

FARMACOGENÉTICA APLICADA AO CÂNCER NO SUS: QUIMIOTERAPIA INDIVIDUALIZADA E ESPECIFICIDADE MOLECULAR PARA O TRATAMENTO DA LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA

Jeany CAMELO-SANTOS¹, Elisângela de Paula SILVEIRA-LACERDA^{1*}, Cesar Augusto Sam Thiago VILANOVA-COSTA¹, Aliny Pereira LIMA¹

¹Laboratório de Genética Molecular e Citogenética, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás – UFG, Goiânia, Goiás, Brasil;

*e-mail: silveiralacerda@gmail.com

Palavras-chave: Leucemia Mielóide Crônica, CYP3A4, CYP3A5, mesilato de imatinibe.

1. INTRODUÇÃO

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa e está associada a uma alteração citogenética, conhecida como o cromossomo Philadelphia (Ph), que resulta da translocação recíproca entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22, gerando a proteína híbrida BCR-ABL (ARTIGAS *et al.*, 2003). A proteína BCR-ABL está presente nos pacientes com LMC, e sua hiperatividade desencadeia a liberação de efetores da proliferação celular e inibidores da apoptose, sendo sua atividade responsável pela oncogênese inicial da LMC (BORTOLHEIR e CHIATTONE, 2008).

A progressão clínica da LMC inclui as fases crônica (FA), acelerada (FA) e blástica. A fase crônica é caracterizada pela grande quantidade de células no sangue total, hematopoiese extramedular e esplenomegalia (BARBOSA, *et al.*, 2000; BERGANTINI *et al.*, 2005). Embora a base molecular da LMC seja consistente pela a presença de uma alteração genética, o prognóstico da doença varia consideravelmente (BORTOLHEIR e CHIATTONE, 2008).

Para Sokal e colaboradores (1984), algumas características são consideradas importantes para o prognóstico da LMC tais como: o sexo, a idade, a data do diagnóstico, o tamanho estômago e do baço (em centímetros abaixo do rebordo costal esquerdo), hemoglobina, a contagem de plaquetas e leucócitos e a porcentagem de mieloblastos circulantes, além da porcentagem de basófilos e eosinófilos.

Entre as principais alternativas terapêuticas para pacientes com LMC encontra-se o transplante alogênico de medula óssea (TMO), hidroxiuréia, o bulsufan, o interferon alfa e inibidor da tirosina-quinase - mesilato de imatinibe - MI (Glivec) (KIM *et al.*, 2004).

A resposta ao tratamento é expressa em três níveis: resposta hematológica (RH), citogenética (RC) e molecular (RM). O MI induz a uma acentuada resposta citogenética em 80% dos casos com ph. Apesar do MI ser o tratamento de escolha para a LMC, nem todos os pacientes alcançam remissão citogenética completa e muitos apresentam a doença detectável em nível molecular, denominada Doença Residual Mínima (DRM) (KIM *et al.*, 2004; BARBOSA *et al.*, 2000).

A família CYP3A localizada no fígado representa a maioria das enzimas do citocromo CYP450 sendo responsável pelo metabolismo de cerca de 50% de todas as drogas. O MI é metabolizado principalmente pela a enzima CYP3A4 e CYP3A5 cujo gene está localizado cromossômico 7 (VAN SCHAİK, 2005).

Os SNPs (polimorfismo de base única) respondem por mais de 90% da variação genética no genoma humano. O polimorfismo fármaco-relevante e mais estudado para o gene CYP3A4 é a variante CYP3A4*1B e para CYP3A5 são as variantes: CYP3A5*3 e CYP3A5*6. Em pacientes com LMC os polimorfismos podem afetar a fármaco cinética de muitos medicamentos antineoplásicos (CAMARGO, 2008; MATHIJSEN E SCHAIK, 2006).

O presente estudo visa analisar por meio da revisão de prontuários as características clínicas, RC e RM dos pacientes com LMC tratados com MI, dados epidemiológicos foram levados em consideração como aspectos relevantes na pesquisa. A próxima etapa deste estudo será avaliar a influência que podem apresentar importantes SNPs para os genes CYP3A4 e CYP3A5 através de genotipagem de pacientes com LMC em tratamento com o quimioterápico MI, correlacionar o genótipo com sua capacidade individual de absorver, assimilar e metabolizar a droga.

