

António Pedro Fernandes Cordeiro

## **A arte da Farmacogenómica**

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2014



António Pedro Fernandes Cordeiro

## **A arte da Farmacogenómica**

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2014

© 2014

António Pedro Fernandes Cordeiro

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS

António Pedro Fernandes Cordeiro

A arte da Farmacogenómica

---

António Pedro Fernandes Cordeiro

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, sob a orientação do Prof. Doutor José Manuel Cabeda

## RESUMO

A medicina personalizada tem, como objetivo principal, a maximização da eficácia e a minimização dos riscos de toxicidade das drogas farmacêuticas para cada indivíduo. Atualmente, uma das maiores contribuições para esta individualização das terapêuticas advém da farmacogenómica, vertente científica que estuda a forma como os genes interferem nas respostas dos organismos a uma determinada droga. Um dos grandes estímulos para o avanço da farmacogenómica foi a sequencição do genoma humano, facilitando o estudo do efeito das variações genéticas na formação das enzimas e proteínas correlacionadas com a metabolização e transporte pelo organismo das substâncias presentes nos medicamentos.

A presente revisão bibliográfica tem como objetivo principal uma visão geral sobre o estado da arte da farmacogenómica, com a introdução dos seus conceitos básicos, exemplificação de como os polimorfismos genéticos podem modular a suscetibilidade do indivíduo a determinadas patologias ou influenciar a eficácia e a segurança terapêutica das mesmas e, ainda, entender a aplicabilidade destes conhecimentos na prática clínica. Para a sua elaboração foi realizada uma pesquisa bibliográfica entre Janeiro e Agosto de 2014, nas bases de dados *Pubmed*, *ScienceDirect* e *Scielo*. Dos artigos sujeitos aos critérios de inclusão foram selecionados 46 artigos base.

Deste estudo bibliográfico pode concluir-se que a farmacogenómica se aproxima a passos largos, se não da individualização terapêutica pessoa a pessoa, pelo menos da definição de grupos de indivíduos com perfis genéticos semelhantes, para os quais a resposta a fármacos é mais homogénea.

**Palavras-chave:** “*farmacogenómica*”, “*farmacogenética*”, “*farmacogenómica e patologias*”, “*farmacogenómica e cancro*” e “*genética*”.

## ABSTRACT

Personalized medicine has as a main objective to maximize the effectiveness and minimizing the risk of toxicity of pharmaceutical drugs for each individual. Currently, one of the largest contributions to this individualization of therapies comes from pharmacogenomics, a science that studies how genes affect the responses of organisms to a given drug. A major stimulus for the advancement of pharmacogenomics was the sequencing of the human genome, which allowed the study of the effect of genetics variations in the formation of enzymes and proteins correlated with the metabolism and transport of drugs.

This review aims to present an overview on the state of the art of pharmacogenomics, with the introduction of its basic concepts, how genetic polymorphisms may modulate individual's susceptibility to certain diseases or influences the therapeutic efficacy and safety of drugs, and discuss the applicability of this knowledge in the clinical practice. A literature search was done between January and May 2014, performed in Pubmed, ScienceDirect and Scielo, resulting in the selection of 45 papers satisfying the inclusion criteria.

From this bibliographical review it can be concluded that Pharmacogenomics has reached a state in which it makes possible, if not an individual tuning of the pharmaceutical regimen, at least the definition of groupings of individuals with similar genetic profiles and a corresponding more homogeneous response to drugs.

**Key-words:** *“pharmacogenomics”, “pharmacogenetics”, “pharmacogenomics and diseases”, “pharmacogenomics and cancer” and “pharmacogenomics and genetics”*

“Posso ter defeitos, viver ansioso  
e ficar irritado algumas vezes,  
mas não esqueço de que minha vida  
é a maior empresa do mundo  
e que posso evitar que ela vá à falência.

Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver  
apesar de todos os desafios, incompreensões  
e períodos de crise.

Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas e  
se tornar um autor da própria história  
é atravessar desertos fora de si,  
mas ser capaz de encontrar  
um oásis no recôndito da sua alma  
é agradecer a Deus a cada manhã  
pelo milagre da vida.

Ser feliz é não ter medo  
dos próprios sentimentos.

É saber falar de si mesmo.

É ter coragem para ouvir um “não”.

É ter segurança para receber uma crítica.

Mesmo que injusta.

Pedras no caminho, guardo todas,  
um dia vou construir um castelo”

**Augusto Cury**



## **AGRADECIMENTOS**

Ao terminar esta importante etapa da minha vida, não posso deixar de agradecer a todos aqueles que me ajudaram ao longo deste caminho.

Agradeço, antes de mais ao Professor Doutor José Cabeda pela sua simpatia, constante disponibilidade, orientação e esclarecimentos, que foram imprescindíveis ao longo deste período.

Aos meus pais, irmã e avós, agradeço-lhes aquilo que sou hoje, fantásticos e incansáveis desde sempre.

À Vânia pelo apoio, amizade e carinho, obrigado por tudo.

Aos meus amigos pela amizade e apoio.

Agradeço por último à Universidade Fernando Pessoa e ao seu corpo docente pela qualidade do ensino prestado.

# ÍNDICE GERAL

<b>RESUMO</b>	VI
<b>ABSTRACT</b>	VII
<b>ÍNDICE GERAL</b>	XI
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	XIII
<b>ÍNDICE DE TABELAS</b>	XIV
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	XV
<b>1. Introdução</b>	<b>1</b>
1.1 Objectivos e metodologia	3
<b>2. Farmacogenómica: perspetiva histórica e conceitos gerais</b>	<b>5</b>
2.1. Evolução da farmacogenómica	5
2.2 Conceitos gerais	7
<b>3. Metabolismo dos fármacos</b>	<b>10</b>
3.1 Polimorfismos genéticos e os fármacos	10
3.1.1. Polimorfismos genéticos na metabolização de drogas	11
3.1.2. Polimorfismos genéticos nos sistemas transportadores de drogas	16
3.1.3. Polimorfismos genéticos dos alvos terapêuticos	18
3.2. Farmacogenómica nas patologias auto-imunes	20
3.3 Farmacogenómica na oncologia	27

<b>4. Farmacogenómica no desenvolvimento de novos fármacos</b>	<b>30</b>
4.1 – Biomarcadores preditivos de RAMs	32
4.2 – Testes farmacogenómicos	33
<b>5. Farmacogenómica: outros dados</b>	<b>41</b>
5.1 – Farmacogenómica na farmacologia	41
5.2 – Farmacogenómica e ética	43
<b>6. Aplicações clínicas da farmacogenómica: o caso da varfarina</b>	<b>47</b>
<b>7. Conclusão</b>	<b>51</b>
<b>8. Bibliografia</b>	<b>53</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Dinâmica dos fármacos segundo a farmacocinética e a farmacodinâmica. ....	<b>1</b>
<b>Figura 2</b> – Paradigmas dos efeitos das drogas farmacêuticas em diferentes genéticas .....	<b>2</b>
<b>Figura 3</b> – A resposta aos medicamentos pode ser considerada benéfica (prevenção, melhoria e cura da patologia, com alívio do sofrimento e da dor), nula (indicação, prescrição ou uso incorreto) ou desfavorável (reações adversas e efeitos secundários) .....	<b>8</b>
<b>Figura 4</b> – Base da farmacogenómica .....	<b>12</b>
<b>Figura 5</b> – Exemplo esquemático das possíveis alterações de perfil metabólico de indivíduos com diferentes características genéticas em enzimas .....	<b>14</b>
<b>Figura 6</b> – Ciclo de ação do metotrexato.....	<b>21</b>
<b>Figura 7</b> – Ciclo da vitamina K .....	<b>49</b>

## ÍNDICE DE TABELAS

**Tabela 1** – Polimorfismos genéticos associados à suscetibilidade e fenótipo de determinadas doenças autoimunes ..... **23**

**Tabela 2** – Frequência de alelos de suscetibilidade nos genes da varfarina ..... **48**

**Tabela 3** – Frequência de alelos de suscetibilidade nos genes da varfarina ..... **50**

## LISTA DE ABREVIATURAS

A.C. – antes de Cristo

ALDH – aldeído desidrogenase

ALOX5 – araquinodato 5-lipoxigenase

AR – artrite reumatoide

Arg – arginina

Base A – adenina

Base T – timina

BHE – barreira hematoencefálica

DAE – drogas anti-epiléticas

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EM – Esclerose Múltipla

EMA – *European Agency of the Evaluation of Medicinal Products*

EUA – Estados Unidos da América

FDA – *Food and Drug Administration*

G6PD – glicose-6-fosfato-desidrogenase

Gln – glutamina

Glu- glutamato

Gly – glicina

HER2 – *Human Epidermal Growth Factor Receptor-type 2*

PASI – *Psoriasis Area and Severity Index Redution*

PGP – glicoproteína-P

RAM – reações adversas medicamentosas

RNA – ácido ribonucleico

SNP – *single nucleotide polymorphism*

TNF – Factor de Necrose Tumoral

TPMT – tiopurina metiltransferase

UGP – uridina-difosfato-gluconil transferase

## 1. Introdução

O principal objetivo da farmacologia passa pela otimização dos resultados positivos das drogas terapêuticas consoante a patologia a que se destinam, ou seja, a determinação da dosagem mais baixa onde é alcançada uma efetividade ótima a uma menor toxicidade. A metabolização dos compostos farmacêuticos, desde a sua ingestão até à sua excreção, inclui processos farmacocinéticos (processos de absorção, distribuição e eliminação, seja por excreção ou biotransformação) e farmacodinâmicos (interações dos compostos com os seus alvos e recetores) (Figura 1; Destenaces & François, 2000; Sandrim & Tanus-Santos, 2008; Suarez-Kurtz, 2004).

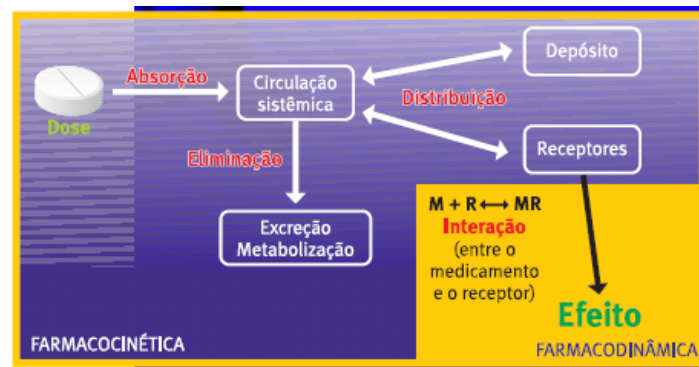


Figura 1 – Dinâmica dos fármacos segundo a farmacocinética e a farmacodinâmica. Adaptado de Pessoa *et al.* (2006).

No entanto, o resultado de uma terapia farmacológica para um mesmo diagnóstico varia intra e interpopulações: em alguns indivíduos é observado o efeito esperado a determinada dose, enquanto outros indivíduos parecem desenvolver respostas inadequadas como a ausência de efeitos benéficos ou o desenvolvimento de efeitos adversos (Pessoa *et al.*, 2006; Suarez-Kurtz, 2004).

Fatores como a faixa etária ou a presença de patologias concomitantes contribuem para a variabilidade de reação a um fármaco, mas foi a evolução das tecnologias moleculares que contribuiu para a observação do mapa genético e, assim, do fator vital: as variações

genéticas individuais. Estima-se que estas influenciem entre 20% a 95% das respostas do organismo humano a uma determinada droga. Foram identificadas variações genéticas capazes de alterar as enzimas metabolizantes de drogas, as enzimas transportadoras e, ainda, o alvo recetor do composto farmacêutico (Figura 2; Evans & McLeod, 2003; Pessoa *et al.*, 2006; Sandrim & Tanus-Santos, 2008).

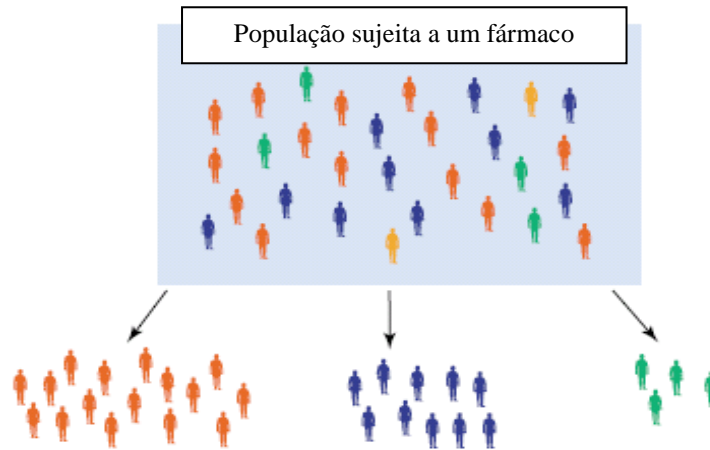


Figura 2 – Paradigma dos efeitos das drogas farmacêuticas em diferentes genéticas. Adaptado de Pessoa *et al.* (2006).

Para além da diferente metabolização das drogas, estudos prospetivos mostram que as reações adversas medicamentosas (RAM) devem ser consideradas um problema crescente em saúde pública; estima-se que cerca de dois milhões de hospitalizações/ano, apenas nos Estados Unidos da América, ocorram por reações inesperadas a determinados tratamentos. Segundo dados estatísticos, o número de fatalidades resultantes de RAM coloca-as como a quinta causa de morte mais comum nos EUA (Destenaces & François, 2000; Metzger *et al.*, 2006; Pessoa *et al.*, 2006; Sandrim & Tanus-Santos, 2008).

O surto de focomelia nos anos 60 é um dos exemplos do aparecimento de RAM inesperadas após a utilização de um composto farmacêutico, que afetaram milhares de recém-nascidos na Alemanha Oriental. Estudos posteriores comprovaram os efeitos teratogênicos da talidomida, utilizada pelas mães grávidas como um hipnótico não-barbitúrico no tratamento da ansiedade, insónias, náuseas e vômitos matutinos, que provocaram deformações nos membros inferiores dos nados. Nos EUA, a FDA já havia procedido à retirada do medicamento por associá-lo a hipotireoidismo e a neuropatias periféricas, levantando discussões sobre o uso indiscriminado e incorreto de medicamentos, as possíveis interações medicamentosas e RAM súbitas (Kawano *et al.*, 2006).

As descobertas na farmacogenómica, campo que fornece a janela experimental que dissecou os efeitos da variação genética humana nas respostas às drogas farmacêuticas (Weber, 2001), contribuíram para a individualização das terapêuticas através da escolha de um medicamento e da dose adequada com base no conhecimento genético que regula a farmacocinética e a farmacodinâmica individual (Suarez-Kurtz, 2004), utilizando-se a informação genética para a identificação das dosagens com maior benefício e menor probabilidade de desenvolvimento de RAM ou de efeitos tóxicos profundos (Pessoa *et al.*, 2006).

### **1.1. Objetivos e metodologia**

Neste trabalho de revisão bibliográfica procurou fazer-se um levantamento do estado da arte da farmacogenómica, tendo a preocupação de em cada aspeto discutir a sua aplicabilidade na prática clínica e farmacêutica. Para tal realizou-se uma pesquisa bibliográfica com o intuito de resumir e identificar os principais avanços desde a descodificação do genoma humano até à utilização da farmacogenómica para diminuir as RAM e procurar as doses ideais individuais. A pesquisa bibliográfica foi efetuada entre Janeiro e Agosto de 2014, utilizando as seguintes palavras-chave: “farmacogenómica”, “farmacogenética”, “farmacogenómica e patologias”, “farmacogenómica e cancro”, “genética”. As bases de dado utilizadas foram a *Pubmed*

e a *ScienceDirect*, tendo sido ainda utilizado o motor de busca *Scielo* na tentativa de englobar artigos na língua portuguesa.

