

Polimorfismos genéticos da família citocromo P450 (CYP) associado à resistência ao mesilato de imatinibe, e a opção terapêutica pela segunda e terceira geração para pacientes com leucemia mielóide crônica.*Laiz Silva Ribeiro¹**Mônica de Oliveira Santos²**Angela Adamski da Silva Reis³**Rodrigo da Silva Santos⁴*

RESUMO: A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa do tecido hematopoético, ocasionada pela translocação dos cromossomos 9 e 22, essa translocação gera um novo cromossomo denominado Philadelphia (Ph) e um gene híbrido *bcr-abl*. O resultado desse processo é a produção da proteína onco gênica com função enzimática, tirosino quinase BCR-ABL, a qual tem uma atividade aumentada ocasionando a desordenada proliferação das células tumorais de origem mielóide na medula óssea. A partir da década de 90 o principal tratamento utilizado para LMC foi administração de drogas inibidoras de tirosino quinase como Mesilato de Imatinibe (MI) (considerados de primeira geração), no entanto devido ao surgimento de resistência à essa droga, causado também pelo polimorfismo das Citocromos P450 (Cyps), nos dias atuais muito se tem optado pelos fármacos de segunda geração como o Nilotinibe e Dasatinibe, e ainda pelo Bosutinibe considerado de terceira geração. O objetivo desse trabalho foi identificar as principais Cyps envolvidas no metabolismo destes fármacos e associar o polimorfismo destas à resistência dos inibidores de tirosino quinase em casos de LMC Ph+. O presente estudo foi feito através de pesquisas de revisões da literatura científica publicadas entre os anos de 2000 a 2015 nos bancos de dados da NCBI, MEDLINE e SCIELO. O trabalho realizado mostrou que polimorfismos relacionados a CYPs, principalmente às CYP3A4 e CYP3A5, compromete a eficácia do tratamento com MI em pacientes com LMC. Isso porque esses polimorfismos tornam as funções de metabolização das CYPs menos atuantes, assim a concentração plasmática de MI torna-se inferior ao esperado, e menos células alvos serão inibidas.

Palavras-chaves: Polimorfismo CYP 450, Resistência ao Imatinibe, Tratamento LMC.

ABSTRACT: Chronic myeloid leukemia (CML) is a myeloproliferative disorder of the hematopoietic tissue, caused by translocation of chromosomes 9 and 22 that translocation creates a new chromosome called the Philadelphia (Ph) and *bcr-abl* hybrid gene. The result of this process is the production of oncogenic protein with enzymatic function, BCR-ABL tyrosine kinase, which has an increased activity causing a disorderly proliferation of tumor cells of myeloid origin in the bone marrow. From the 90's the main treatment for CML was administration inhibitor drugs tyrosine kinase as imatinib mesylate (IM) (considered first generation), however due to the emergence of resistance to this drug, caused also by polymorphism cytochrome P450 (CYP), nowadays much has opted for the second-generation drugs like nilotinib and dasatinib, and also by bosutinib considered third generation. The aim of this study was to identify the main CYPs involved in the metabolism of

¹Biomédica pelo Instituto de Ciências da Saúde da Faculdade Alfredo Nasser - (ICS- UNIFAN).

² Docente do Instituto de Ciências da Saúde da Faculdade Alfredo Nasser - (ICS- UNIFAN).

³ Docente do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás (ICB – UFG).

⁴ Docente Orientador, Instituto de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina Alfredo Nasser - (ICS – FAMED - UNIFAN).

these drugs and associate the polymorphism of these resistance of tyrosine kinase inhibitors in cases of Ph+ CML. This study was done through research reviews of the scientific literature published between the years 2000-2015 in the NCBI databases, MEDLINE and SCIELO. The work showed that polymorphisms related to CYPs, especially the CYP3A4 and CYP3A5, compromises the effectiveness of treatment with MI in patients with CML. This is because these polymorphisms make the metabolizing functions of CYPs less active, thus the plasma concentration of MI becomes lower than expected, and fewer targets cells will be inhibited.

Key words: Polymorphism CYP450, resistance to imatinib, CML treatment.

1. INTRODUÇÃO

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma neoplasia mieloprolativa de origem clonal, resultante da transformação associada à condição genética específica denominada cromossomo Philadelphia (Ph), o qual decorre da translocação do cromossomo 9 e 22 (t(9,22)) (ALVES, 2009). Como produto desse fenômeno tem-se um gene híbrido *bcr-abl*, o qual codifica a proteína quimérica BCR-ABL que tem atividade de tirosina quinase acentuada e é responsável pela alta proliferação, indiferenciação e imaturação de células mieloblásticas (BARBOSA, 2014).

Segundo Barbosa (2014) a LMC é caracterizada pela proliferação desordenada de células mielóides granulocíticas na medula óssea. Tem incidência 1,6 casos por cada 100 mil habitantes/ano sendo mais frequente em indivíduos de meia idade, em brancos que outras raças e está mais relacionada a indivíduos do sexo masculino, o que não impede de atingir outros indivíduos. Além disso, a LMC é apresentada com quadro de hiperplasia mielóide, leucocitose, eosinofilia, basofilia e esplenomegalia. O quadro hematológico varia de acordo com as fases da doença, onde na fase crônica (FC) ainda é visto uma alta diferenciação celular tendo porcentagem de blastos e promielócitos inferiores a 10% medula óssea ou na corrente sanguínea, podendo até passar despercebida. Na fase acelerada (FA) surgem células pouco menos maduras, sendo mais que 10% e menos que 20% de blastos e promielócitos na medula óssea ou na corrente sanguínea. Na fase de crise blástica (CB), também considerada de fase terminal, cerca de 30% da celularidade na medula ou corrente sanguínea são blastos.

Alguns fatores de risco são citados para essa doença, dentre eles estão: altas doses de radiação ionizante e interação com agentes químicos e biológicos, no entanto a única causa real associada é a alteração genética dos cromossomos 9 e 22 (BERGANTINI, 2005).

Os prognósticos para LMC segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2015) incluem como bom prognóstico o estágio da doença, onde quanto mais cedo for diagnosticada e tratada mais certa é a cura do paciente, no entanto consideram mau prognóstico àqueles indivíduos acima de 60

anos, leucêmicos com esplenomegalia avançada, com plaquetometria $\geq 70.000/\text{mm}^3$ e com blastos e basófilos $\geq 30\%$ na medula óssea ou no sangue periférico.

Como tratamento para LMC muito utilizou-se de fármacos com bulssufano (Myleran®) ou hidroxycarbamida (Hydrea®), só que por causarem muita remissão foram substituídos por inibidores seletivos de tirosino quinase, os quais têm a capacidade de inibir a proteína responsável pela patogênese da doença e causar remissões clínicas, citogenéticas e moleculares até em casos mais avançados (FAILACE, 2010).

