



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCS**

GABRIEL DE OLIVEIRA ESPINDOLA

**INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES ABCC1, ABCC2 E ABCC3 EM
PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA UTILIZANDO INIBIDORES
DE TIROSINA QUINASE NO AMAPÁ**

**Macapá/AP
2019**

GABRIEL DE OLIVEIRA ESPINDOLA

**INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES ABCC1, ABCC2 E ABCC3 EM
PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA UTILIZANDO INIBIDORES
DE TIROSINA QUINASE NO AMAPÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, na área de concentração Ensaio Biológicos, como requisito final para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Lima Resque

Macapá/AP
2019

GABRIEL DE OLIVEIRA ESPINDOLA

**INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES ABCC1, ABCC2 E ABCC3 EM
PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA UTILIZANDO INIBIDORES
DE TIROSINA QUINASE NO AMAPÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Ciências da Saúde, na área de
concentração Ensaio Biológicos, como
requisito final para obtenção do título de
Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Lima Resque

DATA DE APROVAÇÃO: 12/09/2019



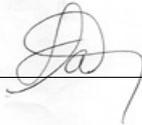
Examinador: Prof. Dr. Emerson Augusto Castilho Martins

Universidade Federal do Amapá



Examinador: Prof. Dr. Madson Ralide Fonseca Gomes

Universidade Federal do Amapá



Examinador: Prof. Dr^a Silvia Maria Mathes Faustino

Universidade Federal do Amapá



Orientador: Prof. Dr. Rafael Lima Resque

Universidade Federal do Amapá

Macapá/AP
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá
Elaborada por Cristina Fernandes – CRB-2/1569

Espindola, Gabriel de Oliveira

Investigação de polimorfismos nos genes ABCC1, ABCC2 e ABCC3 em pacientes com leucemia mielóide crônica utilizando inibidores de tirosina quinase no Amapá / Gabriel de Oliveira Espindola; orientador, Rafael Lima Resque. – Macapá, 2019.
87 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

1. BCR-ABL. 2. Leucemia mielóide crônica. 3. ABCC. 4. Pacientes – Hospital de Clínica Dr. Alberto Lima – Macapá. I. Resque, Rafael Lima, orientador. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

616.994 E77i
CDD. 22 ed.

AGRADECIMENTOS

Aos pacientes do HCAL que aceitaram participar do estudo. Por ensinar que a força para vencer os desafios pode vir de qualquer situação.

À minha família, por terem tido mais esperança e fé no sucesso dessa pesquisa do que eu. Com especial apreço pelos meus pais, Ana Claudia e Marcelo, por terem sacrificado várias horas e litros de gasolina por este trabalho. Espero um dia recompensar vocês pelos sonos interrompidos e o todo o apoio que não consigo me ver sem. E ao meu irmão... que esteve lá, fazendo as coisas de irmão e sendo um sujeito bacana (do jeito dele).

Aos professores excepcionais que tornaram esse trabalho possível. Ao meu orientador Prof. Rafael, pelas oportunidades e as lições valorosas e as promessas de um churrasco de comemoração que espero vir depois desta apresentação. Ao prof. Emerson e a prof. Maira, que abdicaram de seu tempo para nos ajudar sempre que possível. Ao prof. Ney Santos, por ter possibilitado um contato valioso com um mundo científico muito maior. À Dra. Amanda e ao Dr. Paulo, que possibilitaram nosso contato com o HCAL e nos auxiliaram sempre que possível.

À Karla e Antônio do NPO, por nos ouvir e nos auxiliar em todos os momentos que estivemos em Belém (e até mesmo depois).

Aos laços de amizade que construí nesse Mestrado. Aos amigos de laboratório que espero jamais esquecer: Tainá, Eduarda, Maiara, Yasmin, Anderson e Robson, as Figuras Especialmente Diferenciais Onde Raramente Esperamos Notar Tantos Ótimos Sentimentos. Obrigado por toda a ajuda, pelas palavras de conforto, pelos momentos de compreensão quando nos deparávamos com uma situação que parecia impossível de resolver, pelos momentos de descontração que tornavam as contaminações por brometo toleráveis, e pelas viagens (físicas e psicológicas) que possibilitaram momentos tão únicos.

Aos laços de fora do Lac 5: Sara, Rodrigo, Monizi, Fernanda, Rivelton, Gerusa. Vocês foram vínculos novos e antigos que espero manter para sempre. Sinceramente, não consigo imaginar como teria sido esse período sem a presença de vocês. Sou extremamente grato em tê-los conhecido.

À Universidade Federal do Amapá e o Núcleo de Pesquisas em Oncologia de Belém, por oferecerem os meios para que este trabalho tenha sido concluído.

“It’s an ending. That’s enough.”

- The Simpsons

RESUMO

A Leucemia Mieloide Crônica é uma anormalidade mieloproliferativa que acomete as células sanguíneas. Encontrado em mais 95% dos casos de Leucemia Mieloide Crônica, o Cromossomo Filadelfia é o resultado de uma translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22 (t(9,22)), sendo a primeira neoplasia cujo desenvolvimento foi relacionado ao Cromossomo Filadelfia. Os fármacos Inibidores de Tirosina Quinase são as primeiras linhas de tratamento para a Leucemia Mieloide Crônica, porém falhas nas respostas terapêuticas são associadas com a presença de variabilidade genética em vias metabólicas. Polimorfismos de DNA observados em genes transportadores são investigados como fatores de influência para a variabilidade de respostas aos Inibidores de Tirosina Quinase, podendo ser considerados marcadores moleculares de relevância farmacogenética. O objetivo deste estudo foi realizar um levantamento epidemiológico e investigar a distribuição alélica de polimorfismos nos genes de resistência a Múltiplas Drogas: ABCC1, ABCC2 e ABCC3, em amostras biológicas coletadas de pacientes com Leucemia Mieloide Crônica em tratamento com Inibidores de Tirosina Quinase na cidade de Macapá/Amapá. O levantamento epidemiológico foi realizado por meio de pesquisa de prontuários e aplicação de questionários aos pacientes. A investigação molecular foi executada por meio de coleta de sangue periférico e raspado bucal nos pacientes do Hospital de Clínica Dr. Alberto Lima. O DNA das amostras foi extraído pelo Kit Blood/Tissue DNA Mini Kit da Mebep Bioscience (Ludwing Biotec). A genotipagem foi realizada pelo sistema QuantStudio 12K flex da Life Technologies (Califórnia, EUA) em 20 amostras biológicas. Os dados epidemiológicos observados indicaram maior incidência de casos na cidade de Macapá, em grupos do sexo masculino, além de pacientes com idades abaixo dos 45 anos (com mediana de 38,5 anos) e com mediana de idade de diagnóstico de 3,5 anos. As respostas ao tratamento indicaram que 65% dos pacientes alcançaram boa resposta as terapias com o Imatinibe, obtendo uma mediana de tempo de tratamento de 3,5 anos. A genotipagem dos polimorfismos não indicou associações estatísticas significativas para os desfechos clínicos levantados pelo estudo com os genótipos investigados. Apesar da obtenção de informações epidemiológicas inéditas, mais estudos moleculares são necessários em populações miscigenadas como a deste estudo, auxiliando a expansão do conhecimento a respeito dos dados farmacogenéticos da população brasileira.

Palavras-chave: BCR-ABL. Leucemia. ABCC. Macapá.

ABSTRACT

Chronic Myeloid Leukemia is a myeloproliferative abnormality that affects blood cells. Found in over 95% of Chronic Myeloid Leukemia cases, the Philadelphia Chromosome is the result of reciprocal translocation between chromosomes 9 and 22 (t(9,22)), being the first neoplasm whose development was related to Philadelphia Chromosome. Tyrosine kinase are the first lines of treatment for chronic Myeloid Leukemia, but failures in therapeutic responses are associated with the presence of genetic variability in metabolic pathways. DNA polymorphisms observed in transporter genes are investigated as influencing factors for the variability of responses to Tyrosine kinase Inhibitors and can be considered molecular markers of pharmacogenetic relevance. The aim of this study was to conduct an epidemiological survey and to investigate the allelic distribution of polymorphisms in the multidrug resistance genes: ABCC1, ABCC2 and ABCC3, in biological samples collected from Chronic Myeloid Leukemia patients undergoing Tyrosine kinase Inhibitors in the city of Macapá / AP. The epidemiological survey was performed through medical records research and the application of questionnaires to patients. Molecular investigation was performed by collecting peripheral blood and oral scraping in patients from the Dr. Alberto Lima Clinical Hospital. The sample DNA was extracted by the Mebep Bioscience Blood Kit / Tissue DNA Mini Kit (Ludwing Biotech). Genotyping was performed by the Life Technologies (California, USA) QuantStudio 12K flex system on 20 biological samples. The observed epidemiological data indicated a higher incidence of cases in the city of Macapá, in male groups, in addition to patients under the age of 45 (median of 38.5 years) and with a median age of diagnosis of 3.5 years. Responses to treatment indicated that 65% of patients achieved good response to Imatinib therapies, achieving a median treatment time of 3.5 years. SNP genotyping did not indicate significant statistical associations for the clinical outcomes raised by the study with the investigated genotypes. Despite obtaining unprecedented epidemiological information, more molecular studies are needed in mixed populations such as this study, helping to expand knowledge about the pharmacogenetic data of the Brazilian population.

Key words: BCR-ABL. Leukemia. ABCC. Macapá.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Classificação dos diferentes tipos de células leucêmicas quanto a seu caráter crônica/agudo e origem clonal.....	18
Figura 2 – Progressão das fases crônica e acelerada em um sistema hematológico leucêmico.	19
Figura 3 – Esquema de translocação de porções dos cromossomos 9 e 22 resultantes no - Cromossomo Ph.....	22
Figura 4 – Esquema da origem dos transcritos mutantes de BCR-ABL após a translocação recíproca entre os genes BCR e ABL.....	23
Figura 5 – Esquema de processo do protocolo de monitoramento de 6 meses da resposta do paciente ao ITQ.....	27
Figura 6 – Processo de bloqueio de ATP e inibição da sinalização celular para a proliferação de células leucêmicas.....	28
Figura 7 – Fórmula estrutural do Mesilato de Imatinibe.....	30
Figura 8 – Fórmula estrutural do Dasatinibe.....	31
Figura 9 – Fórmula estrutural do Nilotinibe.....	33
Figura 10 – Modelo de transporte de substrato para o meio intra/extracelular por meio de proteínas carreadoras.....	35
Gráfico 1 – Disposição epidemiológica dos pacientes Homens e Mulheres em tratamento com ITQs no HCAL, divididos por municípios no Estado de Amapá.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tabulação das informações dos SNPs utilizados para os alelos dos genes ABCC1, ABCC2 e ABCC3.....	47
Tabela 2 – Tabulação dos dados de frequência e mediana das características epidemiológicas de Sexo e Idade obtida dos prontuários e questionários dos pacientes do HCAL.....	48
Tabela 3 – Frequência e mediana do período de tratamento dos pacientes em tratamento com ITQs.....	51
Tabela 4 – Frequência do status de resposta clínica dos pacientes tratados com ITQs.....	52
Tabela 5 – Frequência de desconfortos/Efeitos adversos informados pelos pacientes do HCAL durante o tratamento com o Imatinibe e o Dasatinibe.....	54
Tabela 6 – Resultados da genotipagem das amostras para a variante rs28364006.....	55
Tabela 7 – Resultados da genotipagem das amostras para a variante rs717620.....	57
Tabela 8 – Resultados da genotipagem das amostras para a variante rs9895420.....	59

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

ABC - ATP-binding Cassete
ABCA - ATP-binding cassette, sub-family A
ABCB - ATP-binding cassette, sub-family B
ABCC - ATP-binding cassette, sub-family C
ABCC1 - ATP Binding Cassette Subfamily C Member 1
ABCC2 - ATP Binding Cassette Subfamily C Member 2
ABCC3 - ATP Binding Cassette Subfamily C Member 3
ABCD - ATP-binding cassette, sub-family D
ABCE - ATP-binding cassette, sub-family E
ABCF - ATP-binding cassette, sub-family F
ABCG - ATP-binding cassette, sub-family G
ABL - Abelson Murine Leukemia
ADP - Adenosina Di Fosfato
ATP - Adenosina Tri Fosfato
BCR - Breakpoint Cluster Region
BCRP - Breast Cancer Resistance Protein
CYP3A4 - Citocromo P450 3A4
DNA - Desoxyribonucleic Acid
FAK - proteínas de adesão focal
FISH - Fluorescent in Situ Hybridization
HCAL - Hospital de Clínicas Dr. Alberto Lima
LLA - Leucemia Linfocítica Aguda
LLC - Leucemia Linfocítica Crônica
LMA - Leucemia Mielóide Aguda
LMC - Leucemia Mielóide Crônica
M-BCR - Major Breakpoint Cluster Region
m-BCR - Minor Breakpoint Cluster Region
MDR - multidrug resistant
Mrna – RNA mensageiro
MRP - multidrug resistance-related protein
MRP1 - multidrug resistance-associated protein 1)
MRP2 - multidrug resistance-associated protein 2)

MRP3 - multidrug resistance-associated protein 3)
MTX - metotrexato
NBFs - nucleotide-binding folds – NBFs
PBS - Phosphate-buffered saline
PCR - Polymerase Chain Reaction
P-gp - Glicoproteína-P
Ph - Philadelphia Chromosome
pH - Potencial Hidrogeniônico
pKa (constante de quantificação da acidez e basicidade)
RCC- reposta citogenética completa
RCM- remição citogenética maior
RHC - resposta hematológica completa
RT-PCR - Reverse Transcription Polymerase Chain reaction Real Time
SBTMO - Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea
SNP - single nucleotide polymorphism
SUS - Sistema Único de Saúde
TCTH - Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas
ITQs – Inibidores de Tirosina Quinase
 μ -BCR - micro Breakpoint Cluster Regions

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1	CÂNCER.....	16
2.2	LEUCEMIA.....	17
2.3	LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA (LMC).....	20
2.3.1	Fisiopatologia.....	20
2.3.2	Genética da LMC.....	21
2.3.3	Diagnóstico.....	24
2.3.4	Tratamento.....	26
2.3.5	Fármacos inibidores de tirosina quinase.....	28
2.4	VARIABILIDADE E FARMACOGENÉTICA.....	34
2.5	MECANISMO DE RESISTÊNCIA E GENE MDR.....	35
2.6	POLIMORFISMOS NOS GENES ABCs.....	38
2.6.1	Gene ABCC1.....	38
2.6.2	Gene ABCC2.....	39
2.6.3	Gene ABCC3.....	40
3	OBJETIVOS.....	42
3.1	OBJETIVO GERAL.....	42
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
4.1	ASPECTOS ÉTICOS.....	43
4.2	TIPO DE ESTUDO.....	43
4.3	POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	43
4.4	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	44
4.5	TRATAMENTO E ANÁLISE DE DADOS.....	44
4.5.1	Avaliação por questionário e análise de prontuários.....	44
4.5.2	Coleta e extração de amostras.....	45
4.5.3	Genotipagem.....	47
4.5.4	Análise estatística.....	49
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
5.1	EPIDEMIOLOGIA.....	50
5.1.1	Perfil dos pacientes.....	50
5.1.2	Distribuição Geográfica.....	52
5.1.3	Perfil do tratamento.....	53
5.1.4	Perfil do uso de ITQs.....	56
5.1.5	Reações relatadas durante o tratamento.....	56
5.2	GENOTIPAGEM E FREQUÊNCIA DOS SNPs.....	58
5.2.1	ABCC1/ rs28364006.....	58
5.2.2	ABCC2 / rs717620.....	60
5.2.3	ABCC3 / rs9895420.....	62
6	CONCLUSÃO.....	65

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	84
ANEXO B – Questionário sobre o perfil clínico do paciente.....	86
ANEXO C – Carta de Anuência.....	88
ANEXO D – Autorização do Comitê nacional de Ética em Pesquisa.....	89

1 INTRODUÇÃO

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma neoplasia que acomete as células sanguíneas, sendo um fenômeno resultante de variações genéticas que afetam proteínas que alteram o ciclo natural das células. A condição genética que possibilita o desenvolvimento da LMC em mais de 95% dos casos, é a formação do Cromossomo Filadélfia (Philadelphia Chromosome – Ph), o resultado de uma translocação recíproca que envolve os braços longos dos cromossomos 9 (gene ABL - Abelson Murine Leukemia) e 22 (gene BCR - Breakpoint Cluster Region). Embora não seja um fenômeno biológico determinante para a doença, a presença do cromossomo Ph se encontra na maioria dos pacientes com LMC, resultando na alteração da maquinaria de expressão de proteínas de tirosina quinase, que atuam no fator de crescimento celular (CHAUFFAILLE, 2015; LEVITAN *et al.*, 2003).

