte ativo ocorrerem de forma contínua, a circulação do fármaco do lúmen para o compartimento intracelular irá potencialmente prolongar o tempo de permanência intracelular do fármaco, diminuindo conseqüentemente a taxa de difusão e aumentando o metabolismo do fármaco pela CYP3A4 (Benet *et al.*, 2013).

### **Interação ritonavir-lopinavir**

O efluxo do transporte mediado pela gp-P contribui para que haja uma diminuição na resposta dos linfócitos perante os inibidores de protease do HIV. O ritonavir (inibidor da protease do HIV) causa vários efeitos secundários quando administrado em doses elevadas e possui a capacidade de inibir quer a gp-P, quer as isoenzimas CYP3A4 (Cascorbi, 2012).

### **Interação ciclosporina A-rifampicina**

Lin (2002), afirma que é possível observar interações entre a ciclosporina A e a rifampicina em voluntários saudáveis, apontando como provável causa a combinação entre a CYP3A4 e a indução da gp-P (Lin, 2002, Benet *et al.*, 1992).

Foi realizado um estudo em seis voluntários saudáveis com o intuito de observar a farmacocinética da ciclosporina A, tendo esta sido administrada por via oral e por via intravenosa, associado ou não a um pré-tratamento de rifampicina (Lin, 2002).

A *clearance* sanguínea de ciclosporina A sofreu um pequeno aumento após tratamento com a rifampicina, ao passo de a sua biodisponibilidade sofreu um decréscimo (Lin, 2002).

Lin aponta como possível causa o fato da ciclosporina A ser um substrato da gp-P e da CYP3A4, ao passo que a rifampicina consegue induzir a gp-P e a CYP3A4, sendo a

combinação da indução de gp-P e da CYP3A4 a causa do aumento da *clearance* e da diminuição da biodisponibilidade da ciclosporina A (Lin, 2002).

Faz também a ressalva de que não se consegue determinar a contribuição relativa de CYP3A4 e de gp-P de forma quantitativa devido a complexa acção recíproca envolvida entre a gp-P e CYP3A4 presentes no intestino e no fígado (Lin., 2002).

### **3- iv Interações fármaco-fármaco relacionadas com a alteração na excreção**

Os órgãos determinantes na eliminação de xenobióticos do organismo são o fígado e os rins, desempenhando um papel crucial quer na eliminação de fármacos intactos, quer na eliminação dos seus metabolitos (Lin e Yamazaki, 2003).

Para que a excreção biliar ocorra é necessário que o fármaco atravesse a membrana basolateral dos hepatócitos através de difusão passiva e/ou por ação de transportadores de captação hepática. Esta membrana contém transportadores activos em número considerável, que são responsáveis pelo *uptake* de certos catiões, aniões e substâncias endógenas da circulação para o hepatócito (Lin e Yamazaki, 2003).

No interior dos hepatócitos as moléculas de fármaco continuam a difundir-se até chegarem à membrana canicular. Neste ponto a gp-P e outros sistemas de transporte de efluxo bombeiam moléculas para a bilis. A biotransformação também pode ocorrer enquanto as moléculas atravessam os hepatócitos (Lin e Yamazaki, 2003).

O primeiro passo para a eliminação renal e para a biotransformação corresponde ao *uptake* de fármaco ao longo da membrana basolateral das células epiteliais renais, podendo ocorrer durante a difusão celular. A membrana basolateral possui vários transportadores ativos responsáveis pelo *uptake* de fármaco, assim como a porção luminal da membrana borda em escova que para além de conter vários transportadores ativos também possui gp-P, sendo responsável pelo último passo da excreção de substratos de gp-P na urina (Lin e Yamazaki, 2003).

### **Interação digoxina-ritonavir**

O ritonavir é um potente inibidor das isoenzimas do citocromo P450 e da gp-P. Tem a capacidade de aumentar significativamente a área abaixo da curva da concentração plasmática de digoxina *versus* tempo, em pacientes que tomam ritonavir oral, (por um período de tempo longo) em associação com a digoxina por via intravenosa. Esta interação é uma consequência da inibição da clearance renal da digoxina, que provém da inibição de gp-P por parte do ritonavir (Burhenne *et al.*, 2004).

