

Medicina personalizada e o laboratório clínico

Personalized medicine and the clinical laboratory

João Renato Rebello Pinho¹, Roberta Sitnik¹, Cristóvão Luis Pitangueira Mangueira¹

RESUMO

Medicina personalizada é o uso de biomarcadores, em sua maioria marcadores moleculares, para a detecção de traços genéticos específicos, a fim de orientar diversas abordagens para a prevenção e o tratamento de diferentes doenças. A identificação de vários genes relacionados a doenças hereditárias, oncológicas e infecciosas permite a detecção de polimorfismos genéticos que estão envolvidos em diferentes evoluções clínicas dessas doenças, bem como com variações na resposta ao tratamento. Atualmente, já é possível detectar esses polimorfismos utilizando diversas metodologias: a detecção de polimorfismos de nucleotídeo único pela reação de polimerização em cadeia; a detecção de microarranjos de ácidos nucleicos; e o sequenciamento de ácidos nucleicos com sequenciadores de DNA automatizados usando métodos derivados de sequenciamento Sanger ou de nova geração. Os ensaios de medicina personalizada são dirigidos para detectar variações genéticas que alteram interações de fármacos com alvos ou vias metabólicas de fármacos (anabólicas e catabólicas), podendo ser utilizados para a seleção de formulações farmacêuticas e para detectar diferentes imunogenicidades da droga. As aplicações de medicina personalizada já foram descritas em várias áreas da Medicina e permitem que abordagens de tratamento específicas sejam aplicadas para cada paciente e para cada doença, de acordo com os resultados dos ensaios utilizados. A aplicação de um protocolo desse tipo exige uma relação intensa entre o laboratório e o corpo clínico. Para sua execução, é necessária uma equipe coordenada, composta por investigadores de pesquisa básica e médicos altamente especializados em suas áreas, apoiada por um time bastante especializado de analistas clínicos treinados em testes de biologia molecular.

Descritores: Medicina molecular; Genética médica; Medicina individualizada; Neoplasias; DNA; Coagulação sanguínea; Farmacogenética; Hepatite C; Anticoagulantes

ABSTRACT

Personalized medicine is the use of biomarkers, most of them molecular markers, for detection of specific genetic traits to guide various approaches for preventing and treating different conditions. The identification of several genes related to heredity, oncology and

infectious diseases lead to the detection of genetic polymorphisms that are involved not only in different clinical progression of these diseases but also in variations in treatment response. Currently, it is possible to detect these polymorphisms using several methodologies: detection of single nucleotide polymorphisms using polymerase chain reaction methods; nucleic acid microarray detection; and nucleic acid sequencing with automatized DNA sequencers using Sanger-derived methods and new generation sequencing. Personalized medicine assays are directed towards detecting genetic variations that alter interactions of drugs with targets or the metabolic pathways of drugs (upstream and downstream) and can be utilized for the selection of drug formulations and detect different immunogenicities of the drug. Personalized medicine applications have already been described in different areas of Medicine and allow specific treatment approaches to be applied to each patient and pathology according to the results of these assays. The application of such a protocol demands an increasing interaction between the clinical laboratory and the clinical staff. For its implementation, a coordinated team composed of basic researchers and physicians highly specialized in their areas supported by a highly specialized team of clinical analysts particularly trained in molecular biology assays is necessary.

Keywords: Molecular medicine; Genetics, medical; Individualized medicine; Neoplasms; DNA; Blood coagulation; Pharmacogenetics; Hepatitis C; Anticoagulants

INTRODUÇÃO

A medicina personalizada abrange o uso de biomarcadores, em sua maioria marcadores moleculares, para detectar traços genéticos específicos e orientar diferentes abordagens na prevenção e no tratamento de várias doenças. A identificação de vários genes relacionados a doenças hereditárias, oncológicas e infecciosas leva à detecção de polimorfismos genéticos, que estão envolvidos em diferentes evoluções clínicas dessas doenças e em variações nas respostas ao tratamento.

Atualmente, é possível detectar polimorfismos de ácidos nucleicos usando várias metodologias. A detec-

¹ Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

Autor correspondente: João Renato Rebello Pinho – Avenida Albert Einstein, 627/701, 2ª andar, bloco E – Morumbi – CEP: 05652-900 – São Paulo, SP, Brasil – Tel.: (11) 2151-5555 – E-mail: jrpinho@einstein.br

Data de submissão: 4/6/2013 – Data de aceite: 28/6/2014

DOI: 10.1590/S1679-45082014RW2859

ção rotineira de polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs, sigla do inglês *single nucleotide polymorphisms*) pode ser conseguida em laboratórios clínicos usando a reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. Outras técnicas, como detecção de microarranjos ou sequenciamento de ácidos nucleicos, também podem ser rotineiramente aplicadas, especialmente quando vários polimorfismos diferentes podem ser relevantes na previsão de um genótipo em particular.⁽¹⁾ Métodos de sequenciamento de nova geração têm sido incorporados em laboratórios clínicos, já que permitem a análise simultânea de amplas regiões do genoma e até da sequência inteira dele, viabilizando, assim, a identificação concomitante de diferentes mutações em vários genes.^(2,3)