2. METODOLOGIA

Neste trabalho estudou-se o histórico da doença LMC através da análise de prontuários dos pacientes atendidos no Hospital das clínicas HC de Goiânia - GO, com início em Outubro de 2010. Amostras do sangue periférico estão sendo coletadas para extração de DNA e PCR-RFLP para análise molecular e validação dos polimorfismos. Até o presente momento 103 amostras de sangue já foram coletadas e 50 prontuários de pacientes com LMC em fase crônica, fase acelerada ou crise blástica já foram analisados. A idade dos indivíduos variou de 19 à 81 anos.

O estudo foi aprovado pelo o Comitê de ética e Pesquisa Clínica do HC, os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Foram considerados como critérios de inclusão, pacientes com LMC em fase crônica, acelerada ou crise blástica da doença e que apresentam ainda os seguintes critérios: idade entre 18 e 90 anos, ser ou não fumantes e pacientes que estejam ou que já estiveram em uso de MI - glivec.

Realizou-se análises estatísticas: descritiva qualitativa e analítica. Como análise estatística descritiva utilizou-se tabela de frequência a fim de verificar aspectos relevantes à pesquisa. Na análise estatística analítica realizou-se o teste não paramétrico do χ^2 (qui-quadrado).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A pesquisa consistiu do estudo de 50 prontuários de pacientes com LMC, sendo 25 (50%) do sexo feminino e 25 (50%) do sexo masculino. A idade média foi de 50 anos, com desvio padrão de 13 anos e um mês. 56% dos pacientes atendidos são procedentes de Goiânia e 44% são procedentes do interior do estado e de estados vizinhos como o Tocantins e Minas Gerais.

A tabela 1 mostra as características clínicas de 40 pacientes com LMC em fase crônica, acelerada e crise blástica acompanhados até os 18 meses de tratamento com MI. A FC consistiu-se de trinta e três pacientes com idade mediana de 53 anos e 4 meses e desvio padrão de 15 anos e 4 meses. Vinte e quatro pacientes fizeram uso de hidroxiuréia e

seis fizeram uso do interferon- α / hidroxiuréia antes de iniciar o tratamento com MI. 45,4% dos pacientes apresentaram algum tipo de resistência primária e/ou secundária o que levou a suspensão do MI seja por efeitos colaterais (18%) ou falha terapêutica (27,3%) do medicamento. Dos indivíduos resistentes ao tratamento 18% estão em uso de Nilotinibe e 15% em uso de dasatinibe. 66,7% dos pacientes em tratamento continuam em uso do MI.

Seis indivíduos em FA tem idade média de 41 anos e 5 meses e desvio padrão de 10,2 anos. Destes, cinco fizeram uso de hidroxiuréia e um paciente fez uso do interferon- α / hidroxiuréia antes de iniciar o tratamento com MI. 66% dos pacientes apresentaram algum tipo de resistência o que levou a suspensão do MI seja por efeitos colaterais (16,7%) ou falha terapêutica (50%) do medicamento. Dos indivíduos resistentes ao tratamento 50% estão em uso de Nilotinibe e 16,7% em uso de dasatinibe. 33,4% dos pacientes em tratamento continuam em uso do MI.

Neste estudo apenas um indivíduo encontrava-se em crise blástica, o qual fez tratamento com hidroxiuréia anterior ao MI. O paciente continua em uso do imatinibe.

A figura 1 apresenta a RC de 38 pacientes em uso de MI acompanhados por 18 meses. Nos três primeiros meses 10,81% dos pacientes apresentaram Resposta Citogenética Completa (RCC), 2,7% apresentaram resposta citogenética parcial (RCP) e 2,7% apresentaram uma resposta citogenética menor (RCMe). 24,32% dos pacientes com 6 meses em uso de imatinibe apresentaram RCC, 10,81% apresentaram RCP e 8,1% apresentaram RCMe. Com 9 meses de tratamento 8,1% dos pacientes apresentaram RCC, com 12 meses 8,1% apresentaram RCC e 21,6% apresentaram ausência de RC.

Dos pacientes que alcançaram a RCC, 52% estavam na fase crônica da doença, 8,7% estavam na fase acelerada e 5% na crise blástica.

Para Pagnano (2008) pacientes diagnosticados em FC, o tratamento com MI resulta numa alta taxa de RH de 98%, da RCC de 87% e a sobrevida é de 89% em 60 meses. A taxa de progressão anual é de cerca de 4%, sendo que 2% dos pacientes evoluem para FA ou crise blástica. As taxas caem com o tempo e cerca de 15% dos pacientes apresentam algum tipo de resistência ao tratamento.

Tabela 1. Principais características clínicas observadas em pacientes com LMC tratados com mesilato de imatinibe.