Aos resultados desta pesquisa foram aplicados filtros de pesquisa de forma a identificar os artigos mais importantes para a realização desta tese, como datarem entre 2000 e 2014 ou estarem publicados em língua inglesa e portuguesa. Editoriais, cartas ou artigos de opinião foram englobados nos critérios de exclusão.

No total, para a redação desta tese de revisão, foram selecionados 46 artigos, publicados entre 2001 e 2014.

## 2. Farmacogenómica: perspectiva histórica e conceitos gerais

### 2.1. Evolução da farmacogenómica

A primeira referência da existência de uma variabilidade genética inter-individual é atribuída ao matemático Grego Pitágoras, que descreveu intoxicações provocadas por favas em alguns indivíduos de um grupo, identificando cientificamente a primeira reação alérgica (Suarez-Kurtz, 2004). Igualmente de forma empírica, foi observada a diferente suscetibilidade ao álcool por parte de determinados grupos étnicos e, mais tarde, foi descrita a baixa incidência de alcoolismo em alguns organismos, facto relacionado com uma alteração na enzima aldeído desidrogenase (ALDH), catalisadora da oxidação do acetaldeído no fígado e em outros órgãos e responsável pelos sintomas agudos de sensibilidade ao álcool. Com o avanço das tecnologias genéticas, dados bioquímicos, imunoquímicos e moleculares comprovaram uma mutação estrutural responsável pela perda da atividade catalítica no gene codificador da enzima ALDH I (Pessoa *et al.*, 2006).

As evidências científicas das alterações na metabolização de determinados químicos exógenos eram escassas até Marshall *et al.* (*cit in* Weber, 2001) catalogar, em 1918, uma maior resistência à ação do gás mostarda por parte de indivíduos de raça negra quando comparados com os caucasianos. Em 1929, a variável “raça” mostrou ser também importante quanto aos efeitos da cocaína e da atropina (Weber, 2001).

Já os primeiros relatos de diferentes respostas a fármacos surgiram com Alf Alvind *et al.* (*cit in* Pessoa *et al.*, 2006) após a observação, no decorrer da Segunda Guerra Mundial, de que aproximadamente 10% dos soldados afro-americanos e apenas um pequeno número de soldados caucasianos desenvolviam crises hemolíticas agudas após a administração de primaquina ou de fármacos anti-maláricos qui-relacionados. Posteriormente, demonstrou-se que uma deficiência na enzima glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD) que altera o mecanismo dos eritrócitos é a causa desta sensibilidade (Pessoa *et al.*, 2006), correlacionando a deficiência enzimática à RAM

observada. Em 1959, Vogel introduziu, finalmente, o termo “farmacogenética” na comunidade científica (Shin *et al.*, 2009).

A farmacogenética começou por explorar os processos farmacocinéticos, principalmente a biotransformação dos fármacos no organismo, sendo o trabalho do cientista Wener Kalow, da Universidade de Toronto, um dos mais importantes no desenvolvimento desta área uma vez que estudou a ligação entre a succinilcolina e os casos de apneia prolongada (Evans & McLeod, 2003). Utilizada durante as anestésias gerais para o relaxamento da musculatura esquelética respiratória, a succinilcolina tem um tempo de ação reduzido, de apenas alguns minutos, uma vez que é rapidamente destruída pela enzima colinesterase presente no plasma sanguíneo. Para que a paralisia muscular seja mantida, é necessário a aplicação constante do composto. A interrupção da aplicação de succinilcolina faz com que os pacientes recuperem espontaneamente a respiração autónoma, com exceção dos casos onde a presença de alterações nos genes que codificam a colinesterase fazem com que o retorno natural só ocorra ao fim de algumas horas, como demonstrado por Kalow (Suarez-Kurtz, 2004).

Posteriormente, a farmacogenómica passou a abranger o estudo da farmacodinâmica das drogas, uma vez que as anomalias genéticas são a base de síndromas como a hipertermia maligna que acomete cerca de 1:14000 a 1:20000 dos pacientes submetidos a uma anestesia geral. Classicamente, esta ocorre por libertação excessiva de cálcio no retículo sarcoplasmático dos portadores de uma mutação no gene que codifica o recetor da rianodina (gene RYR1, no cromossoma 19), após a exposição a anestésicos gerais halogenados bem como a relaxantes musculares despolarizantes, como a succinilcolina (Pessoa *et al.*, 2006; Suarez-Kurtz, 2004).

Após a sequenciação do genoma humano através do *Human Genome Project*, que potenciou uma nova era na medicina baseada na genética humana, a catalogação dos polimorfismos mais comuns, da sua aplicabilidade genética e dos estudos farmacogenómicos permitidos pelo desenvolvimento da tecnologia necessária para a análise biológica tornou-se uma prática (Sandrim & Tanus-Santos, 2008; Weber, 2001).

Atualmente, só nos EUA, cerca de 120 fármacos apresentam descritos nas suas bulas evoluções no campo da farmacogenómica, onde se incluem medicamentos para patologias infecciosas, cardiologia, hematologia (ex. varfarina), neurologia (ex. carbamazepina), psiquiatria (ex. atomoxetina) e oncologia (ex. azatioprina e o cetuximab; Shin *et al.*, 2009). Espera-se que o perfil genético individual seja a chave para uma terapêutica individualizada, permitindo o aumento da efetividade da terapêutica e a redução dos problemas relacionados com as RAM (Evans & McLeod, 2003).

## 2.2. Conceitos gerais

Um consenso quanto à nomenclatura que define os termos farmacogenética e farmacogenómica parece difícil de obter e, no seio da comunidade científica, existe alguma tendência para utilizar as definições como sinónimos, numa tentativa de simplificação das enunciações (Evans & McLeod, 2003). No entanto, segundo o *Position Paper on Terminology in Pharmacogenetics* da *European Agency of the Evaluation of Medicinal Products* (EMA), “farmacogenética” refere-se às alterações ou variações específicas de um gene e da forma como afeta a resposta terapêutica num indivíduo, enquanto a “farmacogenómica” estuda as variações a nível do genoma, o reflexo de mutações nas proteínas ou no RNA, a forma como estas alterações controlam os efeitos terapêuticos no indivíduo e a descoberta e desenvolvimento da aplicação clínica destas alterações (Pirazzoli & Recchia, 2004; Shin *et al.*, 2009), tendo sido o termo adotado para a realização deste trabalho.

Como já foi dito anteriormente, as variabilidades nas respostas dependem de diversos fatores influenciadores como, por exemplo, a presença de patologias concomitantes (especialmente se tiverem uma origem renal ou hepática), interações medicamentosas, a faixa etária, funcionalidade dos órgãos ou, ainda, de fatores ambientais como a gravidez ou o tabagismo (Figura 3; Golan *et al.*, 2009; Metzger *et al.*, 2006; Sandrim & Tanus-Santos, 2008; Shin *et al.*, 2009).



Figura 3 – A resposta aos medicamentos pode ser considerada benéfica (prevenção, melhoria e cura da patologia, com alívio do sofrimento e da dor), nula (indicação, prescrição ou uso incorreto) ou desfavorável (reações adversas e efeitos secundários). Adaptado de Suarez-Kurtz (2004).

Como a cada indivíduo corresponde um determinado genoma e, embora seja necessário considerar os fatores não genéticos aquando da prescrição de uma terapêutica, é a genética que parece determinar a capacidade de resposta a um fármaco e os polimorfismos presentes com reflexo no metabolismo, entre outros (Shin *et al.*, 2009).

O perfil genético individual é vital para o tipo de resposta do metabolismo a doses padronizadas (doses ideais ou doses *standard*) terapêuticamente recomendadas, podendo levar a concentrações sanguíneas do fármaco ou dos seus metabolitos inesperadamente elevadas ou baixas (conforme o perfil genético), causando toxicidade ou ausência de efetividade terapêutica (Evans & McLeod, 2003). Estas variações são particularmente importantes em fármacos que possuam uma janela terapêutica estreita, ou seja, com uma margem pequena entre a dose terapêutica e a tóxica (Tomalik-Scharte *et al.*, 2008).

As RAM são um problema de saúde pública e a causa de um número significativo de hospitalizações, do aumento do tempo de internamento hospitalar ou de mortalidade, estimando-se uma prevalência entre 1.5% e 15% e ocorrência de efeitos muito graves em 0.4% a 2% desses casos (Pessoa *et al.*, 2006). Mais especificamente, por exemplo,

estuda-se a possibilidade de 30% dos portadores de esquizofrenia não responderem ao tratamento padronizado com anti-psicóticos e que o interferon- $\beta$  apenas é efetivo em um terço dos casos de esclerose múltipla (Destenaces & François, 2000).

Devido a estas variações, a indústria farmacêutica vê-se obrigada a retirar 4% dos fármacos que são lançados no mercado após algum tempo de venda ao público, por RAM inesperadas, situação desastrosa para a indústria responsável (Metzger *et al.*, 2006). Segundo Allen Roses (*cit in* Suarez-Kurtz, 2004), a percentagem de respostas anómalas pode variar entre os 25% (por exemplo, quando estão a ser utilizados quimioterapêuticos antitumorais) e os 90% (no caso de analgésicos como a aspirina).

Resumidamente, a farmacogenómica busca identificar genes que: a) predisponham o indivíduo a uma patologia; b) modulem as respostas aos medicamentos; c) afetem a farmacocinética e farmacodinâmica de um fármaco; d) estejam associados a RAM (Metzger *et al.*, 2006; Pirazzoli & Recchia, 2004). Os resultados iriam ajudar a otimizar a medicina, a reduzir os custos e o número de medicamentos retirados do mercado devido a efeitos secundários, além de que iria permitir a elaboração de um banco de dados genéticos (Pirazzoli & Recchia, 2004).

### 3. Metabolismo dos fármacos

A variabilidade interindividual da metabolização de um fármaco leva, frequentemente, a acentuadas diferenças na extensão do metabolismo e, conseqüentemente, na taxa de eliminação do fármaco, assim como a alterações noutras características como o perfil de tempo de concentração plasmática. Esta inconstância promove respostas farmacológicas diferentes em pacientes submetidos a uma mesma dose (dose padronizada) e deve ser considerada ao estabelecer o regime terapêutico de um determinado paciente (Golan *et al.*, 2009).

Entre os fatores ambientais capazes de alterar a metabolização padrão de um medicamento pode citar-se o alcoolismo, estados patológicos múltiplos, dieta alimentar, hábitos tabágicos e *stress*. Algumas drogas demonstram uma maior variação no efeito consoante a etnia (é comum em fármacos utilizados em cardiopatias ou psicotrópicos) (Fuchs & Wannamacher, 2010; Goodman & Gilman, 2005) e ainda o género. O género feminino deve considerar a gravidez, a lactação, a menopausa, o ciclo menstrual e o uso de anticoncepcionais uma vez que as diferenças fisiológicas a nível hormonal, enzimático e do metabolismo basal influenciam as metabolizações medicamentosas (Silva, 2006). No entanto, o fator mais importante não deixa de ser a ligação entre o produto ditado pelos genes e a influência na farmacocinética e farmacodinâmica da droga, incluindo as diferenças inerentes nos alvos das drogas (receptores) ou na disposição da droga (enzimas metabolizantes e transportadores; Evans & McLeod, 2003; Li & Lu, 2010), sendo que, ao contrário dos outros fatores, os genéticos tendem a manter-se estáveis ao longo de toda a vida do indivíduo (Evans & McLeod, 2003).

#### 3.1. Polimorfismos genéticos e os fármacos

O genoma humano possui 23 pares de cromossomas, contendo cerca de 25000 genes formados por 3 biliões de nucleótidos, estimando-se que apenas 1% das variações que acontecem na sequência dos nucleótidos, diferenciem os indivíduos dentro de uma determinada espécie (Metzger *et al.*, 2006; Pessoa *et al.*, 2006). Cerca de 100 alterações

humanas na resposta às drogas tinham sido identificadas em 1980 e a maioria era descrita como polimorfismos genéticos nas enzimas metabolizadoras de drogas (Weber, 2001). Estes polimorfismos afetam a farmacocinética e/ou a farmacodinâmica dos medicamentos, seja por alteração da expressão da atividade nos locais de ligação da droga, por afetarem a estabilidade do RNA mensageiro ou por modificarem a estrutura física das proteínas codificadas, entre outros. Como consequência, estas alterações podem levar à redução ou aumento da atividade da proteína codificada (Metzger *et al.*, 2006; Pessoa *et al.*, 2006).

Foram identificados, quase, 1.4 milhões de polimorfismos únicos (*SNP – Single Nucleotide Polymorphis*) na sequência inicial do genoma humano e cerca de 60000 localizavam-se na região codificadora de genes (Evans & McLeod, 2003; Pessoa *et al.*, 2006). Os SNP são os mais comuns e responsáveis por 90% da variabilidade entre indivíduos, ocorrendo quando se verifica, por exemplo, uma substituição de uma base “A” (adenina) por uma base “T” (timina) numa determinada posição do genoma. A substituição de um nucleótido de DNA por outro pode levar a uma alteração do aminoácido codificado inicialmente, com mudanças estruturais do recetor e afetando a interação dos ligandos endógenos com os fármacos (Metzger *et al.*, 2006; Sandrim & Tanus-Santos, 2008).

### 3.1.1. Polimorfismos genéticos na metabolização de drogas

Aproximadamente trinta famílias enzimáticas estão encarregues da metabolização das drogas farmacêuticas em organismos humanos, sendo que todas podem apresentar variantes genéticas que se traduzam em alterações funcionais nas proteínas que codificam (Evans & McLeod, 2003). Esta metabolização envolve duas etapas fundamentais: a fase I (ou fase de oxidação) efetuada, maioritariamente, por enzimas da família do citocromo P450 (CYP-450; igualmente denominado por P<sub>450</sub>), que consiste na adição de um átomo de hidrogénio ao substrato criando um grupo funcional que será utilizado nas reações de conjugação (fase II). Esta segunda fase ocorre, predominantemente, pela ação de enzimas do sistema UGP (uridina-difosfato-glucoronil

transferase) que une o ácido glucorónico aos substratos, aumentando a solubilidade e facilitando a excreção dos mesmos (Silvado, 2008).

O grau de metabolização por parte destas famílias depende das cópias dos alelos genéticos herdados dos progenitores. Estes alelos podem ser classificados de selvagens (são os mais comuns na população) e o indivíduo é considerado um metabolizador normal se possuir dois alelos selvagens, ou então podem herdar alelos variantes. A presença de alelos variantes significa que possuem polimorfismo codificadores de atividades reduzidas ou nulas. O indivíduo é considerado um metabolizador fraco se herdou dois alelos variantes, intermédio se um alelo variante e um selvagem e ultra-rápido se herdar múltiplas cópias de alelos selvagens, possuindo uma atividade enzimática aumentada (Silvado, 2008). Um polimorfismo que altere a metabolização de um fármaco pode levar ao aumento da concentração plasmática da droga e à redução dos seus metabolitos, assim como a um aumento da probabilidade de toxicidade, alterações que ocorrem sem o aparecimento imediato de sintomas (Figura 4; Silva, 2006).