Os ensaios de medicina personalizada são focados na detecção de variações genéticas que alteram as interações de drogas com alvos ou as vias metabólicas das drogas (anabólicas e catabólicas *ou upstream e downstream*), podendo ser utilizados para a seleção de formulações de drogas e detecção de diversas imunogenicidades de drogas.⁽⁴⁾

O uso de ensaios de medicina personalizada está se ampliando e várias aplicações já foram descritas em diferentes áreas da medicina. A medicina personalizada permite que métodos terapêuticos específicos sejam usados para cada paciente e doença, conforme os resultados desses ensaios genéticos. A aplicação de tal protocolo demanda uma interação crescente entre o laboratório e a equipe clínica. Para sua implementação, é necessário contar com uma equipe coordenada, com pesquisadores de área básica e médicos altamente especializados em seus campos de estudo, com suporte de um time muito qualificado de analistas clínicos treinados, de forma específica, em ensaios de biologia molecular.⁽⁵⁾

Alguns exemplos de situações clínicas em que a medicina personalizada já está sendo utilizada são detalhados a seguir.

CÂNCER DE MAMA

Para câncer de mama, diferentes marcadores imunohistoquímicos e de biologia molecular são usados para indicar a opção de tratamento mais apropriada e avaliar os riscos de metástases ou recorrência.⁽⁶⁾

As opções de tratamento incluem inibidores de aromatase (como exemestano e anastrozol), indicados para o tratamento adjuvante de mulheres em pós-menopausa com câncer de mama positivo para receptores de estrógenos (ER).⁽⁷⁾

O uso do tamoxifeno é a terapia padrão para câncer de mama ER-positivo em mulheres na pré-menopausa.⁽⁸⁾

As proteínas codificadas por genes do citocromo P450 (CYP450), CYP2D6 e CYP3A4 regulam o metabolismo do tamoxifeno. A eficácia da terapia com tamoxifeno depende do fenótipo de CYP2D6 da paciente. Os inibidores mais potentes de CYP2D6 tiveram maiores efeitos sobre as concentrações plasmáticas de endoxifeno, particularmente os antidepressivos, como paroxetina. Assim, o conhecimento da capacidade de uma droga de inibir a atividade enzimática de CYP2D6 pode ajudar os clínicos a preverem interações medicamentosas clinicamente significativas, o que poderia interferir no metabolismo de tamoxifeno em seus metabólitos (N-desmetil-tamoxifeno, 4-hidroxi-tamoxifeno e endoxifeno). O metabólito endoxifeno mantém atividade similar às do N-desmetil-tamoxifeno e do 4-hidroxi-tamoxifeno, mas é encontrado em níveis mais elevados no plasma de pacientes que recebem o tamoxifeno. Pacientes com o alelo CYP2D6*1 mantêm níveis mais elevados dos metabólitos ativos. Pacientes com variações hereditárias no gene CYP2D6 são fracos metabolizadores de tamoxifeno, o que resulta na diminuição da atividade terapêutica e no aumento do potencial para reações adversas às drogas (RADs).⁽⁹⁾

Níveis de expressão elevados de HER-2/neu ou ERBB2 (*v-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2, neuro/glioblastoma-derived oncogene homolog*) foram associados a um aumento de recorrência da doença no câncer de mama, mas demonstram melhor resposta ao trastuzumabe.⁽¹⁰⁾

Finalmente, o sequenciamento de alguns genes, particularmente de BRCA (*breast cancer*) 1 e 2, orienta a vigilância e o tratamento preventivo, baseado em risco de suscetibilidade para câncer da mama e do ovário.⁽¹¹⁾

CÂNCER DE CÓLON

A terapia do câncer de cólon e suas taxas de recorrência também podem ser avaliadas por meio de ensaios genéticos. Os indivíduos homocigóticos para UGT1A1 (*UDP glucuronosiltransferase 1, polipeptídeo A1*) alelo *28 têm um risco aumentado para neutropenia após o início do tratamento com irinotecano e, nesses pacientes, deve ser levada em consideração uma redução na dose inicial.⁽¹²⁾

Formas não mutadas de genes de BRAF (*v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1*) e KRAS (*v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*) são necessárias para a resposta aos inibidores da tirosina quinase (TKI).⁽¹³⁾ Estudos de imunohistoquímica com EGFR demonstraram que pacientes com alta expressão têm maior propensão a respostas a essas drogas do que aqueles com expressão reduzida.⁽¹⁴⁾

Também foram desenvolvidos painéis de genes para avaliar o escore de risco ou orientar a terapia: (1) uma assinatura de sete genes (mais cinco genes de referência) fornece um escore de risco que indica se um paciente possivelmente terá recorrência de um tumor e orienta a introdução de terapia adjuvante;⁽¹⁵⁾ (2) outro ensaio usado para orientar a terapia fornece informação sobre a expressão de alvos moleculares chaves - KRAS, TS (*thymidylate synthase*), e TOP1 (*topoisomerase 1*);⁽¹⁶⁾ (3) perfis de expressão e mutações em ERCC1 (*excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1*), TS, EGFR, BRAF e KRAS fornecem informações para a seleção de várias terapias.⁽¹⁶⁾