	Fase Crônica	Fase Acelerada	Crise Blástica
Idade	53,4 \pm 15,4	41,5 \pm 10,2	31
Sexo			
Masculino	17 (53,1%)	4 (66,67%)	1(100%)
Feminino	15 (46,9%)	2(33,4%)	0
Intervalo entre o diagnostico até início do imatinibe(meses)	13,8	5	1
Tratamento antes do imatinibe:			
Hidroxiuréia (indivíduos)	24	5	1
Interferon/ Hidroxiuréia (indivíduos)	6	1	0
Suspensão do imatinibe por:			
Efeitos colaterais	6 (18,1%)	1 (16,7%)	0
Falha terapêutica	9 (27,3%)	3 (50%)	0
Medicação usada após início do tratamento com imatinibe (indivíduos)			
Nilotinibe	6 (18,1%)	3 (50%)	0

Dasatinibe	5 (15%)	1(16,7%)	0
Em uso de imatinibe	22(66,7%)	2 (33,4%)	1(100%)
Total	33	6	1

De acordo com Alvarenga e colaboradores (2010), vários estudos clínicos comprovam a eficácia do MI para o tratamento da LMC. Os dados hematológicos e citogenéticos apresentam uma boa resposta em relação aos outros tratamentos disponíveis, incluindo RCC.

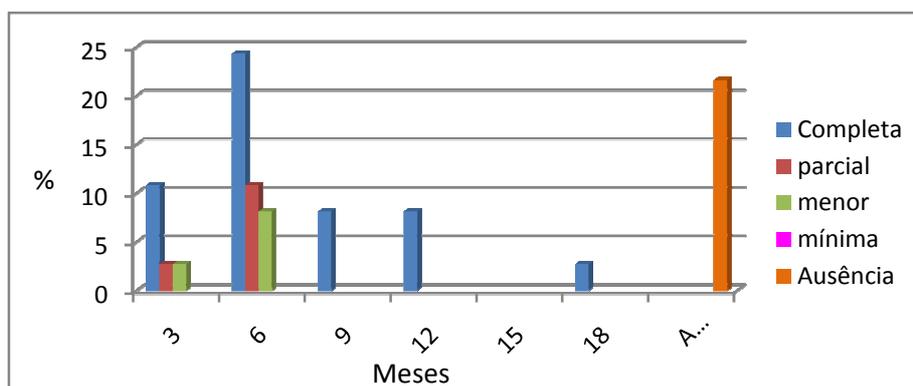


Figura 1. Resposta citogenética observada em pacientes com LMC tratados com imatinibe.

A figura 2 apresenta a RM de 30 pacientes em uso de imatinibe acompanhados por 18 meses. Nos três primeiros meses 6,7% dos pacientes apresentaram resposta molecular completa RMC, 3,3% apresentaram resposta molecular maior (RMM). Ao sexto mês de tratamento 10% apresentaram uma RMM, 6,7% e 6,7% dos pacientes apresentaram respectivamente RMC e RMM. 43,3% apresentaram ausência de RM.

Através do teste χ^2 (qui-quadrado), foi observado que houve uma associação /dependência estatisticamente significativa com $p < 0,05$ entre as duas variáveis RC e RM. Para pacientes que apresentaram RC também foi esperado a RM.

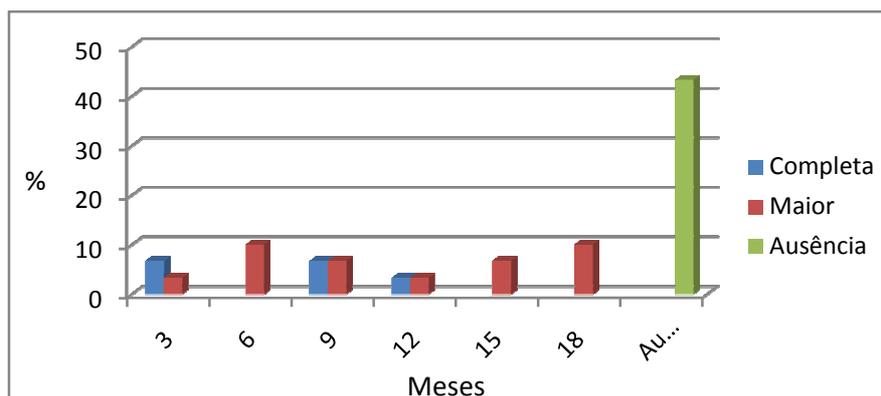


Figura 2. Resposta molecular observada em pacientes com LMC Tratados com imatinibe.