O Mesilato de Imatinibe (MI) é o primeiro e principal inibidor seletivo de tirosino quinase indicado para LMC. Após o início de tratamento com MI a taxa de sobrevivência e a resposta clínica aumentaram consideravelmente para os pacientes diagnosticados com LMC. O MI é metabolizado no fígado através das enzimas do sistema Citocromo P450 (CYPs), mais precisamente pelas subclasses destas CYP3A4 e CYP3A5 com importante papel de metabolização, e também em menor escala pelas CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9 e CYP2C19 (SEONG, 2012).

O MI (ST1571, GLIVEC®, GLEEVEC®) é um potente inibidor de tirosino-quinase (TK) pelo fato de que quando administrado em pacientes com LMC Ph+, este fármaco se liga ao sítio ATP impedindo que esse sítio interaja com o sítio de fosforilação SH1e assim produza novas proteínas BCR-ABL, por isso também é considerado um inibidor de transdução de sinal (O'BRIEN, 2003).

No decorrer do tratamento alguns pacientes falham ao tratamento com MI, uns se tornam intolerantes inicialmente (causas primárias), outros perdem resposta e criam resistências mais tardiamente (causas secundárias). Dentre as possibilidades de resistência ao MI estão: mutações pontuais nos genes de codificação BCR-ABL, de transportes, ou a possibilidade abordada no presente trabalho, polimorfismo nas enzimas CYP3A4 e CYP3A5, os quais influenciam no metabolismo do fármaco e na resposta ao tratamento. Quando isso acontece a medicina tem a opção de indicar os inibidores de TK de segunda geração como o dasatinibe e nilotinibe, ou de terceira geração como o bosutinibe (LOPES, 2009; ALVES, 2011).

2. METODOS

Tratou-se de um estudo do tipo bibliográfico, descritivo-exploratório e retrospectivo, com análise integrativa, sistematizada e qualitativa. Após a definição do tema, a pesquisa de revisão da literatura científica baseou-se nos bancos de dados virtuais: *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) e MEDLINE (*National Library of Medicine*). Foram utilizados os descritores: Polimorfismo CYP 450, Resistência ao Imatinibe,

Tratamento LMC. O passo seguinte foi uma leitura exploratória das publicações apresentadas nas referências selecionadas do período de janeiro de 2000 a março de 2015.

Após leitura interpretativa e seletiva, os artigos que tinham apontamento para o problema da pesquisa foram selecionados ressaltando as ideias principais, e os dados mais importantes para a composição do estudo.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Leucemia mielóide crônica

O desenvolvimento de um câncer se dá devido a um processo de múltiplos passos resultantes de mutações e seleção de células com capacidade de proliferação, sobrevivência, invasão e metastização. A tumorigênese é o primeiro passo nesse processo, ela é decorrente de alterações genéticas existente em uma célula de proliferação, onde a mesma terá um número aumentado de clones mutados formando assim o tumor, que por sua vez permanece progredindo e adquirindo mutações (PEREIRA, 2008).

As leucemias são neoplasias hematológicas que resultam da transformação total ou parcial de células blásticas. Podem ser classificadas de acordo com sua perda de função e de sua linhagem atingida (QUIXABEIRA, 2008).

O tecido sanguíneo, ou tecido hematopoético é formado a partir de uma célula estaminal hematopoética (CEH), a qual por um processo de hierarquia e influência de fatores de crescimento e de diferenciação se originam todos os outros constituintes celulares dos sangues. Durante a formação fetal (0 a 4ª semana) esse desenvolvimento se dá no saco vitelino, posteriormente o tecido é produzido no fígado e no baço (4ª a 31ª semana) e depois passa a ser produzido na medula óssea (ALVES, 2011).

A formação do tecido hematopoético tem início a partir da divisão de uma célula estaminal hematopoética (CEH), o qual sempre origina duas células: uma nova CEH por processo de auto-renovação e uma célula progenitora multipotente (CPM). É através da CPM que todos os precursores das linhagens sanguíneas são formados: uma célula linfóide progenitora (CLP) formará a linhagem linfóide, outra célula mielóide progenitora (CMP) formará a linhagem mielóide. A partir daí, através de estímulos presentes no microambiente medular, estas células sofrerão maturação e diferenciação, originando assim os diferentes elementos do tecido sanguíneo. As CLPs formarão os linfócitos B, linfócitos T e as células *natural killer* (NK), já as CMPs formarão os granulócitos, os macrófagos, as plaquetas e os eritócitos (ALVES, 2011) (Figura 1).

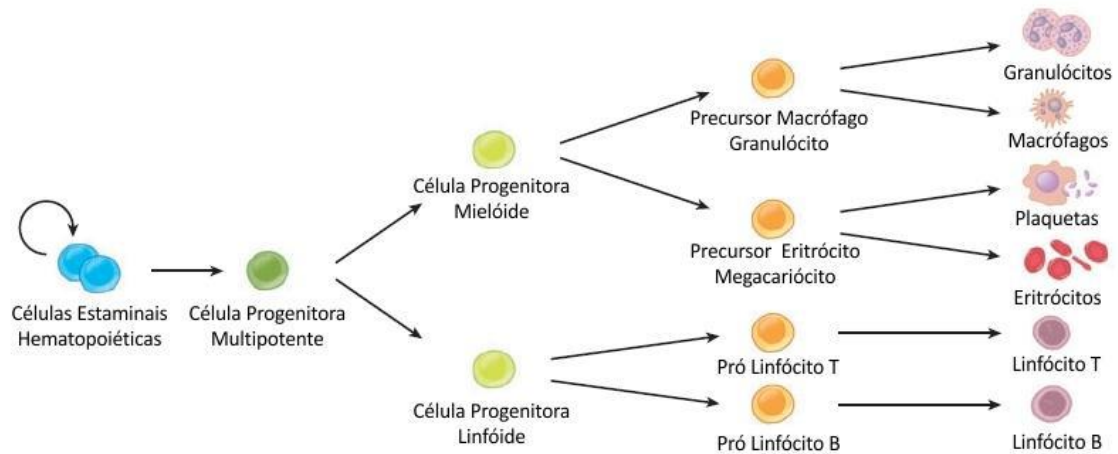


Figura 1: Processo de hematopoese (ALVES, 2011).

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) foi descrita como um tipo de leucemia independente há mais de 150 anos relacionada a pacientes que morreram com quadros de leucocitose acentuada e hepato-esplenomegalia (BERGANTINI, 2005). Trata-se de uma doença mieloproliferativa crônica clonal, caracterizada por leucocitose com desvio à esquerda, esplenomegalia e presença do cromossomo Philadelphia (Ph) (BARTOLHEIRO, 2008). O cromossomo Ph não é diagnóstico limitado somente à LMC, em Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA), 5% dos casos infantis e 25% dos casos adultos também tem diagnóstico de cariótipo marcador para Ph+ (BARBOSA, 2000). Com incidência de 1,6 casos por 100 mil habitantes/ano a LMC representa 14% das leucemias, pode acometer todas as idades, mas tem predominância entre as idades medianas e ainda atinge mais homens que mulheres (BARBOSA, 2014).