Até 30% dos casos de câncer colorretal têm evidência de um componente familiar, e cerca de 5% estão associados a mutações hereditárias bem caracterizadas. O sequenciamento de genes de MLH1 (*mutL homolog 1*), MSH2 (*mutS homolog 2*) e MSH6 (*mutS homolog 6*) é recomendado para vigilância e tratamento preventivo do câncer não polipoide do cólon ou da síndrome de Lynch, que envolve doenças malignas em outros órgãos também. Igualmente, há muitas outras síndromes hereditárias de câncer colorretal, como o câncer colorretal familiar tipo X, a polipose familiar adenomatosa, a polipose associada a MUTYH, a síndrome de Peutz-Jeghers, a síndrome de polipose juvenil, a síndrome do hamartoma PTEN (*phosphatase and tensin homolog gene*) e a síndrome da polipose serrada.⁽¹⁷⁾

LEUCEMIAS E LINFOMAS

A detecção do cromossomo Filadélfia por hibridização fluorescente *in situ* (FISH) ou a detecção e quantificação da translocação do gene BCR/ABL (*breakpoint cluster region/c-abl oncogene 1, non-receptor tyrosine kinase*) são usadas de rotina em pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC)⁽¹⁸⁾ ou linfoblástica aguda (LLA).⁽¹⁹⁾ Mesilato de imatinibe, dasatinibe ou nilotinibe são indicados para pacientes com BCR/ABL, e a doença deve ser acompanhada por medidas quantitativas seriadas de BCR/ABL.⁽¹⁸⁾ Os pacientes tratados com nilotinibe que possuem a mutação UGT1A1*28 têm um risco alto de apresentar hiperbilirrubinemia.⁽²⁰⁾

O trióxido de arsênico e a tretinoína são indicados para a indução da remissão e a consolidação em pacientes com leucemia promielocítica aguda (LPA), já que essa doença é caracterizada pela presença de translocação t(15;17) por FISH ou expressão PML/RARA (leucemia promielocítica/receptor de ácido retinoico, alfa), detectada por PCR.⁽²¹⁾

Os pacientes com atividade hereditária pobre ou ausência de TPMT (tiopurina S-metiltransferase) apresentam um maior risco de toxicidade grave por mercap-

topurina, tioguanina e azatioprina, em doses convencionais, e há uma recomendação de genotipagem de TPMT para ajustar a dose de tratamento da LLA.⁽²²⁾

O tositumomabe é indicado para o tratamento de pacientes com linfoma não Hodgkin que expressa o antígeno CD20.⁽²³⁾ Denileucina difitox é indicado para o tratamento de pacientes com linfoma cutâneo de células T persistente ou recorrente, cujas células malignas expressam o componente CD25 do receptor de interleucina 2 (IL-2).⁽²⁴⁾

CÂNCER DE PULMÃO

Existem vários genes envolvidos na seleção das terapias mais apropriadas para o câncer de pulmão. Os perfis de expressão e mutações em ERCC1, TS, EGFR, RRM1 (*ribonucleotídeo redutase M1*), KRAS e EML4-ALK (*echinoderm microtubule associated protein like 4 - anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase*) fornecem informações para a seleção de vários tratamentos.⁽¹⁶⁾ A gencitabina interfere na função de síntese de DNA da ribonucleotídeo redutase por meio de sua subunidade ativa (RRM1), e os baixos níveis de expressão de RRM1 estão associados a melhor resposta ao tratamento com gencitabina/carboplatina.⁽²⁵⁾ KRAS é mutado em cerca de 30% dos casos de câncer de pulmão, que mostram resistência a drogas direcionadas a EGFR (gefitinibe e erlotinibe) usadas na terapia. As mutações ativadoras de EGFR ocorrem em aproximadamente 10% dos pacientes caucasianos com câncer de pulmão não pequenas células (CPCNP) e em até 50% dos pacientes asiáticos. Dados de múltiplos estudos indicam um papel preditivo para mutações ativadoras de EGFR com respeito à taxa de resposta e sobrevida livre de progressão com a terapia TKI, particularmente no contexto de primeira linha.^(4,13) O uso do crizotinibe é indicado para o tratamento de pacientes com CPCNP avançado localmente ou metastático, que seja positivo para quinase do linfoma anaplásico (ALK), que ocorre em 1 a 7% desses pacientes.⁽²⁶⁾

MELANOMA

O veramufenibe é um inibidor de quinase indicado para o tratamento de pacientes com melanoma irresssecável ou metastático com uma substituição de aminoácido de valina (V) por ácido glutâmico (E) na posição 600 de BRAF. A mutação BRAF V600E é encontrada em cerca de metade dos pacientes com melanoma.⁽²⁷⁾

MÚLTIPLOS TUMORES

Tumores de origem primária desconhecida podem ser classificados usando os perfis de expressão gênica disponíveis em ensaios comerciais ou não comerciais.^(3,16)

A resistência tumoral ao 5-fluorouracil (5-FU) correlaciona-se a altos níveis de expressão do gene TS em tumores colorretais, adenocarcinoma primário do estômago e câncer do pulmão.⁽²⁸⁾ Em casos raros, a toxicidade grave inesperada (por exemplo: estomatite, diarreia, neutropenia e neurotoxicidade) associada a 5-fluorouracil foi atribuída a uma deficiência da atividade de dihidropirimidina desidrogenase (DPD).⁽²⁹⁾