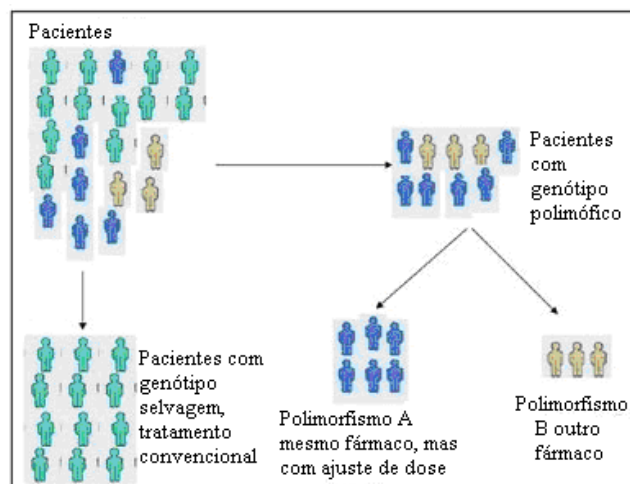


Figura 4 – Base da farmacogenómica. Adaptado de Pinto (2005).

Por exemplo, a metabolização da fenitoína pela CYP-2C9 (em 90% dos casos) e pela CYP-2C19 (nos restantes casos) pode estar reduzida entre 27% a 54% nos casos onde ocorrem polimorfismos no \*2 e \*3 da CYP-2C9, predispondo os indivíduos a uma

toxicidade superior. Estima-se que 20% a 30% dos indivíduos possuam um perfil de metabolização fraco para a fenitoína, podendo levar ao desenvolvimento de reações medicamentosas adversas (RAM) como hiperplasia gengival ou reações cutâneas violentas. Hung *et al.* (*cit in* Silvado, 2008) sugere que a dose de fenitoína em metabolizadores fracos ou intermédios deve ser reduzida para 2 a 4 mg/kg/dia.

O sistema oxidativo abrange 57 genes codificadores, sendo as enzimas oxidativas CYP-1A1, CYP-2C9, CYP-2C19, CYP-1D6, CYP-3A4 e CYP-3A5 responsáveis por cerca de 90% da oxidação de todas as drogas utilizadas atualmente. A atividade metabólica destas está dependente da idade, encontrando-se a sua quantidade reduzida entre 50% a 70% num recém-nascido, valor que aumenta gradativamente até aos 2 ou 3 anos e expressando-se aí em quantidades superiores às de um adulto (Silvado, 2008).

A inabilidade genética para expressar a enzima CYP-3A5 de forma funcional é comum entre os caucasianos. No entanto, este polimorfismo pode não ser totalmente evidente uma vez que algumas drogas partilham uma metabolização comum entre esta enzima e a CYP-3A4, camuflando assim os efeitos clínicos do SNP que ocorre no CYP-3A5, contribuindo para a efetividade da CYP-3A no seu geral (Evans & McLeod, 2003). O polimorfismo que ocorre no CYP-3A5 é um SNP predominante na região do intrão 3 que cria um local de *splicing* alternativo, adicionando 131 nucleótidos ao RNA e introduzindo um codão *stop* demasiado cedo, terminando prematuramente a proteína. Apesar de atualmente ser possível determinar os indivíduos que expressam ambas as enzimas de forma funcional, a importância clínica das variações da CYP-3A na metabolização de drogas é ainda pouco compreendida. Quanto à CYP-3A4 ainda não foram descritos polimorfismos genéticos para as mesmas, ao contrário do que acontece com a CYP-1A2, CYP-2C19 e CYP-2D6 (Figura 5; Evans & McLeod, 2003).

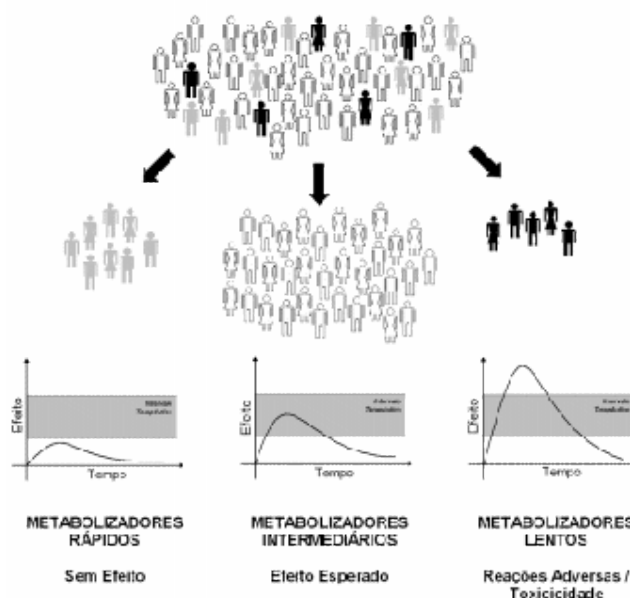


Figura 5 – Exemplo esquemático das possíveis alterações de perfil metabólico de indivíduos com diferentes características genéticas em enzimas. Adaptado de Metzger (2006).

Noutros casos, o metabolismo de determinados compostos pode ser induzido pela presença do metabolismo de outros fármacos, fenómeno denominado de auto-indução (Goodman & Gilman, 2005). Nas interações medicamentosas que produzam respostas farmacológicas, uma droga pode interagir na biotransformação de outra, seja aumentando ou reduzindo a sua degradação (Williams & Lemke, 2002) e esta oscilação de degradação é provocada por indução ou inibição enzimática, respetivamente (Silva, 2006). A indução enzimática aumenta também a farmacocinética e farmacodinâmica das drogas, com implicações clínicas na ação terapêutica destas e potencial aumento das interações medicamentosas. Com a metabolização de uma droga a tornar-se mais rápida, pode resultar em metabolitos mais tóxicos ou menos ativos do que a droga inicial (Williams & Lemke, 2002). O cloranfenicol, dicumarol, dissulfiram, cimetidina, fenilbutazona e propoxifeno inibem as oxidases microsomias hepáticas, alterado a atividade de drogas como a aspirina e provocando sérias RAM (Silva, 2006).

O risco terapêutico associado a induções metabólicas torna-se crítico quando a administração do indutor é interrompida enquanto se mantém a dose do outro fármaco

uma vez que, à medida que o efeito indutor desaparece, as concentrações plasmáticas do segundo fármaco irão aumentar, com um potencial aumento dos efeitos adversos a menos que ocorra a redução da dose do segundo medicamento (Goodman & Gilman, 2005) e, apesar de normalmente os indutores serem seletivos para certas famílias, outras enzimas podem sofrer uma modulação positiva devido a um mecanismo molecular comum (Golan *et al.*, 2009).

Por exemplo, os indutores da família CYP-450 estimulam a oxidação metabólica ou síntese de substâncias endógenas como a hidroxilação de androgéneos, estrogénios, vitamina D ou bilirrubina, entre outros, levando à diminuição das suas atividades biológicas (Williams & Lemke, 2002). Furuta *et al.* (*cit in* Wang *et al.*, 2013) descreve as diferenças significativas na percentagem de cura de uma infeção por *helicobacter pylori* através de inibidores da bomba de prótons (rabeprazole) associados à amoxicilina, em indivíduos com SNP da CYP-2C19. A resposta positiva foi de 61% para metabolizadores normais, 92% para intermédios e 94% para fracos (Silvado, 2008).

Neste campo, a epilepsia é bastante estudada quanto à farmacogenómica devido às RAM que certos pacientes desenvolvem mesmo quando administrados com doses baixas de drogas anti-epiléticas (DAE) ou necessitando de doses muito elevadas, quando comparados com as doses padrão, para a obtenção do controlo adequado das crises epiléticas. As DAE são afetadas indiretamente pela inibição ou indução da sua metabolização por outras drogas, sendo particularmente difícil controlar os efeitos adversos das interações medicamentosas na epilepsia (Silvado, 2008) e podendo ter interações importantes com outras drogas que interferem na ação de determinadas enzimas da família CYP-450.

A indução ocorre de forma gradual (dias a semanas), conforme a droga indutora e o grau de síntese enzimática da droga induzida, sendo tanto mais rápida quanto mais curta for a média de vida da droga indutora. As DAE tradicionais (fenobarbital, fenitoína e carbamazepina) são potentes indutoras da CYP-3A4, metabolizadora de estrogénios, progesterona, antidepressivos, ansiolíticos, entre outros, aumentando os níveis séricos

destes e, potencialmente, os efeitos colaterais. Já o Valproato é um potente inibidor da CYP-2C9 e a vigabatrina e a tiagabina não têm qualquer efeito inibidor ou indutor na família CYP-450 (Silvado, 2008). A introdução ou a suspensão da toma de drogas com efeitos auto-indutores deve ser acompanhada de um ajuste da droga metabolizada pela CYP afetada, particularmente se a faixa terapêutica for estreita. A carbamazepina, por exemplo, deverá ser usada com algum cuidado como droga indutora uma vez que desencadeia uma cascata de auto-indução ao fim de 3 a 4 semanas após o início do tratamento, induzindo um aumento metabólico próprio de até 50% (Silvado, 2008).

### 3.1.2. Polimorfismos genéticos nos sistemas transportadores de drogas

São diversas as proteínas que realizam o transporte ativo das drogas através das membranas celulares, regulando a concentração intracelular dos fármacos e, assim, protegendo-as dos efeitos nocivos dos fármacos em concentrações tóxicas. Quando estas proteínas são atingidas por polimorfismos genéticos, ocorre um efeito indireto na resposta às drogas (Evans & McLeod, 2003; Pessoa *et al.*, 2006; Silvado, 2008). De entre as proteínas transportadoras destacam-se os membros da superfamília ABC (ATP-binding casset), que atuam na absorção e excreção farmacológica em diversos órgãos como os rins ou a barreira hemato-encefálica (BHE). A glicoproteína-P (PGP), codificada pelo gene humano ABCB1 (também denominado por MDR1), localiza-se nas células endoteliais e tem como principal função o efluxo de substratos como os das drogas anti-cancerígenas, dos agentes imunossupressores, dos glucocorticoides, assim como a excreção de metabolitos pela urina, ações dependentes do gasto de energia celular (Evans & McLeod, 2003; Pessoa *et al.*, 2006; Silvado, 2008).

Variações genéticas nos transportadores de iões também têm um papel importante na predisposição de efeitos tóxicos produzidos por fármacos em alguns pacientes. Um SNP no gene KCNE2, subunidade da membrana integral que forma canais de potássio, foi identificado num paciente que desenvolveu arritmia cardíaca com a toma do antibiótico claritromicina. Variações adicionais do KCNE2 em terapias com o medicamento sulfametoxazol-trimetropim (um inibidor de canais de potássio) são excelentes

candidatos a estratégias no campo da farmacogenómica uma vez a mortalidade é uma das RAM que pode ser desenvolvida por cerca de 1.6% da população que possui um polimorfismo neste gene (Pessoa *et al.*, 2006).

Já no caso da epilepsia, por exemplo, em condições consideradas normais, a ação das PGP nas DAE não é clinicamente relevante, mas em situações de polimorfismos genéticos na família ABCB1 pode desenvolver-se a expressão da PGP na BHE, reduzindo a concentração das DAE intracelulares e ocasionando resistências às DAE, independente do mecanismo de ação ou da dose utilizada, como demonstrado em modelos animais, *in vivo* (Silvado, 2008). Amostras *in vitro* da BHE exibem até dez vezes mais reduções da permeabilidade à fenitoína em pacientes com epilepsia refratária, permeabilidade revertida parcialmente com a utilização de tariquidar, inibidor seletivo das proteínas de transporte PGP nos pacientes com este tipo de epilepsia, demonstrando a ação de um polimorfismo da PGP no efeito da fenitoína (Silvado, 2008).

Basic *et al.* (*cit in* Silvado, 2008) demonstrou também uma significativa redução dos níveis de fenobarbital em pacientes com epilepsia generalizada idiopática que apresentam o genótipo CC no polimorfismo 3435C→T do gene ABCB1 quando comparados a pacientes com o genótipo CT ou TT. Estudos mostram que sinónimos de SNPs (isto é, SNPs que não alteram o aminoácido codificado) no *exon* 26 (3435C→T) encontram-se associados à expressão variável da PGP no duodeno; em pacientes homocigóticos para o alelo T, a expressão da PGP no duodeno (3435TT) foi menos de metade da quantidade encontrada em pacientes com o genótipo homocigótico para o alelo C (3435CC) (Evans & McLeod, 2003).

Ocorrem ainda consideráveis variações na frequência do SNP 3435C→T devido a uma ligação desequilibrada entre um SNP (isto é, que promove uma troca de aminoácidos) no *exão* 21 (2677G→T leva a um Ala893Ser), alterando a função da PGP. Uma vez que estes dois SNPs trabalham em conjunto, é pouco clara a importância funcional do polimorfismo 3435C→T. Concentrações mais baixas de fexofenadina são encontradas

no plasma, *in vitro*, devido a um aumento funcional da PGP na presença de 2677G→T, efeitos opostos aos que são reportados com a digoxina (Evans & McLeod, 2003).

No estudo explicado no artigo de Evans & McLeod (2003), não ficou esclarecido se o SNP ABCB1 2677G→T é uma alteração genotípica pelo que não é possível dizer se o polimorfismo 3435C→T é o causante das alterações ou se está apenas ligado a um outro polimorfismo causante, mostrando que a associação de estudos poderá ser um problema. A sobre-expressão do gene para a enzima transportadora ABC (ABCC4 ou MRP4) confere resistência a alguns agentes antirretrovirais nucleosídeos (ex. o zidovudine) (Evans & McLeod, 2003).

### 3.1.3. Polimorfismos genéticos dos alvos terapêuticos

A variação genética dos alvos das drogas (recetores) afeta profundamente a eficácia das drogas. Este facto é particularmente visível no caso da asma e dos medicamentos utilizados no seu controlo. Um polimorfismo genético com efeito direto e imediato na resposta ocorre no gene codificado para ativar os recetores β2-adrenérgicos, afetando a resposta dos β2-agonistas, do araquinodato 5-lipoxigenase (ALOX5), a resposta dos inibidores do ALOX5 e da enzima conversora da angiotensina, levando a um relaxamento da musculatura lisa brônquica e consequente broncodilatação na asma (Evans & McLeod, 2003; Pessoa *et al.*, 2006). A inibição da síntese de leucotrienos, outra opção no tratamento da asma, é ineficaz numa pequena fração de pacientes. Estas variações alélicas estão associadas a um decréscimo da atividade transcripcional do gene e, portanto, explicam a observação clínica de que na presença de uma reduzida atividade da ALOX5, a inibição farmacológica é menos efetiva (Pessoa *et al.*, 2006).

Os polimorfismos genéticos nos recetores β2-adrenérgicos, codificados pelo gene ADRB2, podem alterar o processo de transdução do sinal nestes recetores. Três SNPs que ocorrem no gene ADRB2 estão associados a alterações do nível da expressão, acoplamento e dessensibilização do recetor β2-adrenérgico. Indivíduos que possuem uma ou mais cópias do alelo que contenha uma alteração da arginina (Arg) em glicina

(Gly) na posição 16 e de glutamina (Gln) em glutamato (Glu) na posição 27 são relativamente comuns e encontram-se sobre intensiva investigação uma vez que estas alterações promovem uma resposta inferior do agonista adrenérgico (Evans & McLeod, 2003; Pessoa *et al.*, 2006). Estes resultados estão correlacionados a um aumento da taxa da regulação do recetor, induzido pelo agonista, mas não mostram diferença na atividade transcripcional ou translacional no gene ou na ligação do agonista. Em contraste, um segundo polimorfismo afetando a posição 19 do peptídeo  $\beta$  afeta a translocação mas não a transcrição do recetor com um decréscimo de 50% no número de recetores associados a um alelo variante (Pessoa *et al.*, 2006).