Segundo Lopes et al (2009) a patogênese da LMC se dá pela presença do cromossomo Ph. Isso porque este cromossomo Ph proveniente da translocação recíproca dos cromossomos 9 e 22 t(9:22), resulta na fusão das regiões dos genes *bcr* do cromossomo 22 e *abl* do cromossomo 9, esse novo cromossomo, agora chamado de PH, terá então um gene híbrido determinado *bcr-abl* no cromossomo 22q. O neo gene produzirá uma proteína quimérica denominada BCR-ABL a qual terá uma atividade tirosino quinase elevada, responsável pelo processo oncogênico da LMC (figura 2).

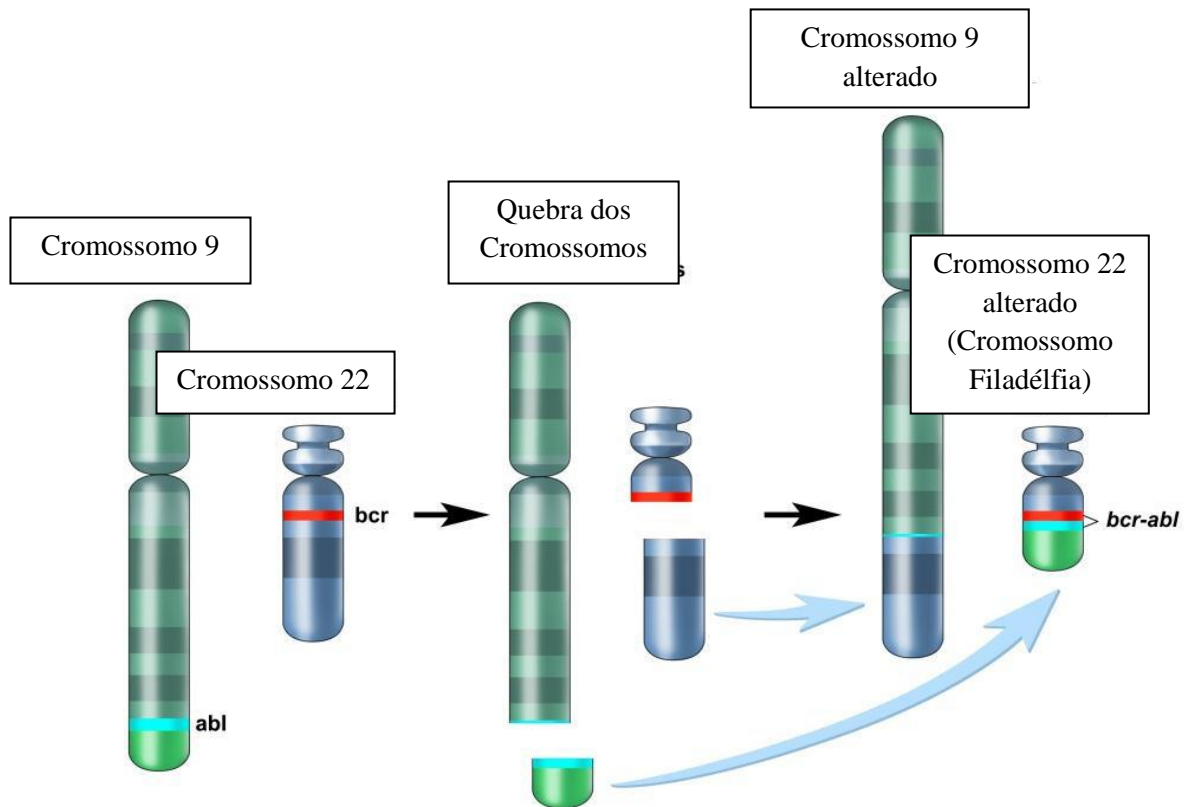


Figura 2: Formação cromossomo Ph. (Adaptado de ALVES, 2011).

Inúmeros substratos ativados pela proteína oncogênica BCR-ABL já foram descritos, esses substratos têm o potencial de diminuir a morte celular, aumentar a proliferação e a perda de adesão que como consequência há o favorecimento de liberação de células imaturas para a corrente sanguínea, e o aumento da instabilidade genética, fatores estes que contribuem para a progressão da doença. No entanto, dentre todos, os mais ativados por essa proteína são as vias RAS/MAPK (*Mitogen activated protein kinase*) e da fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K). Essas vias de sinalização, em processo de hematopoese, são as mais ativadas, assim com potencial da BCR-ABL aumentado, logo estas vias também terão atividade aumentada (ALVES, 2011) (figura 3).

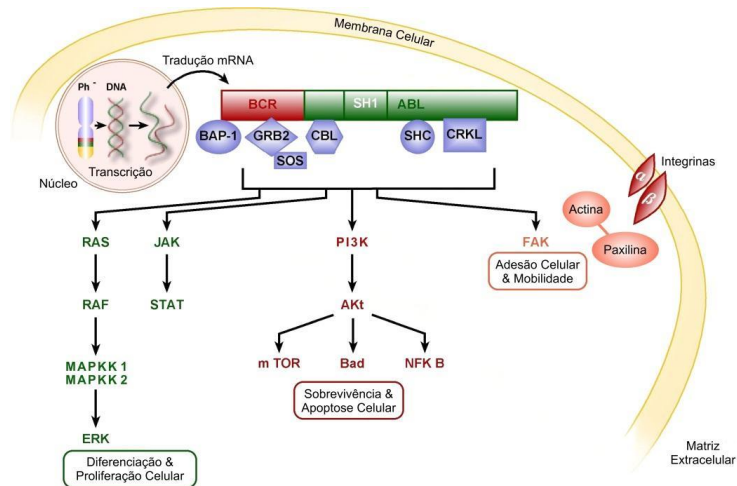


Figura 3: Via de sinalização da oncoproteína BCR-ABL (ALVES, 2011).

Proteínas com atividade de tirosino quinase são parte de uma família de enzimas responsáveis de se ligarem à adenosina trifosfatos (ATP), uma vez ligadas, essas regiões são fosforiladas e podem servir de locais de ligação para outros substratos que por sua vez podem fosforilar novamente e servir de sinal para cascata de tradução (MANLEY, 2002). Suas atividades têm papel fundamental no crescimento celular, metabolismo, diferenciação, adesão e apoptose, e a falta de função destas proteínas está muitas vezes ligada aos processos oncogênicos presentes em humanos (BUCHDUNGER, 2002).