A rasburicase administrada a pacientes com deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) pode causar hemólise grave, e os pacientes devem passar por uma triagem antes de iniciar a terapia, especialmente aqueles com alto risco de deficiência de G6PD, como os de ascendência africana ou mediterrânea.⁽³⁰⁾

ERCC1 ajuda a reparar o dano ao DNA causado por terapia baseada na platina: sua baixa expressão está associada a uma sobrevivência mais longa em câncer colorretal tratado com 5-fluorouracil/oxaliplatina, enquanto sua alta expressão está associada a resposta ao irinotecano.⁽³¹⁾ Dentre os pacientes com câncer gástrico, aqueles tratados com um esquema FOLFOX (5-fluorouracil/leucovorina/oxaliplatina) ou com esquema de primeira linha à base de cisplatina respondem de maneira significativamente melhor se mostrarem níveis mais baixos de expressão de ERCC1.⁽³²⁾ Os níveis baixos de ERCC1 são também um indicador favorável de resposta à terapia com platina no câncer de pulmão.⁽²⁵⁾

FARMACOGENÔMICA

A farmacogenômica estuda a variabilidade de resposta a drogas em função de variações genéticas. Nos Estados Unidos, a incidência geral de RADs é de cerca de 6,7%, sendo 0,3% acidentes fatais. A farmacogenômica permite o tratamento preciso de uma doença em cada indivíduo afetado, a fim de melhorar a eficácia da droga e de reduzir as RADs. Tais reações representam uma das principais causas de morte nos Estados Unidos, com aproximadamente 100 mil mortes por ano (quarta causa de morte no país), e ocorrem em 32% dos pacientes hospitalizados (com 6,7% dos pacientes que apresentam RADs graves sérias, mas não fatais). Além das complicações intrínsecas e severas, e do tempo de hospitalização aumentado por causa das RADs, essas reações também estão envolvidas nos custos crescentes em sistemas de saúde. Nos Estados Unidos, as despesas com RADs são de, no mínimo, US\$4 bilhões em custos diretos anuais de tratamento, representam 5% das internações, e aumentam o período de hospitalização, em média, em 2 dias, o que eleva o custo em aproximadamente US\$2.500 por paciente.^(33,34)

A conversão química de xenobióticos (drogas e outros compostos exógenos não essenciais) ocorre principal-

mente no fígado e leva à sua conversão para substratos hidrofílicos, o que permite sua excreção urinária. Esse metabolismo pode converter compostos pró-carcinogênicos em compostos citotóxicos e mutagênicos. A farmacogenômica estuda as diferenças de metabolismo entre diferentes indivíduos. É importante enfatizar que um metabolismo xenobiótico pode afetar o metabolismo de outro, sendo sempre relevante conhecer as interações complexas e, por vezes, inesperadas entre diferentes drogas, a fim de compreender melhor sua farmacocinética em um indivíduo específico.⁽³⁵⁾

Há duas fases na via metabólica de xenobióticos. A fase 1 é chamada de biotransformação e envolve a fixação de grupos funcionais, além da transformação de grupos funcionais existentes pela oxidação, redução, hidroxilação, hidrólise etc. A fase 2 é chamada de conjugação, ou seja, a alteração de um grupo funcional existente pela acetilação, glicosilação, ligação a aminoácidos etc. Essas mudanças levam a um composto mais hidrofílico, permitindo sua excreção renal.⁽³⁵⁾

A fase 1 envolve oxidações, como a introdução de grupos cetona, hidroxila ou epóxido mediada pelas desidrogenases de álcool e aldeído, levando à transformação em grupos de aminoácidos pelas amino oxidases; conversões de álcoois em aldeídos e ácidos pelas enzimas do CYP450; reduções de grupos cetona e nitro por nitrorredutases e azorredutases; hidrólise, isto é, a quebra de grupos éster em álcool em ácido pelas esterases.⁽³⁵⁾

A fase 2 envolve alterações nos sítios polares, como por acetilação, conjugação de aminoácidos, glucuronidação, metilação e sulfatação, catalisados por diferentes classes de transferases (por exemplo: acetil, glutatona, glicuronosil, metil e enxofre).⁽³⁵⁾

O CYP450 é uma grande família de genes que codificam enzimas hepáticas responsáveis pelo metabolismo de drogas e toxinas. O CYP450 envolve sete diferentes genes ativos, distribuídos em 17 famílias. CYP1, CYP2 e CYP3 estão envolvidos primariamente no metabolismo de drogas. CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 e CYP3A4/5 são responsáveis pelo metabolismo de drogas clinicamente importantes. As reações mais importantes catalisadas por essas enzimas são oxidação alifática, hidroxilação aromática, formação de sulfóxidos, N-oxidação, N-hidroxilação, desalquilação N-/O-/S, e desalogenação oxidativa ou reductiva.⁽³⁶⁾

As enzimas CYP2D6 e CYP2C19 metabolizam aproximadamente 25 a 30% das drogas prescritas. Os substratos de CYP2D6 incluem antiarrítmicos, antidepressivos, betabloqueadores, neurolépticos e outras drogas, como codeína, debrisoquina, fenformina, indoramina e tamoxifeno. As principais drogas metabolizadas por CYP2C19 são amitriptilina, alguns barbitúricos, clopi-

dogrel, cloroproganil, citalopram, ciclofosfamida, diazepam, imipramina, mefenitoína e omeprazol.⁽³⁷⁾