Como alternativa para o tratamento, os fármacos inibidores de tirosina quinase (ITQ) são utilizados para as diferentes fases da LMC, sendo responsáveis por inibir a ação da tirosina quinase defeituosa, prevenindo a ativação em cascata de sinais que colaboram para a proliferação celular anormal. O tratamento com ITQs garante boa sobrevida e alcance de respostas de remissão aos pacientes. Entretanto, alterações genéticas como os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs) em genes transportadores de substâncias podem causar variações na resposta dos pacientes aos ITQs (BACCARANI *et al.*, 2013; BRUNTON *et al.*, 2008).

Visando compreender estes mecanismos, a farmacogenética avalia a variabilidade genética e analisa a forma como essa diversidade se reflete nas repostas farmacocinéticas e farmacodinâmicas, com o objetivo de melhorar a terapêutica de determinadas drogas. O uso de estudos genéticos na aplicação terapêutica é uma ferramenta importante que tem ganhado espaço na prática clínica. A população brasileira, pode ser considerada uma das mais miscigenadas do mundo, se caracteriza por apresentar elevada variabilidade genética, diversidade que pode ser observada nos variados tipos de repostas farmacológicas (BRITO, 2015; RESQUE *et al.*, 2016).

Historicamente, processos migratórios intensos contribuem para a formação de um caráter miscigenados em uma população, o que permite a existência de uma grande variabilidade entre os indivíduos. Em humanos, esta variabilidade pode ser associada com a existência das alterações que afetam a eficácia em genes transportadores de substâncias, sendo um fator essencial para se compreender os diferentes níveis de mecanismos de resistência a

múltiplas drogas (MDR) de um organismo. Esse fenômeno é bastante explorado para se compreender a relação existente entre processos de resistência a determinados medicamentos, principalmente em terapias oncológicas (RIBEIRO, 1995; DEAN e ANNILO, 2005; SILVA *et al.*, 2015).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento clínico/epidemiológico e verificar uma possível associação entre as variantes polimórficas nos genes ABC e a resposta ao tratamento com ITQs em pacientes com LMC na cidade de Macapá, Amapá.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CÂNCER

O câncer é considerado uma das principais causas de óbito em humanos, sendo descrito como uma doença crônica não transmissível resultante de um crescimento anormal e excessivo de células devido a alterações na sequência estrutural do DNA. Os elementos que colaboram para o surgimento de cânceres são associados à fatores externos e internos ao indivíduo, dentre os agentes internos, as mutações genéticas, os hormônios e as condições imunes são citados como fatores de risco que colaboram para modificar as vias da atividade celular normal (ACS, 2017; SANTOS *et al.*, 2016).

Diferentes fatores colaboram para o surgimento de processos neoplásicos, o próprio microambiente dos tecidos e o quadro imunológico específico de um indivíduo podem apresentar meios adequados para a manifestação de fenótipos malignos, geralmente iniciadas por meio de lesões genéticas não letais. A perda do controle proliferativo das células em diferentes graus de diferenciação celular e o ganho da capacidade de invadir tecidos diferentes, torna o câncer uma patologia complexa, que pode afetar diferentes unidades reguladoras (RODWELL *et al.*, 2016).

A origem da atividade cancerígena está ligada a estrutura de manutenção responsável por funções vitais da célula encontrada nos telômeros, sendo regiões de DNA não codificante responsáveis por manter a estabilidade cromossômica. A enzima telomerase adiciona sequências nucleotídicas na extremidade 3' em células jovens, mantendo a estrutura terminal dos telômeros e seu funcionamento regulatório ao longo da vida de uma célula. A cada ciclo de replicação ocorre uma perda de sequências nucleotídicas na extremidade dos cromossomos devido a problemas de replicação pela enzima DNA polimerase, o que provoca seu encurtamento e um “envelhecimento acumulado”, conduzindo a célula até sua senescência programada. Contudo, células tumorais possuem aumento da atividade de síntese da telomerase, garantindo um fenótipo de “imortalidade”, uma vez que o impedimento do encurtamento dos telômeros impede a senescência da célula, iniciando um processo neoplásico clássico (FERRER *et al.*, 2017).

A prevalência do câncer é variada em todo o mundo, com diferentes padrões de ocorrência, mortalidade e sobrevida. Jemal *et al* (2014) indicaram a ocorrência de 14, 1 milhões de novos casos globais e 8,2 milhões de óbitos em 2012. Para 2014 em países da América Latina e no Caribe, os autores indicaram uma ocorrência de 600 mil casos de

mortalidade decorrentes de cânceres, além de 1,1 milhão de novos casos. Segundo dados do INCA (2018), a estimativa para o biênio 2018-2019 no Brasil indicaram uma ocorrência aproximada a 640 mil casos, com previsão maior para a população masculina (217 casos para cada 100 mil pessoas) do que para a feminina (191 casos para cada 100 mil pessoas). Para a região Norte, a previsão do INCA aponta uma estimativa de 11.590 casos em homens, e 11.770 casos para mulheres. Já para o Amapá a previsão foi de 420 casos para homens, e 410 casos para mulheres, tendo 330 casos (para ambos os sexos) na capital, Macapá.

Ao longo dos anos, os prognósticos para atividade cancerígena vêm se adaptando às novas tecnologias e descobertas. A investigação genética mostrou ser uma ferramenta de grande importância na caracterização e predição dos casos de neoplasias, uma vez que possibilitam não apenas avaliar a etiologia da doença, mas inferir meios de identificar pessoas com riscos maiores de desenvolver certos tipos de câncer (NCI, 2002; RODWELL *et al*, 2016)

Uma série de mecanismos que vão além da genética e epigenética colaboram para a construção de novos fenótipos adaptativos em células neoplásicas, sendo as mutações de ganho de função a maior parte das alterações pontuais que transformam proto-oncogenes em oncogenes. Essas nuances do processo gênico do câncer acabam resultando em limitações no desempenho da farmacodinâmica do organismo, uma vez que as mutações podem criar adaptações que dificultam (ou impedem) que as drogas se liguem a suas proteínas-alvo (FORTUNATO *et al.*, 2017).

2.2 LEUCEMIA

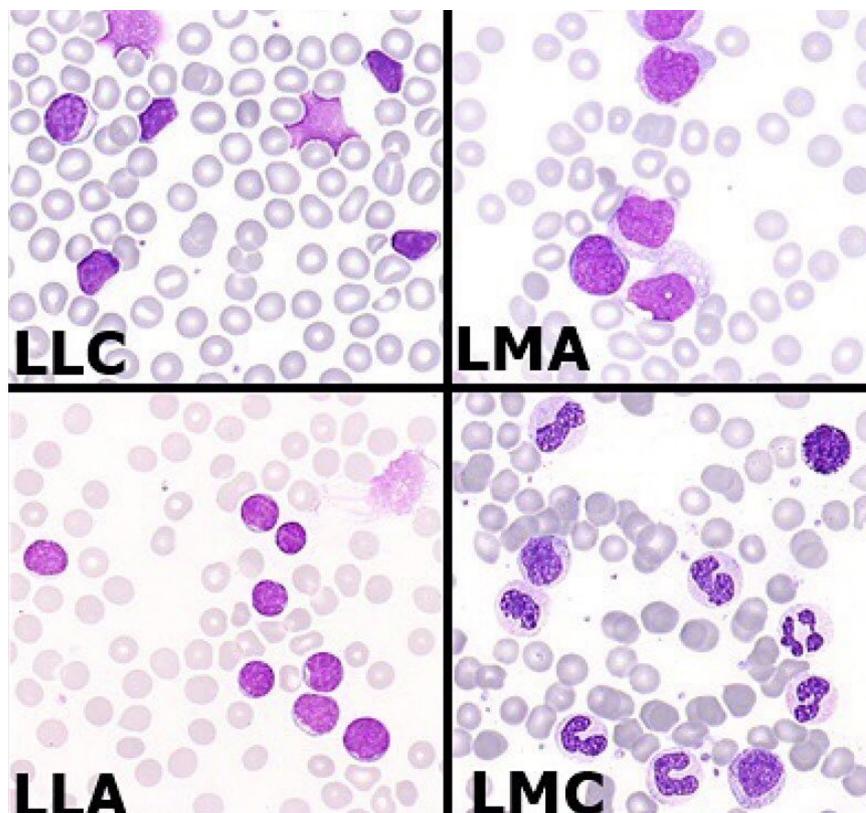
Dentre os diversos tipos de cânceres, a Leucemia se destaca como uma neoplasia que resulta em anormalidades no desenvolvimento de células sanguíneas e compromete a formação de células novas. Possui uma etiologia complexa que afeta diretamente a hematopoese, estando inserida em um grupo específico de neoplasias decorrentes de uma produção excessiva de células que surgem em formas imaturas no interior da medula óssea. O acúmulo crescente de células anormais acaba substituindo a quantidade regular das unidades sanguíneas saudáveis, comprometendo a funcionalidade do organismo em vários níveis (COSTA *et al.*, 2017; LEONARD, 1993; LAGO, 2017; SACHS, 1996).

De acordo com os dados do INCA (2018), há determinados fatores ambientais que afetam o risco de desenvolvimento das Leucemias, a radiação ionizante e o benzeno são

alguns desses fatores comprovados. Embora suas causas ainda não sejam completamente definidas, o tabagismo, quimioterapias, formaldeídos, síndromes (Down, mielodisplásica), histórico familiar, idade e agrotóxicos são listados como possíveis fatores de risco para o aumento de desenvolvimento da doença.

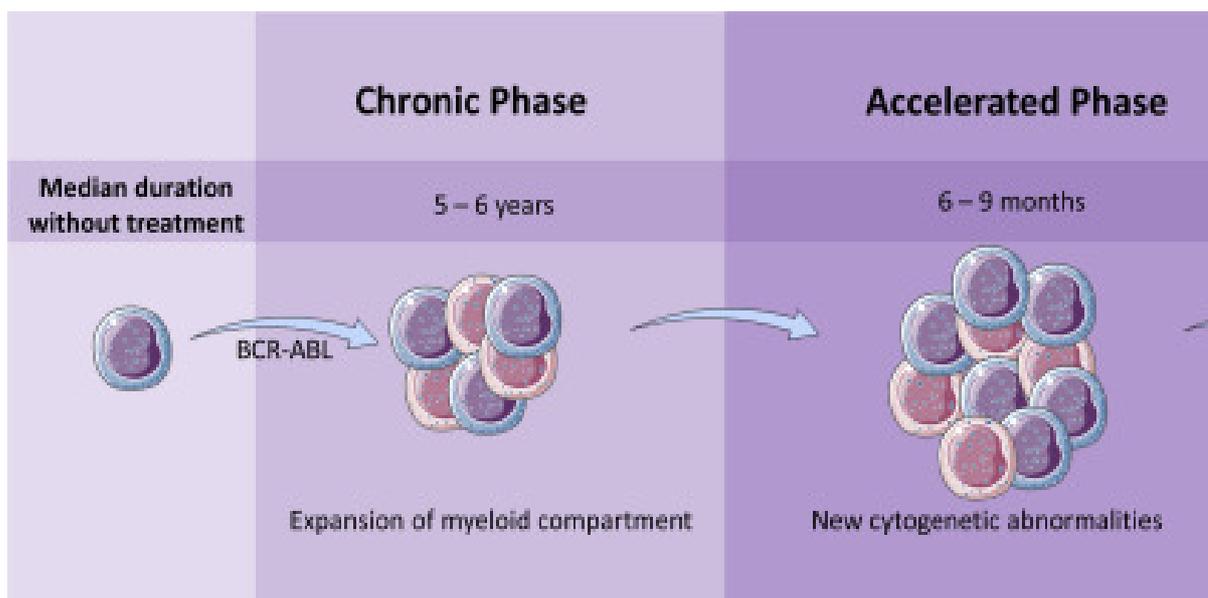
Estas doenças são caracterizadas com base na origem celular das células linfoides ou mieloides, e na velocidade de progressão da doença. De acordo com Lima (2017), elas são classificadas em dois grupos: 1) Leucemias linfocíticas, que afetam os linfócitos imaturos e seus progenitores na medula óssea, podendo também ser chamadas de leucemias linfoides ou linfoblásticas; e 2) Leucemia Mielocíticas, que envolvem as células-tronco mieloides pluripotentes, podendo ser chamada de leucemia mieloide ou mieloblástica. Nas subclassificações (segundo a manifestação aguda ou crônica), as leucemias são diferenciadas em quatro tipos: 1) A leucemia Mieloide crônica (LMC), 2) Leucemia Mieloide Aguda (LMA); 3) Leucemia Linfocítica Crônica (LLC) e 4) Leucemia Linfocítica Aguda (LLA) (Figura 1).

Figura 1 – Classificação dos diferentes tipos de células leucêmicas quanto a seu caráter crônica/agudo e origem clonal.