Essa atividade elevada induz a medula óssea a proliferar clones malignos constantemente, além de alterar a adesão dessas células às células estromais e à matriz extracelular, manter a manutenção do sinal mitótico constante e estimular a resistência celular a apoptose. O resultado desse processo é alta proliferação, indiferenciação e resistência a apoptose (LOPES, 2009). Assim os granulócitos chegam à circulação imaturos e com capacidade de defesa reduzida, tornando o doente mais suscetível a infecções (MANLEY, 2002).

A LMC apresenta-se clínica e laboratorialmente, principalmente em três fases:

- **Fase Crônica (FC):** A fase inicial da doença pode ser assintomática, tendo um hemograma semelhante aqueles em gravidez ou tratamento com corticoterapias, onde observa-se somente uma neutrofilia com desvio a esquerda, alguns mielócitos e às vezes basofilia, necessitando de diagnóstico diferencial como exames citogenéticos para o cromossomo Ph ou biologia molecular para a detecção de fusão BCR-ABL (FAILACE, 2010). Quando sintomática o indivíduo pode apresentar sintomas como fadiga, perda de peso, sudorese, febrícula, palidez, esplenomegalia (presente em 80 % dos casos), hepatomegalia discreta ou moderada e discretas manifestações hemorrágicas, essas manifestações variarão de acordo com o volume da doença. No sangue periférico encontra-se achados como leucocitose na maioria das vezes acima de 25.000/mm³ e

raramente ultrapassando $40.000/\text{mm}^3$. Na contagem diferencial encontra-se predominantemente mielócitos e as formas maduras, podendo estar presente basofilia e eosinofilia, enquanto que promielócitos e mieloblastos são inferiores a 10%. Anemias normocrômicas e normocíticas discretas são habituais. A série plaquetária é normal ou aumentada, cerca de 30% têm trombocitose e menos de 10% trombocitopenia. Na medula óssea mostra hiperplasia intensa com sinais de displasia, essa avaliação é indispensável a fim de avaliar a presença de fibrose. Nos neutrófilos as concentrações de fosfatase alcalina estão reduzidas, enquanto que as de ácido úrico e desidrogenase lática (DHL) estão aumentadas (LOPES, 2009). Esse período pode ter duração de 3 a 5 anos, podendo evoluir para fase acelerada e blástica, ou diretamente para blástica (BARTOLHEIRO, 2008).

- **Fase Acelerada (FA):** Utilizam-se os critérios de caracterização desta fase aqueles propostos pelo *Internatinal Bone Marrow Trasnplant Registry (IBMTR)*, sendo eles: leucocitose superior a $100.000/\text{mm}^3$, com presença de mieloblastos e promielócitos superior a 10% e inferior a 20% no sangue periférico ou na medula óssea, basofilia superior a 20% no sangue periférico. Trombocitopenia com contagem inferior a $100.000/\text{mm}^3$. Baço palpável mais de 10 cm da borda costal esquerda, não responsivo a hidroxauréia. Análise citogenética com presença nas células clonais do cromossomo Ph (LOPES, 2009). Em análise na medula óssea é possível visualizar fibrose acentuada com aumento na presença de colágeno ou da reticulina (LORENZI, 2006).

- **Fase Blástica ou Crise Blástica (CB):** Considera-se que esta fase é a fase terminal da doença e tem curto período, com uma expectativa aproximada de 3 a 6 meses de vida após o início da CB. É caracterizada por um número de blasto superior a 30% no sangue ou na medula óssea, sendo essas células mieloblastos (50%), linfoblastos (25%), no restante, outras células indiferenciadas. Clinicamente apresenta-se com presença de febre, sudorese noturna, anorexia, perda de peso e dores ósseas. A esplenomegalia em seu grau aumentado e a infiltração extramedular pode estar presente nos linfonodos, pele, ossos e sistema nervoso central (LOPES, 2009). A série vermelha ganha aspecto de anemia progressiva e trombocitopenia acentuada (FAILACE, 2010).

Para fim terapêutico, por muito tempo utilizou-se como quimioterápicos para a LMC fármacos com bulssufano (Myleran®) ou hidroxicarbamida (Hydrea®), só que estes por causar muita remissão foram substituídos principalmente por inibidores seletivos de tirosino quinase de primeira, segunda ou terceira geração, os quais têm a capacidade de inibir a proteína responsável pela patogênese da doença e ainda causar remissões clínicas e citogenéticas até em casos mais avançados (FAILACE, 2010).

3.2 Inibidor de tirosino quinase de primeira geração

- Mesilato de Imatinibe:

A partir de 1998 começou a ser introduzido para o tratamento de LMC, o fármaco que seria o marco divisório para tratamento de LMC, era ele o inibidor de tirosino quinase Mesilato de Imatinibe (MI). Isso se deu devido o MI ser eficaz na redução de células leucêmicas principalmente durante a fase crônica da doença e ainda prolongar a vida dos doentes em relação a tratamentos convencionais. Em 2002 o MI foi aprovado como primeira linha de tratamento para LMC para àqueles com diagnóstico inicial da doença, e foi visto que nestes casos, os doentes poderiam chegar a uma completa remissão da neoplasia, porém se esses doentes abandonassem o tratamento, ela poderia voltar e progredir até a fase terminal (GRANDO, 2008).

Para Manley e seus colaboradores (2002) o MI possui boa solubilidade aquosa (aproximadamente 50 mg em pH 7,4) e com isso consegue inibir a auto-fosforilação da proteína BCR-ABL, bem como a proliferação de células mieloblásticas, e ainda tem excelente perfil farmacocinético, a ponto de em humanos com doses diárias de ≥ 400 mg manter-se em concentrações plasmáticas de 1,6 μM . Em estudos de fase I, 98% dos pacientes em fase crônica apresentam respostas hematológicas e 54% respostas citogenéticas. Apesar da eficácia do medicamento, estudos apontam que àqueles pacientes em crise blástica no decorrer do tratamento desenvolvem resistência ao MI.

O MI é um inibidor de tirosino quinase, pois compete com o sítio de ação da ATP, assim a proteína alvo é inativada. Desta forma todas as vias de sinalização dependentes da proteína oncogênica também ficam inativadas (ALVES, 2011) (Figura 4).