Para Pagnano (2008) a resistência ao imatinibe pode apresentar de forma multifatorial, como polimorfismos genéticos, fatores ambientais, ou drogas co-administradas.

Picard e colaboradores (2008) demonstraram uma correlação entre níveis plasmáticos baixos de MI e a RCC e RMM. A concentração plasmática do MI depende da

metabolização da droga pelas as enzimas CYP3A4 e CYP3A5. e pode ser aumentada ou diminuída por alguns medicamentos. Pacientes que apresentaram concentrações plasmáticas de MI maiores que 1000 ng/mL obtiveram melhores taxas de RCC, RMM e uma sobrevida maior (Pagnano, 2008)..

4. CONCLUSÃO

Nesta primeira etapa deste estudo demonstrou-se o impacto prognóstico em atingir RCC e RMM. Para a segunda etapa torna-se necessário o conhecimento sobre as enzimas do citocromo p450 e sua genotipagem, para triagem genética de pacientes no tratamento de LMC através da personalização terapêutica.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARTIGAS, C. G.; MELO, A.; ROA, J.C.; QUIJADA, I.; VITTINI, C.; CABRERA, M. E. & RISUENO, C. Transcritos de fusion del gen BCR/ABL em pacientes com Leucemia Mielóide Crônica. **Int, J. Morphol**, v. 21, n.13, p.200-209, Jul. 2003.
- BORTOLHEIRO, T. C.; CHIATTONE, C. S. **Leucemia Mielóide Crônica: história natural e classificação**. Rev. bras. hematol. Hemoter, v. p. 3-7, 2008.
- BARBOZA L. P., J. M. SOUZA, F. V. SIMÕES, I. C BRAGANÇA & E. ABDELHAY. Análise dos transcritos da translocação t(9;22) em Leucemia Mielóide Crônica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 22, n. 2, p. 89-98, 2000.
- BERGANTINI, A. P. F.; CASTRO, F. A.; SOUZA, A, M.; 2005. Leucemia Mielóide Crônica e o sistema Faz-FasL. **Rev Bras Hematol Hemoterapia**. Rio de Janeiro, v. 27, n. 2, p.120-125, Abr/ Jun. 2005.
- KIM, Y.J.; KIM, D.W.; LEE, S.; MIN, C. K.; GOB, H. G.; KIM, S.H.; LEE, J.Y.; KIM, Y. L.; KIM, H. J.; KIM, H. J.; LEE, J. W.; KIM, T.G.; MIN, W. S.; KIM, C.C. early prediction of Molecular Remission by monitoring BCR-ABL transcript Levels in patients Achieving a Complete Cytogenetic Response after Imatinib Therapy for Posttransplantation Chronic Myelogenous Leukemia Relapse. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 10, p. 718-725, Jun. 2004.
- MATHIJSSSEN, R. H. J.; VAN SCHAİK, R. H. N. Genotyping and phenotyping cytochrome P450: Perspectives for câncer treatment, **European Journal of Cancer**, v. 42, p. 141-148, 2006.
- CAMARGO, M; SOTO-MARIN, M. I.; Biol, O. Z.; Saavedra, D. Tratamiento com imatinib y El farmacogenetico CYP3A4 em relación cn La expansión clonal Ph (+) em Leucemi Mielóide Crônica, **Columbia médica**, v. 36, n. 4, p. 314- 322, Out/Dez. 2008.
- PAGNANO, K. B.B. Leucemia Mielóide Crônica – Causas de falha do tratamento com mesilato de imatinibe. **Rev. bras. hematol. hemoter**. v. 30, p. 22-26, 2008.
- PICARD, S.; TITIER, K., ETIENNE, G., TEILHET, E.; DUCINT, D.; BERNARD, M. A.; LASSALE, R. *et al*. Trough imatinib plasma levels are associated with both cytogenetic and molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. **Blood**, v. 109, n. 8, p. 3496-3499, Abr 2007.
- SOKAL, J. E.; COX, E. B.; BACCARANI, M.; TURA, S.; GOMEZ, G.A.; ROBERTSON, J.E.; TSO, C. Y.; BRAUN, T.J.; CLARKSON, B.D.; CERVANTES, F.; ROZMAN, C. prognostic Discrimination in “Good Risk” Chronic Granulocytic Leukemia. **Blood**, v. 63, n. 4, p.789-799, Abr. 1984.

VAN SHAICK, R. H. N. Cancer treatment and pharmacogenetics of cytochrome P450 enzymes. **Investigational New Drugs**, v. 23, p. 513-522. Out 2005.