O estudo da vasodilatação e dessensibilização mediada por agonistas demonstra que pacientes homozigóticos para arginina (Arg/Arg) na posição 16 do ADRB2 promovem uma dessensibilização após uma infusão de isoproterenol, com a dilatação venosa a passar de 44% para 8% após 90 minutos de infusão. Em contraste, pacientes homozigóticos para glicina na posição 16 não promoviam uma alteração significativa de dilatação venosa, independentemente do genótipo da posição 27. O polimorfismo genético da posição 27 tem uma relevância funcional profunda já que indivíduos homozigóticos para o alelo glutamato apresentam uma dilatação venosa máxima mais alta quando em resposta ao isoproterenol do que os que têm glutamina no genótipo 27, independentemente do genótipo na posição 16. Estes resultados são consistentes com estudos que mostram que o volume expiratório forçado, por segundo, após uma dose oral de albuterol, é mais alta em pacientes com um genótipo Arg/Arg na posição 16 do ADRB2 quando comparado ao genótipo Gly/Gly para uma mesma posição (Evans & McLeod, 2003).

No entanto, a influência destes genótipos nos resultados da metabolização foram diferentes em pacientes que receberam tratamentos a longo-termo com  $\beta$ -agonistas inalados. No genótipo Arg/Arg houve um declínio gradual no volume expiratório forçado, desde o pico da manhã, sem que alterações fossem observadas no genótipo Gly/Gly. Em adição, o fluxo respiratório deteriorou-se dramaticamente após a suspensão da toma em pacientes com genótipo Arg/Arg, mas não nos Gly/Gly. Estes resultados sugerem que o genótipo Arg/Arg na posição 16 do ADRB2 pode identificar

pacientes em risco de não beneficiarem dos efeitos de uma terapia regular com  $\beta$ -agonistas inalados; pode também sugerir quais os candidatos a terapias alternativas ou onde deve ser iniciado um tratamento anti-inflamatório, ou até ambos (Evans & McLeod, 2003).

### **3.2. Farmacogenómica nas patologias autoimunes**

O controlo de uma patologia autoimune requer a utilização de múltiplas drogas de toma vitalícia, podendo por isso ser difícil a identificação do medicamento com uma maior efetividade, as doses ideais e qual o medicamento com maior probabilidade de promoção de RAMs (Ross *et al.*, 2007).

A azatioprina, análogo sintético da purina, integra a primeira linha terapêutica em doenças autoimunes como a artrite reumatoide, a colite ulcerativa, a artrite psoriática, a esclerose múltipla ou o lúpus, entre outros. No entanto, uma dose padrão desta pode promover mielotoxicidade média a severa devido a alterações no gene tiopurina metiltransferase (TPMT) ou resultar da combinação da azatioprina com o medicamento alopurinol. Quando administrada em pacientes com polimorfismos no gene TPMT, a azatioprina promove a acumulação de ácidos nucleicos nos tecidos hematopoiéticos (Ross *et al.*, 2007).

No estudo de Ross *et al.* (2007), por exemplo, nos casos de prescrições não baseadas em genótipos individuais ocorreu uma incidência toxicológica de, aproximadamente, 100% nos casos homozigóticos para polimorfismos no gene TPMT, 35% no caso de heterozigóticos e 10% de incidência em que não possuía SNPs. Após a realização de testes farmacogenómicos e identificação dos genótipos alterados, com o ajustamento da dose padrão da droga, a incidência de toxicidade diminuiu para 10%. Em 2003, a FDA reviu a bula das embalagens de azatioprina, informando do risco aumentado de mielossupressão severa em genótipos TPMT deficitários (Ross *et al.*, 2007).

O metotrexato (MTX) é efetivo em, aproximadamente, 46% a 65% dos casos de AR e a toxicidade deste, que leva à descontinuação do tratamento, varia entre 10% a 30%, podendo esta ser causada por um polimorfismo genético (Andrade, 2009). O MTX é um análogo do folato e atua como inibidor competitivo da enzima dihidrofolato *reductase* (DHFR). O RFC-1 (*reduced folate carrier 1*) regula a entrada de MTX nas células e o efluxo da mesma é mediado por transportadores ABC (ABCC 1-4 e ABCG2). O MTX intracelular é convertido em poliglutamato através da enzima FPGS (*folylpolyglutamyl synthase*) e as formas de poliglutamato do MTX (MTXPG2-7) permanecem dentro da célula e inibem o DHFR, reduzindo o dihidrofolato (DHF) em tetrahydrofolato (THF), afetando o folato na célula. MTXPGs também inibem a síntese de timidilato (TYMS), que converte o deoxiuridilato em deoxitimidilato e o metilenotetrahydrofolato *reductase* (MTHFR) é inibido indiretamente pelo MTX devido aos efeitos deste no folato intracelular. O efeito do MTX na síntese de purina aumenta a adenosina intracelular, um potente agente anti-inflamatório (Andrade, 2009).

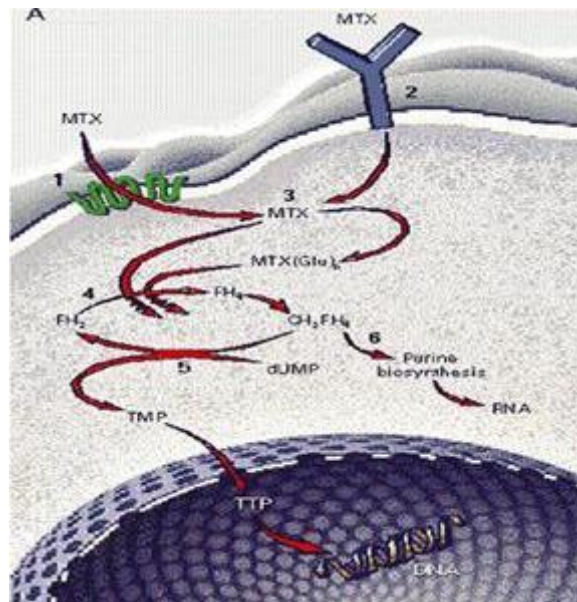


Figura 6 – Ciclo de ação do metotrexato. Adaptado de Rang & Dale (2001).

Os polimorfismos que ocorrem nos genes responsáveis pelo transporte do MTX através da membrana celular e os relacionados com a cascata intracelular de MTX são os mais relevantes e potencialmente danosos. Por exemplo, níveis mais altos de MTXPG são reportados quando na presença de um SNP no gene RFC-G80A e, de acordo com estes resultados, está positivamente associado a uma melhor resposta ao MTX por parte de 105 pacientes com AR (Dervieux *et al. cit in* Andrade, 2009). Estudos dos SNPs na família transportadora (ABCB1), responsável pelo efluxo do MTX intracelular, mostram que pacientes com o alelo 3435T homozigótico teriam uma melhor resposta ao MTX no caso de AR menos severas (Pawlik *et al., 2004 cit in* Andrade, 2009).

O MTHFR parece ser o gene mais bem estudado da cascata intracelular do efeito do MTX. Este gera 5-metil-THF, o dado de metil para a metilação da homocisteína em metionina através da metionina sintase (MS). Um polimorfismo associado ao gene C677T parece estar associado à toxicidade do MTX, especialmente à hepatotoxicidade. Por outro lado, o polimorfismo A1298C não tem qualquer efeito direto na toxicidade do MTX, mas sim na sua eficácia em pacientes com AR (Andrade, 2009). A timidilate sintase (TYMS) é inibida diretamente pela MTXPGs e indiretamente pelo co-fator de depleção induzido pelo MTX. Dois polimorfismos relevantes foram encontrados com respeito ao MTX em pacientes com AR. Um polimorfismo de uma repetição da sequência na *5'-untranslated region* (5'-UTR) correlaciona-se com a expressão de TYMS no mRNA. Pacientes homozigóticos para o triplo alelo repetido (TSER\*3/\*3) têm uma maior expressão de TYMS no mRNA do que os homozigóticos para dupla expressão do mesmo alelo. Outro polimorfismo importante consiste numa deleção dos 6bp da sequência TTAAAG no nucleotideo 1494 no 3'-UTR (3'-UTR 6-bp deletion). Aparentemente, esta deleção está associada a uma diminuição da estabilidade e da expressão do mRNA de TYMS. Evidências preliminares sugerem que o polimorfismo TSER\*3/\*3 (aumenta expressão de TYMS) diminui a eficácia do MTX e que a deleção 3'-UTR 6-bp (diminui expressão de TYMS) torna os pacientes AR mais sensíveis ao MTX (Andrade, 2009).

Outros genes podem afetar a eficácia e toxicidade do MTX como o AICAR (*AMP-activated protein kinase activator*), transformylase,  $\gamma$ -glutamyl hydrolase (GGH),

DHFR (*dihydrofolate reductase*), MS (*methionine synthase*), MTRR (*methionine synthase reductase*) e SHMT (*serine hydroxymethyltransferase*). Eventualmente, a análise de diversos polimorfismos em genes diferentes concomitantes trará uma estimativa dos efeitos esperados da terapêutica e toxicidade em pacientes com AR através de MTX (Andrade, 2009).

Os antagonistas do fator de necrose tumoral (TNF) demonstram que é mais efetiva uma terapêutica alternativa para alguns pacientes com AR, doença de *Crohn*, artrite psoriática mas apenas cerca de 60% dos pacientes irão responder positivamente a uma terapia com TNF. Estudos preliminares mostram que o genótipo G/G está associado a uma boa resposta, o A/G uma resposta moderada e o genótipo A/A a falha terapêutica. Apesar de nem todos os investigadores encontrarem uma associação direta, parece haver uma prevalência de resultados entre os estudos encontrados (Tabela 1) (Andrade, 2009).

O uso de agentes que bloqueiem a ação do TNF (infiximab, etanercept ou adalimumab) mostra benefícios claros no tratamento de pacientes com doenças inflamatórias como a psoríase. O TNF $\alpha$  induz a produção de citocinas pró-inflamatórias como a IL1 e a IL6, limitando a migração de leucócitos e a adesão celular em células endoteliais e leucócitos. A neutralização da atividade biológica do TNF $\alpha$  promove a redução da inflamação e, apesar de a terapia ser segura e bem tolerada, algumas RAMs têm sido reportadas. Avanços no conhecimento das cascatas metabólicas envolvendo a patogênese da psoríase e doenças relacionadas levaram à procura de novos alvos terapêuticos como o desenvolvimento de novas drogas biológicas como o ustekinumab, um anticorpo monoclonal humano que se liga firmemente à subunidade p40 que partilham o IL12 e o IL23. A droga foi desenhada para bloquear a cascata inflamatória dos linfócitos Th1 e do Th17, uma vez que o comportamento alterado dos queratinócitos na psoríase, provavelmente, resulta na desregulação destas vias (Tabela 1; Prieto-Pérez *et al.*, 2013).

Associação com suscetibilidade		
Referência	Gene e Alelo	Condição Clínica
Lundin, 2003	HLA-DQ2 & DQ-8	Doença celíaca
Lee <i>et al.</i> , 2007	PTPN22 1858T	AR, SLE, GD, DM tipo 1 e JIA
Kula <i>et al.</i> , 2006	DRB1*07 / CTLA-4 49G	Doença de Graves
Morinobu <i>et al.</i> , 2006	GSTM1 genótipo nulo	AR
Kavvoura & Ioannidis, 2005	Alelo CTLA-4*G	DM tipo 1
Mart <i>et al.</i> , 2002	Alelo <i>Desmoglein 1</i> 809C	<i>Pemphigus foliaceus</i>
Matshshita <i>et al.</i> , 2001	MBL HYP A haplotipo	Cirrose biliar primária
Associação com o genótipo da doença		
Referência	Gene e alelo	Condição clínica
	Alelo CTLA-4 + 49A	Síndrome extra-glandular de <i>Sjogren</i>
Prots <i>et al.</i> , 2006	IL4 Receptor V50 alelo	Artrite reumatoide erosiva
Aitman <i>et al.</i> , 2006	FCy RIIB (poucas cópias)	Nefrite em SLE
Guiducci <i>et al.</i> , 2006	ACE D alelo	Doença Macrovascular na SSc
Bereta <i>et al.</i> , 2007	IL-1 $\alpha$ – 889T alelo	Ausência de resposta da ciclofosfamida em SSc
Mlynarski <i>et al.</i> , 2005	CCR5 59029G alelo	Nefropatia na DM tipo 1
AR: artrite reumatóide; SLE: lúpus sistémico eritematoso; GD: doença de Graves; DM: diabetes mellitus; JIA: artrite idiopática juvenil; MBL: <i>mannose binding lectin</i> ; ACE: enzima conversora da angiotensina; SSc: esclerose sistémica.		

Tabela 1 - Polimorfismos genéticos associados com suscetibilidade e fenótipo de determinadas doenças autoimunes. Adaptado de Andrade (2009).

Apenas dois estudos foram reportados pelo artigo de Prieto-Pérez *et al.* (2013) quanto ao efeito de polimorfismos na resposta às drogas usadas no tratamento da psoríase. Tejasvi *et al.* (*cit in* Prieto-Pérez *et al.*, 2013) avaliou a associação entre um SNP no TNFAIP3 (rs2230926 e rs 610604) e a resposta da terapia com TNF $\alpha$  num estudo no Michigan com 433 pacientes e um estudo em Toronto com 199 pacientes, abrangendo ambos portadores de psoríase e artrite psoriática. O SNP rs610604 no gene TNFAIP3 tinha previamente sido associado com predisposição à psoríase e à artrite psoriática. Os autores mostram uma resposta favorável a drogas anti-TNF como o etanercept, infliximab e adalimumab) e o etanercept em portadores do alelo G do rs610604 na TNFAIP3, no estudo coorte do Michigan. O haplotipo T-G, do rs2230926-rs610604 (TNFAIP3), foi também associado com a resposta do anti-TNF neste coorte, não encontrando porém diferenças significativas na interação SNP rs610604 no gene

TNFAIP3 e os medicamentos adalimumab ou infliximab. O estudo revela, como principal limitação, a diferença de participantes em ambos os estudos (Prieto-Pérez *et al.*, 2013).

Noutra avaliação, 80 portadores de psoríase de nacionalidade grega, a serem tratados com adalimumab, infliximab e etanercept foram analisados quanto a 5 polimorfismos em três genes: TNF $\alpha$  (rs361525, rs1800629, rs1799724), TNFRSF1A (rs767455) e TNFRSF1B (rs1061622). A análise estatística de cada agente, separadamente, revela uma associação entre os genótipos e uma resposta positiva por parte do etanercept ao fim de 6 meses de tratamento, mas estes SNPs não foram associados positivamente aos outros dois medicamentos. Os autores explicam as diferenças pelo modo de ação das drogas biológicas, já que o etanercept liga-se com o TNF $\alpha$  solúvel e o adalimumab e o infliximab com o TNF $\alpha$  transmembranar (Prieto-Pérez *et al.*, 2013).

A síndrome antifosfolipídica, primeiramente descrita por Graham Hughes em 1983, inclui RAM tal como trombozes venosas e arteriais, enfartes, ataques cardíacos e abortos. A varfarina é utilizada como terapia profilática na prevenção e é comumente prescrita como droga oral anticoagulante, nos EUA, onde se estima uma venda de dois milhões de comprimidos/dia. Esta possui, no entanto, uma janela terapêutica estreita que a torna desafiadora a nível da prescrição de uma dose ideal. Doses altas de varfarina aumentam o risco de hemorragia severa, afetando 5% a 35% dos pacientes, enquanto uma dose subterapêutica pode levar à formação de coágulos sanguíneos em 1% a 8% dos pacientes (Ross *et al.*, 2007).