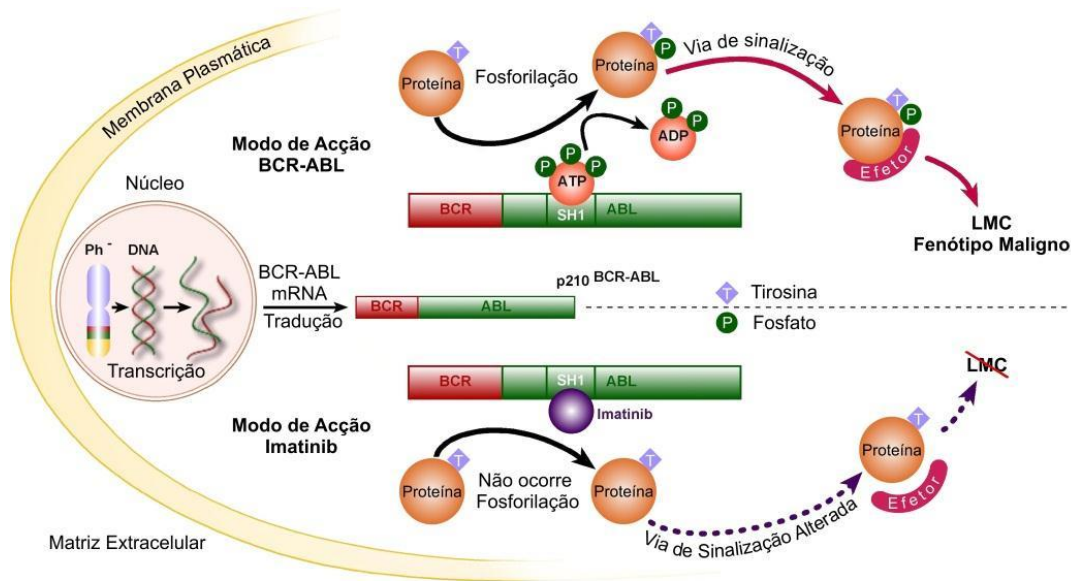


Figura 4: Ligação MI ao sítio ATP (ALVES, 2011).

Além de indicado para tratamento de LMC, o MI, por ser uma droga de múltiplos alvos, também pode ser indicado para tratamentos que envolvam doenças relacionadas aos receptores c-kit (quinase-kit) e PGDRF - *platelet derived growth factor*, tais como tumores de estroma gastrointestinal, mastocitose, doenças mieloproliferativas com rearranjo do gene de plaquetas e de fator de crescimento, isso porque além de inibir a ativação do sítio tirosino quinase essa droga também inibe os receptores mencionados, e ainda neoplasias linfoproliferativas Ph⁺ (DULUCQ, 2010).

É comum o uso das seguintes administrações de MI para LMC: Em adultos em fase crônica administra-se inicialmente doses de 400 mg/dia e para aqueles em fase acelerada de 600 a 800 mg/dia. Já para crianças a dose administrada é de 260 mg/dia em fase crônica e para aquelas em fase acelerada ou crise blástica utiliza-se doses de até 340 mg/dia. De acordo com as doses e estado imunológicos do doente é possível observar sinais adversos como: Náuseas, enjôos, vômitos, dor abdominal, fadiga, mialgia, neutropenia, trombocitopenia, anemia, anorexia e elevação de enzimas hepáticas (TREUIL, 2008).

Após ingerido o MI é absorvido pelo sistema gastrointestinal e metabolizado a nível hepático pelo sistema citocromo 450 (CYP450), principalmente pelas isoformas deste sistema CYP3A4 e CYP3A5, mas também em uma menor escala pelas CYPs 1A2, 2C8, 2C9, 2C19 E 2D6. Possui uma meia vida plasmática aproximada de 18 horas (ALVES, 2011). É através das isoformas do CYPs que o MI passa a ter sua forma ativa, após através de ações metabólicas de oxidação das CYPs, o agora *N*-dimetil-imatinibe pode ser transportado até as células alvo (POLILLO, 2015) (Figura 5). Em relação ao transporte, o Imatinibe é transportado pelas proteínas albumina e α -1-

glicoproteína ácida (α -AGP), porém por este fármaco por possuir características mais básicas, é transportado em maior escala pela α -AGP (ALVES, 2011). A entrada de MI no interior da célula é dependente da proteína de membrana denominada *human organic cation transporter 1* (HOCT1) (PAGNANO, 2008). É eliminado principalmente pela glicoproteína P (P-gp) (DULUCQ, 2010).

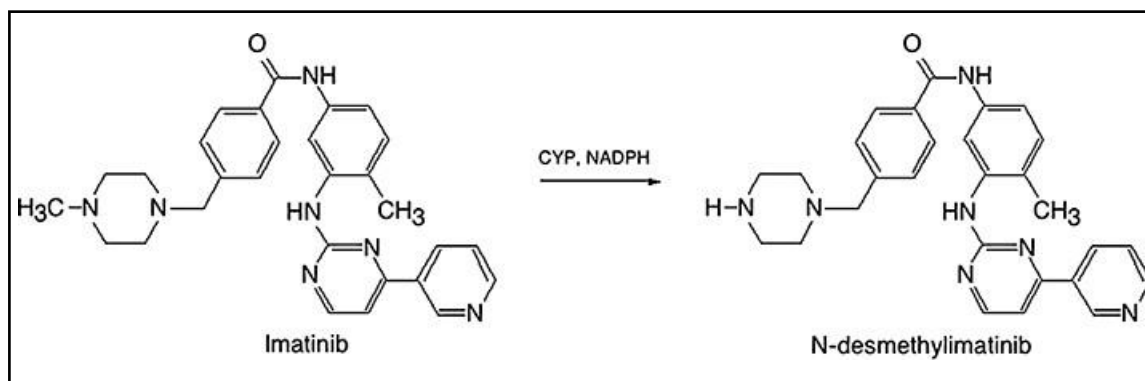


Figura 5: Oxidação do Imatibe para *N*-dimetil-imatinibe (NEBOT, 2010).

A concentração do MI no plasma depende da metabolização pelo sistema CYP450, além disso, drogas como dexametasona, carbamazepina, fenobarbital e fenitoína são indutores do CYP450 e diminuem a concentração da droga no plasma, já a interação com eritoromicina, cetoconazol e azitromicina são inibidores e aumentam o nível plasmático da droga (PAGNANO, 2008).

Muito eficiente, o MI sendo administrado há uma dose de 400mg uma vez ao dia produz uma resposta citogenética completa em mais de 50% dos indivíduos em fase crônica de LMC. Mas isso não impede que esta droga esteja associada à resistência e a menor tolerância junto à célula alvo, o que reduz a eficácia do tratamento em pacientes de LMC. Polillo et al (2015) expressa que cerca de 30% dos pacientes em uso de MI infelizmente interrompem o tratamento devido à má tolerância que é acompanhada de baixa resposta citogenética ou molecular. Por esse fato drogas de segunda e terceira geração como dasatinibe, nilotinibe e bosutinibe foram desenvolvidas para atuarem no tratamento de LMC.

3.3 Sistema citocromo P450

O Sistema citocromo P450 (CYP) constitui uma grande família de isoenzimas responsáveis pela metabolização oxidativa de compostos como ácidos graxos, esteróides, vitaminas lipossolúveis e xenobióticos. Está presente nos tecidos dos rins, testículos, intestino, córtex adrenal e placenta, no entanto, é no fígado que se encontra a parte mais ativa deste sistema. Nas células dos mamíferos situa-se na mitocôndria, e em diversas membranas, mas está mais abundante no retículo endoplasmático liso (ORELLANA, 2004; SANTIAGO, 2002).