Na fase crônica as células sanguíneas mantêm a funcionalidade de leucócitos por um período mais longo devido a replicação mais lenta antes da concentração celular chegar à um nível patológico (com alguns casos apresentando estágio assintomático nos primeiros anos) (Figura 2). Já na fase aguda as células sofrem variações mais profundas e não desempenham atividade, adquirindo capacidade de replicação mais rápida e com efeitos acumulativos em menor tempo (ALMEIDA *et al.*, 2016; AZEVEDO *et al.*, 2017).

Figura 2 – Progressão das fases crônica e acelerada em um sistema hematológico leucêmico.



Fonte: CLARKE E HOLYOAKE, 2017

De acordo com a previsão do INCA (2018), foi estimado que em todo o Brasil haveria um valor aproximado de 5.940 casos de leucemia em homens e 4.860 em mulheres. A leucemia em homens é a quinto tipo de câncer mais frequente na Região Norte (4,17/100 mil), e para as mulheres, é o sexto mais frequente (3,29/100 mil). Especificamente no Amapá há uma taxa de 4,69 casos para 100 mil homens e 4,14 casos para cada 100 mil mulheres.

A causa do surgimento dos vários tipos e subtipos de Leucemia ainda não é um fenômeno completamente compreendido. Especula-se que certos fatores estão relacionados com o aumento de risco a atividade neoplásica em uma pessoa (assim como a sua resposta a intervenção terapêutica), colaborando para moldar seu quadro clínico nos mais diversos níveis. Entre os possíveis fatores de risco são citados: exposição à radiação ionizante, fatores congênitos, exposição a infecções e vírus (HIV, HTLV-1 e EBV), produtos químicos mutagênicos, anormalidades cromossômicas e a própria genética como fator hereditário (LEONARD, 1993; RÉGO, 2014).

No âmbito da genética médica, os fatores que envolvem os aspectos moleculares para o surgimento de leucemias atuam no aumento da probabilidade de desenvolvimento da doença. Leonard (1993) descreve que a presença de anormalidades cromossômicas, como o Cromossomo Ph, pode ser avaliado como um fator importante para formar um esquema de riscos relacionados ao desenvolvimento de Leucemias. Outras doenças congênitas associadas a anormalidades cromossômicas, como Anemia de Fanconi, Síndrome de Bloom e neurofibromatose, também podem ser indicadores de um possível quadro de Leucemia (EL-DALY, 2014)

Os tipos de alterações cromossômicas (sejam numéricas ou estruturais) são avaliadas através do diagnóstico em menos da metade dos pacientes acometidos pela doença, podendo ser classificadas entre: favoráveis, intermediária ou desfavoráveis. O diagnóstico é realizado por meio de identificações das células leucêmicas na medula óssea ou no sangue periférico através de hemograma, podendo indicar o estágio de sua evolução. Compreender os aspectos de controle celular e molecular do desenvolvimento normal das células sanguíneas do paciente, torna possível responder questões a respeito da origem e o tratamento dessas doenças (ROSA *et al.*, 2012; SACHS, 1996)

2.3 LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA (LMC)

2.3.1 Fisiopatologia

A LMC se caracteriza como um distúrbio clonal bastante associado a presença da anormalidade citogenética conhecida como Cromossomo Philadelphia (Ph), uma translocação que, segundo o National Cancer Institute (2002), acomete cerca de 95% dos pacientes diagnosticados com quadros crônicos de leucemia mieloide. A presença dessa anormalidade genética possibilita que a investigação clínica seja facilitada para o diagnóstico da doença, indicando que a patogênese da LMC está relacionada com a translocação cromossômica (SAGLIO; FAVA, 2013).

De acordo com os dados levantados por Hochhaus *et al.* (2017) no guia de prática clínica para LMC da European Society for Medical Oncology (ESMO), a epidemiologia para LMC encontra-se mundialmente entre 10-15 casos por 100 mil pessoas por ano, sem que envolva diferenças étnicas ou geográficas. A idade mediana de diagnóstico é apontada também como um fator de risco para o perfil de idade de cada população, possuindo uma

faixa de estimativa entre 60-65 anos para a população europeia. E como apontado por Eden e Coviello (2018), embora os fatores de predisposição não sejam totalmente descritos, sua incidência foi amplamente detectada em sobreviventes de testes atômicos.

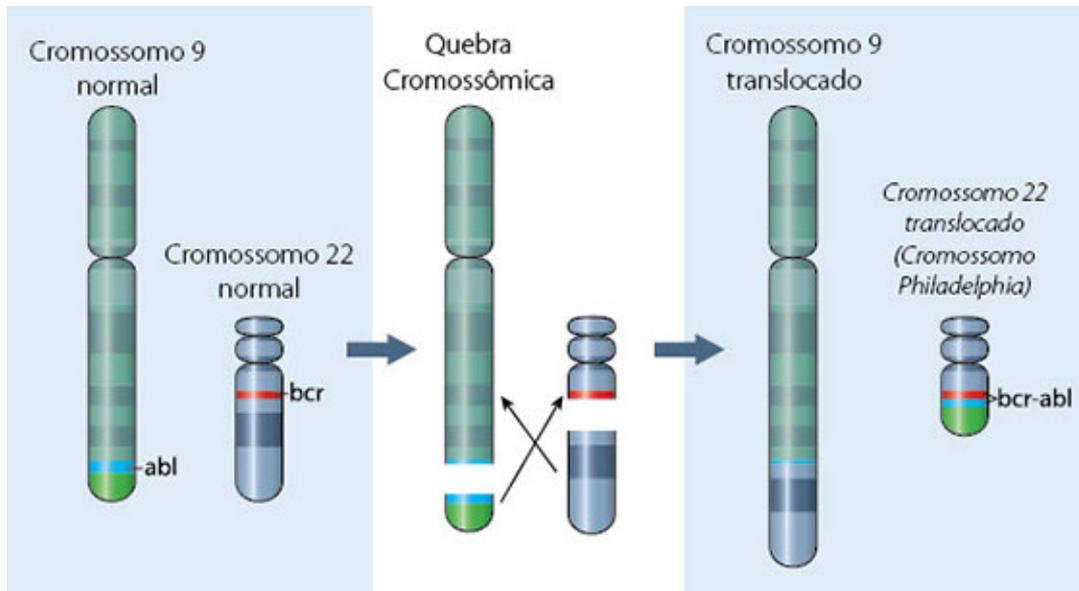
Ainda de acordo com Eden e Coviello (2018), os quadros de LMC são subdivididos dentro de três quesitos clínicos, retratando estágios diferentes da doença: 1) Na fase Crônica há casos de hiperplasia, proliferações granulocíticas, presença de mielócitos, ausência de displasia, presença de esplenomegalia (≥ 10 cm abaixo do rebordo costal) e níveis de plaqueta variando em intervalos regulares ($\geq 700.000/mm^3$). 2) Na fase Aguda/Acelerada pode haver alterações semelhantes às da fase crônica, como aumento na concentração de blastos e alterações displásicas dos granulócitos na medula óssea. 3) Na fase Blástica ocorre proliferação extramedular dos blastos (com diferenciação mielóide), podendo ser detectado na pele, ossos e sistema nervoso central.

O manual para LMC da Leukemia and Linfoma Society (2014) informa que um paciente em fase crônica pode progredir para a fase acelerada ou blástica devido a mudanças genéticas adicionais nas células hematopoiéticas leucêmicas. Entre as alterações, novas anormalidades cromossômicas ou mutações de resistência a terapia farmacológica podem colaborar para a progressão das fases da doença, contudo essas alterações podem ser identificadas com os testes laboratoriais disponíveis.

2.3.2 Genética da LMC

O Cromossomo Filadélfia (Philadelphia Chromosome- Ph) é um rearranjo derivado de uma translocação entre os braços longos dos cromossomos 22 e 9 que produzem alterações em sequências de genes reguladores. Os genes originais, BCR (Breakpoint Cluster Region, na posição 22q11.2) e ABL1 (Abelson Murine Leukemia, na posição 9q34), possuem 23 e 11 exons com pontos de quebra distintos entre cada um. O resultado desse rearranjo permite que a região do gene BCR seja inserido justaposto ao gene ABL1, formando o gene de fusão “BCR-ABL1”, originando diferentes transcritos de mRNA que são associados a atividade cancerígena através da codificação de proteínas tirosina quinase constitutivamente ativas (CHAUFFAILLE, 2015) (Figura 3).

Figura 3 – Esquema de translocação de porções dos cromossomos 9 e 22 resultantes no - Cromossomo Ph.



Fonte: LABNETWORK, 2017

A presença do cromossomo Ph influencia a produção de proteínas aberrantes que possuem atividade variante para a função reguladora de tirosina quinase. Uma vez que a regulação é comprometida, a produção e ativação de tirosinas quinases defeituosas possibilitam a formação de unidades de manutenção ineficientes para o controle do ciclo celular, impedindo a morte celular programada e uma proliferação desordenada dos mielócitos (AZEVEDO *et al.*, 2017; BRITO, 2010).

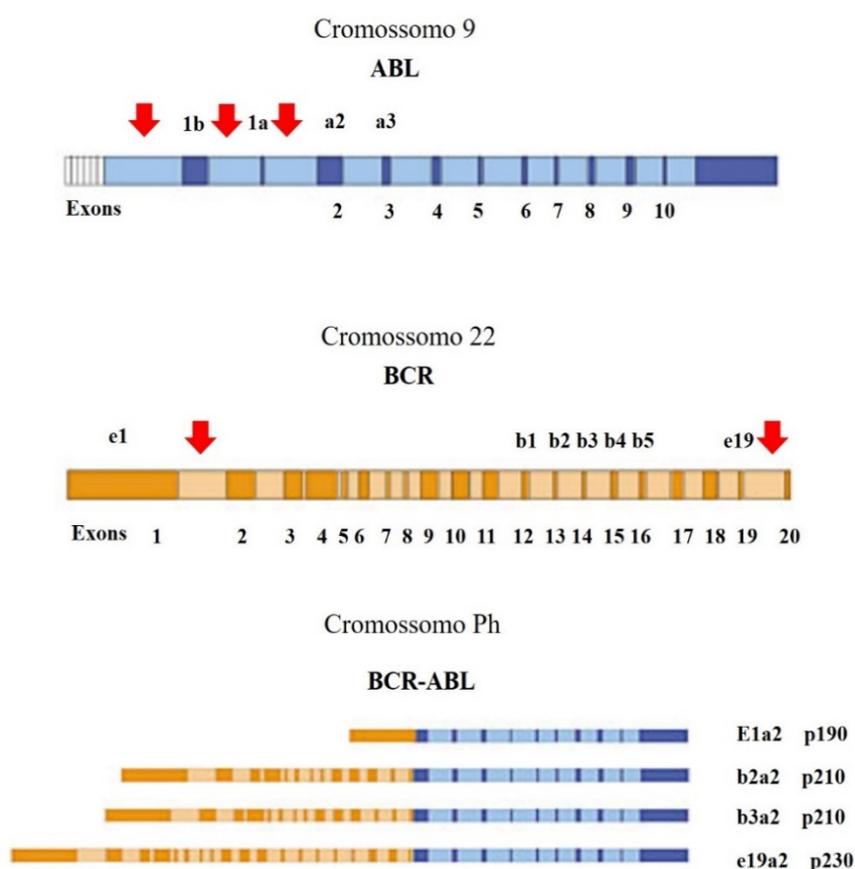
Devido a variações na própria estrutura do Cromossomo Ph, há dois fenótipos característicos dentro da LMC, o “Ph positivo/Ph⁺” (mais comum) e o “Ph negativo/Ph⁻” (fenótipo incomum). Ambas as variações resultam em perfis clínicos distintos e com manifestações particulares, no entanto o Ph⁺ é associado a pior prognóstico e a probabilidade de manifestações da leucemia após as terapias de remissão (MARTINO *et al.*, 2015).

Os efeitos desta translocação cromossômica só foram devidamente estabelecidos em 1982 com base na observação dos efeitos do proto-oncogene de ABL1 encontrados no cromossomo Ph-16, sendo normalmente localizados no cromossomo 9. A patogênese do BCR-ABL está associada a capacidade de desregular replicações, o que resulta em aquisições genéticas adicionais ou mudanças epigenéticas na célula primordial (ROSA *et al.*, 2012; LEVITAN *et al.*, 2003).

A origem do cromossomo Ph se manifesta em células-tronco pluripotentes, produzindo células pertencentes a linhagens linfoides e mieloides. A característica da estrutura do gene

BCR-ABL depende de uma das três áreas específicas em que ocorre a quebra no gene BCR, que pode ser originado nas regiões: 1) Principal (Major Breakpoint Cluster Region / M-BCR); 2) Menor (Minor Breakpoint Cluster Region / m-BCR) e 3) Micro (micro Breakpoint Cluster Regions/ μ -BCR). O tipo de transcrito produzido pelo rearranjo BCR-ABL é determinado pela região de quebra original, que auxilia na produção das proteínas quiméricas. Os transcritos b2a2 e b3a2 podem ocorrer no ponto de quebra de M-BCR (localizado nos exons 12 e 16), cuja proteína quimérica é a p210, e a mais comum em casos de LMC. O transcrito e1a2, que ocorre no ponto de quebra m-BCR (localizado no exon 1), traduz a proteína p190; e o transcrito e19a2 (ponto de quebra μ -BCR, nos exons 19 e 20) gera a proteína p230 (Figura 4) (CARVALHO, 2018; LEVITAN *et al.*, 2003; ZHOU *et al.*, 2018).

Figura 4 – Esquema da origem dos transcritos mutantes de BCR-ABL após a translocação recíproca entre os genes BCR e ABL.



Fonte: Unesp (2019), adaptado

As proteínas tirosina quinase são separadas com base na sua organização celular, podendo ter capacidade receptoras ou não receptoras de estímulos, além de possuírem papel de regular várias atividades importantes das células, incluindo seu ciclo de sobrevivência e morte celular. Os receptores das proteína-tirosina quinase são ligados diretamente a enzimas

intracelulares e atuam na fosforilação dos seus substratos proteicos em resíduos tirosina. Essa catalização da fosforilação de ATP é utilizada para o controle das atividades proteicas por meio de estímulos dentro e fora da célula, resultando na sua autofosforilação em resíduos de tirosina, cujo sinal é repassado para as proteínas na membrana celular (AZEVEDO *et al.*, 2017; COOPER *et al.*, 2007).

O resultado da formação de oncoproteínas é associado a expressão de proteínas tirosina quinases constitutivamente defeituosas, sendo elas responsáveis por diversas vias metabólicas. O surgimento destas enzimas aberrantes afetam várias vias da ação de manutenção das células, como: sobrevivência, crescimento celular, inibição de apoptose e ativação de fatores de transcrição. Em outros casos, há alterações adicionais que tornam as translocações do BCR-ABL mais complexas, gerando novas variantes proteicas reguladoras (SILVA, 2009; BORDA e VEGA, 2017; EDEN e COVIELLO, 2018; VIANA, 2012).