### **Interação digoxina-quinidina**

Como já referido anteriormente a co-administração de quinidina aumenta a biodisponibilidade da digoxina, diminui a sua excreção biliar e a secreção renal do glicosídeo cardíaco, muito provavelmente devido a inibição de gp-P no intestino delgado, fígado e rins (Asperen, 1999).

### **Interação carbamazepina-talinolol**

A carbamazepina também provoca um aumento na eliminação de talinolol em humanos, muito provavelmente por indução da gp-P e MRP2 (Dazert, 2004).

A tabela 2 pretende compilar as principais interações farmacológicas descritas na literatura que possuem como mediador a gp-P.

## O papel da glicoproteína P nas interações fármaco-fármaco

Tabela 2- Interações fármaco-fármaco envolvendo a gp-P (adaptado de Azeredo *et al.*, 2009)

Fármaco	Inibidor/Indutor	Efeito/Toxicidade	Mecanismo
Digoxina	Quinidina	Aumento níveis plasmáticos menor clearance renal	Inibição do MDR1
Digoxina	Verapamil	Aumento níveis plasmáticos menor clearance renal	Inibição do MDR1
Digoxina	Ritonavir	Toxicidade digoxinal	Inibição do MDR1
Paclitaxel	Ciclosporina	Aumento biodisponibilidade	Inibição do MDR1
Paclitaxel	Elacridar	Aumento biodisponibilidade	Inibição do MDR1
Docetaxel	Ciclosporina	Aumento biodisponibilidade	Inibição do MDR1
Saquinavir	Ritonavir	Aumento biodisponibilidade	Inibição do MDR1
Tacrolimos	Verapamil	Aumento dos níveis plasmáticos toxicidade do tacrolimos	Inibição do MDR1
Loperamida	Quinidina	Aumento dos efeitos adversos no SNC	Inibição do MDR1
Tracolumos	Rifampicina	Menor biodisponibilidade, menor clearance total	Indução do MDR1
Ciclosporina	Rifampicina	Menor biodisponibilidade	Indução do MDR1
Topotecano	Elacridar	Maior biodisponibilidade	Inibição do MDR1

#### IV. Conclusão

Este trabalho traz uma breve visão sobre o papel da gp-P nas interações fármaco-fármaco. Como referido ao longo da dissertação a gp-P e o seu gene não estão apenas presentes em células tumorais multirresistentes, mas também em células epiteliais normais. É expressa em barreiras hemato-teciduals, como a barreira hemato-encefálica, hemato-testicular e hemato-placentária, prevenindo a entrada de substâncias tóxicas nestes tecidos graças ao efluxo dos fármacos para fora das células. Esta glicoproteína transportadora desempenha um papel crucial na defesa do organismo face aos xenobióticos.

A gp-P interage com um amplo leque de fármacos de uso clínico que apresentam estruturas químicas muito diversas (anti-histaminicos, agentes imunossuppressores, anti-epiléticos, glicosídeos cardiotónicos, anti-hipertensores, inibidores da protease do HIV, bloqueadores de canais de cálcio, antibióticos, antifúngicos, entre outras classes).

A eficácia clínica dos fármacos parece ser bastante afetada pela mediação da gp-P, que afecta consequentemente a farmacocinética dos mesmos (Sharom., 2011).

A co-administração de dois fármacos com a capacidade de interagirem com a gp-P pode potenciar o aparecimento de interações fármaco-fármaco mediadas pela inibição ou indução da gp-P ou pela competição dos fármacos pelo transportador (gp-P).

Caso a gp-P seja inibida ocorre um aumento de fármaco intracelular, o que leva a um aumento da concentração plasmática do fármaco e a uma diminuição da clearance.

O aumento dos níveis plasmáticos da concentração de fármaco requer uma diminuição da dosagem do fármaco como forma de prevenir que ocorram fenómenos de toxicidade.

Se o fenómeno presente for a indução desta gp-P, haverá uma diminuição do fármaco intracelular, uma diminuição da sua concentração plasmática e um aumento da clearance.