Por ser composto por várias isoenzimas, e todas com composição de aminoácidos semelhantes, foi desenvolvido um sistema de nomenclatura para o CYP. O prefixo CYP designa o sistema citocromo P450, já as isoenzimas possuem famílias e subfamílias. Um número arábico depois do prefixo indica a família, por exemplo, CYP3. Uma letra subsequente ao número indica a subfamília, por exemplo, CYP3A, e um último numeral cardinal após a letra especifica a isoenzima, por exemplo CYP3A4 (AUDI, 2000).

O efeito de uma droga é dependente de vários fatores, tais como taxa de absorção, proporção de ligação a proteínas séricas, distribuição para órgãos, transferências através de membranas, biotransformação e excreção. Como já dito, a parte de biotransformação compete ao CYP, onde os xenobióticos são biotransformados em fase I, ou seja, ativado, em maior número pelas famílias de isoenzimas CYP1, CYP2 e CYP3 (AUDI, 2000) (Figura 6).

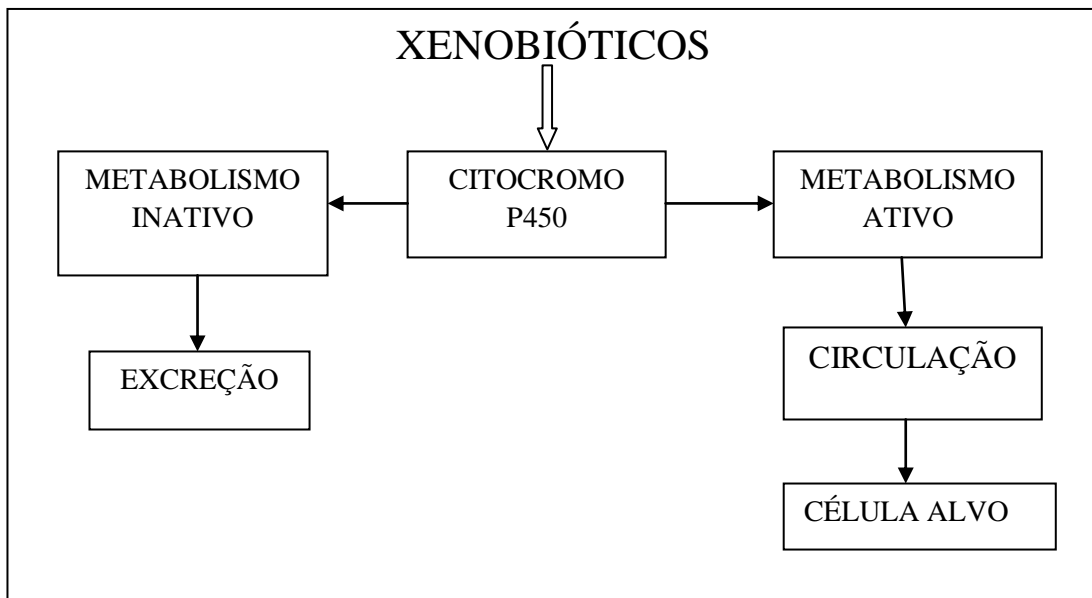


Figura 6: Reação de ativação e inativação de xenobióticos realizada pelas CYPs (Adaptado de ORELLANA, 2004).

Em geral um fármaco pode ser substrato para um ou mais CYPs, no caso do MI depois de ingerido e absorvido é metabolizado no fígado principalmente pelas CYPs 3A4 e 3A5 (RAMOS, 2000).

3.3 Resistência ao mesilato de imatinibe

Para se definir as causas de resistências relacionadas ao Mesilato de Imatinibe, é preciso antes definir a resposta terapêutica. Avalia-se primeiramente a resposta hematológica tendo como achados na corrente sanguínea glóbulos brancos em números normais e blastos inferiores a 5%, posteriormente é avaliado a presença do cromossomo Ph e dos transcritos de BCR-ABL (ALVES, 2011).

Os acometidos pela LMC normalmente respondem ao tratamento de forma ordenada, primeiramente aqueles com esplenomegalia começam a ter diminuição de baço, posteriormente a contagem sanguínea começa a ser normalizada, o Ph⁺ desaparece e por último os transcritos de BCR-ABL tornam-se inexistentes, monitorado por 3 a 6 meses após desaparecimento do cromossomo Ph. Com base nessas afirmações, considera-se de extrema importância o monitoramento da eficácia terapêutica através desses padrões. Geralmente o paciente tem uma resposta citogenética completa nos primeiros três ou seis meses após o início do tratamento, o que seria a ausência do Ph. A PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) é utilizada para após esse período manter o monitoramento dos transcritos de BCR-ABL, a partir daí a análise citogenética é feita uma vez ao ano a fim de avaliar fenômenos como: perda de resposta, alterações clonais em células Ph-negativas ou evolução clonal (CHAUFFAILLE, 2008).

A resistência pode ser considerada primária, também denominada de inata, quando o paciente nunca responde ao tratamento com MI, ou secundária/adquirida, quando a resistência se apresenta depois de um tempo de tratamento, sendo que no início este paciente até produziu evidências de resposta terapêutica (PAGNANO, 2008; ALVES 2011).

A resistência ao MI também é classificada de acordo com sua dependência ou não ao gene de fusão. As resistências dependentes são aquelas relacionadas às mutações pontuais, a sobre-expressão e a amplificação do gene *bcr-abl*, presente em 50-90% dos casos resistentes. Já os mecanismos independentes estão relacionados aos fatores de metabolismo e transporte do fármaco para a célula alvo (ALVES 2011).

A resistência relacionada ao metabolismo está mais associada aos polimorfismos das CYPs 3A4 e 3A5, uma vez que estas são as enzimas mais atuantes no metabolismo do MI. A isoenzima CYP3A4 é o maior membro da subfamília CYP3A, seja pelo número de substrato a que reage, seja pela quantidade de proteína hepática. Para este grupo são descritos mais de 20 polimorfismos, sendo a forma alélica mais frequente a CYP3A4*1B, originalmente denominada CY3A4-V. Para uma parcela da população européia existe relatado a forma alélica CYP3A4*2, todas essas formas alélicas, apesar das controvérsias, estão associadas a menor atividade de metabolização (ALVES

2011).