Ao longo da história das intervenções terapêuticas em pacientes com o Ph+, houve a inserção dos Inibidores de tirosina quinase nos tratamentos oncológicos, cuja atuação afetava diretamente a síntese da proteína anormal. Atualmente, essa classe de fármacos é a principal medida de tratamento dos casos de LMC. Com os avanços nas pesquisas farmacogenéticas foi possível adaptar e elaborar novas formas de intervenção clínica para a patogênese do BCR-ABL (ALMEIDA *et al.*, 2016).

2.3.3 Diagnóstico

Os sinais que costumam levar a suspeita da doença envolvem sintomas comuns (quando presentes), como: anemias, esplenomegalia, fadiga, perda de peso, mal-estar e saciedade fácil. Entre as manifestações de sintomas mais raros, estão incluídos: contagem baixa de plaquetas (por sangramentos recorrentes), trombose, artrite (devido aos níveis elevados de ácido úrico), hemorragias retinianas/gastrointestinais e ulceração (presente em menos de 5% dos pacientes em fase crônica). Nas fases avançadas há eventos hemorrágicos, aumento da hepatoesplenomegalia, infecções, falência de órgãos e reação refratária ao tratamento, com uma expectativa de sobrevida de até seis meses (JABBOUR *et al.*, 2012; SOSSELA *et al.*, 2017).

Dentre os testes mandatórios para o diagnóstico da LMC, a realização de contagem sanguínea realizada no exame hematológico busca detectar a série mieloide com desvio a

esquerda, com a presença de mielócitos imaturos e metamielócitos, basófilos e eosinófilos (APPERLEY, 2015).

Em casos de LMC na fase crônica, os valores esperados para os exames hematológicos são: 1) leucocitose (acima de 50.000 por milímetro cúbico e irregularidades nos ciclos de produção); 2) ausência de displasia significativa na Medula óssea; 3) blastos em concentração abaixo de 2% da leucometria global; 4) aumento no número de basófilos; 5) monócitos abaixo de 3%; 6) variação nos resultados de plaqueometria (com casos raros de trombocitopenia); e 7) taxa de 10-19% de mieloblastos no sangue periférico ou medula. Já na fase blástica os sintomas são mais perceptivos e o diagnóstico ocorre quando há quantidade de blastos maior que 20% no sangue periférico ou nas amostras de medula óssea, e casos de extravasamento medular (ALMEIDA *et al.*, 2016; SOSSELA *et al.*, 2017).

A coleta de amostras de medula óssea é utilizada em exames complementares, oferecendo resultados mais detalhados que favoreçam um diagnóstico e um tratamento conclusivo. A realização do aspirado de medula é indicado para vários casos, entre eles: 1) Investigação de concentração e morfologia atípicas das células sanguíneas; 2) síndromes de imunodeficiências; 3) anemia e febres de origem desconhecidas; 4) lesões na região dos ossos de origem desconhecidas; 5) diagnóstico de doenças hematológica e anormalidades cromossômicas e 6) busca de doenças residuais de neoplasias hematológicas e suspeita de metástase (CAMPOS *et al.*, 2018; REIS *et al.*, 2017).

As análises moleculares e citogenéticas oferecem resultados mais fundamentais para o reconhecimento das leucemias e seus tipos, além de determinar a proporção de células anormais dentro de um conjunto de células saudáveis em multiplicação e o tipo de transcrito expressado pela alteração fenotípica. Utilizando os exames de cariótipo de banda G, é possível identificar as modificações moleculares que originaram um quadro leucêmico, assim como a presença do Cromossomo Ph nas células de medula óssea interrompidos na metáfase (BORDA e VEGA, 2017; REIS *et al.*, 2017).

A PCR (Polymerase Chain Reaction) pode ser empregada na detecção de rearranjos de BCR-ABL. Nos casos onde há ausência de metáfase, o método de hibridização *in situ* (Fluorescent in Situ Hybridization - FISH) demonstrou um avanço na maneira como células individuais são analisadas. O método de FISH utiliza sondas como marcadores para uma única célula cancerígena em uma subpopulações distinta, permitindo a hibridização de sondas durante a desnaturação da cadeia dupla de DNA, variando conforme sua especificidade para cada tipo de alteração cromossômica conhecida (BORDA e VEGAS, 2017; CAVALCANTE *et al.*, 2017; REIS *et al.*, 2017).

2.3.4 Tratamento

De acordo com o Manual de Tratamento para LMC da American Cancer Society (2018), o principal tratamento para LMC é baseado em terapias de drogas-alvo, no entanto o paciente também pode optar por intervenções que envolvam radioterapia, cirurgias ou transplantes. As opções de tratamento também dependem da fase em que a doença se encontra, assim como a idade do paciente e demais fatores de prognósticos. O manual também ressalta a importância da comunicação entre o paciente e a equipe médica para se tomar as decisões de tratamento mais eficientes.

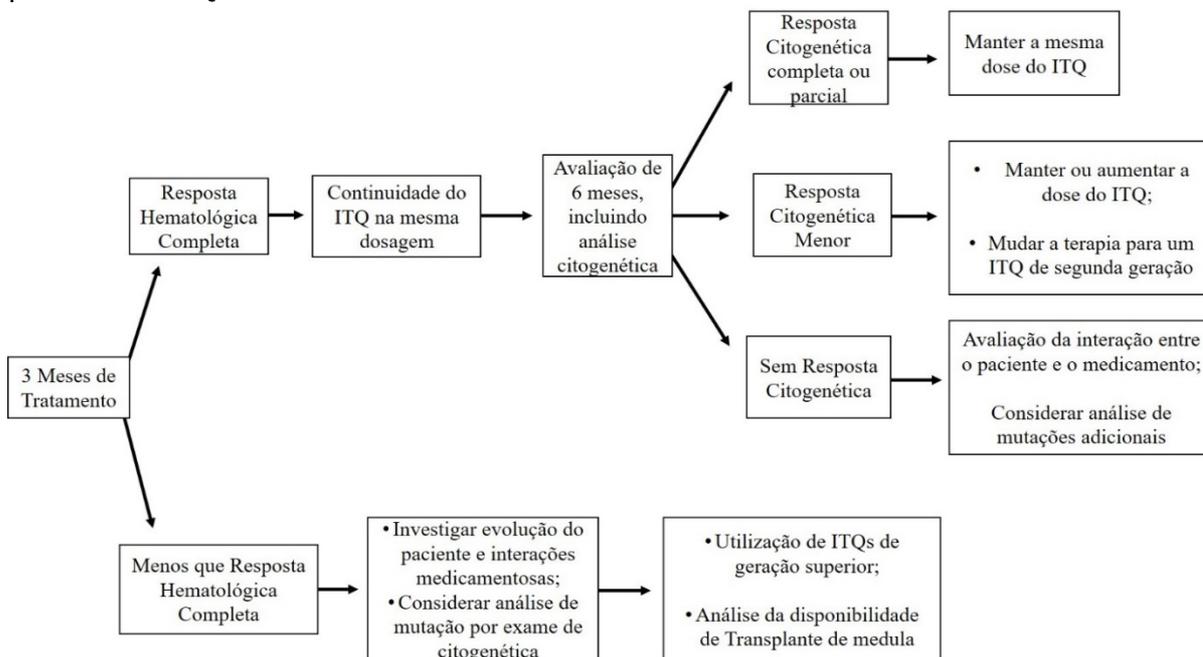
Segundo o modelo de tratamento primário esquematizado por O'Brien *et al.* (2012) para pacientes em fase crônica, após os exames hematológicos, biopsia e citogenéticos, com base na comprovação do Cromossomo Ph, existem duas vias de intervenção: 1) para pacientes Ph⁻ são necessários outros exames para a comprovação de outra doença que não seja a LMC; e 2) para os pacientes com Ph⁺ deve se iniciar opções de tratamento que envolvam a terapia farmacológica, o transplante de medula óssea e outras alternativas clínicas.

Para o seguimento do tratamento de LMC é necessário montar o perfil do paciente, e com base nas fases da doença e outros dados clínicos é possível aplicar medidas de predição para configurar a melhor via de terapia. Para isso há dois sistemas de pontuação prognósticas utilizados: 1) o Score de Sokal, que utiliza o perfil da idade, contagem de plaquetas, porcentagem de blastócitos no sangue periférico e o tamanho do baço; e o 2) Score de Hasford, que utiliza, além dos mesmos dados do Score de Sokal, a concentração de basófilos e eosinófilos no sangue periférico. Ambos sistemas são capazes de determinar o risco de um paciente de avançar para um estado de risco, e com base no resultado de pontuação, os pacientes podem ser caracterizados em grupos de baixo, intermediário e alto risco, norteando as melhores formas de configurar um tratamento (LLS, 2014).

Uma vez em tratamento, as vias farmacológicas para pacientes recém-diagnosticados costumavam ser realizados a base de hidroxureia e/ou alfainterferona, com mudanças mínimas na sobrevida dos pacientes (5-7 anos), com apenas 80% dos casos com progresso clínico para sustentar uma resposta de remissão. Entretanto, com o surgimento dos fármacos inibidores de Tirosina Quinase (ITQs), houve uma redução da necessidade de transplantes para obtenção de uma sobrevida próxima da normal (RADICH, 2017).

A utilização dos ITQs segue parâmetros de avaliação com base no tempo de tratamento e de resposta. A troca do medicamento e ajustes nas dosagens seguem com base em análises ao longo da evolução clínica do paciente a terapia, como esquematizado na Figura 5.

Figura 5 – Esquema de processo do protocolo de monitoramento de 6 meses da resposta do paciente ao ITQ.



Fonte: O'Brien, *et al.* (2012) adaptado.

Mesmo com os saltos significativos no tratamento de Leucemias, o Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas (TCTH) ainda é a principal escolha para casos avançados, visando substituir cirurgicamente o complexo hematopoiético. O enxerto é obtido da medula óssea de um doador saudável e transferido para um paciente compatível, e devido a sua resposta molecular completa na maioria dos casos, o TCTH é um procedimento considerado potencialmente curativo para a LMC (principalmente na fase crônica). As indicações para procedimentos de TCTH lançados em 2012 pela Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea (SBTMO) afirmam que o procedimento só é indicado para pacientes que: 1) não possuam condições de manter o tratamento farmacológico; 2) são jovens; e 3) estão em fases avançadas (aguda ou blástica) com preferência em casos em que haja falha de tratamento (PAZ, 2015; HAMERSCHLAK *et al.*, 2012).

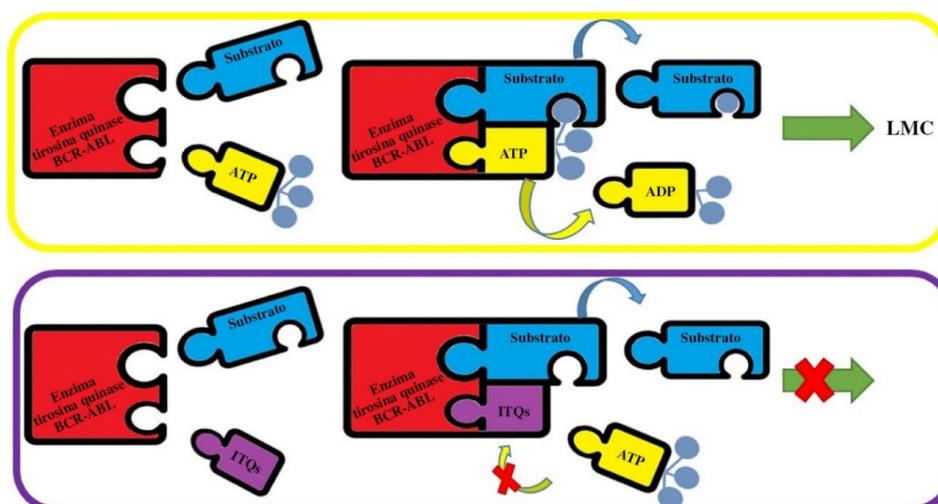
Os avanços nos tratamentos transformaram as leucemias em um câncer curável, alcançando prognósticos favoráveis. Graças a investimentos nas estruturas dos centros de saúde, pacientes idosos passaram a receber tratamentos mais “agressivos”, muito próximo dos protocolos de terapia que os mais jovens passam. Com isso, investigações genéticas tem sido cada vez mais abordadas ao longos das intervenções clínicas, auxiliando na progressão positiva do paciente ao tratamento (HAMERSCHLAK, 2015).

2.3.5 Fármacos inibidores de tirosina quinase

A maioria dos fármacos atualmente possuem ação inibitória enzimática, podendo ocorrer por meios reversíveis ou irreversíveis. Em processos irreversíveis há a ligação covalente entre o fármaco e o alvo de uma terapia, estando disponíveis em antibióticos, cardioativos, analgésicos e anticânceres. Nas terapêuticas modernas para LMC, os tratamentos que envolvem o bloqueio irreversível da ação de enzimas truncadas são os mais utilizados para o controle da progressão da doença (BARREIRO e FRAGA, 2015; RIBEIRO, 2015).

Os Inibidores de Tirosina Quinase (ITQs) são bloqueadores covalentes que funcionam inserindo fragmentos reativos no interior de células comprometidas e se ligando por meio de adutos à proteinases ou bioreceptores proteicos. A ligação dos fragmentos reativos às estruturas receptoras das proteínas tirosina quinases atuam como inibidores de fosfato, ocupando o local específico de ligação da membrana para o ATP e impedindo que ocorra a doação do grupo fosfato utilizado para o início da sinalização celular e produção dos fatores de crescimento. Dessa maneira ocorre a interrupção da ativação por cascata que envolve a sinalização bioquímica para a proliferação celular, gerando a inibição e diminuição de um processo de divisão celular potencialmente nocivo (Figura 6) (AZEVEDO *et al.*, 2017; BARREIRO e FRAGA, 2015; LOPES, 2009).

Figura 6 – Processo de bloqueio de ATP e inibição da sinalização celular para a proliferação de células leucêmicas.



Fonte: AZEVEDO *et al.*, 2017

A resposta individual aos ITQs é um importante indicador para a manutenção (ou não) de uma terapia medicamentosa, que envolve desde a escolha do ITQ inicial (com base nas gerações de fármacos disponíveis), até o valor do prognóstico e sua resposta molecular nos 3

meses iniciais do tratamento. Tendo como base que a eficácia da terapia é um fator fundamental para prosseguir com um tratamento, definir os parâmetros de escolhas para a melhor maneira de manter a terapia é muito importante, uma vez que os medicamentos inibidores de tirosina quinase possuem uma afinidade seletiva quanto as quinases alvo, e principalmente quanto a sua farmacocinética de interação bioquímica entre o fármaco e o paciente (BACCARANI *et al.*, 2013; EDEN e COVIELLO, 2018).