Caso ocorra diminuição da concentração plasmática do fármaco é provável que haja a necessidade de ajuste da dose do mesmo como forma de evitar possíveis efeitos

indesejados ou até mesmo a ausência de efeito farmacológico. No caso de se verificar um aumento da concentração plasmática do fármaco podem surgir problemas de toxicidade grave ou mesmo fatal.

O desenvolvimento racional de novos fármacos deve ter em atenção a ação da gp-P uma vez que os novos candidatos a fármacos correm o risco de sofrerem uma fraca absorção, tornando-os ineficazes do ponto de vista clínico. A procura de substratos de gp-P no desenvolvimento de fármacos que atuem a nível do cérebro é também importante pois a sua eficiência está dependente da passagem do mesmo pela barreira hematoencefálica.

No que diz respeito à terapia farmacológica as variações intra e inter individuais que estão presentes na modulação da expressão e da atividade da gp-P, são de extrema relevância.

O conhecimento exacto da expressão de gp-P no paciente, poderia permitir uma posologia farmacológica mais personalizada, evitando interações farmacológicas e a manutenção das concentrações de fármaco dentro da janela terapêutica.

#### IV. Bibliografia

Alexander, S.I., Briscoe, O.M., Denton, M.D., Frank, M.H., Khoury S.J., Sayegh, M.H., et al. (2001). Specific MDR1 P-glycoprotein blockade inhibits human alloimmune T cell activation in vitro. *J. Immunol.*, 166, pp. 2452-2459.

Alves, G., Falcao, A., Fortuna, A. (2011). In vitro and in vivo relevance of the P-glycoprotein probe substrates in drug discovery and development: focus on rhodamine 123, digoxin and talinolol, *J. Bioequiv. Availab.*:S2

Alcorn, J., Anderson, B.D., Edwards, J.E., McNamara, P.J., Savolainen, J. (2005). Role of P-glycoprotein in distribution of nelfinavir across the blood-mammary tissue barrier and blood-brain barrier. *Antimicrob Agentes Chemother*, 49(4), pp. 1626-8.

Ambudkar S.V., Cardarelli, C.O., Gottesman, M.M., Lelong, I.H., Pastan, I., and Zhang, J. (1992). Partial purification and reconstitution of the human multidrug-resistance pump characterization of the drug-stimulated ATP hydrolysis, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 89, pp. 8472-8476.

Ambudkar, S.V., Dey, S., Gottesman, M.M., Hrycyna, C.A., Pastan, I., Ramachandra, M. (1999). Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 39, pp. 361- 398.

Ambudkar S.V., Gottesman MM., Kimchi-Sarfaty C., Sauna ZE. (2003). P-glycoprotein: from genomics to mechanism. *Oncogene*, 22, pp. 7468–7485.

Ambudkar S.V., Kerr K.M., Muller M., Sauna Z.E., Smith M.M. (2001). The mechanism of action of multidrug-resistance-linked P-glycoprotein. *J Bioenerg Biomembr*, 33, pp. 481-91.

Amin, L. (2013) P-glycoprotein inhibition for optimal drug delivery. *Drug Targets Insights*, 7, pp. 27-34.

Arboix, M., Colombo, T., D'Incalci, M., Paz, O.G. (1997). Multidrug resistance-reversing agents increase vinblastine distribution in normal tissues expressing the P-glycoprotein but do not enhance drug penetration in brain and testis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* , 281, pp. 1226- 1230.

Arnold, H.P., Brockmoller, J., Brinkmann, U., Bruck, O., Cascorbi, I., Eichelbaum, M., Gerloff, T., Hoffmeyer, S., John, I., Richter, von, O., Roots, I. (2000). Functional polymorphisms of the human multidrug resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, pp. 3473-3478.

Ashokraj, Y., Dey, C.S., Panchagnula, R., Varma, M.V.S. (2003). P-glycoprotein inhibitors and their screening: a prespective from bioavailability enhancement. *Pharmacol RES*, 48(4), pp. 347-359.

Asperen, van J., Beijnen, J.H, Borst, P., Nooijen, W.J., Sparreboom, A., Schinkel, A.H., van Teelling. (1997). Enhanced oral bioavailability of paclitaxel in mice treated with P-glycoprotein blocker SDZ PSCN 833, *Brit. J. Cancer*, 76, pp. 1181-1183.