Para a isoenzima CYP3A5 mais de 13 polimorfismos estão relacionados, porém os alelos CYP3A5*1 e CYP3A5*3 são os mais presentes. CYP3A5*3 é definido como A6986G, apresentação uma mutação por substituição o que gera uma união oculta e uma introdução de um stop códon prematuro. Já o alelo CYP3A5*1 é um alelo selvagem mais instável que o *3 e é rapidamente degradado. Indivíduos homocigotos para este alelo têm redução da atividade da CYP3A5 e assim redução no metabolismo de MI por este grupo (DULUCQ, 2010).

É de extrema importância a classificação da causa de resistência ao Imatinibe a fim de oferecer ao paciente um melhor tratamento, seja com o aumento da dose, seja com opção terapêutica de outro inibidor de tirosino quinase (PAGNANO, 2008; ELGARI, 2015).

3.5 Inibidor de tirosinoquinase de segunda geração

- Dasatinibe

O Dasatinibe(pyridol [2,3 D] pyrimidine dasatinib) é outra droga inibidora de tirosino quinase utilizada em casos de resistência ao MI para tratamento de LMC e de LLA Ph+ (HENKES, 2008). O dasatinibe é considerado um inibidor semelhante ao MI por ser também um inibidor de múltiplos alvos, ele inibe a oncoproteína BCR-ABL, a família SCR das quinases (SCR, LCK, HCK, Fyn, SIM, FGR, BLK, LYN, GBR), receptores tirosino quinase (c-KIT, PDGFR, DDR1 e 2, c-fms, efrina receptores) e quinases da família TEC (TEC e BTK), no entanto difere-se totalmente quando o assunto é os tipos de formas que ele se liga, o dasatinibe é capaz de se ligar às formas ativas e inativas da molécula BCR-ABL. O dasatinibe é ativo contra todas as oncoproteínas resistentes ao MI com exceção da T315I (HOCHHAUS, 2010).

Em 2006 o dasatinibe foi aprovado pelo *US Food and Drug Administration (FDA)* como o primeiro inibidor de tirosino quinase de segunda geração e passou a ser administrado para pacientes em doses variáveis, para aqueles em fase crônica a dose recomendada era de 100 mg/ dia, já para aqueles em fase acelerada ou crise blástica a dose era de 70 mg/dia. Estudos mostram que o dasatinibe tem cerca de 325 vezes mais potencial que o MI contra a BCR-ABL (STEIN, 2014).

Em estudos apresentado por Stein e seus colaboradores (2014), pacientes com resistência ao MI e em uso de doses de 70 mg/dia de dasatinibe, 44% destes conseguiam uma completa resposta citogenética (CCyR) e 55% conseguiam uma maior resposta citogenética (MCyR) aos 24 meses de uso, entre estes, após 24 meses 86% mantiveram resposta de CCyR e 84% mantiveram MCyR com uma progressão livre de sobrevivência (FPS) de 75%. Em outro grupo, onde encontravam-se aqueles intolerantes ao MI, 82% atingiram CCyR E 78% MCyR, e aqui o percentual de FPS foi de 94%. Esses estudos demonstram a capacidade de atuação do dasatinibe

frente à neoplasia da LMC e ainda o potencial de durabilidade de respostas nos pacientes.

Em relação a toxicidade, é visto que o dasatinibe pode causar citopenias (neutropenia 82%, trombocitopenia 76%) e ainda derrames pleurais (18-25%), no entanto todos os efeitos podem ser geridos por interrupção ou diminuição da dose (STEIN, 2014).

- Nilotinibe

Nilotinibe (AMN-7, Tassigna®) é uma aminopirimidina inibidora da TK BCR-ABL de segunda geração, muito semelhante ao MI essa droga também se liga a forma inativa da proteína oncogênica, o que a difere do MI é que o nilotinibe é substancialmente maior e seu potencial é mais potente. Isso porque o nilotinibe interage com os sítios de Ácido glutâmico(Glu286) e de Ácido aspártico(Asp381) formando uma molécula de AMN107 que é um inibidor ATP-competitivo da BCR-ABL, assim previne a ativação mitogênicas e anti-apoptóticas ocasionando a morte do fenótipo BCR-ABL. Nilotinibe também se liga ao PDGFR e ao c-KIT (LOPES, 2009).

O nilotinibe pode ser administrado por via oral em dose de 50 a 1200 mg uma vez ao dia e em dose de 400 ou 600 mg duas vezes ao dia. Com essas concentrações nilotinibe chega a ser superior que o MI por cerca de 0 a 60 vezes mais (SWORDS, 2009).

Estudos recentes sugerem que o uso de um TK de segunda geração como terapia de terceira linha confere um valor limitado na maioria dos pacientes com LMC, é importante acompanhar o prognóstico e individualizar a terapia subsequente em casos de resistência ou intolerância aos TK de segunda geração (JABBOUR et al., 2015).

3.6 Inibidor de tirosino quinase de terceira geração

-Bosutinibe

Bosutinibe (SKI 606) é outro potente inibidor de TK que age semelhante ao dasatinibe, este fármaco age como um duplo inibidor de Scr/ABL da LMC. Seu composto é determinado como 4-anilino-3-quinolino-carbonitrila. Esta droga é um forte agente anti-proliferativo e apoptótico sendo necessárias doses menores que as administradas em tratamento com imatinibe para inibição da BCR-ABL, que difere-se das outras drogas que inibem TK por não atingir os receptores c-KIT e PDGFR (LOPES, 2009). Bosutinibe se liga no sítio intermediário e inativo da proteína (HOCHHAUS, 2013).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A LMC é uma neoplasia que vem a cada ano acometendo mais indivíduos, sua terapêutica pode ser bem ampla, mas desde o final da década de 90 após descoberta do IM, o potente inibidor de tirosina quinase, esse processo de terapia aumentou a sobrevida e auxiliou muitos acometidos por essa doença. Isso porque este tipo de tratamento é mais específico, uma vez que se liga diretamente ao sítio de fosforilação da oncoproteína responsável pela atuação e manutenção desse câncer.

No entanto com o passar dos anos foi observado que parte dos doentes submetidos ao tratamento com IM não respondia ao tratamento desde o início ou então respondiam inicialmente e após um tempo de tratamento deixavam de ter sucesso com a opção terapêutica. Após inúmeros estudos uma das causas apontadas por estas resistências, foram os polimorfismos das isoenzimas de metabolização, das CYPs. Quando estas sofrem alterações genéticas como os polimorfismos, elas perdem sua eficácia na capacidade de metabolização dos xenobióticos. No caso das CYPs 3A4 e 3A5, quando com polimorfismos, seus alelos CYP3A4*1B, CYP3A5*1 e CYP3A5* ainda metabolizam o fármaco, porém em um número bem inferior a uma CYP sem polimorfismo, o resultado disso é uma menor concentração plasmática de *N*-dimetil-imatinibe, o que é considerado insuficiente para atingir as células alvo esperadas e inibir a BCR-ABL.