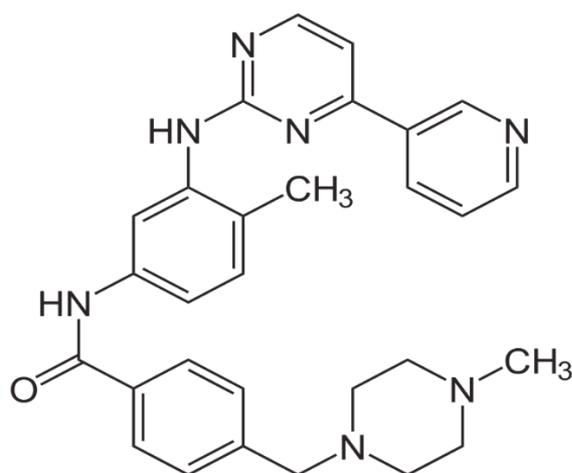
Existem três categorias de respostas adotadas para caracterizar os resultados de um tratamento com ITQs a longo prazo, sendo: 1) “Ótimas”, indicando o melhor prognóstico; 2) “Aviso”, quando há necessidade de monitoramento nos momentos iniciais do tratamento; e 3) “Falha”, quando um prognóstico aponta a necessidade de mudar a terapia para diminuir os riscos de progressão da doença (SHANMUGANATHAN e HUGHES, 2018).

Um tratamento com ITQs depende de avaliações e previsões anteriores que afetam a qualidade de vida dos pacientes, podendo envolver até mesmo graves complicações tardias. Mesmo que os mecanismos de inibição da tirosina quinase sejam parecidos, as variações de ação de fármaco-fármaco podem causar toxicidade e quadros de resistência durante o tratamento, sendo resultados que podem variar. Desta forma, diferentes versões de fármacos inibidores são utilizados para se adaptar a terapêutica e a resposta do paciente (BACCARANI *et al.*, 2013; HARTMANN *et al.*, 2009).

- **Imatinibe**

O imatinibe (figura 7) (Mesilato de Imatinibe - Glivec®, Novartis) é o principal ITQ utilizado no tratamento de neoplasias em células hematopoiéticas, e o primeiro medicamento disponibilizado para o tratamento da LMC. Lançado no SUS do Brasil em 2001, o Imatinibe possui uma absorção rápida pelo organismo, distribuição de 95% e uma biodisponibilidade de 98%. Sua metabolização é feita por via hepática, tendo como principal auxiliador de decomposição a enzima CYP3A4 (da família citocromo P450, envolvidos na maioria dos processos bioquímicos de metabolização de xenobióticos) (LOPES, 2009; OTTMANN, 2018).

Figura 7 – Fórmula estrutural do Mesilato de Imatinibe



Fonte: DR, 2005

O Glivec é sintetizado na forma de um pó cristalino (α e β), tendo a forma β propriedades sólidas próprias para a ingestão oral (comprimidos e capsulas). A comercialização ocorre na forma de comprimidos revestidos com 119,5 mg (para comprimidos de 100 mg) e 478 mg (para comprimidos de 400 mg) com mesilato de imatinibe na forma de cristais β , e com excipientes de crospovidona, estearato de magnésio, celulose microcristalina, hipromelose, e dióxido de silício. Sua indicação é direcionada para pacientes com LMC (adultos e pediátricos), LLA com Ph positivo e tumores estromais gastrointestinais (NOVARTIS, 2016a; SATHWIK *et al.*, 2015).

O Mesilato de Imatinibe é uma molécula pequena com efeitos antineoplásicos derivada do primeiro composto sintético inibidor da tirosina quinase, o 2-fenil-amino-pirimidina (tirfostina). A primeira síntese do Imatinibe foi feita e comercializada em 1996 pela empresa CibaGeigy (que se tornaria a Novartis), com novas versões sendo produzidas ao longo dos anos. O Imatinibe é solúvel em meios que possuam ph inferior a 5,5, e pouco solúvel/insolúvel em meios aquosos neutros e alcalinos, possuindo um pKa (constante de quantificação da acidez e basicidade) de 12,45 em meio ácido e 8,27 no meio básico (SATHWIK *et al.*, 2015; KADIVAR, 2015).

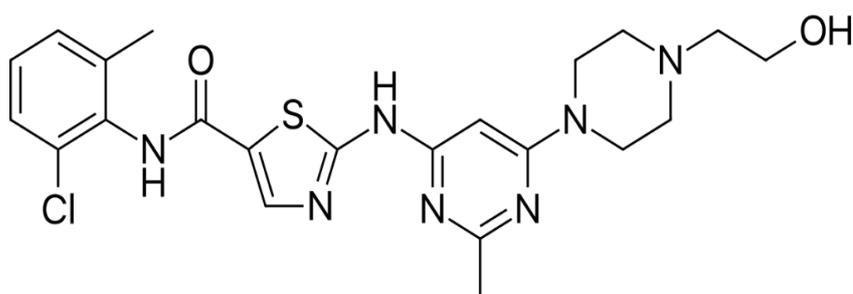
O Imatinibe interrompe a atividade da enzima tirosina quinase e outros receptores que sofreram variação pelo BCR-ABL (além de processos da célula que foram sinalizados pelos receptores de quinase). A farmacodinâmica do Imatinibe se inicia com sua ligação seletiva ao ponto de quebra da região de ABL da proteína tirosina quinase, inibindo o processo de fosforilação de substratos proteicos, interrompendo a proliferação das colônias neoplásicas e induzindo a apoptose das células variantes (OTTMANN, 2018).

No Brasil, de acordo com O Manual de Sistema de Informações Ambulatoriais do Ministério da Saúde (2013), o Imatinibe e os demais ITQs de segunda geração, são adquiridos pelo Ministério da Saúde e distribuídos pelas secretarias estaduais de saúde para serem utilizados no tratamento de LMC em adultos em hospitais habilitados em oncologia no SUS de acordo com os protocolos de tratamento. Durante o tratamento, podem haver circunstâncias de resistência/intolerância por parte do organismo dos pacientes com as dosagens administradas dos ITQs, induzindo ao desenvolvimento um quadro de resistência primária (falha com o tratamento inicial) ou secundária (resposta previamente adquirida). Dessa forma, a substituição do Imatinibe pelos ITQs de segunda geração é uma opção de intervenção terapêutica para pacientes que não respondam adequadamente a terapia primária (DELAMAIN, 2008; LOPES, 2009).

- **Dasatinibe**

O Dasatinibe (Figura 8) (Spricel – Bristol-Myers Squibb Farmacêutica LTDA ®) é um ITQ de segunda geração utilizado no tratamento de LMC para casos de Cromossomo Ph em fases crônica, aceleradas, blásticas e de quadros de resistência ou intolerância ao Imatinibe. A farmacodinâmica do dasatinibe demonstra ser 30 vezes mais potente que o Imatinibe, suas moléculas possuem ação inibitória para múltiplos alvos, agindo nas formas ativas e inativas das moléculas variantes de BCR-ABL. Seu mecanismo de ação inclui, além das proteínas-tirosina quinases, a atividade inibitória das proteínas de adesão focal (FAK), que são direcionadas para o tratamento de outras neoplasias, como: LLA, câncer de esôfago, mama, tireoide, pulmão, entre outros (FRIZZO *et al.*, 2016; OLIVEIRA, 2014a; REZENDE, 2017; SANTOS, 2012).

Figura 8 – Fórmula estrutural do Dasatinibe



Fonte: SELLECKCHEM, 2005

O Spricel é vendido em embalagens de 30 e 60 comprimidos revestidos por dióxido de titânio, polietilenoglicol e hipromelose, encontrado em diferentes concentrações (20 mg e 50 mg para embalagens de 60 comprimidos, e 100 mg para embalagens de 30 comprimidos). A composição ativa encontrada em cada comprimido é variante, possuindo em média 20, 50 ou 100mg de concentração de dasatinibe, com o restante da fórmula de outros compostos inativos (estearato de magnésio, lactose monoidratada, croscamelose sódica e celulose microcristalina) (BMS, 2016).

A resposta de absorção e concentração da farmacocinética do Dasatinibe demonstra ser rápida após a ingestão oral, sem que ocorra grandes alterações caso seja administrado durante as refeições, contudo, por ter uma solubilidade dependente do pH, a eficiência é variável do nível de acidez do sistema gástrico. Sua concentração intracelular é mediada por transportadores de efluxo (P-gp e BCRP), sendo variável com administração de medicamentos secundários que afetam a concentração do pH gástrico. A distribuição ocorre pelo sistema intravascular e sua metabolização primária é feita pelas enzimas 3A4 da superfamília de metabolizados CYP450 (OLIVEIRA, 2014b; SANTOS e CORTES, 2012).

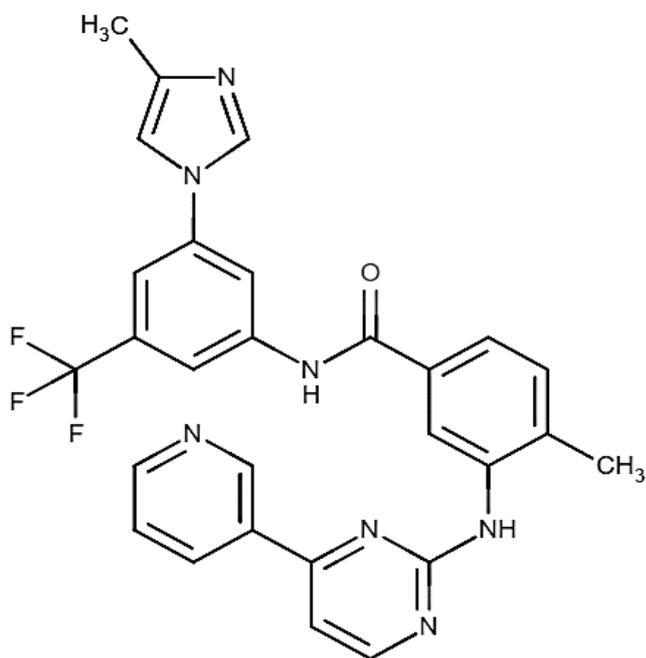
A ação efetiva do Dasatinibe em pacientes refratários para ITQs de primeira geração deve-se a sua afinidade maior com o BCR-ABL1 devido a capacidade de ligação com múltiplos locais de ativação da enzima variante. Em média, há mais mutações do cromossomo Ph associadas ao imatinibe do que para o dasatinibe, suas propriedades de ligação permitem a ativação das vias de sinalização para impedir a proliferação de células variantes oriundas da LMC, independente dos efeitos mutacionais (SANTOS e CORTES, 2012).

A resposta do Dasatinibe para a maioria das alterações de BCR-ABL permite que pacientes tenham uma resposta citogenética melhor, e maior taxa de sobrevida do que os que fazem apenas uso de tratamentos com o ITQ de primeira geração. Em estudo de dois anos da evolução clínica de 167 pacientes em fase crônica para o cromossomo Ph que faziam uso de doses diárias de 100mg de dasatinibe, foram obtidos: 92% de resposta hematológica completa (RHC); 63% de remissão citogenética maior (RCM); e 50% de resposta citogenética completa (RCC). A eficácia também foi observada em pacientes intolerantes e resistentes ao imatinibe durante dois anos, sendo obtido: de RCM (59% de pacientes resistentes e 77% para intolerantes) e RCC (44% de pacientes resistentes e 67% para intolerantes) (BMS, 2016).

- **Nilotinibe**

O Nilotinibe (Tasigna® - Novartis Biociências SA) (Figura 9) é um ITQ designado para o tratamento LMC em pacientes adultos diagnosticados com Cromossomo Ph+. Sua ação inibidora bloqueia a ativação da atividade mitogênica e antiapoptótica dependentes da alteração BCR-ABL (HOCHAUS et al., 2016).

Figura 9 – Fórmula estrutural do Nilotinibe.



Fonte: DRUGBANK, 2007.

Sua molécula modificada é 20 vezes mais potente que o Mesilato de Imatinibe, o que possibilita que seu nível de concentração no meio intracelular seja maior que o dos ITQs de primeira geração. Graças as suas características mais eficientes para o tratamento da LMC, o nilotinibe pode desempenhar a mesma função inibitória em pacientes resistentes ou intolerantes ao Imatinibe, com uma quantidade menor do fármaco (FRIZZO *et al.*, 2016).

O Tasigna é distribuído na forma de cápsulas de 200 mg seguindo uma composição de 220,60 mg de cloridrato de nilotibe monoidratado e um excipiente com dióxido de silício, lactose monoidratada, crospovidona, poloxâmer e estearato de magnésio. A indicação para a pacientes com LMC é a de 400mg duas vezes ao dia durante o período de tratamento. Sua absorção após a ingestão oral possui uma eficiência de 30%, chegando ao pico de concentração três horas após a administração. As vias de metabolização e biotransformação são feitas por meio de hidroxilação e oxidação por enzimas metabolizadoras da superfamília

CYP450, e a eliminação de 90% da droga ocorre após sete dias da ingestão, através das fezes (DR, 2005, 2016).

2.4 VARIABILIDADE E FARMACOGENÉTICA

A variação genética é um indicador importante para se compreender como um organismo é capaz de se adaptar diante das pressões do ambiente. A complexa interação entre os diferentes fenômenos biológicos que afetam os seres é a responsável pela enorme diversidade da vida no planeta, o que possibilitou ao longo dos vários processos de evolução, o surgimento da diferenciação fenotípica entre os organismos. As alterações em uma porção específica na sequência nucleotídica são decorrentes de transformações que ocorrem espontaneamente pelo genoma, produzindo regiões variantes conhecidas como Polimorfismos, possibilitado que sejam passadas pelas gerações o alelo original e um alelo mutado (MCINNES *et al.*, 2016; SENE, 2009).

As variações conhecidas como Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs) são alterações pontuais que ocorrem em um único nucleotídeo do genoma e podem produzir efeitos diversos em grupos de indivíduos. Os níveis de exposição a xenobióticos (tipo e quantidade) permitem a formação de níveis de respostas metabólicas variadas dentro dos grupos separados por limites geográficos e culturais. A existência de SNPs em genes de interesse farmacológico estão relacionadas a existência de variabilidades interindividuais de respostas à xenobióticos, podendo explicar a manifestação de fenômenos como: quadros de resistência a medicamentos e manifestações de reações adversas (SANTOS *et al.*, 2016; PENA, 2005; KURTZ, 2009).