Este anticoagulante inibe a coagulação sanguínea por repressão da reação da vitamina K *reductase* (VKOR), um cofator da conversão dos precursores dos fatores de coagulação inativos II, VII, IX e X em fatores coaguladores ativos. Os alvos VKOR previnem a regeneração da vitamina K, levando à diminuição desta e, por consequente, à coagulação. Existem dois halotipos mais comuns deste gene, designados por A e B, em que o A/A requer uma dose mais baixa de varfarina/dia, o A/B uma dose intermédia e o B/B a dose mais alta. Os níveis de mRNA do VKORC1 são três vezes mais baixas no

primeiro halotipo, resultando em níveis proteicos mais baixos de VKORC1 e, logo, na necessidade de menos varfarina para o inativar. Populações com diferentes ancestrais normalmente requerem diferentes doses, estando esta associação relacionada com o halotipo: o halotipo A/A é mais comum em ancestrais asiáticos (79%), dados consistentes com as doses mais baixas de varfarina requeridas pela maioria dos Asiáticos (em média 3 mg/dia) quando comparado com os Europeus que necessitam de 5 mg/dia ou com os Africanos de 6.5 mg/dia. O CYP-2D6 inativa a varfarina mas cerca de 20% da população carrega uma variante genética que confere uma baixa atividade enzimática, onde são necessárias doses mais baixas de varfarina, correndo o risco de desenvolver RAMs como hemorragias quando lhes é administrado uma dose *standard* (Ross *et al.*, 2007).

Para além da incidência direta nos tratamentos, a natureza crónica das doenças autoimunes requer um controlo constante da dor que estas promovem ao portador. A codeína é um dos opiáceos mais comumente prescritos, embora com algumas reservas, como mostra o estudo de Kimura *et al.* (*cit in* Ross *et al.*, 2007). Este mostrou que 37% dos clínicos prescrevem codeína no tratamento da dor crónica em crianças com artrite idiopática juvenil, embora cientes do possível desenvolvimento de dependência e aparecimento de RAMs como fadiga, obstipação e depressão respiratória (Ross *et al.*, 2007).

Em 2006, o projeto GATC, que visa catalogar RAMs infantis, identificou uma reação adversa letal associada à utilização de codeína por parte de uma mãe a amamentar. O recém-nascido faleceu ao fim de treze dias, após a ingestão contínua, por parte da mãe, de uma dose de Tylelol, Acetominogen e 30 mg de codeína, de quatro/vezes ao dia. Embora a dose tenha sido reduzida para metade devido ao desenvolvimento de RAMs como sonolência e obstipação, nos últimos dias de vida do recém-nascido, o leite materno que ingeria continha 87 mg/ml de morfina, concentração superior à esperada. Mais tarde, foi associado ao caso uma dupla alteração no gene CYP-2D6 (metabolizador), responsável pela catalisação da codeína em morfina. Devido ao polimorfismo ocorreu um aumento substancial da formação de morfina e acumulação da mesma, em níveis tóxicos, no leite materno. Apesar de possuir dois alelos CYP-2D6

normais, os recém-nascidos apresentam esta via de metabolização incompleta, pelo que a dose se tornou letal (Ross *et al.*, 2007).

Há ainda outros casos registados, como o de uma recém-nascida de 17 dias que sobreviveu a uma apneia grave, duas horas após a terceira toma de uma dose baixa de codeína e a de um rapaz, de 29 dias, que acabou por falecer após ter entrado num estado de apneia à segunda toma. Um outro estudo cita ainda no seu *abstract*, quatro casos de apneia em recém-nascidos após a administração de codeína às mães, que amamentavam (Ross *et al.*, 2007). No Canadá, aproximadamente 130 000 crianças estão expostas à codeína devido à amamentação materna, dados baseados em 73% nascimentos/ano alimentados através de leite materno e, destas, aproximadamente 52% das mães recebem codeína pós-parto. Especula-se ainda que as RAMs induzidas pela codeína possam promover síndromes de morte infantil, embora a *American Academy of Pediatrics* considere o uso desta, pelas mães, compatível com amamentação (Ross *et al.*, 2007).

A maioria dos indivíduos adultos portadores de patologias autoimunes metaboliza normalmente a codeína em morfina, embora 10% dos indivíduos do sul da Europa e 1% a 2% dos nascidos no Norte Europeu carreguem duplicações alteradas do gene CYP-2D6, sendo conhecidos apenas alguns casos de RAM após a administração de doses *standard* de codeína (Ross *et al.*, 2007).

### **3.3. Farmacogenómica na oncologia**

Tipicamente, as terapias anti-cancro têm índices terapêuticos baixos devido à citotoxicidade da maioria dos tratamentos, já que as doses necessárias para a erradicação de células malignas normalmente são também danosas para as células normais. Diferenças nos graus das respostas clínicas e na toxicidade entre pacientes aquando da utilização de quimioterápicos são observáveis, sendo importante reconhecer que fatores não genéticos como a idade ou o tabaco poderão influenciar a farmacocinética e a farmacodinâmica da quimioterapia no cancro. No entanto, os

polimorfismos em genes que codificam proteínas envolvidas na disposição de alvos das drogas anti-cancro têm efeitos profundos nos resultados apresentados pelo paciente (Isaza *et al.*, 2009).

A farmacogenómica seria uma arma vital no campo da oncologia uma vez que a descoberta de novos agentes mais seletivos iria diminuir os custos do tratamento e a utilização de fármacos citotóxicos com uma margem estreita de segurança e aumentaria a variabilidade individual da tolerabilidade dos pacientes (Isaza *et al.*, 2009). A caracterização genética de alguns tipos de cancro levou ao desenvolvimento de uma nova geração de agentes capazes de se dirigir de forma seletiva contra moléculas críticas do processo neoplásico e possibilitou a estratificação dos pacientes com base no tipo de tumor e melhorando significativamente a relação custo/benefício do tratamento de muitos cancros (Isaza *et al.*, 2009).

O trastuzumab, fármaco desenvolvido para uma população específica e geneticamente identificada, é altamente eficaz em mulheres com cancro da mama com ampliação da expressão do gene do recetor HER2/neu. A FDA considera importante a pesquisa desta sobreexpressão antes de iniciar a terapêutica com este anticorpo monoclonal, uma vez que a ação do fármaco depende da expressão de genes recetores HER2 (*Human Epidermal growth factor Receptor-type 2*), ou seja, recetores tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (FDA, 2009). A proteína HER2 é produto de um proto-oncogene específico, um gene com potencial para causar o aparecimento de cancro. A sobreexpressão deste gene irá determinar a utilização do fármaco, uma vez que o trastuzumab é um anticorpo monoclonal que bloqueia o recetor em causa. Esta predeterminação permite uma otimização da terapêutica, com uso racional do fármaco (Evans *et al.*, 2003). Para tal é utilizado o teste Herceptest (ao medicamento Herceptin trastuzumab) no cancro da mama metastizado (Evans, 2007; Ross *et al.*, 2007).

Já o Hercepton Irinotecan (Camptosa\_) é usado em pacientes com cancro do colo-rectal metastizado. As RAM associadas a este fármaco incluem diarreia severa e neutropenia em 20% a 35% dos casos. O Irinotecan é inativado pela UGT glucoronidation, e uma

variante específica do gene UGT1A1 está associada à redução da expressão do gene e da *glucuronidation*. Indivíduos com duas cópias alélicas da variante \*28 têm uma maior tendência para o desenvolvimento de neutropenia após um tratamento com Camptosar. Em 2004, a FDA decidiu que a bula do medicamento deveria ser atualizada com informação farmacogenómica, identificando pacientes predispostos a RAM severas e levando a um ajuste das doses (Ross *et al.*, 2007).

No entanto, esta pré-identificação levanta ainda algumas reservas uma vez que há reações adversas que podem não ser identificadas e, como tal, a farmacogenómica pode ser usada antes do início dos ensaios clínicos para que sejam asseguradas populações representativas da população em geral, nomeadamente a nível das diferenças genéticas associadas ao metabolismo. Esta situação pode ajudar a minimizar o risco do viés do ensaio ou a diminuir o risco de um fármaco falhar num estado muito avançado de desenvolvimento, aumentando a segurança final (Kaarina *et al.*, 2013).

Nos estudos pré-clínicos ou em fase I dos ensaios, a farmacogenómica é usada para genotipagem de inclusão ou exclusão de determinados grupos genómicos definidos, com o objetivo de aumentar as possibilidades da segurança de um fármaco (Evans & McLoad, 2003). Numa fase de ensaio mais avançada, II ou III, esta pode ser utilizada de forma retrospectiva para identificar geneticamente grupos definidos com elevado risco de desenvolvimento de reações adversas graves; de forma prospetiva, em que podem testar novos fármacos em subpopulações de doentes onde se acredita que irão obter respostas melhores. Esta situação é particularmente importante na identificação de terapêuticas que sejam altamente efetivas mas associadas a poucas, e graves, reações adversas com base genética (Kaarina *et al.*, 2013). Por exemplo, inibidores da tirosina cinase dos EGFR, o Iressa (Gefitinib) e Erlotinib, têm como alvo a proteína tumoral para tratamento do cancro das células grandes pulmonares e mutações específicas no gene EGFR correlacionam a resposta clínica e a visualização destas mutações (Ross *et al.*, 2007).

#### 4. Farmacogenômica no desenvolvimento de novos fármacos

As RAM e as suas consequências atingem 100,000 indivíduos/ano e são responsabilizadas por 7% das admissões hospitalares nos EUA e no Reino Unido, sendo que apenas 5% de todas as RAM são reportadas (Ingelman-Sunberg, 2008; Kaarina *et al.*, 2013; Ross *et al.*, 2007). Estudos de *follow-up* realizados na Austrália e em França revelam dados semelhantes, com uma incidência de hospitalizações a rondar os 2.4% a 3.6% e entre 2.37% e 4.01%, respetivamente. A taxa de mortalidade encontrada no estudo francês é similar à obtida nos EUA (0.12% vs. 0.13%, respetivamente). Na Suécia, estima-se que 13% das entradas hospitalares ocorram devido a RAMs (Evans & McLeod, 2003; Kaarina *et al.*, 2013).

Adicionalmente, a morbidade e a mortalidade, assim como os custos substanciais associados às hospitalizações causadas por RAM derivadas da polimedicação dos idosos, são preocupantes. As RAM são também o principal motivo para retirar um medicamento do mercado, com subsequente implicação financeira para a indústria farmacêutica (Kaarina *et al.*, 2013). As mais relevantes parecem ocorrer em taxas de 1/10 000 mas, para que esta taxa desça para 1/6000 ou até mesmo 1/3000, seria necessário que dez a vinte mil pacientes fossem monitorizados durante os ensaios clínicos. Ainda assim, a FDA estima que 10% de todas as bulas contenham já algum tipo de informação farmacogenômica e que pelo menos 37 diferentes tipos de interações medicamentosas estão a ser testados através dos testes farmacogenômicos (Ross *et al.*, 2007).

Dois grandes marcos na identificação, caracterização e catalogação dos polimorfismos e alterações humanas mais comuns permitiram a aplicabilidade genética dos estudos farmacogenômicos: o *The International HapMap Project* e o *1000 Genome Project*, realizados em três populações ancestrais (Europeia, Africana e Asiática) (Ross *et al.*, 2007; Weber, 2001). Além da identificação e validação de novos alvos terapêuticos, uma das aplicações do genoma a nível da indústria farmacêutica foi a seleção dos melhores fármacos para um alvo em particular (Schmedders *et al.*, 2003). O imatinib,

por exemplo, é um antineoplásico inibidor específico da enzima tirosinacinaase para o tratamento de alguns tipos de cancro, nomeadamente da leucemia mieloide crónica, e o erlotinib, usado no tratamento do cancro do pulmão de pequenas células e no cancro pancreático, e cujo mecanismo de ação bloqueia especificamente o recetor do fator de crescimento das células cancerígenas, são dois exemplos (Evans & McLeod, 2003).

O desenvolvimento de drogas através de estudos clínicos específicos que fornecem evidências sobre a eficácia e segurança destas na maioria dos indivíduos ocorrem em simultâneo com o tratamento personalizado e individual para pacientes que variam na resposta à terapia convencional (Ross *et al.*, 2007). Assim, a indústria farmacêutica utiliza, cada vez mais, técnicas relacionadas com a farmacogenómica e farmacogenética, e a informação que delas resulta para o processo de desenvolvimento de novos fármacos (Shin *et al.*, 2009). Estes dados são utilizados de duas formas:

- Na descoberta de novos fármacos que abrangem toda a população e, neste caso, só as moléculas candidatas que não mostram variações significativas na eficácia, perante alelos comuns do alvo identificado, seguem para desenvolvimento. Este tipo de triagem reduz o risco dos fármacos serem rejeitados num estado avançado do desenvolvimento, aumentando a possibilidade de sucesso no público-alvo e são os que poderão resultar melhor em grupos alargados (Schmedders *et al.*, 2003).
- Na descoberta de novos fármacos dirigidos a determinadas subpopulações com características genéticas específicas e, na maioria dos casos, os grupo-alvo destes medicamentos são indivíduos com uma determinada variação genética, que poderão beneficiar positivamente da terapêutica. Estes são os fármacos que, mais provavelmente, terão de ser aprovados e considerados seguros em todos os grupos de indivíduos, e têm de ser licenciados e comercializados especificamente para o grupo de indivíduos que responde positivamente aos mesmos. O seu mercado é mais restrito mas muito efetivo (Kollek *et al.*, 2006).

#### 4.1. Biomarcadores preditivos de RAMs

Define-se um biomarcador como uma característica que pode ser medida ou avaliada de forma objetiva como indicador de um processo biológico normal, de um processo patogénico ou de uma resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica. Estes biomarcadores são, na sua maioria, proteínas mas podem também ser moléculas como ácidos gordos ou possuir características genéticas que incluem o DNA e o RNA. Apresentam grande destaque na identificação tanto de patologias como de pacientes que respondem a uma determinada terapêutica, diminuindo ou evitando os efeitos tóxicos e permitindo um ajuste da dose padronizada de forma a otimizar a sua eficácia e segurança (Ingelman-Sunberg, 2008). Classificam-se estes biomarcadores consoante a sua utilização específica: poderá ser uma resposta clínica e diferenciação dessa resposta, identificação do risco, seleção da dose ideal, suscetibilidade, resistência e diagnóstico diferencial de doenças, assim como polimorfismos dos alvos da terapêutica (Lin *et al.*, 2009).

A procura de biomarcadores que sirvam de indicadores do desenvolvimento de RAMs foca-se na variação dos genes codificadores de proteínas chave da farmacodinâmica e da farmacocinética das drogas (Ingelman-Sunberg, 2008). No entanto, a pesquisa nesta área apresenta algumas limitações, por um lado, devido ao *design* dos ensaios e, por outro, devido às influências poligénicas responsáveis por algumas RAM. As reações adversas são, muitas vezes, resultado de tratamentos com múltiplos fármacos que atuam sobre diferentes células e a severidade de uma possível reação torna-se difícil de identificar por não ser isolado o contributo individual de cada gene. Assim, os resultados entre uma associação positiva das características genéticas e RAMs específicas são ainda pouco conhecidos. Nos EUA, a FDA publicou uma lista de biomarcadores válidos que deverão ser pesquisados através de testes farmacogenéticos aquando da administração de determinados fármacos e que a identificação de novos biomarcadores é vital para o desenvolvimento de novos fármacos (FDA, 2009).