REFERÊNCIAS

ALVES, Raquel Fernandes da Silva. **Avaliação molecular dos mecanismos envolvidos na sensibilidade e resistência ao Imatinibe independente do BCR-ABL em Leucemia Mielóide Crônica**. 2011, 111p. Dissertação (Mestrado) Universidade de Coimbra, Coimbra, 2011.

ALVES, Rita de Cássia S. Análises de pacientes com leucemia mielóide crônica com resistência primária ou secundária ao Mesilato de Imatinibe. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n 3, p 166-177, 2009.

AUDI, Elizabeth Aparecida; PUSSI, Flávia Daniela. Isoenzimas do CYP450 e biotransformação de drogas. **Acta Scientiarum**, v 22, p 599-604, 2000.

BARBOSA, Felipe Luiz; PADILHA, Rubens Nazareno; LOPES, Izabel Cristina R. Leucemia Mielóide Crônica: Alterações Cromosômicas T9,22 e seu Tratamento com Imatinibe. **NewsLab**, v 124, p 100-104, 2014.

BARBOSA, Luciana P, et al. Análise de Transcritos da translocação t(9;22) em Leucemia Mielóide Crônica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v 22, p 89-98, 2000.

- BARTOLHEIRO, Teresa Cristina; CHIATTONE, Carlos S. Leucemia Mielóide Crônica: História natural e classificação. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v 30, p 3-7, 2008.
- BERGANTINI, Ana Paula F, et al. Leucemia Mielóide Crônica e o Sistema Fas-FasL. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v 27, p 120-125, 2005.
- BUCHDUNGER, Elisabeth; O'REILLY, Terence; WOOD, Jeanette. Pharmacology of Imatinib. **European Journal of Cancer**. v 8, p 28 – 36, 2002.
- CHAUFFAILLE, Maria de Lourdes F. S. Análise citogenética e FISH no monitoramento da LMC em tratamento com inibidores da tirosino quinase. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**,v 30, p 13-19, 2008.
- DULUCQ Stephanie; KRAJONOVIC, Maja. The pharmacogenetics of Imatinib. **Genome Medicine**.v 2, p 1-8, 2010.
- ELGARI, Mahmoud Mohamed; MOHAMED, Haitham Abd Erahman; ELTAHIR, Hanan Babiker. Polimorphism in Cythochrome 45 (cyp3A5) and Sulfertransferase (SULT1A1) Genes in Patients com Leukemia. **American of Journal Research Communication**. v 3, p 11-20, 2015.
- FAILACE, Renato. **Hemograma, manual de interpretação**.5 edição. Artmed editora S.A, 2009.
- HENKES, Martin, et al. Therapeutic options for chronic myeloid leukemia: focus on imatinib (Glivec®, Gleevec). **Therapeutics anda Clinical Risk Management**, v 1, p 163-187, 2008.
- HOCHHAUS, Andreas; KANTARGIAN, Hagop. The developmente of dasatinib as a treatment for chronic myeloid leukemia (CML): from initial studies to application in newly diagnosed patients. **J Cancer Res Clin Oncol**, v 139, p 1971-1984, 2013.
- Instituto Nacional do Câncer. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/>>. Acesso em: 14 de Julho de 2015.
- JABBOUR, E; KANTARJIAN, H; CORTES, J.Use of second- and third-generation tyrosine kinase inhibitors in the treatment of chronic myeloid leukemia: an evolving treatment paradigm.**Clinical linfoma mieloma Leukemia**, v 15, p 323-334, 2015.
- LOPES, Nei R; ABREU, Maria Theresa C L. Inibidores de tirosino quinase na leucemia mielóide crônica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 2009.
- LORENZI, Therezinha Ferreira. **AtlasDe Hematologia: Clínica Médica Ilustrada**. 4ed. Rio de JANEIRO: Guanabara Koogan, 2006, 710p.
- MANLEY, P. W., et al. Imatinib: A selective tyrosine kinase insibitor. **European Journal of Cancer**. v 38, p 19-27, 2002.
- NEBOT, Noelia, et al. Participation of CYP2C8 and CYP3A4 in the N-demetylation of imatinib in human hepatic microsomes. **British Journal of Pharmacology**, v 161, p 1059-1069, 2010.

O'BRIEN, SG, et al. Effects of imatinib (ST1571, GLIVEC) mesylate on the pharmacokinetics of simvastatin, a citocrome P450 3A4 substrate, in patients with chronic myeloid leukaemia. **British Journal of Cancer**, v 89, p 1855-1859, 2003.

ORELLANA, Myriam B; GUAJARDO, Viviana T. Actividad Del citocromo P450 y su alteración em diversas patologias. **Rev Méd Chile**, v 132, p 85-94, 2004.

PAGNANO, Katia, B. B. Leucemia Mielóide Crônica: Causas de falhas do tratamento com mesilato de Imatinibe. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v 30, p 22-26, 2008.

PEREIRA, Juliana, et al. Papel da célula endotelial em neoplasias hematológicas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v 30, p 223-228, 2008.

POLILLO, Marialuisa, et al. Pharmacogenetics of BCR-ABL Inhibitor in Chronic Myeloid Leukemia. **International Journal Molecular of Science**, v 16, p 22811-22829, 2015.

QUIXABEIRA, Valéria Bernadete Leite; SADDI, Vera Aparecida. A importância da imunofenotipagem e da citogenética no diagnóstico das leucemias: uma revisão da literatura. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. v 40, p 199-202, 2008.

RAMOS, Fabiano Santos. **Análises de Polimorfismo CYP3A4*1B em pacientes portadores de LMC tratados com Mesilato de Imatinibe**. 2010, 36p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010

SANTIAGO, C; et al. Polimorfismo de citocromo P450: papel como marcador biológico. **Medicina del Trabajo**, Ed11, p 130-140, 2002.

SANTOS, Jeany Camelo. **Estudos de Polimorfismo no códon 72 do gene TP53 na Leucemia Mielóide Crônica e associação com possível resposta ao tratamento com Imatinibe**. 2013, 101p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

SEONG, S.J; LIM, M; SOHN, S.K, et al. Influence of enzyme and transporter polymorphisms on trough imatinib concentration and clinical response in chronic myeloid leukemia patients. **Annals of Oncology**, v 00, p 1-5, 2012.

STEIN, Brady; SMITH, B. Douglas. Treatment Options for Patients With Chronic Myeloid Leukemia Who Are Resistent to or Unable to Tolerate Imatinib. **National Institutes of Health**, v 32, n 5, p 1-25, 2014.

SWORDS, Ronan, et al. Nilotinib: optimal therapy for patients with chronic myeloid leukemia and resistencie or intolerance to imatinib. **Drug design Development and Therapy**, p 89-101, 2009.

TREUIL, Pascal. Lá Leucémie myéloide chronique et son traitement par l'imatinib. **Actualités Pharmaceutiques**, nº 473, p 25-30, 2008.