O desenvolvimento das tecnologias de análise e do estudo do perfil molecular permitiu caracterizar com grande detalhamento a genômica humana, trazendo grandes implicações para as mais diversas áreas do meio clínico, aperfeiçoando os modelos farmacocinéticos e farmacodinâmicos estudados pela farmacologia. A farmacogenética surge como uma ferramenta importante da medicina de precisão, sendo uma área da farmacologia clínica que envolve o estudo dos genes que atuam no controle de reações à fármacos. Essa associação é comprovada como uma importante resposta para inferir dados a respeito das diferenças entre os mecanismos de ação das drogas em indivíduos submetidos a diferentes tipos de intervenções terapêuticas (SUAREZ-KURTZ, 2018; TANIGUCHI e GUENGERICH, 2009).

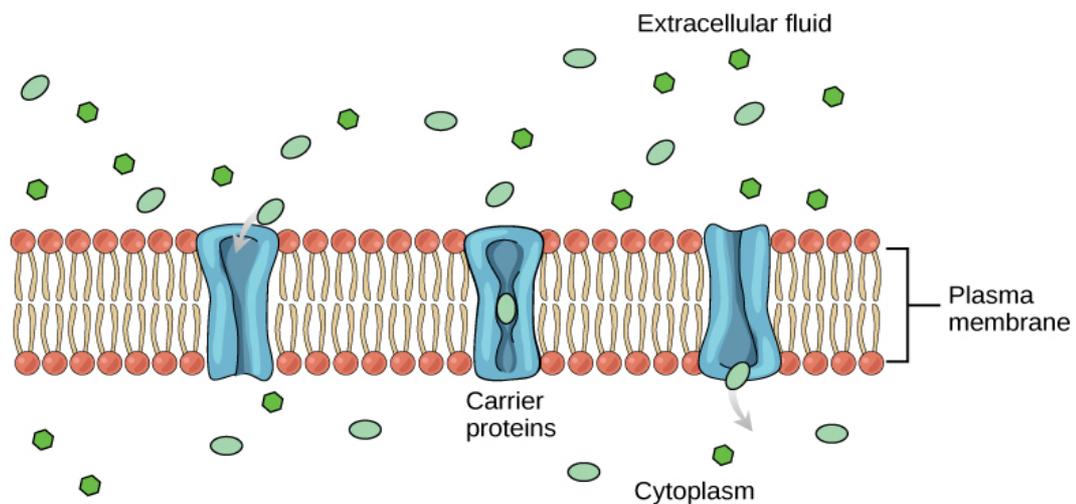
A presença de SNPs em regiões do DNA responsáveis pela expressão de proteínas de interesse farmacológico está relacionada à existência de variabilidades interindividuais de resposta a drogas, podendo explicar fenômenos clínicos como: quadros de resistência a medicamentos e manifestações de reações adversas (FUJIKURAA *et al.*, 2015).

Estudos aplicados a terapias oncológicas apresentam grande interesse em compreender a variabilidade das respostas terapêuticas durante um tratamento quimioterápico, sendo uma área que enfrenta grandes dificuldades na elaboração de tratamentos farmacológicos. A aplicação da farmacogenética em terapias oncológicas possibilita compreender aspectos da atuação da variabilidade fenotípicas que interage com os xenobióticos carcinogênicos, e que podem interferir na evolução do quadro clínico do paciente (SANTOS *et al.*, 2016; PENA, 2005).

2.5 MECANISMO DE RESISTÊNCIA E GENE MDR

O efluxo e influxo dos xenobióticos para o interior da célula envolvem canais de transportes existentes na membrana, utilizados por estruturas de carreamento que auxiliam na homeostase do meio celular (Figura 9). O papel de transporte destas substâncias é realizado por proteínas específicas para o carreamento de substratos, essas subunidades movem, do meio intra e extracelular, diversos aminoácidos, açúcares, vitaminas, peptídeos e drogas (KATHAWALA *et al.*, 2014; ROCHA, 2016).

Figura 10 – Modelo de transporte de substrato para o meio intra/extracelular por meio de proteínas carreadoras.



Guiada por um “protocolo” adaptativo, o processo que a célula passa para adquirir resistência e regular sua concentração no meio interno é associado a fenômenos moleculares e ambientais (sem que sejam mutuamente excludentes). Os fatores que colaboram para o surgimento de uma resistência a medicamento podem ser resultantes de: 1) fatores extracelulares (de caráter fisiológico); 2) fatores intracelulares (que envolvem a concentração de uma substância no interior da célula); e 3) fatores biológicos (influência genética e alterações epigenéticas). A resistência de origem genética pode ser decorrente de processos moleculares como amplificação gênica, aquisição mutagênica e superexpressão de proteínas relacionados a alterações cromossômicas, assim como o BCR-ABL (CISNEROS, 2018).

A superexpressão de proteínas envolvidas no efluxo de substâncias é regulada por um grupo de transportadores inseridos genes associados ao transporte de fármacos para dentro e fora da célula através da membrana plasmática. As proteínas transportadores ABC (ATP-binding Cassete Protein) pertencem a maior família de transportadores de proteínas em organismos, atuando nas funções fundamentais do processo de regulação do nível de concentração de xenobióticos e moléculas tóxicas no interior da célula, o determina a sensibilidade à substâncias. Por meio da conversão de ATP para ADP (Adenosina Di Fosfato) por hidrólise, os transportadores obtém energia para carrear seus substratos específicos pela membrana celular, seguindo um complexo de sinalização de concentração celular que impede o acúmulo dos mesmos em seu interior (SILVA, 2017).

A Superfamília ABC possui 49 genes transportadores humanos descritos (e oito genes adicionais em outras espécies de mamíferos), com regiões nucleotídicas conservadas que possuem sequências de domínios de Ligação de ATP conhecidos como Dobras de Ligação de Nucleotídeo (nucleotide-binding folds - NBFs), presentes em todas as proteínas de ligação de ATP (MOSCOW *et al.*, 2003).

Em células eucarióticas, a maioria dos genes ABCs auxiliam no transporte de compostos de dentro do citoplasma para algum compartimento no meio intracelular. De relevância particular, os transportadores da P-glicoproteína (PGP); da Proteína de Resistência ao Câncer de Mama (BCRP); e a Proteína de Resistência a Múltiplos Fármacos (MRP), são os responsáveis por transportar mais de 80% dos agentes antitumorais utilizados em tratamentos. As superexpressões desses transportadores permeiam a maneira como a ação de Resistência a Múltiplas Drogas (Resistance to Multiple Drugs - MDR) afeta a metabolização de agentes antitumorais (BRUNTON *et al.*, 2008; DEAN e ANNILO, 2005).

Devido a variabilidade interindividual, os transportadores ABC sofrem mutações nos seus mecanismos de expressão, resultando em proteínas transportadoras que possuem papel

intrínseco na MDR, e que podem adquirir fenótipo de resistência a células cancerígenas. A resistência cruzada e adquirida a medicamentos permite que as células tumorais possam reduzir seu conteúdo intracelular a níveis sub-letais, um processo que pode resultar em vários fatores e reações alternativas. As múltiplas variantes de transportadores proteicos estão relacionadas com o desempenho de MDR na diminuição do acúmulo de drogas (comumente associado ao aumento do efluxo), uma vez que os membros da família de genes envolvidos na ação MDR podem induzir o desempenho dos transportes energéticos no efluxo por meio de transferência de informação genética célula-a-célula (MOSCOW *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2015).

Atualmente, a resistência das células tumorais de pacientes com LMC representa uma barreira considerável aos tratamentos quimioterápicos. Em ITQs, a presença ou aquisição de mutações nos domínios quinase auxilia na manifestação de mecanismos de intolerância ou resistência aos tratamentos. Os níveis de resistência manifestados por pacientes com LMC são classificados em primário e secundário, sendo: 1) a resistência primária uma ausência de resposta durante um tratamento inicial (associado a presença de variantes genéticas geradas da translocação BCR-ABL); e 2) a resistência secundária sendo a perda da resposta à longo prazo devido a exposição de um ITQ durante o tratamento (MILLER, 2014; WANG *et al.*, 2018).

2.6 POLIMORFISMOS NOS GENES ABCs

2.6.1 Gene ABCC1

O gene ABCC1 (ATP Binding Cassette C1) está localizado no cromossomo 16 p13.1, uma região que possui cerca de 200.000 pares de bases, contendo 31 éxons codificadores de proteína de 1.531 aminoácidos. O ABCC1 é adjacente ao gene ABCC6, supondo-se que um tenha sido originado do outro por meio de uma duplicação. O grupo ao qual o ABCC1 pertence inclui sete subfamílias (ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCE, ABCF e ABCG) separadas de acordo com suas divergências evolutivas, responsáveis por expressar diferentes proteínas transportadoras que determinam a MDR. Essa superfamília contém proteínas cujas membranas translocam uma grande variedade de substratos através de membranas, como: produtos metabólicos, lípidos, esteróis e fármacos (AU *et al.*, 2014; DEAN, 2001; NCI, 2018; STOMKA *et al.*, 2015).

A ação regulatória do gene ABCC1 desempenha papel na eficácia e toxicidade de certas drogas, possuindo um perfil muito semelhante a ação do gene ABCB1, ambos atuantes no processo de diminuição dos níveis de acúmulo de substâncias xenobióticas em células multirresistentes. A P-glicoproteína associada a resistência à múltiplos fármacos (MRP) representam o ramo “C” da superfamília ABC, compreendendo o maior número de transportadores conhecidos por conferir resistência a agentes quimioterápicos. Os estudos iniciais com a proteína MRP1 possibilitou a associação do gene ABCC1 como um dos primeiros membros da superfamília ABC com fenótipos de resistência a quimioterápicos em células de carcinoma pulmonar. Ao longo dos anos, os fenômenos de expressão de MRP1 também foram associados à vários tipos de câncer e uma grande variedade de substratos de transporte (COLE, 2014; MUNOZ *et al.*, 2007; STOMKA *et al.*, 2015).

A MRP1 possui três domínios de transmembrana hidrofóbicos, chamados: 1) TMDO (com ligação N-terminal); 2) TMD1 (ligação medial) e 3) TMD2 (ligação C-terminal). O núcleo da proteína apresenta dois domínios de ligação de nucleotídeos hidrofílicos (hydrophilic nucleotide binding domains - NBDs) associados com dois dos domínios de transmembrana hidrofóbicos, sendo: 1) NBD1 associado com TMD1 e 2) NBD2 associado com TMD2. Ambas as funções dos domínios possibilitam a ligação e hidrólise do ATP envolvido nos transportes de substratos pelos meios intra/extracelular. Sua expressão ocorre em quase todos os tecidos humanos, possuindo diferentes níveis de expressão e alta expressão em várias classes de células secretoras, como coração, rim, pulmão, testículos, glândulas adrenais, placentas e músculo esquelético, e em menor escala nas células do sistema circulatório, como os eosinófilos e eritrócitos (STOMKA, 2015).

A regulação da expressão de proteínas MRP1 (assim como outras proteínas de genes ABC) foi apontada por Balaji *et al.* (2016) como possuindo influência de terapias quimioterápicas, uma vez que foi detectada em amostras de tecido de pacientes em tratamento de câncer um aumento na expressão de transportadores, se comparado com amostras de tecidos saudáveis.

Cole (2014) cita que, nas últimas décadas, a relevância da MRP1 na saúde humana e no tratamento de doenças foi firmemente estabelecida, estando continuamente associada a interesses pré-clínicos e clínicos. A própria proximidade do ABCC1 com demais exemplares da família ABC (MDR1, ABCA2 e ABCG2) foi inferida por Dharmapuri *et al.* (2015), o que permite parâmetros de associação de terapias de resistência a determinadas drogas no tratamento de LMC com Imatinibe e outros Inibidores.

O polimorfismo mais comum detectado no gene ABCC1 são os SNPs, apresentando variações étnicas na frequência e distribuição. Dentre os possíveis marcadores alélicos associados a quadros de resistência a fármacos quimioterápicos é destacado o SNP rs28364006. As demais variações genéticas no gene ABCC1 são investigadas quanto a sua frequência em grupos distintos, que incluem SNPs associados a herança étnica como um provável causador do aumento da probabilidade de incidência de alterações na expressão de proteínas, mudanças na especificidade de substratos e transporte de substâncias para a célula (YIN e ZHANG, 2011).

2.6.2 Gene ABCC2

A proteína transportadora de Resistência a Múltiplos Fármacos 2 (MRP2), é codificada pelo gene ABCC2, localizado na porção 10q24 do cromossomo, possui 32 éxons e está incluso na superfamília de transportadores ABC. A proteína MRP2 (multidrug resistance-associated protein 2) é um transportador multiespecífico expressado em células epiteliais dos túbulos proximais do rim, testículos, cérebro, enterócitos, membrana canicular dos hepatócitos (envolvido na eliminação de processos biliares de eliminação de resíduos exógenos e endógenos) e placenta. Assim, exercem funções de barreira vitais na farmacocinética de xenobióticos envolvidos em ações infamatórias e carcinogêneas (JEMNITZ *et al.*, 2010; ANDERSEN *et al.*, 2015).

O primeiro local em que a proteína do gene ABCC2 foi detectada está localizado na membrana apical de roedores e em células de hepatócitos em humanos. Assim como a MRP1, a MRP2 possui seletividade de substratos similar, tendo uma semelhança compartilhada de 49% dos mesmos aminoácidos e desempenhado papel importante em células polarizadas com papel de desintoxicação por meio das bombas de regulação de toxinas. Sua especificidade permite transportar ativamente muitas substâncias anticâncer e outras drogas, como: antibióticos, metotrexato, antraciclina, irinotecano, alcaloides e Inibidores de proteases (NIES e KEPPLER, 2007; VLAMING *et al.*, 2006; LESLIEA *et al.*, 2005).

Alterações no ABCC2 representam um risco para a formação de mutações na MRP2. Embora haja um número considerável de polimorfismos descritos, apenas alguns podem indicar desenvolvimento da Síndrome de Dubin–Johnson, além de quadros com pior prognóstico em mulheres com icterícia na gravidez após uso de contraceptivo e hiperbilirrubinemia. Todavia, o desempenho do ABCC2 também é relacionado a variabilidade

de respostas em casos de MDR em doenças crônicas, tendo sido detectada com níveis variados de expressão em células cancerígenas de diversos tecidos, como: colo-retal, gástrico, pulmão e até células sanguíneas. Dessa forma, devido a sua semelhança com a MRP1, alterações na MRP2 podem ser vistas como biomarcadores relacionados à quadros de resistência a medicamentos anticâncer (ANDERSEN *et al.*, 2015; SOSANI *et al.*, 2012; SCHOOR *et al.*, 2014).

2.6.3 Gene ABCC3

O gene ABCC3 (ATP binding cassette subfamily C member 3), localizado em 17q21.33, com 32 éxons descritos, é uma sequência codificadora de proteína que pertence à subfamília ABCC. Sua identificação em laboratório foi feita com base na homologia entre o ABCC1 e ABCC2, embora sua sequência seja bastante conservada em eucariotos, sendo encontrado em humanos, chimpanzés, roedores, cães, entre outros. Sua função e regulação dentre os ABCs não é totalmente compreendida, além de ter sido utilizado em poucos trabalhos investigativos (SCHOOR *et al.*, 2014; NCBI, 2019).