Asperen, van J., Beijnen, J.H., Schinkel, A.H., Telling, van O., Tijssen, F. (1999). Increased accumulation of doxorubicin and doxorubicinol in cardiac tissue of mice lacking mdr1a P-glycoprotein, *Br. J. Cancer*, 79, pp. 108-113.

Assaraf, Y.G., Drori, S., Eytan, G.D. (1995). Potentiation of anticancer drug cytotoxicity by multidrug-resistance chemosensitizers involves alterations in membrane fluidity leading to increased membrane permeability. *Eur J. Biochem*, 228, pp. 1020-9.

Authier, N., Balayssac, D., Cayre, A., Coudore, F., (2005). Does inhibition of P-glycoprotein lead to drug-drug interactions?. *Toxicology. Letters. Elsevier*, 156, pp. 319-329.

Azeredo, F.J., Costa, T., Uchôa, F, T., (2009) P-glycoprotein role on drug pharmacokinetics and interactions. *Rev. Bras. Farm.*,90(4)., pp. 321-326.

Bastos, M.L., Carmo, H., Carvalho, F., Dinis-Oliveira, R.J., Remião, F., Silva, R. (2015). Modulation of P-glycoprotein efflux pump: induction and activation as a therapeutic strategy. *Pharmacology & Therapeutics Elsevier*, 149, pp 1-123.

Beijnen, J.H., Bokkel, Huinink, B., W.W., Koopman, F.J., Malingre, M.M., Meerum, Terwogt., Rosing, H., Schellens, J.H.M., Stewart, J.M.M., Telling, van, O. (1999). Co-administration of cyclosporin A enables oral therapy with paclitaxel, *Clin. Cancer Res.*, 5, pp. 3379-3384.

Beijnen, J.H., Kocks, C.H.W., Schellens, J.H.M., Verschaagen, M. (1999). P-glycoprotein system as a determinant of drug interactions: the case of digoxin-verapamil, *Pharmacol. Res.*, 40, pp. 301- 306.

Beijnen, J.H., Marchetti, S., Mazzanti, R., Schellens, H.M. (2007). Concise Review: Clinical Relevance of Drug–Drug and Herb–Drug Interactions Mediated by the ABC Transporter ABCB1(MDR1, P-glycoprotein), *The oncologist.*,12, pp. :927–941.

Beijnen, J.H., Malingré, M.M., Rosing, H., et al. (2001). Co-administration of GF120918 significantly increases the systemic exposure to oral paclitaxel in cancer patients. *Br. J. Cancer*, 84(1), pp. 42-7.

Benet, L.Z., Brown, M.B., Guo, W., Hsiao, H.L., Leichtman, A.B., Lown, K.S., Mayo, R.R., Rossi, S.J., Schiedlin-Ren, P., Turgeon, K., Watkins, P.B. (1997). Role of intestinal P-glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 62, pp. 248 – 260.

Benet, L.Z., Estudante, M., Morais, J.G., Soveral, G. (2013). Intestinal drug transporters: An overview. *Elsevier.*, 65, pp. 1340-1356.

Benet, L.Z., Hebert, M.F., Prueksaritanont, T., Roberts, J.P. (1992). Bioavailability of cyclosporin with concomitant rifampin administration is markedly less than predicted by hepatic enzyme induction. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 52, pp. 453-457.

Berridge, G., Callaghan, R., Charlton, P., Higgins., F.C., Martin, C., Mistry, P. (2000). Communication between multiple drug binding sites on P-glycoprotein. *Mol Pharmacol.*, 58, pp. 624-632.

Bostian, K.A., Lomovskaya, O. (2006). Practical applications and feasibility of efflux pump inhibitors in the clinic - a vision for applied use. *Biochem Pharmacol.* , 71(7), pp. 910-8.

Brunner, L.J., Liu, J. (2001). Chronic cyclosporine administration induces renal P-glycoprotein in rats, *Eur. J. Pharmacol.*, 418, pp. 127-132.

Burhenne, J., Ding, J., Haefeli, W.E., Mikus, G., Riedel, K.D., Tayrouz, Y., Weiss, J. (2004). Substantial pharmacokinetic interaction between digoxin and ritonavir in healthy volunteers. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 76, pp. 73- 84.