Cada indivíduo pode ser classificado como sendo de um dos quatro tipos de metabolizadores de drogas: (1) metabolizadores ultrarrápidos (MU), que carregam múltiplas cópias (três ou mais) de alelos funcionais e produzem atividades enzimáticas excessivas; (2) metabolizadores extensivos (ME), que carregam pelo menos um alelo funcional ativo; (3) metabolizadores intermediários (MI), que carregam um alelo de atividade reduzida e um alelo nulo ou dois alelos de atividade reduzida; (4) metabolizadores pobres (MP), que carregam dois alelos mutantes, o que resulta em perda de atividade enzimática.⁽³⁸⁻⁴⁰⁾

As variantes genéticas dessas enzimas se encontram entre diferentes populações étnicas, com uma grande variação no perfil genético. Esses perfis já foram determinados para diferentes populações ao redor do mundo.^(41,42)

As drogas psiquiátricas possuem muitos efeitos colaterais que podem causar interrupção ou falha de tratamento. O tempo para efeito ótimo é longo (3 a 8 semanas) e requer doses repetidas de soro para testes caros que também podem ser encontrados em muitos laboratórios clínicos. Ademais, a seleção e a dosagem de drogas são basicamente empíricas, e as doses variam de 5 a 20 vezes de um paciente a outro. Os polimorfismos de CYP2D6 são uma das razões para as diferentes respostas individuais, pois essa enzima metaboliza muitas dessas drogas. Por exemplo: de 7 a 10% da população branca não tinha atividade de CYP2D6 (MP).⁽⁴³⁾

A análise da dosagem do gene CYP2D6 pode guiar o tratamento para depressão. Existem 45 milhões de pessoas deprimidas, sendo que cerca de 15 milhões usam medicamentos. São mais de 400 mil novos casos de depressão a cada ano. Em muitos países, o tratamento de primeira escolha são os inibidores seletivos de recaptção de serotonina (SSRIs), mas 20 a 25% dos pacientes não respondem a eles, e os antidepressivos tricíclicos podem ser usados como uma segunda opção. Ambas as classes terapêuticas são metabolizadas por CYP2D6. O perfil de metabolizador de CYP2D6, para cada paciente, tem um importante impacto sobre o tempo e os custos de hospitalização, já que geralmente os intervalos necessários para estabilizar a dosagem da droga são mais longos em MP.⁽⁴⁴⁾

A codeína e seus derivados são metabolizados por CYP2D6 e são encontrados em analgésicos e antitussígenos, como oxicodona e hidrocodona. A genotipagem de CYP2D6 é útil antes de iniciar a terapia, já que os indivíduos MU podem sentir tonturas, náuseas e agitação, enquanto os MP têm benefícios muito limitados com a

codeína, mas não sofrem os efeitos colaterais nem se tornam quimicamente dependentes de opioides.^(45,46)

HEPATITE C

A determinação de polimorfismos gênicos da IL-28B já foi descrita como a mais forte preditora de resposta à terapia para hepatite C, de cinética viral inicial, e de depuração viral espontânea e, possivelmente, ela explique parte da associação entre a resposta à terapia e a etnia do hospedeiro. Especialmente em pacientes infectados com o vírus da hepatite C (VHC) genótipo 1, esses SNPs (rs12979860 C/T, e rs8099917 T/G) já se mostraram muito associados à resposta ao tratamento com interferon pegilado/ribavirina.⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾ Em estudo realizado no Brasil, polimorfismos de IL28B rs12979860 e rs8099917 foram preditores da resposta à terapia não apenas em carregadores de VHC genótipo 1, mas também nos genótipos 2 e 3.⁽⁵⁰⁾ Com os novos antivirais de ação direta (AADs), esses resultados não são tão relevantes, embora genótipos favoráveis estejam associados a melhores níveis de resposta a tratamentos de curta duração, e nem todos os pacientes infectados com VHC são atualmente elegíveis para receber AADs. O polimorfismo de IL28B está ainda relacionado a desfechos de tratamento, mas o potente efeito antiviral desses agentes atenua a potência da associação. Em alguns subgrupos, como o de pacientes coinfectados com HIV e VHC, o tratamento com interferon pegilado/ribavirina continua em uso para a maioria dos pacientes, e, assim, fatores do hospedeiro mantêm seu valor preditivo quanto a resultados do tratamento por algum tempo.⁽⁵¹⁾

A anemia hemolítica induzida por ribavirina pode complicar o cuidado de pacientes tratados para hepatite C. Até 15% dos pacientes precisam reduzir sua dosagem em função de anemia grave. Uma associação significativa foi encontrada entre a queda em hemoglobina em pacientes sob terapia antiviral e deficiência de inosina trifosfato (ITPA) associada a polimorfismos rs1127354 e rs7270101 nesse gene.⁽⁵²⁾ Já foram desenvolvidas fórmulas confiáveis para a predição da probabilidade de anemia induzida por ribavirina, considerando os polimorfismos de , que podem ser úteis no desenvolvimento da otimização individual de dosagens de ribavirina para minimizar os eventos adversos induzidos por drogas e otimizar ainda mais o tratamento anti-VHC.⁽⁵³⁾