Um exemplo de um teste imprescindível é a deteção do cromossoma Filadélfia. Este resulta de uma alteração cromossómica associada à leucemia mielóide crónica, correspondendo a uma translocação cromossómica recíproca que envolve os braços longos do cromossoma 9 e 22. O protooncogene *abl*, situado no cromossoma 9, é transferido para o cromossoma 22, numa região denominada *bcr*, onde é ativado por um promotor. O teste deverá ser realizado antes da prescrição de Busulfan® aos portadores de leucemia mielóide crónica, uma vez que o fármaco, usado no tratamento paliativo, apenas é efetivo em doentes possuidores do cromossoma Filadélfia. No entanto, e apesar de ser encontrado em 90% dos casos de leucemia mielóide crónica, esta alteração cromossómica é também vista em 25% a 30% dos casos de leucemia linfoblástica aguda em adultos, 2% a 10% em casos pediátricos e, ocasionalmente, na leucemia mielóide aguda, não sendo específico para o diagnóstico de leucemia mielóide crónica (Husain *et al.*, 2007).

#### **4.2. Testes farmacogenómicos**

Os testes para a deteção de variações nas enzimas metabolizadoras têm particular interesse na previsão da resposta de um organismo a uma terapêutica em função do genótipo, no ajuste das doses e na diminuição da ocorrência de RAM's. Estes podem ser realizados apenas uma vez, otimizando as diversas drogas conhecidas mas dependendo quase sempre da disponibilidade financeira do indivíduo (Roche, 2008; Silvado, 2008).

O teste da *Roche Diagnostic's*, o AmpliChip P450®, é uma opção já disponível e baseia-se na tecnologia de *microarrays* e este analisa variações nos genes codificadores das famílias CYP-2D6 e CYP-2C19, responsáveis pelo metabolismo de fármacos como as benzodiazepinas, anti-epiléticos, antidepressivos, antipsicóticos, bloqueadores adrenérgicos, entre outros. O teste analisa 27 variações alélicas no gene codificador da família CYP-2D6, incluindo a deleção e a duplicação do gene e 3 variações alélicas para o gene que codifica a família CYP-2C19. Este teste permite dividir os indivíduos em metabolizadores lentos e metabolizadores rápidos em relação à CYP-2C19 e em metabolizadores lentos, intermédios e rápidos em relação à CYP-2D6. Em ambos os

casos, o grupo de metabolizadores lento é o mais preocupante, uma vez que a dose padrão pode ser potencialmente tóxica para estes indivíduos (Roche, 2008).

No caso da epilepsia, por exemplo, como as DAE possuem interações medicamentosas prolongadas, faixas terapêuticas estreitas, má correlação entre o nível sérico e a efetividade e efeitos colaterais como a presença de efeitos indutores ou inibidores significativos, tornam-se candidatas ideais para a otimização da terapia utilizando testes farmacogenéticos para a definição do perfil CYP-450 do indivíduo. O valor desta otimização está já definido para os principais antidepressivos, neurolépticos, cumarínicos, antineoplásicos e na pesquisa clínica de novas drogas. Pode ainda ser usado para esclarecer uma falha terapêutica ou efeito colaterais inesperados, quando na presença de níveis séricos muito acima ou abaixo do esperado para a dose utilizada, principalmente de parafenitoína (Silvado, 2008). Por outro lado, a união do teste para o VKORC1 e para o CYP-2D6 promove melhoria em cerca de 57% a 63% das prescrições em casos de terapêutica com varfarina apenas devido à predição baseada no genótipo (Ross *et al.*, 2007).

Já no desenvolvimento de patologias oncológicas podem ocorrer alterações genéticas complexas nas células tumorais derivadas de fatores ambientais como o tabagismo ou os rearranjos a nível cromossómico (Evans *et al.*, 2003). O Ovanome®, da *DNAPrint Genomics*, é um teste genómico que deteta alelos SNPs preditivos de não resposta a uma combinação quimioterapêutica usada frequentemente em doentes com cancro do ovário (Martin *et al.*, 2006).

A resposta à terapêutica com estatinas é também alvo do desenvolvimento de, pelo menos, dois testes farmacogenómicos. Estes testes classificam os doentes mediante a resposta terapêutica com estatinas como doentes que respondem bem e doentes que respondem de forma adversa, avaliando-se as correlações entre as variações genéticas e a resposta ao tratamento do colesterol elevado com este grupo terapêutico (Chasman *et al.*, 2004). Na área da psiquiatria, o estudo das variações genéticas e a resposta à clozapina em doentes com esquizofrenia procura identificar indivíduos com maior

suscetibilidade de desenvolvimento de agranulocitose - um dos efeitos secundários mais graves provocados pela utilização deste fármaco (Martin *et al.*, 2006). Os doentes com hipertensão arterial são um grupo que poderá vir a usufruir das potencialidades da farmacogenómica através da pré-inscrição de um teste que permita prever qual a terapia anti-hipertensiva mais efetiva sendo necessários mais estudos na área (Grant *et al.*, 2007).

Nas doenças infecciosas, os testes tentam detetar estirpes virais resistentes a um fármaco em particular e não para a avaliação direta das características genéticas individuais. A genotipagem do vírus da hepatite C pode ser utilizado para a determinação da duração do tratamento, enquanto testes como o *Digene's Hybrid Capture II* tipificam o papiloma vírus de modo a estratificar as infeções que poderão desenvolver cancro do colo do útero (Evans *et al.*, 2003).

A infeção por HIV (*Human Immunodeficit Virus*) apresenta algumas limitações no seu tratamento devido às RAMs e às resistências. A identificação de alelos alterados em genes virais pode auxiliar à seleção da terapêutica e no ajuste da dose. Com efeito, faz parte do tratamento antiretroviral a sequenciação periódica do genoma viral, para detetar a emergência de estirpes resistentes aos fármacos em utilização. Nas doenças infecciosas, os testes farmacogenómicos ajudam na identificação dos fatores genéticos envolvidos na disponibilidade dos fármacos no organismo em situações de ausência de resposta à terapêutica ou no caso de ocorrerem RAM (Mallal *et al.*, 2008). Entre os testes de diagnóstico já aprovados, temos o exemplo do *Trugene HIV-1 Genotyping Kit*, utilizado para a deteção de resistências ao vírus do HIV (Huston *et al.*, 2010).

No entanto, o primeiro estudo na área do HIV, o *Predict-1*, é um estudo randomizado, prospetivo, desenhado para avaliar a utilidade clínica da identificação do polimorfismo HLA-B\*5701 na terapêutica com abacavir, para diminuição da hipersensibilidade e aumento da segurança na utilização do mesmo. O estudo envolveu 1956 doentes infetados de 19 países diferentes, nunca antes tratados com abacavir, e a criação de dois grupos diferentes: um com 847 doentes sem a identificação prévia do polimorfismo e

803 sujeitos ao teste genético para confirmar a ausência do alelo, excluindo 55 por serem portadores do polimorfismo. No segundo grupo não foi registada nenhuma reação de hipersensibilidade. Os resultados do estudo mostram que o *screening* prévio do polimorfismo HLA-B\*5701 poderá reduzir a incidência das reações de hipersensibilidade ao abacavir, isto porque a incidência das reações imunologicamente confirmadas e clinicamente diagnosticadas a este fármaco foi significativamente menor no grupo em que foi realizado o *screening* prospetivo do que o grupo de controlo (não houve casos de reações de hipersensibilidade clinicamente diagnosticadas e imunologicamente confirmadas no grupo de *screening* prospetivo). Uma vez que os doentes com HLA-B\*5701 positivos foram excluídos à partida neste grupo, e não houve reações de hipersensibilidade confirmadas nos indivíduos que continuaram o estudo, a relação entre a presença do polimorfismo e as reações de hipersensibilidade parece evidente. Os doentes excluídos prospetivamente por serem HLA-B\*5701 positivos já não receberam o abacavir, diminuindo significativamente a probabilidade de desenvolver hipersensibilidade. Pelo que o estudo demonstra, os portadores de HLA-B\*5701 demarcam um grupo de doentes considerado de elevado risco que representa aproximadamente 6% da população (Mallal *et al.*, 2008).

Os resultados da ação medicamentosa com polimorfismos genéticos em CYP-3A4, CYP-3A5, CYP-2D6, CYP-2C19, o gene recetor quimioquina CCR5 e ABCB1 foram estudados em relação a pacientes infetados com HIV que receberam uma combinação de antirretrovirais ou com um inibidor da protease ou com um inibidor não nucleosídeo da transcriptase. O polimorfismo ABCB1 3435C→T foi associado a alterações significativas na farmacocinética plasmática do medicamento nelfinavir e do efavirenz. A recuperação de células CD4 foi mais significativa e mais rápida em pacientes com o genótipo TT do que em pacientes com um genótipo CT ou CC. Das variáveis observadas, apenas o genótipo ABCB1 parecia poder prever o tipo de recuperação que iria ocorrer nas células CD4. Apesar da pouca certeza dos mecanismos envolvidos, o valor clínico dos marcadores genéticos parece ajudar a prever a recuperação imunológica após a iniciação de um tratamento com antirretrovirais e, se validada, oferecer uma nova estratégia de terapia para o HIV. Os testes farmacogenómicos são caros e raramente estão disponíveis, mas o aumento da sua realização diminuiria os seus

custos e a sua realização tornar-se-ia mais ampla. Assim, seriam necessárias avaliações económicas rigorosas que permitissem perceber o custo-efetividade da utilização desta vertente nas terapêuticas (Evans & McLeod, 2003).

No caso de patologias que têm como alvo o sistema imunológico, como os portadores de patologias reumáticas, aos candidatos à terapêutica com tiopurinas é medido o nível de atividade da enzima TMPT. O *pró-predictRx TPMT genetics*® ajuda a determinar os pacientes que beneficiarão da terapêutica com imuran® (imunodepressor) e a respetiva dose uma vez que a deficiência na produção desta enzima poderá causar uma toxicidade potencialmente fatal (Evans & McLeod, 2003).

Atualmente, a quantificação do impacto económico potencial na saúde é essencial no auxiliar dos médicos e dos regulamentos na recomendação da execução dos testes farmacogenómicos (Mordini, 2004). Desde a sequenciação do genoma humano, a predição das respostas aos tratamentos com base nas variações genéticas é um dos objetivos. No entanto, para que o uso dos testes farmacogenómicos seja real, é importante que se projete a relação custo-efetividade na tentativa de otimizar e potenciar a sua utilidade. Para tal será necessário (Mordini, 2004):

- Definir o custo do teste farmacogenómico, não só os diretamente relacionados com o teste mas também os custos das amostras e o tempo e recursos necessários, mas também os custos que estes evitam (por exemplo, se um teste permitir prevenir as RAM que poderiam implicar a hospitalização do doente, também devem ser incluídos);
- Custo da medicação – um fármaco caro é menos provável de ter um bom custo/efetividade a menos que a associação seja exata, a medicação significativamente benéfica e existam poucas alternativas terapêuticas disponíveis;
- Desempenho do teste – avaliado através da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo ou negativo, entre outros. Para que este seja adotado é necessário um alto valor preditivo já que, no caso de um teste ter uma fraca

sensibilidade em prever a resposta a uma terapêutica, não será viável economicamente uma vez que não tem capacidade para identificar os doentes que respondem ou têm de descontinuar a terapêutica, por exemplo. Quanto mais específico for o teste para determinada situação mais hipóteses tem de ter uma boa relação custo-benefício positiva;

- A expressão da doença – os testes que são direcionados para as doenças comuns deverão ter maiores custos globais do que os direcionados para doenças raras, assumindo que o custo por pessoa é o mesmo. Se existir uma elevada proporção de testes positivos e houver benefícios com este resultado é mais provável que o teste seja custo-efetivo;
- Benefícios do teste, quando comparado com o tratamento empírico – os benefícios dos testes, idealmente, terão de permitir a identificação dos doentes que apresentem resistência ao fármaco ou de doentes que necessitam de elevadas doses de um fármaco para atingirem o efeito terapêutico e que não são facilmente detetados pela clínica empírica;

No caso do bucindolol, um agente  $\beta$ -bloqueador e vasodilatador para o tratamento da insuficiência cardíaca crónica, estratificou-se, depois de alguns estudos, que os pacientes homozigóticos Arg389Arg tiveram uma redução significativa das taxas de hospitalização e mortalidade em comparação com os não portadores deste alelo. As investigações concluem que a diferença com os outros  $\beta$ -bloqueadores é que o bucindolol é um fármaco com propriedades farmacogenómicas únicas: os pacientes com falha cardíaca portadores do genótipo Arg389Arg do gene ADRB1 ou do genótipo Ins/Ins do gene ADRA2C são os mais beneficiados pelo medicamento, com o máximo de benefício conseguido em quem possui ambos os genótipos. Como a prevalência de ambos os genótipos Arg389Arg e Ins/Ins é menor na raça negra do que nos caucasianos, é de esperar diferenças nos benefícios proporcionados pelo bucindolol em pacientes com insuficiência cardíaca (Isaza *et al.*, 2009).

Os estudos clínicos na área da farmacogenómica são desenhados e conduzidos com o objetivo final de desenvolver novas drogas farmacológicas que obtenham um rácio ótimo de efetividade/segurança. Normalmente a realização de um estudo passa por diversas fases (I, II, III e, por vezes, IV) antes de ser aprovada pela entidade regulatória (ex. a FDA nos EUA) (Li & Lu, 2012). A fase IV, por exemplo, de um estudo que mostrava como os polimorfismos genéticos influenciam a eficácia das RAM do paroxetine e do escitalopram no tratamento de depressões graves, intitulado “*Clinical Pharmacogenomics of antidepressant response*” foi lançado e registado no ClinicalTrials.gov em 2006. O estudo, que demorou quatro anos a completar, foi posteriormente publicado sob o nome de “*Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes influences the metabolism of the antidepressant escitalopram and treatment response*” (Li & Lu, 2012).

Para um paciente específico, a escolha por um tratamento medicamentoso deveria ser um processo mais criterioso, sobretudo se considerarmos a multidiversidade genética existente em certas populações. Neste caso, o ideal será a realização de exames genómicos apropriados para avaliar a adequação e a validade do tratamento (Pessoa *et al.*, 2006).

Os avanços no conhecimento científico implicam complexidade e obstáculos. A investigação do *gap* existente entre o número de ensaios conduzidos e o número de resultados publicados, em geral, demonstra que 37% dos estudos iniciados não resultam em publicações científicas, além de possuírem inconsistências a nível do protocolo usado. Na tentativa de promover uma maior transparência nos ensaios clínicos, foram criadas recomendações de regulamento para o registo dos mesmos, sendo que a FDA passou a requerer que os ensaios com drogas que afetassem a vida do indivíduo devam ficar registado no domínio desenvolvido e mantido pela National Library of Medicine, parte integrante do National Institute of Health (Li & Lu, 2012). Em Agosto de 2010, a ClinicalTrials.gov registava mais de 100,000 estudos de 170 países com aproximadamente 65,000 visitas/dia. Este site recolhe informações sobre o estudo, a condição, intervenção, descrição detalhada, elegibilidade, localização, entre outros, a maioria na língua original onde foi realizado o estudo (Li & Lu, 2012). O estudo de Li

& Lu (2012) aponta uma média de 5 anos entre o início de um estudo e a sua publicação. Uma vez completo, a maioria (62%) vê os seus resultados publicados dentro de 2 a 3 anos.

No entanto, várias são as razões para a dificuldade de implementação clínica da farmacogenómica. Para além de alguma resistência na alteração do padrão de prescrição “ensaio/erro”, ainda há alguma insegurança na eleição ou ajuste de doses com base no perfil genético dos pacientes. Muitos fármacos têm, também, vidas de transporte ou metabolização paralelas ou enzimas funcionais que compensem a alterada, assim como algumas variantes alélicas não se manifestam ou fazem-no apenas em certas circunstâncias, para além de que as interações farmacológicas podem modificar o valor preditivo de muitos dos biomarcadores uma vez que as respostas farmacológicas são fruto da interação de uma série de variáveis genéticas e ambientais (Isaza *et al.*, 2009).