Burk, O., Eichelbaum, M., Geik, A. (2001). Nuclear receptor response elements mediate induction of intestinal MDR1 by Rifampin, *J. Biol. Chem.*, 276, pp. 14581-14587.

Cascorbi, I. (2012). Drug interactions – principles, examples and clinical consequences. *Dtsch Arztebl Int.*, 109(33-34), pp. 546-56.

Callaghan,R., Crowley, E., Potter, S.,Kerr, I.D. (2008). P-glycoprotein so many ways to turn it on. *FEBS Lett.*, 580(4), 1056-1063.

Choo, E.F., Imamura, H., Kim, R.B., Leake, B., Wandel, H., Wilkinson, G.R., Wood, A.J.J. (2000) Pharmacological inhibition of P-glycoprotein transport enhances the distribution of HIV-1 protease inhibitors into brain and testes, *Drug Metab. Dispos.*, 28, pp. 655-660.

Dazert, P., Giessmann, T., Grube, M., May, K., Modess, C., Schroeder, E., Warzok, R., Wegner, D., Zschiesche, M. (2004). Carbamazepine regulates intestinal P-glycoprotein and multidrug resistance protein MRP2 and influences disposition of talinolol in humans. *Clin. Pharmacol Ther*, 76, pp. 192-200.

Dresser, G.K., Glaeser, H., Hanso, H., Hitzl, M., Kim, R.B., Kirch, W., Kuhlisch, E., Miehke, S., Oertel, R., Schwarz, U.I. (2007). Induction of intestinal P-glycoprotein by St. John's wort reduces the oral bioavailability of talinolol. *Clin. Pharmacol Ther.*, 81, pp. 669-678.

Eyal, S., Hsiao, P., Unadkat, J.D. (2009) Drug interactions at the blood-brain barrier: fact or fantasy?. *Pharmacol Ther*, 123, pp. 80-104.

Fardel, O., Guillouzo, A., Lecreur, V. (1996) The P-Glycoprotein Multidrug Transporter. *Elsiver*, 8, pp. 1283-1291.

Franke, G., Fritz, P., Hachenberg, T., Knoke, M., Oertel, R., Richter, O., Warzok, R., Weinbrenner, A., Westphal, K. (2000). Induction of p-glycoprotein by rifampicin increases intestinal secretion of talinolol in human beings: a new type of drug/drug interaction. *Clin Pharmacol Ther*, 68, pp. 345-355.

Fedrowitz, M., Loscher, W., Potschka, H. (2002). P-glycoprotein mediated efflux of phenobarbital, lamotrigine, and felbamate at the blood-brain barrier: evidence from microdialysis experiments in rats. *Neurosci. Lett.*, 327, pp. 173-176.

Fojo, A.T., Gottesman, M.M., Slamon, D.J., Pastan, I., Pollack, D.G., Ueda, K. (1987). Expression of a multidrug resistance gene in human tumors and tissues, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, pp. 265-269.

Ford, J.M. (1996). Experimental reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by pharmacological chemosensitizers, *Eur. J. câncer*, 32A, pp. 991-1001.

Fromm, M.F. (2004). Importance of P-glycoprotein at blood-tissues barriers. *Trends Pharmacol Sci*, 25, pp. 423-429.

Fromm, M., König, J., Müller, F. (2013). Transporters and drug-drug interactions : importante determinantes of drug disposition and effects, *Pharmacol Reviews*, 65, pp, 944-966.

Giacomini, K.M., Huang, S.M., Tweedie, D.J., et al. (2010). Membrane transporters in drug development. *Nat Ver Drug Discov*, 9, pp. 215-36.

Giugliano, R.P., Grip, L.T., Mendell, J., Wessler, J. (2013). The P-glycoprotein transport system and cardiovascular drugs. *J. Am. Cardiol.*, 61, pp. 2495-502.

Gottesman, M.M. (1988). Multidrug Resistance during Chemical Carcinogenesis - a Mechanism Revealed. *J. Natl. Cancer Inst.*, 80, pp. 1352–1353.