ANTIAGREGANTES PLAQUETÁRIOS

Clopidogrel é um antiagregante plaquetário que tem de ser convertido para seu metabólito ativo (R 130694) pela ação de diferentes isoformas de CYP450, especialmente CYP2C19. Isso previne a ativação do complexo

receptor glicoproteína IIb/IIIa, reduzindo, assim, a agregação plaquetária. Esse gene é altamente polimórfico: CYP2C19*2, CYP2C19*3, CYP2C19*4 e CYP2C19*5 são formas inativas; e CYP2C19*17 tem atividade aumentada. CYP2C19*2 e CYP2C19*3, alelos inativos, são frequentes na população geral; CYP2C19*4 e CYP2C19*5 são mais raros.⁽⁵⁴⁾ Um algoritmo propõe que os testes de genotipagem de CYP2C19 sejam sempre feitos antes ou no início da terapia. Se o paciente é carregador de genótipos *1/*1, *1/*17 ou *17/*17, a dosagem padrão de clopidogrel pode ser utilizada. Por outro lado, se o paciente é portador de pelo menos um dos alelos inativos, prasugrel ou outra terapia alternativa deve ser aplicada, já que o efeito esperado do clopidogrel não estará presente.⁽⁵⁵⁾

ANTICOAGULANTES

A varfarina é o anticoagulante mais utilizado e inibe a regeneração do epóxido da vitamina K para sua forma reduzida, inibindo a síntese de fatores de coagulação no fígado que são dependentes de vitamina K. Seu pleno efeito anticoagulante é manifestado de 72 a 96 horas e sua atividade é monitorada pelo Índice de Normalização Internacional (INR), sendo o objetivo mantê-lo entre 2 e 3. A varfarina é uma mistura enantiomérica de concentrações iguais das formas R e S, a maior parte absorvida pelo trato digestivo. A varfarina está indicada em várias síndromes em que o tromboembolismo pode estar presente, como fibrilação atrial, trombose venosa profunda, embolia pulmonar, acidente vascular cerebral, e muitos outros. A cascata de coagulação requer vitamina K na forma reduzida como cofator para a gama-glutamil carboxilase (GGCX) converter fatores inativos II, VII, IX e X na forma ativa. A vitamina K é oxidada durante esse processo para epóxido de vitamina K. A varfarina inibe a subunidade 1 do complexo vitamina K epóxido redutase (VKORC1), que restaura a disponibilidade da vitamina K no estado reduzido, reduzindo a disponibilidade da vitamina K, diminuindo os fatores ativos II, VII, IX e X, e inibindo, portanto, a coagulação. A taxa de metabolismo de S-varfarina é aproximadamente três vezes mais rápida que para a R-varfarina, sendo catabolizada para seus metabólitos inativos S-6-OH-varfarina e S-7-OH-varfarina principalmente por meio de CYP2C9.⁽⁵⁶⁾ A varfarina é um anticoagulante amplamente usado com grande variação de doses entre indivíduos e um índice terapêutico estreito, já que uma dose insuficiente pode levar à trombose, enquanto uma dose excessiva pode ser associada a sangramentos e hemorragia. Já foi demonstrado haver um risco aumentado de sangramento para pacientes que carregam os alelos CYP2C9*2 ou CYP2C9*3.

Certos polimorfismos de nucleotídeo isolado no gene VKORC1 (especialmente o alelo 1639G>A) têm sido associados a necessidades de doses menores de varfarina.⁽⁵⁷⁾ Diferentes algoritmos de doses têm sido propostos para a varfarina, levando em consideração idade, sexo, peso ou superfície corpórea, raça/etnia, uso de outras drogas (como amiodarona, sinvastatina e qualquer azol), indicação de tratamento (prótese de valva cardíaca e doença tromboembólica), INR, e polimorfismos de VKORC1 (3673G>A) e CYP2C19 (*2, *3, *5).^(57,58)

CONCLUSÃO

A abordagem para o paciente em várias áreas da medicina está crescendo em complexidade, e já é possível uma visão integrada de todos os aspectos que envolvem cada doença em cada indivíduo. A maioria desses avanços veio do progresso obtido por uma compreensão melhor e mais completa do genoma humano ao longo desses últimos anos. Esse conhecimento crescente dos genes humanos permitiu prever como algumas mutações iriam gerar doenças com comportamentos clínicos diferentes em relação à sua agressividade e resposta ao tratamento. A aplicação rotineira de tais testes atualmente é possível, e os usos mais frequentes dessa abordagem estão descritos no texto.