O caminho para recorrer a um marcador farmacogenómico para que este seja validado é adotado na prática clínica é difícil de moldar. Deve-se demonstrar, primeiro, que o polimorfismo está associado a uma característica que se reflete no fenótipo, ou seja, uma associação genótipo-fenótipo com valor real, preditivo, da resposta farmacológica. Posteriormente, confirmar mediante ensaios clínicos controlados e estudos de custo-efetividade que a genotipagem prospetiva é clinicamente relevante e que é vital para a tomada de decisões terapêuticas (Isaza *et al.*, 2009).

## 5. Farmacogenómica: outros dados

### 5.1. Farmacogenómica na farmacologia

Alguns compostos ativos (e nomes comerciais) são afetados por polimorfismos genéticos, tendo reações diferentes consoante o mapa genético. Como exemplo, podemos referir (Pessoa *et al.*, 2006):

- Clopidogel (Plavix®) – CYP2C19
- Atomoxetine (Strattera – CYP2D6
- Codeína – CYP2D6
- Tamoxifen (Nolvafex®) – CYP2D6
- Erlotinib (Tarceva®) – EGFR
- Varfarina (Coumadin®) – CYP2C9; VKORC1
- Imatinib mesylate (Gleevec®)<sup>1</sup> – C-KIT
- Abacavir (Ziagen®) – HLA-B\*5701
- Panitumumab (Vectibix®) – KRAS
- Carbamazepine (Tegretol®) – HLA-B\*1502
- Trastuzumab (Herceptin®)<sup>1</sup> - Her2/neu
- Azathiopurine (Imuran®) – TPMT
- Irinotecan (Camptosar®) – UGT1A1-33

Algumas potenciais reações de hipersensibilidade são associadas ao Ziagen, por exemplo, e a outros medicamentos com abacavir. Pacientes que carregam o alelo HLA-B\*5701 têm um risco acrescido de experimentar estas reações e, antes do início da terapia com o composto ou do reinício do tratamento, recomenda-se a realização de testes que confirmem a ausência deste alelo, sendo que este método diminui comprovadamente as RAM (Pinto, 2005).

---

<sup>1</sup> a resposta a estas drogas está dependente de variações genéticas que estão presentes em tecido de tumores

O Clopidogrel (Plavix®) é um inibidor plaquetário usado em diversas patologias cardiovasculares e a sua efetividade está dependente do CYP2C19. Este, nas doses recomendadas, forma menos metabolitos e tem um efeito menor na função das plaquetas em metabolizadores lentos da CYP2C19. Indivíduos com esta variação e possuidores de síndromes coronárias e medicados com Plavix® nas doses recomendadas exibem maiores eventos cardiovasculares do que indivíduos com metabolização normal, sendo recomendado o teste genético para identificação da alteração (Pinto, 2005).

A FDA aprovou há relativamente pouco tempo a indicação do medicamento Bidil® no tratamento da insuficiência cardíaca congestiva em indivíduos de raça negra. A autorização para a produção deste medicamento havia sido negada pela FDA em 1997, após a realização de testes clínicos que indicaram um baixo índice estatístico de reversão dos quadros da patologia quando testado em todos os voluntários. No entanto, os mesmos testes indicavam que este medicamento seria mais eficaz em indivíduos de raça negra, o que motivou em 2004 uma nova série de testes que revelaram um índice de 43% de redução na mortalidade destes em ataques cardíacos. Pensa-se que este facto poderá ocorrer por a raça negra possuir no seu organismo menores quantidades de ácido nítrico, ao contrário das outras (Pessoa *et al.*, 2006).

Assim como no caso do Bidil®, foi também indicada a utilização do Cozaar® (losartan) de modo preferencial para pacientes de uma raça, no caso os caucasianos, porque o estudo LIFE mostrou que as menores taxas de morbilidade e mortalidade cardiovasculares apresentadas pelo Cozaar®, quando comparados com o atenolol, não se aplicavam a pacientes negros com hipertensão e hipertrofia ventricular esquerda, embora os dois esquemas de tratamento tenham reduzido de forma eficaz a pressão arterial (Pessoa *et al.*, 2006).

## 5.2. Farmacogenómica e ética

Os aspetos sociais e éticos da farmacogenómica devem ser analisados sob a perspectiva, principalmente, dos países em desenvolvimento. A ideia de que os tratamentos poderão ser realizados consoante os genes escolhidos são fenómenos ainda pouco compreendidos para a população em geral, assim como a esperança da presença de uma determinada proteína ou enzima em níveis adequados para satisfazer os requisitos de uma medicação personalizada poderá ser vista de várias formas por diferenças culturais, sociais e éticas resultantes da diversidade genética entre a população, além das suas próprias crenças. A título de exemplo, os indivíduos em estado de desnutrição poderão não beneficiar das drogas personalizadas testadas em indivíduos em condições normais de nutrição (Azevedo, 2004).

Problemas éticos são levantados quanto à aplicação clínica da farmacogenómica, sendo que Buchanan *et al.* (*cit in* Mordini, 2004) apontou seis problemas principais à utilização desta na medicina tradicional: 1) regulamentação; 2) confidencialidade e privacidade; 3) consentimento informado; 4) disponibilidade das drogas; 5) acesso e, finalmente, 6) responsabilidade dos clínicos. Em 2002, *The Nuffield Council on Bioethics*, estabelecido pelo Partido Trabalhador britânico, pronunciou-se sobre algumas considerações éticas, legais e sociais levantadas pelo desenvolvimento da farmacogenómica nas áreas do consentimento, privacidade e confidencialidade, no tratamento da informação sobre a resposta ao tratamento e nas implicações de diferentes indivíduos em grupos baseados na resposta ao tratamento (Mordini, 2004).

Os dados dos pacientes devem ainda ser mantidos confidenciais e estes protegidos da estigmatização ou discriminação após a obtenção dos resultados; pela mesma razão, deve haver considerações especiais pela incorporação de minorias étnicas em alguns estudos (Isaza *et al.*, 2009). Os ensaios clínicos deverão receber um tratamento especial com um consentimento informado em separado e uma declaração de anonimato quanto aos resultados biológicos. De acordo com a literatura existente, os compostos farmacêuticos vendidos antes dos avanços na farmacogenómica tinham como alvo,

aproximadamente, cerca de 500 alvos terapêuticos diferentes, número que aumentou exponencialmente após o mapeamento da sequência do genoma humano (Pirazzoli & Recchia, 2004). Quanto ao prescritor, à medida que aumenta o número de marcadores validados, também aumentará o número de fármacos com indicações, precauções e contra-indicações relacionados com a presença ou ausência de um biomarcador, implicando que os clínicos tenham de conhecer os avanços na farmacogenómica para uma correta prescrição e ajuste de doses (Isaza *et al.*, 2009).

Outro importante capítulo a nível da ética passa pela exploração comercial uma vez que os sujeitos objeto de estudo tendem a estar mais protegidos para que os riscos dos participantes estejam minimizados para otimização do rácio/benefício de cada participante. A farmacogenómica ajuda assim a redefinir os critérios dos estudos, uma vez que um dos critérios mais importantes nos estudos *in vivo*, em humanos, é que não haja riscos negativos para o participante, permitindo assim que sejam eliminados os participantes em risco de desenvolver uma reação adversa, principalmente nas fases II e III dos estudos (Mordini, 2004).

Estes avanços levaram à consideração do impacto da farmacogenómica a nível social, ético e legal, como observado na página oficial da OMS (<http://who.int/genomics/elsi/en/>) (Isaza *et al.*, 2009).

Para mais, e considerando que grande parte da variabilidade genética humana está relacionada com diferenças étnicas, será pouco provável que os medicamentos não sejam fabricados especificamente para uma determinada etnia ou raça. Do ponto de vista ético, este tipo de divisória irá aprofundar as divisões entre os indivíduos, trazendo novos desafios e estimulando o desacordo entre os povos, já para não mencionar o aumento do fosso entre quem teria possibilidade de pagar este exame e quem não a tem. Num outro ponto de vista, a complexidade da prescrição personalizada eleva a probabilidade de a interpretação dos exames genéticos depender muitas vezes de quem o analisa (Azevedo, 2004).

O uso de testes de DNA prévios pode quebrar a confidencialidade e, conseqüentemente, abre a possibilidade de danos sociais ao paciente e à família. Esses riscos vão desde preconceito até conflitos com, por exemplo, as seguradoras ou os empregadores, podendo surgir o que se acha ser uma nova forma de discriminação social, com rótulos de acordo com os genes, podendo haver escolha de genes e da futura genética (Azevedo, 2004).

E, se uma determinada patologia não tiver uma frequência alta que não estimule o mercado, deverá ser evitado o investimento na produção dos medicamentos e testes para estes? Para mais, o tradicional e conhecido efeito Weber poderá desenvolver-se também na farmacogenómica, na expectativa de que o número de efeitos adversos relatados para cada droga irá aumentar até à metade do segundo ano de comercialização da medicação (Azevedo, 2004).

É possível que a farmacogenómica leve à criação de novos grupos de pessoas se nos basearmos nas respostas a fármacos, surgindo assim novas minorias com a possibilidade de discriminação caso alguns destes grupos sejam julgados como sendo de tratamento mais difícil ou mais dispendioso. Portanto, a criação de novas terapias personalizadas baseadas nos indicadores genéticos pode levar a novos tipos de discriminação, além da antropologia baseada na raça/etnia, o que levanta novos desafios éticos (Azevedo, 2004).

Estas diferenças poderão tornar-se mais visíveis com a popularização da farmacogenómica a obrigar os países a criar leis específicas quanto à utilização dos resultados deste mapeamento genético. Em termos éticos é preciso estabelecer mecanismos adequados para a coleta e armazenamento do DNA do paciente, além de garantir sigilo e segurança dos dados. Apesar destas dificuldades e dos impasses legais que possivelmente surgirão, espera-se que a farmacogenómica propicie um mecanismo para reduzir o empirismo atual e os riscos da farmacoterapia, graças às possibilidades práticas da farmacologia individualizada baseada no mapa genético (Azevedo, 2004).

Em 1996, foi criado no Brasil a Comissão de Ética em pesquisa, por exemplo, com a função de implementar as normas e as diretrizes regulamentadoras das pesquisas que envolvem seres humano nesse país, regulamentando as diretrizes para análise da ética e da tramitação dos projetos de pesquisa. Os protocolos de pesquisa com este propósito devem prever mecanismo de protecção dos dados visando evitar a estigmatização e a discriminação de indivíduos, famílias ou grupos, além de regulamentar o uso dos dados genéticos humanos coletados na pesquisa com determinada facilidade, apenas com o consentimento prévio do indivíduo doador ou o seu representante legal e mediante a elaboração do novo protocolo de pesquisa. A crescente identificação dos genes relacionados com doenças tem resultado em acordos sobre a regulação e códigos práticos por todo o mundo, embora ainda sejam necessárias mudanças para contruir uma regulamentação abrangente da genética que proteja o indivíduo, sem desencorajar as pesquisas clínicas neste campo (Azevedo, 2004).

O uso de populações mais homogéneas geneticamente pode diminuir o número de participantes e o tempo requerido para completar um estudo clínico ao diminuir a variabilidade interindividual, sendo importante reconsiderar os parâmetros usados para determinar a denominação “raça” de um indivíduo, tradicionalmente considerada na estratificação dos voluntários, sendo provavelmente mais eficiente o uso de marcadores genéticos e não das características físicas. Além disso, a seleção e o recrutamento de voluntários baseados no genótipo poderia aumentar as probabilidades de sucesso dos novos fármacos, com um espectro de aplicação mais estrito já que seria restrito a uma determinada população, o que também necessitaria de um controle pós-comercialização mais intenso para evitar a generalização do seu uso, não devidamente avaliado na população heterogénica (Azevedo, 2004).

## **6. Aplicações clínicas da farmacogenómica: o caso da varfarina**

O aumento da compreensão dos fatores genéticos que influenciam a resposta aos compostos farmacológicos e o valor preditivo das consequências clínicas aumentarão a funcionalidade deste composto farmacêutico (Ross *et al.*, 2007). Dados fornecidos pelos EUA referem que, por ano, a varfarina é prescrita a mais de um milhão de pacientes, para uma terapêutica de longa duração em muitos deles, com mais de 800 RAM associadas apenas no ano de 2004 (Carlquist *et al.*, 2006; Flockhart *et al.*, 2008). O custo médio, por exemplo, de uma hemorragia provocada por uma RAM ronda os 15000 euros e um internamento hospitalar de, aproximadamente, 6 dias. O *American Enterprise Institute* prevê uma poupança de cerca de 1.1 bilhões de dólares apenas nos EUA e a prevenção de 17000 enfartes e 85000 hemorragias com a utilização da farmacogenómica na prescrição da varfarina. Em Novembro de 2005, a FDA reviu o rótulo da varfarina para acrescentar o aconselhamento de testes farmacogenómicos (Ross *et al.*, 2007) e, em 2007, aprovou a alteração do “Resumo das Características do Medicamento” (RCM), passando a incluir informações sobre as diferenças genéticas conhecidas implicadas em alterações no metabolismo e no efeito terapêutico (Wu *et al.*, 2008).

A inclusão da varfarina na investigação farmacogenómica deve-se à sua margem terapêutica estreita, ao difícil ajustamento da dose individual e à variabilidade inter e intra-individual dessa mesma dose, sendo uma questão epidemiológica com um nível de significância considerável (Garcia, 2009). A variabilidade que advém da existência de polimorfismos, a acrescer aos fatores interferentes da otimização da terapêutica previamente referidos como a idade, o género, o peso corporal, etnia, dieta, entre outros (Flockhart *et al.*, 2008; McDonnell, 2007; Meckley *et al.*, 2008; Rieder *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2008), tornam a utilização do fármaco desafiante e a requerer constante monitorização.

Polimorfismos genéticos nos genes codificadoras da enzima CYP-2C9 e da subunidade 1 do complexo vitamina K-epóxido-redutase (VKORC1, enzima alvo do mecanismo de ação da varfarina), referidas anteriormente, afetam a farmacocinética e farmacodinâmica deste fármaco e conseqüentemente, o seu efeito anticoagulante (Flockhart *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2008). Portadores das alterações podem necessitar doses diferentes de varfarina para o efeito normal já que o primeiro gene é responsável pela codificação de importantes proteínas transformadoras da varfarina em metabolitos ativos enquanto o segundo codifica proteínas-alvo sobre as quais a varfarina exerce o seu efeito (Flockhart *et al.*, 2008).

A varfarina é um exemplo de como as diferenças étnicas afetam a metabolização dos fármacos, já que as doses para alcançar um INR de 2 e 3 variam entre orientais (3.4 mg/dia), caucasianos (5.1 mg/dia) e negros (6.1 mg/dia), correlacionando-se os resultados com a prevalência de alelos genéticos de suscetibilidade referidos anteriormente (Tabela 2; Isaza *et al.*, 2009).

<b>Varfarina</b>	<b>Caucasianos (%)</b>	<b>Negros (%)</b>	<b>Orientais (%)</b>
<b>Gene CYP-2C9</b>	13-31	3-6	2-5
<b>Gene VKORC1</b>	35-45	8-10	90-95

Tabela 2 – Frequência de alelos de suscetibilidade nos genes associados à varfarina. Adatado de Isaza *et al.* (2009, 33).

Situações clínicas como resistências ou sensibilidade podem ocorrer, sendo a primeira menos comum e causada por mutações específicas no gene VKORC1, tornando-o menos suscetível à inibição por varfarina (Meckley *et al.*, 2008). O cenário mais frequente, sensibilidade, faz com que os indivíduos necessitem de uma diminuição da dose de varfarina e estão sujeitos a episódios hemorrágicos major, incluindo hemorragia cerebral, com aumento da morbidade e mortalidade (Figura 6; Flockhart *et al.*, 2008).