A proteína expressada pelo gene ABCC3 é a MRP3 (Multidrug Resistance-Associated Protein 3), possuindo, dentre as demais MRPs, a maior quantidade compartilhada de sequências de aminoácidos com a MRP1 (58%), e consideráveis similaridades de associações de substrato com a MRP2. Seu papel na regulação celular ocorre no transporte de substratos de sais biliares e determinadas drogas aniônicas de interesse clínico através das bombas de transporte basolaterais para o sangue, sendo expressada (em níveis variados) pelas glândulas adrenais, ductos biliares intra-hepáticos, intestino, pâncreas e rim (ZELCER *et al.*, 2001; KOOL *et al.*, 1999; DURMUS *et al.*, 2018).

Os tratamentos de câncer utilizando Metotrexato (MTX) pode levar a quadros associados ao nível sérico capaz de induzir a toxicidade em níveis graves ou letais nos pacientes. Os transportadores ABCC2 atuam na farmacocinética do MTX e dos seus metabólitos, na sua ausência, os transportadores ABCC3 atuam no transporte dos compostos tóxicos pelo hepatócito até a circulação sanguínea, proporcionando uma via de eliminação secundária por meio da urina. Indivíduos com a síndrome de Dubin-Johnson, que possuem deficiência nos transportadores MRP2, apresentam expressão aumentada de MRP3 e maior predisposição para sofrerem toxicidade nos tratamentos com MTX (SCHOOR *et al.*, 2014; VLAMING *et al.*, 2008).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a distribuição alélica de SNPs nos genes transportadores de substratos ABCC1, ABCC2 e ABCC3, e avaliar aspectos da resposta farmacogenética de pacientes com LMC em tratamento com ITQs no Amapá.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar e descrever os dados epidemiológicos e clínicos dos pacientes com LMC em tratamento com ITQs no HCAL, na cidade de Macapá/AP;
- Identificar as variantes polimórficas nos genes de MDR: ABCC1 (rs28364006), ABCC2 (rs717620) e ABCC3 (rs9895420) em uma amostra populacional;
- Avaliar as possíveis associações entre o perfil genético dos pacientes e a resposta dos mesmos ao tratamento com ITQs.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

Durante a execução do trabalho, os pacientes que optaram por participar foram devidamente esclarecidos a respeito da pesquisa, sendo então solicitados a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Anexo A), informando que concordaram em ceder amostras biológicas para o estudo, recebendo uma cópia do documento assim que o assinaram.

O projeto possui aprovação pelo CEP/CONEP da Universidade Federal do Amapá, cujo número de identificação do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) é: 95908318.70000.0003 (Anexo B).

4.2 TIPO DE ESTUDO

O estudo tratou-se de uma investigação observacional-descritiva, que consistiu-se em obter amostras biológicas para análise molecular.

4.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO

A população em estudo contém 20 pacientes diagnosticados com LMC em tratamento com ITQs na Unidade de Alta Complexidade em Oncologia (UNACON) do Hospital Estadual de Clínicas Dr. Alberto Lima (HCAL), localizado na Avenida Fab, nº 70, no bairro Central de Macapá/AP.

4.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios para inclusão deste estudo abrangeram: pacientes com idade igual ou superior a 18 anos; que aceitaram participar do estudo por meio de assinatura do termo de Livre Consentimento Esclarecido; que tivessem confirmação clínica de Ph+; e que estivessem fazendo uso de ITQs.

Foram excluídos: indivíduos menores de idade ou considerados incapazes de decidir pela participação no mesmo; pacientes que não apresentavam diagnóstico positivo para LMC e Cromossomo Ph; pacientes que não faziam uso de algum ITQ durante o tratamento.

4.5 TRATAMENTO E ANÁLISE DE DADOS

4.5.1 Avaliação por questionário e análise de prontuários

Assim que foram devidamente esclarecidos a respeito do propósito da pesquisa e da assinatura do termo de consentimento, foi aplicado um questionário (Anexo 3) no qual os pacientes responderam perguntas que avaliavam seu perfil clínico ao longo da farmacoterapia. As perguntas avaliaram o perfil do paciente, o tempo de tratamento e as reações adversas apresentadas durante o tratamento.

Para completar a investigação epidemiológica, foi realizado um levantamento de dados com base nos prontuários cedidos pelo comitê de saúde do HCAL. As informações de cada paciente foram passadas pelos critérios de inclusão e exclusão para filtrar os dados relevantes ao estudo. A avaliação dos prontuários foi feita com auxílio do grupo administrativo do hospital juntamente com a equipe médica.

4.5.2 Coleta e extração de amostras

A investigação molecular foi iniciada com a etapa de coleta de material biológico por meio de sangue periférico (armazenado em tubo de sangue com EDTA) e raspado bucal (coletado com swab estéril e armazenado em eppendorf de 5ml). Os dois métodos de coleta foram utilizados com o objetivo de conseguir maior variabilidade de material genético para análise e reduzir o risco de perda de amostras entre as etapas de coleta e extração.

Os materiais biológicos foram transportadas para armazenamento resfriado no Laboratório de Biologia Molecular e Análises Clínicas da Universidade Federal do Amapá.

- **Raspado Bucal**

A extração de DNA das células de raspado bucal em Swab foi realizada por Chelex® 100 Resin (Bio-Rad Laboratories, EUA) a 5%, seguindo o protocolo do fabricante.

O preparo da solução foi feito por diluição de 5 g da resina Chelex em pó em 100 ml de água destilada. A solução sofreu homogeneização por agitação automática durante 30 minutos em temperatura ambiente.

Para o preparo da amostra para a extração, foi adicionado 1 ml de água estéril no eppendorf de 1,5 ml com o swab de coleta, o qual foi incubado por 30 minutos em temperatura ambiente.

Após o tempo de incubação, os swabs foram macerados no interior do tubo para soltar as fibras (com o raspado bucal coletado), e então descartados. Os eppendorfs foram levados para a centrifugação por 3 minutos a 12000 rpm, sendo realizado o descarte de 975 μ l da água.

Após a centrifugação, a amostra passou por ressuspensão do *pellet* com auxílio de pipetagem. A seguir, houve a adição de 200 μ l da solução de Chelex (5%) e 2 μ l de Proteinase K (Ludwig Biotecnologia, Brasil) a 10 mg/ml. A solução foi incubada no banho a seco (termobloco) por 15 minutos a 56°C.

A solução passou por agitação no vortex por um período de 10 segundos, sendo levado em seguida para centrifugação a 12000 rpm por 20 segundos. Após a centrifugação, a solução foi colocada para incubação em banho a seco a 100°C por 8 minutos, sendo mais uma vez levada ao vortex por 10 segundos e centrifugada por 3 minutos a 12000 rpm para obter o DNA extraído.

Após a extração as amostras foram armazenadas em ambiente resfriado a -18°C.

- **Sangue Total**

A extração do DNA das amostras de sangue total foi realizada por meio do Kit de extração de DNA genômico em sangue: Blood/Tissue DNA Mini Kit da Mebep Bioscience (Ludwing Biotec), seguindo o protocolo do fabricante.

O procedimento foi iniciado com pipetagem de 20 μ l de proteinase K em tubo de eppendorf de 1,5ml, 200 μ l de sangue e 200 μ l de PBS (Phosphate-buffered saline). Em seguida foi adicionado 100 μ l do reagente *Buffer* CB do Kit de extração. Os eppendorfs passaram por agitação no vórtex durante 10 segundos.

Com as amostras devidamente homogeneizadas, os eppendorfs foram levadas para incubação em banho-maria a 70 °C por 15 minutos. Após esse período, adicionou-se 100 μ l de Etanol a 70% a resfriado a -18 °C, passando novamente por agitação no vórtex. Em seguida, a solução foi transferida para os tubos com coluna spin de 2 ml provenientes do Kit, sendo levados para centrifugação a 13000 rpm por 1 minuto.

Após a centrifugação o sobrenadante formado foi descartado e a amostra sofreu adição de 250 µl do *Buffer* IR na coluna spin, para novamente ser passada por centrifugação à 12000 rpm por 30 segundos. O sobrenadante foi descartado e houve adição de 300 µl de *Buffer* WB nas amostras, sendo mais uma vez levadas a centrifugação à 12000 rpm por 30 segundos, passando por um novo descarte de sobrenadante.

Foi feita repetição da etapa anterior com as mesmas especificações de pipetagem de reagente, centrifugação e descarte.

Com a coluna vazia após a última etapa, as amostras passaram por nova centrifugação a 13000 rpm por dois minutos, transferindo a coluna centrifugada com o material genético para novo tubo de coleta de 2 ml. Foi adicionado em seguida 50 µl de *Buffer* EB para a eluição da amostra, sendo levada para incubação em temperatura ambiente por três minutos.

Após o período incubação, foi feita nova centrifugação por 12000 rpm durante um minuto, duas vezes. As colunas foram descartadas dos eppendorfs e as amostras extraídas foram identificadas e armazenadas em ambiente refrigerado a -18 °C.

Após o fim das extrações, as amostras de sangue e raspado bucal passaram por análise de concentração e pureza do DNA por meio de quantificação no espectrofotômetro SpectraMax® i3 (Molecular Devides, EUA). Com base nos valores de absorbância a 230nm (A230), 260nm (A260) 280nm (A280), as amostras que apresentaram valores dentro da faixa de absorbância (1,8-2,1 para as razões A230/ A260 e A260/ A280) foram selecionadas.

O resultado da análise indicou que as amostras de raspado bucal extraídas pelo método de Chelex apresentaram maior concentração de DNA, ainda assim, as amostras de sangue extraídas pelo Kit possuíam grau de pureza superior, sendo selecionados e submetidas para a genotipagem.

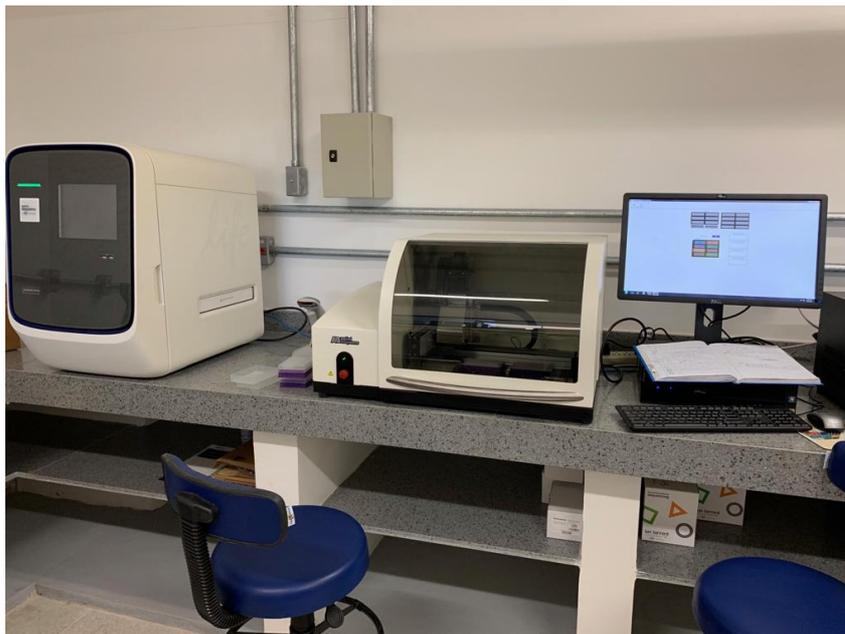
4.5.3 Genotipagem

A genotipagem foi realizada no Núcleo de Pesquisa em Oncologia (NPO) do Hospital Universitário João de Barros Barreto (Belém/PA), utilizando o método de reação em cadeia da polimerase em tempo real (PCR) em Plataforma OpenArray – QuantStudio 12K flex (Figura 11) da Life Technologies (Califórnia, EUA). Neste estudo foi utilizado o modelo de análise para 32 polimorfismos por reação.

Para o preparo das amostras, o DNA genômico extraído foi diluído à 50 ng e adicionadas na proporção de 2 ul para 2 ul do Master Mix TaqMan® OpenArray®

Genotyping (Life Technologies, California, EUA) na placa externa de genotipagem para 384 poços (10-20 ul), sendo então movidas por meio de pipetagem automatizado pelo Sistema OpenArray™ AccuFill® para os nanopoços da microplaca personalizada pelo sistema do QuantStudio (Figura 11). A identificação das amostras para a aplicação foi feita pelo Sample Tracker Software, que possibilitou o mapeamento das amostras na placa.

Figura 11 – Plataforma OpenArray® QuantStudio 12K utilizada para genotipagem.



Fonte: MODESTO, 2019

Após a pipetagem das amostras no chip, foi feita a estabilização por adição do fluído de imersão no interior, sendo seladas por pressão com uma superfície de vidro (case lide) e inseridas no bloco de termociclagem para a reação de PCR da plataforma (QuantStudio 12K Flex-Real Time PCR System, Applied Biosystems®, Foster City, Califórnia, EUA).

Por meio do ensaio de discriminação alélica de base única, as sondas do tipo alelo-específico da TaqMan (TaqMan® Allelic Discrimination Assay) foram os corantes VIC™ (para o Alelo 1) e FAM™ (para o alelo 2), sendo encomendadas de acordo com as especificações do banco de dados de marcadores da empresa. A fluorescência emitida pelos marcadores foi variante para cada alelo, sendo: azul (para o padrão homocigoto VIC/VIC do alelo 1), vermelho (padrão homocigoto FAM/FAM do alelo 2) e verde (padrão heterocigoto VIC/FAM em ambos os alelos).

As informações das variantes e das sondas marcadoras selecionadas para este estudo estão registrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Tabulação das informações dos SNPs utilizados para os alelos dos genes ABCC1, ABCC2 e ABCC3.

Gene/Variante	Sequência Contexto	SNPs
ABCC1/ rs28364006	GACGGGAGCTGGGAAGTCGTCCCTG[A/G]CCCTGGGCTATTTCCGGATCAACA	A>G
ABCC2/ rs28364006	ACAATCATATTAATAGAAGAGTCTT[C/ T]GTTCCAGACGCAGTCCAGGAATCAT	C>T
ABCC3/ rs9895420	GTATTTAGAGAGACATCCCCCTGGC[A /] T]TGGCCCAGGGGCCGCTCGCAGGGGC	T>A

Fonte: Dados do autor, 2019

A reação levou três horas e trinta minutos, tendo passado pela análise do espectro do comprimento de ondas específicas da fluorescência, sendo captadas por meio do fotodetector de alta performance do QuantStudio. Após o fim da análise das sondas, os dados foram associados à um código de barras interno e importados para o software TaqMan® Genotyper, e interpretados.