REFERÊNCIAS

1. Evans WE, Relling MV. Moving towards individualized medicine with pharmacogenomics. *Nature*. 2004;429(6990):464-8.
2. Zhang J, Chiodini R, Badr A, Zhang G. The impact of next-generation sequencing on genomics. *J Genet Genomics*. 2011;38(3):95-109.
3. Kilpivaara O, Aaltonen LA. Diagnostic cancer genome sequencing and the contribution of germline variants. *Science*. 2013;339(6127):1559-62.
4. Krejsa C, Rogge M, Sadee W. Protein therapeutics: new applications for pharmacogenetics. *Nat Rev Drug Discov*. 2006;5(6):507-21.
5. Wu AH, Babic N, Yeo KT. Implementation of pharmacogenomics into the clinical practice of therapeutics: issues for the clinician and the laboratorian. *Personalized Med*. 2009;6(3):315-27.
6. Arpino G, Generali D, Sapino A, Del Matro L, Frassoldati A, de Laurentis M, et al. Gene expression profiling in breast cancer: a clinical perspective. *Breast*. 2013;22(2):109-20.
7. Nicolini A, Giardino R, Carpi A, Ferrari P, Anselmi L, Colosimo S, et al. Metastatic breast cancer: an updating. *Biomed Pharmacother*. 2006;60(9):548-56.
8. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*. 2005;365(9472):1687-717.
9. Jin Y, Desta Z, Stearns V, Ward B, Ho H, Lee KH, et al. CYP2D6 genotype, antidepressant use, and tamoxifen metabolism during adjuvant breast cancer treatment. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(1):30-9.
10. Lim B, Cream LV, Harvey HA. Update on clinical trials: genetic targets in breast cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2013;779:35-54.
11. Struewing JP, Hartge P, Wacholder S, Baker SM, Berlin M, McAdams M, et al.