Gottesman, M.M., Hamada, H., Pastan, I., Thiebaut, F., Tsuruo, T., et al. (1987). Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-Glycoprotein in normal human tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, pp. 7735-7738.

Guimarães, S., Moura, D., Soares da Silva, P. (2006). Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas, Manual de farmacologia e farmacoterapia, 5ª Edição, *Porto Editora*, Porto.

Hagiwara, K. I., Hamada, H., Nakalima, T. and Tsuruo, T. (1987). Phosphorylation of the 170,000 to 18,000 glycoprotein specific to multidrug-resistente tumor cells: Effects of verapamil, trifluoperazine and phorbol esters *Cancer Res.*, 47, pp. 2860-2865.

Hamilton, G.A., Jones, S.A., Kliewer, S.A., Lambert, M.H., LeCluyse, E.L., Mckee, D.D., Moore, J.T., Moore, L.B., Shenk, J.L., Tomkinson, N.C.O., Wilson, T.M., Wisely, G.B. (2000). The pregnane X receptor: a promiscuous xenobiotic receptor that has diverged during evolution, *Mol. Endocrinol.*, 14, pp. 27-39.

Hashida, T., Inomata, Y., Inui, K., Masuda, S., Tanaka, K., Uemoto, S. (2000). Effect of intestinal P-glycoprotein on daily tacrolimus trough level in a living-donor small bowel recipient, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 68, pp. 98-103.

Huisman, M.T., Schinkel, A.H., Smit, J.W., van Telling, O., Wiltshire, H.R. (1999). Absence or pharmacological blocking of placental P-glycoprotein profoundly increases fetal drug exposure, *J. Clin. Invest.*, 104, pp. 1441-1447.

Jarry, C., Robert, J. (2003). Multidrug resistance reversal agents. *J Med Chem.*, 46(23), pp. 4805-17.

Jewell, R.C., Kuppens, I.E., Witten, E.O., et al. (2007). A phase I, randomized, open-label, parallel-cohort, dose-inding study of elacridar (GF120918) and oral topotecan in cancer patitens. *Clin. Cancer Res.*, 13(11), pp. 3276-85.

Juliano, R.L. and Ling, V. (1976). A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta.*, 455, pp. 152-162.

Lakshmie, P.K., Srivalli, K.M.R. (2012). Overview of P-glycoprotein inhibitors: a rational outlook. *Braz. J. Pharm. Sci.*, 48(3), pp. 353-67.

Lin, J.H. (2002). Drug-Drug interaction mediated by inhibition and induction of P-glycorotein, *Elsevier*, 55, pp. 53-81.

Lin, J.H., Yamazaki, M. (2003). Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics:clinical implications. *Clin. Pharmacokinet.*, 42(1), pp.59-98.

Ling V., Shapiro A.B. (1997). Effect of quercetin on Hoechst 33342 transport by purified and reconstituted P-glycoprotein. *Biochem Pharmacol*, 53, pp. 587-96.

Lomovskaya, O., Totrov, M., Watkins, W.J., Zgurskaya, H.I. (2007). Waltzing transporters and “the dance macabre” between humans and bacteria. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 6(1), pp. 56-65.

Raggers, R.J., Vogels, I., Van, M.G. (2001). Multidrug-resistance P-glycoprotein (MDR1) secretes platelet-activating factor. *Biochem. J.* 357, pp. 859-865.

Revista Nature [Emlinha]. Disponível em [http://www.nature.com/onc/journal/v22/n47/fig\\_tab/1206948f3.html](http://www.nature.com/onc/journal/v22/n47/fig_tab/1206948f3.html) [Consultado em 19/10/2014].

Sharom, F.J. (2011). The P-glycoprotein multidrug transporter. *Essays Biochem.* 50(1), pp. 161-78.

Sugiyama, Y., Suzuki, H. (2000). Role of metabolic enzymes and efflux transporters in the absorption of drugs from the small intestine. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 12, pp. 3-12.

Werle, M. (2008). Natural and synthetic polymers as inhibitors of drug efflux pumps. *Pharm. Res.*, 25(3), pp.500-11.

Yu, K.D. (1999). The contribution of P-glycoprotein to pharmacokinetic drug-drug interactions. *Journal of clinical pharmacology*, 39, pp. 1203-1211.