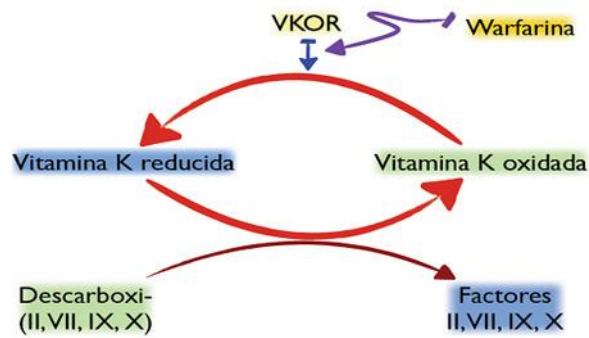


Figura 7 – Ciclo da vitamina K. A enzima epóxido redutase reduz a vitamina K que, reduzida, é um cofator para a ativação dos fatores de coagulação; no processo, a vitamina k é oxidada e, no processo, o VKOR regenera a vitamina k reduzida. A varfarina inibe o VKOR de atuar, impedindo a ativação dos fatores de coagulação. Adaptado de Isaza *et al.* (2009).

As duas formas isoméricas que compõe a varfarina não são metabolizadas pelas mesmas enzimas do complexo enzimático P<sub>450</sub>. A S-varfarina é metabolizada primariamente pelo CYP2C9 e a R-varfarina pelos CYP3A4, CYP-1A2 e CYP1A (Flockhart *et al.*, 2008; Miyata, 2007). As variações genéticas nestes genes potencializam a variabilidade na dose efetiva da varfarina. O mais estudado parece ser o gene CYP2C9, encontrando-se descritas mais de 50 variantes do mesmo uma vez que é o mais importante já que metaboliza 80 a 85% da S-varfarina. Neste contexto, os polimorfismos \*2 e \*3 são amplamente investigados (Redman *et al.*, 2004; McDonnell, 2007; Miyata, 2007) e estão relacionados com a diminuição da actividade enzimática e com uma redução da dose terapêutica necessária (Meckley *et al.*, 2008). O polimorfismo \*2 apresenta uma alteração das bases na posição 144, de arginina para cisteína (Arg144Cys), enquanto o polimorfismo \*3 uma alteração das bases na posição 359, de isoleucina para leucina (Ile359Leu) (Miyata, 2007). A capacidade máxima de metabolização do \*2 é aproximadamente 50% da obtida com o alelo não alterado e \*3 apresenta uma *clearance* intrínseca baixa que diminuí em aproximadamente 90% a hidroxilação da S-varfarina (Myata, 2007). Doentes com estas variantes necessitam, por isso, de doses de manutenção da terapêutica significativamente mais baixas, necessitando de mais tempo para a estabilização da dose e apresentando um maior risco hemorrágico do que os outros doentes (Meckley, *et al.*, 2008) e os valores de

protrombina e INR são elevados e requerem muito tempo para estabilização após uma dose terapêutica com varfarina (Miyata, 2007).

O Coumadin® é um dos anticoagulantes mais prescritos no tratamento e prevenção de patologias tromboembólicas. Variações no gene CYP2C9 que causam o aparecimento de metabolizadores lentos e de uma maior sobrevivência da droga no organismo, levam a concentrações anormais de varfarina na corrente sanguínea e um maior efeito anticoagulante. Já as variações no VKORC1 resultam em atividade reduzida da enzima e redução da síntese de fatores de coagulação (Pinto, 2005).

A combinação de um metabolismo lento e de uma redução nos fatores de coagulação aumentam os riscos de hemorragia durante a terapia com varfarina, tornando difícil a previsão de uma dose ideal nestes indivíduos já que precisam de maiores doses e prolongação do tempo para manter a estabilidade da dose. A tabela 3 mostra as doses terapêuticas sugeridas pela bula em pacientes com diferentes combinações de CYP2C9 e VKORC1 no caso de se conhecer o genótipo. Por exemplo, se um teste genético revelar que o paciente carrega a variação \*1/\*3 do CYP2C9 e a variação AG para VKORC1, a terapêutica esperada será de 3 a 4 mg de varfarina. No entanto, e porque existem diferentes fatores que contribuem para a variação da resposta do paciente à varfarina, uma monitorização criteriosa do INR é vital (Tabela 3; Pinto, 2005).

<b>Doses terapêuticas esperadas de varfarina (em mg) para os genótipos CYP2C9 e o VKORC1</b>						
<b>Genótipo VKORC1</b>	<b>Genótipo CYP2C9</b>					
	<b>*/*1</b>	<b>*1/*2</b>	<b>*1/*3</b>	<b>*2/*2</b>	<b>*2/*3</b>	<b>*3/*3</b>
<b>GG</b>	5-7	5-7	3-4	3-4	3-4	0.5-2
<b>AG</b>	5-7	3-4	3-4	3-4	0.5-2	0.5-2
<b>AA</b>	3-4	3-4	0.5-2	0.5-2	0.5-2	0.5-2

Tabela 3 – As médias derivadas de múltiplos estudos clínicos, adaptadas do rótulo da varfarina de 2010. Adaptado de Pinto (2005).

## 7. CONCLUSÃO

Na última década, a farmacogenómica viu a sua popularidade crescer, ganhando vitalidade através do mapeamento do genoma humano e registando-se um aumento do número de artigos publicados sobre o tema. Uma pesquisa no site *Pubmed* utilizando a palavra-chave “*pharmacogenomics*” apresenta um resultado de 4060 artigos de acesso livre. Esta ciência pretende potenciar a medicina, contribuindo para o aumento da efetividade com a redução das RAM, trazendo novos ganhos ao sistema de saúde devido à diminuição das reações adversas, dos ensaios clínicos com insucesso, do tempo de aprovação de um fármaco e o tempo de descoberta de uma terapêutica ideal. No entanto, esta otimização do tratamento farmacológico não pode depender exclusivamente das características genómicas mas também dos fatores ambientais. Uma abordagem minuciosa é fundamental para integrar o conhecimento genómico e características pessoais e sociais como o peso, a idade, o género, estilo de vida, entre outros já que a resposta a uma terapêutica é o resultado da sinergia entre estes fatores.

No entanto, algum ceticismo relativamente ao sucesso da farmacogenómica no rácio custo/benefício parece estar a ocorrer, sobretudo sobre o valor clínico da sua utilização contínua indicando uma base holística para a sua utilização, ou seja, integrada numa análise global que permita um entendimento geral do paciente. É redutora a afirmação de que as alterações genéticas, por si só, explicariam a resposta individual a um determinado fenómeno biológico.

Em resumo, o futuro da individualização da terapêutica passaria pela abordagem integrada de todas estas características do paciente e da relação próxima entre este e o seu médico, com um diálogo próximo e com adequado suporte informativo para uma adesão terapêutica conscienciosa. A farmacogenómica parece arrecadar melhores resultados se integrada numa análise global que permita um entendimento geral dos fenómenos ao invés de ser utilizada como ferramenta isolada, já que algumas prescrições iniciais parecem ter sido defraudadas por inconvenientes científicos, políticos e económicos. A frequência de RAM na terapêutica com varfarina, por exemplo,

justifica o papel da farmacogenómica na prática clínica uma vez que os casos de RAM e das suas consequências são mais dispendiosos do que os testes farmacogenómicos a portadores que necessitam desta droga medicamentosa. No caso da oncologia, alguns tipos de tumor não permitem uma recolha de amostra facilitada para que seja estabelecida a respetiva correspondência entre uma alteração genética e a resposta à terapêuticas, passando os testes a serem uma aposta restrita e pontual.

Embora a individualização terapêutica permaneça como um desafio no futuro, a farmacogenómica poderá ser uma ferramenta bastante útil no desenvolvimento de novos medicamentos. O processo de aprovação de um fármaco poderá ser facilitado com a realização de testes com populações caracterizadas geneticamente, trazendo um sucesso maior aos testes e redução dos custos e riscos dos mesmos, assim como a redução do tempo gasto para aprovação. Para além disso, haveria a possibilidade de uma reavaliação dos medicamentos rejeitados, utilizando-se uma parcela da população que responda positivamente aos mesmos e viabilizando a entrada destes medicamentos no mercado para alcançar populações específicas.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- Andrade, L. (2009). Future perspective for diagnosis in autoimmune diseases. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* , 81 (3), 367-380.
- Azevedo, E. (2004): Farmacogenómica, aspetos éticos. *GM*, 74 (2), pp. 145-148;
- Carlquist, F. *et al.* (2006). Genotypes of the cytochrome p450 isoform, CYP2C9 and the vitamin k epoxide reductase complex subunit 1 conjointly determine stable warfarin dose: a prospective study. *Journal Thromb Thrombolysis* . , 22, pp. 191-197.
- Chasman, D. *et al.* (2004). Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. *Journal American Medical Association* , 291, 2821-2827.
- Destenaces, B., François, T. (2000). New advances in pharmacogenomics. *Current Opinion in Chemical Biology* , 4, 440-444.
- Evans, W., McLeod, H. (2003). Pharmacogenomics - Drug Disposition, Drug Targets and Side Effects. *The New England Journal of Medicine* , 348, 538-549.
- FDA. (2009). Innovation or stagnation: challenge and opportunity of the critical path to new medical product. [Em linha]. <[www.fda.gov/Druggs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm](http://www.fda.gov/Druggs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm)>. [Consultado a 18 de MAio de 2014].
- Flockhart, D. *et al.* (2008). Pharmacogenetic testing of CYP-2C9 and VKORC1 alleles for warfarin. *Genetics in Medicine* , 10, pp. 139-150.
- Fuchs, F., Wannamacher, L. (2010). *Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Golan, D., *et al.* (2009). *Princípios de Farmacologia: a base da fisiopatologia da farmacoterapia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Goodman, L., Gilman, A. (2005). *As bases farmacológicas da terapêutica*. Rio de Janeiro: Mc. Graw Hil.

Grant, S., Hakonarson, M. (2007). Recent development in pharmacogenomics from candidate genes to genome wide association studies. *Future Drugs* , 7, 371-393.

Houston, S., Sdanowicz, M., & Fetterman, J. (2010). Pharmacogenomics in advanced pharmacy practice experiences. *Currents in Pharmacy Teaching and Learning* , 2, 196-203.

Husain, A. *et al.* (2007). Clinical pharmacogenetics in Pediatric Patients. *Future Medicine* , 8, 1403-1411.

Ingelman-Sunberg, M. (2008). Pharmacogenomic biomarkers for prediction of severe adverse drug reactions. *The New England Journal of Medicine* , 358, 637-639.

Isaza, C., Sepúlveda-Arias, J., Henao, J. (2009). La farmacogenómica en medicina. *Colombia Médica*, 40 (3);

Kaarina, K., Carleton, B., & Tremlett, H. (2013). The potential role of pharmacogenomics in the prevention of serious adverse drug reaction in multiple sclerosis. *Multiple Scerosis and Related Disorders* , 2, 183-192.

Kawano, D., Pereira, L., Ueta, J., Freitas, O. (2006). Acidentes com os medicamentos: como minimizá-los. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 42 (4), pp. 487-495;

Kollek, R., *et al.* (2006). Pharmacogenetics, adverse drug reactions and public health. *Community Genetics* , 9, 50-54.

Li, J., Lu, Z. (2012). Systematic identification of pharmacogenomics information from clinical trials. *Journal of Biomedical Informatics*, 45, pp. 870-878;

Lin, D. *et al.* (2009). Searching for "omic" biomarkers. *Canadian Journal of Cardiology*, 25, 9-14.

Mallal, S. *et al.* (2008). HLA-B\*55701 – Screening for hypersensitivity to Abacavir. *The New England Journal of Medicine*, 358, pp. 568-579;

Martin, P., Morrison, M. (2006). *Realising the potencial of Genomic Medicine*. London, Royal Pharmaceutical;

McDonnell, E. (2007). Building individualized Medicine: prevention of adverse reactions to warfarin therapy. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* , 322, 427-433.

Meckley, L. *et al.* (2008). An analysis of the relative effects of VKORC1 and CYP-2C9 variants on anticoagulation related outcoms in warfarin-treated patients. *Thromb Haemost* , 100, 229-239.

Metzger, I., Souza-Costa, D., Tanus-Santos, J. (2006). Farmacogenética: princípios, aplicações e perspectivas. *Medicina* , 39, 515-521.

Miyata, T. (2007). Warfarin dose and the pharmacogenomics of CYP2C) e VKORC1 - rationale and perspectives. *Thrombosis Research* , 120, 1-10.

Mordini, E. (2004). Ethical considerations on pharmacogenomics. *Pharmacological Research* , 49, 375-379.

Pessoa, R., Flávio, N., Fraçois, N. (2006). Farmacogenética e farmacogenómica: evidências de como a genética pode influenciar a eficácia de fármacos e a busca por novos alvos farmacológicos. *Infarma* , 18, 41-48.

Pirazzoli, A., Recchia, G. (2004). Pharmacogenetics and pharmacogenomics: are they still promissing? *Pharmacological Research* , 49, 357-361.

Pinto, L. (2005). *Farmacogenómica e suas promissoras aplicações em Oncologia Clínica*. São Paulo.

Prieto-Pérez, R. (2013). Genetics of psoriasis and pharmacogenetics of biological drugs. *Autoimmune Diseases*, 20;

Rang, H., Dale, M. (2001). *Farmacologia*. Rio de Janeiro, Guanaraba Koogan;

Roche. (2008). Roche Amplichip Package Insert. [Em linha]. <[http://amplichip.us/documents/Amplichip\\_CYP450\\_test\\_package\\_insert.pdf](http://amplichip.us/documents/Amplichip_CYP450_test_package_insert.pdf)> [Consultado a 18 de Maio de 2014];

Ross, C., Katzov, H., Carleton, B., Hayden, M. (2007). Pharmacogenomics and its implications for autoimmune disease. *Journal of Autoimmunity* , 28, 122-128.

Sandrim, V., Tanus-Santos, J. (2008). O conhecimento em farmacogenômica pode auxiliar no controle da pressão arterial em pacientes com hipertensão de difícil controle? *Revista Brasileira de Hipertensão* , 15, 34-36.

Schmedders, M. *et al.* (2003). Individualized pharmacogenetic therapy: a critical analysis. *Community Genetics* , 6, 114-119.

Shin, J. (2009). Pharmacogenetics: from discovery to patient care. *American Journal of Health-System Pharmacy* , 66, 625-637.

Silva, P. (2006). *Farmacologia*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.

Silvado, C. (2008). Farmacogenética e antiepilépticos (farmacologia das drogas antiepilépticas: da teoria à prática). *Journal Epilepsy Clinical Neurophysiology* , 14 (2), 51-56.

Suarez-Kurtz, G. (2004). Farmacogenética nos medicamentos. *Ciência Hoje* , 35 (208), 20-27.

Tomalik-Scharte, D. *et al.* (2008). The clinical role genetic polymorphisms in drug-metabolizing enzymes. *The Pharmacogenomics Journal*, 8, pp.4-15;

Wang, Y., Wang, N., Wang, J., Wang, Z., & Wu, R. (2013). Delivering systems pharmacogenomics towards precision medicine through mathematics. *Advanced Drug Delivery Reviews* , 905-911.

Weber, W. (2001). The legacy of pharmacogenetics and potential applications. *Mutation Research* , 479, 1-18.

Williams, D., Lemke, T. (2002). *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.

Wu, A. *et al.* (2008). Dosing algorithm for warfarin using CYP2C9 and VKORC1 genotyping from a multi-ethnic population: comparison with other equations. *Future Medicine* , 9, 169-178.