- The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med.* 1997;336(20):1401-8.
12. Liu X, Cheng D, Kuang Q, Liu G, Xu W. Association of UGT1A1*28 polymorphisms with irinotecan-induced toxicities in colorectal cancer: a meta-analysis in Caucasians. *Pharmacogenomics J.* 2014;14(2):120-9.
 13. Ong FS, Das K, Wang J, Vakili H, Kuo JZ, Blackwell WL, et al. Personalized medicine and pharmacogenetic biomarkers: progress in molecular oncology testing. *Expert Rev Mol Diagn.* 2012;12(6):593-602.
 14. Ensinger C, Sterlacci W. Implications of EGFR PharmDx kit for cetuximab eligibility. *Expert Rev Mol Diagn.* 2008;8(2):141-8.
 15. Kelley RK, Venook AP. Prognostic and predictive markers in stage II colon cancer: is there a role for gene expression profiling? *Clin Colorectal Cancer.* 2011;10(2):73-80.
 16. The age of personalized medicine. The personalized medicine product portfolio: selected personalized medicine drugs, treatments, and diagnostics as of September 2011 [Internet]. 2011 [cited 2014 Feb 17]. Available from: http://www.ageofpersonalizedmedicine.org/personalized_medicine/portfolio/
 17. Patel SG, Ahnen DJ. Familial colon cancer syndromes: an update of a rapidly evolving field. *Curr Gastroenterol Rep.* 2012;14(5):428-38.
 18. Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2012 update on diagnosis, monitoring, and management. *Am J Hematol.* 2012;87(11):1037-45.
 19. Liu-Dumlao T, Kantarjian H, Thomas DA, O'Brien S, Ravandi F. Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia: current treatment options. *Curr Oncol Rep.* 2012;14(5):387-94.
 20. Shibata T, Minami Y, Mitsuma A, Morita S, Inada-Inoue M, Oguri T, et al. Association between severe toxicity of nilotinib and UGT1A1 polymorphisms in Japanese patients with chronic myelogenous leukemia. *Int J Clin Oncol.* 2014;19(2):391-6.
 21. de Thé H, Le Bras M, Lallemand-Breitenbach V. The cell biology of disease: Acute promyelocytic leukemia, arsenic, and PML bodies. *J Cell Biol.* 2012;198(1):11-21.
 22. Zhou S. Clinical pharmacogenomics of thiopurine S-methyltransferase. *Curr Clin Pharmacol.* 2006;1(1):119-28.
 23. Sharkey RM, Press OW, Goldenberg DM. A re-examination of radioimmunotherapy in the treatment of non-Hodgkin lymphoma: prospects for dual-targeted antibody/radioantibody therapy. *Blood.* 2009;113(17):3891-5.
 24. O'Malley DP, Chizhevsky V, Grimm KE, Hii A, Weiss LM. Utility of BCL2, PD1, and CD25 Immunohistochemical Expression in the Diagnosis of T-cell Lymphomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2014;22(2):99-104.
 25. Bepler G, Williams C, Schell MJ, Chen W, Zheng Z, Simon G, et al. Randomized international phase III trial of ERCC1 and RRM1 expression-based chemotherapy versus gemcitabine/carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2013;31(19):2404-12.
 26. Timm A, Kolesar JM. Crizotinib for the treatment of non-small-cell lung cancer. *Am J Health Syst Pharm.* 2013;70(11):943-7.
 27. Jang S, Atkins MB. Which drug, and when, for patients with BRAF-mutant melanoma? *Lancet Oncol.* 2013;14(2):e60-9.
 28. Lurje G, Manegold PC, Ning Y, Pohl A, Zhang W, Lenz HJ. Thymidylate synthase gene variations: predictive and prognostic markers. *Mol Cancer Ther.* 2009;8(5):1000-7.
 29. Amstutz U, Froehlich TK, Largiadèr CR. Dihydropyrimidine dehydrogenase gene as a major predictor of severe 5-fluorouracil toxicity. *Pharmacogenomics.* 2011;12(9):1321-36.
 30. Browning LA, Kruse JA. Hemolysis and methemoglobinemia secondary to rasburicase administration. *Ann Pharmacother.* 2005;39(11):1932-5.
 31. Lenz HJ. Pharmacogenomics and colorectal cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2006;587:211-31. Review.
 32. Wei J, Zou Z, Qian X, Ding Y, Xie L, Sanchez JJ, et al. ERCC1 mRNA levels and survival of advanced gastric cancer patients treated with a modified FOLFOX regimen. *Br J Cancer.* 2008;98(8):1398-402.
 33. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics: an opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. *J Intern Med.* 2001;250(3):186-200. Review.
 34. Pirmohamed M, Park BK. Genetic susceptibility to adverse drug reactions. *Trends Pharmacol Sci.* 2001;22(6):298-305.
 35. Rushmore TH, Kong AN. Pharmacogenomics, regulation and signaling pathways of phase I and II drug metabolizing enzymes. *Curr Drug Metab.* 2002;3:481-90.
 36. Nelson DR, Kamataki T, Waxman DJ, Guengerich FP, Estabrook RW, Feyereisen R, et al. The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. *DNA Cell Biol.* 1993;12(1):1-51.
 37. Swen JJ, Nijenhuis M, de Boer A, Grandia L, Maitland-van der Zee AH, Mulder H, et al. Pharmacogenetics: from bench to byte-an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;89(5):662-73.
 38. Zhou SF. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I. *Clin Pharmacokinet.* 2009;48(11):689-723.
 39. Zhou SF. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: part II. *Clin Pharmacokinet.* 2009;48(12):761-804.
 40. Desta Z, Zhao X, Shin JG, Flockhart DA. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41(12):913-58.
 41. Ozawa S, Soyama A, Saeki M, Fukushima-Uesaka H, Itoda M, Koyano S, et al. Ethnic differences in genetic polymorphisms of CYP2D6, CYP2C19, CYP3A5 and MDR1/ABCB1. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2004;19(2):83-95.
 42. Rosemary J, Adithan C. The pharmacogenetics of CYP2C9 and CYP2C19: ethnic variation and clinical significance. *Curr Clin Pharmacol.* 2007;2(1):93-109.
 43. de Leon J, Armstrong SC, Cozza KL. Clinical guidelines for psychiatrists for the use of pharmacogenetic testing for CYP450 2D6 and CYP450 2C19. *Psychosomatics.* 2006;47(1):75-85.
 44. Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M, Wong ML, Licinio J, Roots I, et al. Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol Psychiatry.* 2004;9(5):442-73.
 45. Kelly LE, Madadi P. Is there a role for therapeutic drug monitoring with codeine? *Ther Drug Monit.* 2012;34(3):249-56.
 46. Leppert W. CYP2D6 in the metabolism of opioids for mild to moderate pain. *Pharmacology.* 2011;87(5-6):274-85.
 47. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature.* 2009;461(7262):399-401.
 48. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet.* 2009;41(10):1105-9.
 49. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, Berg T, Weltman M, Abate ML, et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet.* 2009;41(10):1100-4.
 50. Cavalcante LN, Abe-Sandes K, Angelo AL, Machado TM, Lemaire DC, Mendes CM, et al. IL28B polymorphisms are markers of therapy response and are influenced by genetic ancestry in chronic hepatitis C patients from an admixed population. *Liver Int.* 2012;32(3):476-86.
 51. Soriano V, Poveda E, Vispo E, Labarga P, Rallón N, Barreiro P. Pharmacogenetics of hepatitis C. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(3):523-9.
 52. Rau M, Baur K, Geier A. Host genetic variants in the pathogenesis of hepatitis C. *Viruses.* 2012;4(12):3281-302.
 53. Tsubota A, Shimada N, Abe H, Yoshizawa K, Agata R, Yumoto Y, et al. Several factors including ITPA polymorphism influence ribavirin-induced anemia in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol.* 2012;18(41):5879-88.
 54. Kubica A, Kozinski M, Grzesk G, Fabiszak T, Navarese EP, Goch A. Genetic determinants of platelet response to clopidogrel. *J Thromb Thrombolysis.* 2011;32(4):459-66.
 55. Scott SA1, Sangkuhl K, Gardner EE, Stein CM, Hulot JS, Johnson JA, Roden

- DM, Klein TE, Shuldiner AR; Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450-2C19 (CYP2C19) genotype and clopidogrel therapy. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;90(2):328-32.
56. Belozerceva LA, Voronina EN, Kokh NV, Tsvetovskay GA, Momot AP, Lifshits GI, et al. Personalized approach of medication by indirect anticoagulants tailored to the patient-Russian context: what are the prospects? *EPMA J.* 2012;3(1):10.
57. Perini JA, Struchiner CJ, Silva-Assunção E, Santana IS, Rangel F, Ojopi EB, et al. Pharmacogenetics of warfarin: development of a dosing algorithm for Brazilian patients. *Clin Pharmacol Ther.* 2008;84(6):722-8.
58. International Warfarin Pharmacogenetics Consortium, Klein TE, Altman RB, Eriksson N, Gage BF, Kimmel SE, Lee MT, Limdi NA, Page D, Roden DM, Wagner MJ, Caldwell MD, Johnson JA. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *N Engl J Med.* 2009;360(8):753-64. Erratum in: *N Engl J Med.* 2009;361(16):1613.