4.5.4 Análise estatística

Para a análise dos dados epidemiológicos foi aplicado o cálculo de mediana para os valores de idade de diagnóstico e para o tempo de tratamento. Os dados clínicos e a genotipagem foram submetidos a tabulação em planilha pelo programa Microsoft® Office Excel 2013 (Redmond, Washington, EUA) e analisados por meio de correlação com o teste de Qui-quadrado (χ^2) pelo Software R na versão 3.6.1 para Windows.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EPIDEMIOLOGIA

5.1.1 Perfil dos pacientes

O estudo compreendeu 20 pacientes diagnosticados com LMC e que estavam em terapia com ITQs, com retornos trimestrais programados ao HCAL para avaliações e exames complementares.

Os pacientes foram classificados em dois grupos de análise na Tabela 2, representando o sexo e a idade durante a fase de diagnóstico da doença.

Tabela 2 – Tabulação dos dados de frequência e mediana das características epidemiológicas de Sexo e Idade obtida dos prontuários e questionários dos pacientes do HCAL.

Característica	N (%)	Mediana
Sexo		
Masculino	13 (65%)	-
Feminino	7 (35%)	-
Geral	20 (100%)	-
Idade (diagnóstico)		
< 40 anos	10 (50%)	29,5
≥ 40 anos	10 (50%)	52,5
Geral	20 (100%)	38,5

Fonte: Dados do Autor, 2019

A previsão do INCA (2018) para a ocorrência de novos casos de Leucemias ao ano no Amapá é de aproximadamente 20 casos em homens e inferior a esse número em mulheres, e segundo a American Cancer Society (2018) a LMC representa 15% dos casos de Leucemias diagnosticados, tendo como os únicos fatores de risco para o desenvolvimento da doença, o sexo, a idade e a exposição à radiação. Com isso, este estudo se limitou a correlacionar apenas os fatores de risco como condições para a manifestação da doença.

A World Health Organization (2018) aponta o sexo masculino como um fator de risco ligado à predisposição de desenvolvimento da LMC. O trabalho de Radivoyevitch *et al.* (2014) explorou o sexo como um fator de risco para a doença, afirmando que pacientes masculinos de diferentes grupos étnicos apresentam incidência maior de desenvolvimento da doença, inferindo que uma das possíveis causas é um número maior de células-alvo em homens que podem sofrer atividade neoplásica.

Devido à ausência de dados na literatura, não foi possível correlacionar as informações deste estudo com outros levantamentos epidemiológicos para LMC no Estado do Amapá. No entanto, o levantamento realizado por Andrade *et al.* (2019) com 120 pacientes diagnosticados com LMC entre 2002-2014 em um hospital de região amazônica (Belém-PA), 51,7% eram homens (n 62) e 48,3% eram mulheres (n 58). No levantamento de Cruz *et al.* (2017) em uma população de 10 pacientes no Hospital Universitário de Niterói (Rio de Janeiro), também foi encontrado maior frequência de casos do sexo masculino, sendo 60% homens (n 6) e 40% mulheres (n 4). Assim como no estudo de estimativa de Fassina (2003) com 276 pacientes do Rio Grande do Sul, no qual novamente a expectativa da frequência encontrada foi superior em homens, tendo sido registrados 56,9% pacientes do sexo masculino (n 157) e 43,1% sendo do sexo feminino (n 119).

Além da incidência maior ser em pacientes do sexo masculino, neste estudo foi detectado um número elevado de incidência de LMC no grupo de indivíduos com idade inferior aos 40 anos (tendo o paciente mais jovem apresentado 20 anos).

O Manual de Leucemia Mieloide Crônica da Leukemia & Lymphoma Society (2014) aponta a ocorrência de casos de LMC como um fator crescente à medida que ocorre o avanço da idade. O manual indica que a frequência da doença aumenta de 1,2 (por 100.000 habitantes) para 2,4 quando um grupo populacional passa de 40 para 55 anos, podendo chegar a 9,6 aos 80 anos. Também é estabelecido que estas estimativas de risco tendem a seguir as particularidades de cada população, considerando fatores socioeconômicos e culturais, uma vez que afetam a progressão das faixas etárias de um povo.

Neste estudo, a mediana para a idade geral de diagnóstico dos pacientes do HCAL foi de 38,5 anos. Estes dados diferem do estudo de Chen *et al.* (2013) com 13.896 pacientes com LMC de diferentes regiões dos EUA, que apresentaram uma mediana de 66 anos, assim como do manual da Leukemia & Lymphoma Society (2014), que aponta uma mediana de 64 anos para os casos de diagnóstico.

No levantamento feito por Alvez (2009) em 112 pacientes com LMC da cidade de São Paulo, a mediana das idades na fase crônica foi 42,3 anos. No trabalho de Funke (2005) com 98 pacientes tratados com Imatinibe no Hospital das Clínicas do Paraná entre 2000-2003, a mediana de idade encontrada foi de 44 anos (variando entre 10 a 81 anos).

Segundo Hoglund *et al.* (2015), o risco de LMC cresce até o pico de manifestação da doença (apontado como sendo por volta dos 75-80 anos), constatando em seu estudo de levantamento de dados com diferentes populações europeias entre 1975-2012, existir uma mediana de 57-60 anos para o diagnóstico da doença.

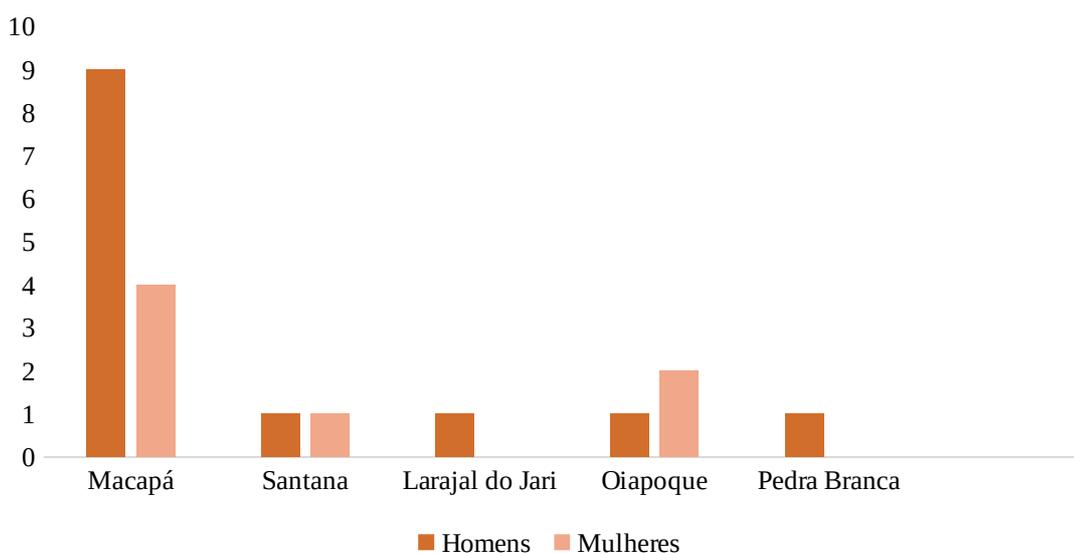
Em controvérsia aos estudos já citados, Reksodiputro *et al.* (2015), em seu trabalho com uma população indonésia com LMC avaliados entre 2009-2011, indicou uma mediana de idade no diagnóstico de 100 pacientes como sendo entre 34-35 anos. Dentre os demais trabalhos citados, o valor de mediana do estudo de Reksodiputro foi o mais próximo do valor encontrado neste trabalho na população amapaense.

Tanto os valores encontrados neste estudo quanto nos demais referenciados, o sexo se manteve como uma constante de risco maior para homens. Já as diferenças para as medianas de idade de diagnóstico, de acordo com Moraes *et al.* (2017) e Brasil (2014), pode ser um reflexo de fatores individuais de cada população, podendo ter influência ambiental (como agentes químicos, ação de radiação ionizante/não ionizante, infecções) e genética.

5.1.2 Distribuição Geográfica

Quanto à distribuição dos pacientes pelo Estado, o Gráfico 1 mostra a cidade de Macapá como a região com maior prevalência de casos em acompanhamento (65%), uma vez que se trata da capital do Estado e onde se encontra o HCAL, e os demais municípios de residência dos pacientes, sendo estes: Oiapoque (15%), Santana (10%), Pedra Branca do Amapari (5%) e Laranjal do Jari (5%).

Gráfico 1 – Disposição epidemiológica dos pacientes Homens e Mulheres em tratamento com ITQs no HCAL, divididos por municípios no Estado de Amapá



Fonte: Dados do Autor, 2018

O trabalho de Moraes *et al.* (2017), com levantamento de incidência de vários tipos de leucemias pelos Estados brasileiros através da plataforma RHC (2007-2011), evidencia uma carência de informações do Estado do Amapá diante dos levantamentos nacionais. Embora as informações tenham sido registrados no estudo, os dados amapaenses de Leucemias não foram considerados para análise na pesquisa por não apresentarem registros de entrada de casos durante o período de estudo. Desta forma, entre os Estados do Norte, o Pará apresentou 217 casos registrados, Tocantins teve 97 casos, Amazonas teve 70 casos, Acre teve 29 casos, Amapá teve 9 casos, Rondônia teve 8 casos e Roraima teve 3 casos.

Embora o levantamento geográfico dos casos de LMC seja importante para se ter um conhecimento epidemiológico da doença no Estado do Amapá (considerando que não foram encontrados outros estudos com estas informações), o guia europeu de Leucemia Mieloide Crônica da ESMO (2013) aponta em seu levantamento que a influência geográfica não foi um fator de risco para os casos diagnosticados.

5.1.3 Tratamento

Em relação ao tratamento, a Tabela 3 ilustra o tempo de resposta dos pacientes ao tratamento com ITQs.

Tabela 3 – Frequência e mediana do período de tratamento dos pacientes em tratamento com ITQs.

Tempo de Tratamento	N = 20
Menos de 1 ano	3 (15%)
Entre 1 e 2 anos	6 (30%)
Entre 3 e 4 anos	4 (20%)
Entre 5 anos ou mais	7 (35%)
MEDIANA	3,5

Fonte: Dados do Autor, 2018

Ao todo, a maioria dos pacientes do HCAL estão em tratamento há 5 anos ou mais (tendo o monitoramento mais longo alcançado 9 anos), em menor frequência estão os casos novos com diagnóstico a menos de um ano (o paciente mais recente possuía sete meses de tratamento).

Segundo a Leukemia & Lymphoma Society (2014), o esquema terapêutico para LMC segue protocolos de monitoramento para acompanhar a resposta dos pacientes às terapias, entretanto dependem da logística e disponibilidade do próprio serviço de saúde que presta os exames de acompanhamento.

O sistema de monitoramento para o tratamento de LMC do HCAL conta com retornos trimestrais dos pacientes com o médico da unidade para realização de exames hematológicos e receber os ITQs para continuidade das terapias. Em casos de resistência ao medicamento, novo esquema terapêutico é designado aos pacientes, sendo necessário novos exames para investigar a progressão clínica.

O histórico de monitoramento clínico dos casos indicou que: 11 pacientes apresentaram ausência de dados de contagem hematológica durante os retornos trimestrais ao HCAL; quatro possuíam lacunas de informação em mais de 50% dos registros hematológicos; e seis não possuíam acompanhamento completo por RT-PCR ao longo do primeiro ano de tratamento.

Dos desfechos clínicos encontrados nos prontuários ao longo do estudo, houve o registro de um único paciente que passou por progressão da doença para a fase blástica, seguido de óbito (tendo manifestado resposta refratária ao Imatinibe e toxicidade ao dasatinibe). E quanto à eficácia ao tratamento, houve um único caso de alcance da resposta molecular e citogenética após um ano de terapia com o Imatinibe (2013-2014), embora relatasse reações adversas ao medicamento.

Em seu estudo, Rêgo (2014) aborda a dificuldade de monitoramento das terapias dos pacientes com LMC devido a limitações regionais, e aponta a necessidade de adequação dos sistemas de tratamento as realidade estaduais. De igual forma, as dificuldades encontradas neste trabalho refletem a necessidade de maior investimento e padronização do SUS para acompanhar os tratamentos de pacientes com LMC no Estado.

Quanto a resposta ao fármaco, a Tabela 4 ilustra a divisão dos pacientes com base no ITQ que utilizavam no último acompanhamento clínico, se baseando nos dados de prontuário a respeito da resposta dos mesmos ao Imatinibe.

Tabela 4 – Frequência do status de resposta clínica dos pacientes tratados com ITQs.

Variável	Número de pacientes (n)
Resposta positiva	13 (65%)
Falha na resposta	7 (35%)

Fonte: Dados do Autor, 2018

O Imatinibe se manteve como o ITQ mais utilizado na terapêutica no HCAL, o que pode ser apoiado por Iqbal e Iqbal (2014) pelo fato deste medicamento ser designado para a maioria dos casos novos em fase crônica. E como esperado, o Dasatinibe e o Nilotinibe foram encontrados em menor número de casos, uma vez que sua prescrição depende diretamente da resposta clínica ao Imatinibe.

O trabalho de levantamento de Cid *et al.* (2013) em uma população brasileira registrou 100 pacientes com LMC no Nordeste, tendo apenas 65% dos pacientes mantido o tratamento farmacológico até o fim do estudo. Dos pacientes em terapia, 35% eram usuários do Imatinibe; 27% usuários de ITQs de segunda geração (Dasatinibe e Nilotinibe); e 4% se tratavam apenas com Hidroxiúreia.

Para o tratamento com o Imatinibe, os autores também detectaram uma frequência de 20% de pacientes que foram bons respondedores, 12% de resposta subótima, 26% de falha de resposta, 19% de ausência de resposta, 13% de toxicidade, 4% de perda de resposta; 4% de abandono a terapia e 2% de pacientes que passaram para a fase de transplante de medula. Os autores ainda destacam em suas conclusões a necessidade de mudanças no monitoramento da LMC para gerenciar melhor as respostas dos pacientes às farmacoterapias.

Para os ITQs de segunda geração, o manual da American Society of Hematology (2018) afirma que os tratamentos com Dasatinibe ou Nilotinibe são associados a melhor probabilidade do paciente de alcançar os resultados de remissão. De acordo com o levantamento estabelecido por Souza *et al.* (2012), o Dasatinibe e o Nilotinibe possuem maior probabilidade de respostas hematológicas, citogenéticas e moleculares que o Imatinibe, recomendando ambos como os fármacos inibidores com melhores chances de benefícios para o tratamento.

Entre os pacientes deste estudo, dois registraram ter passado por mudanças na dosagem inicial do Imatinibe, trocando a medicação de 400mg para o de 800mg, e apenas um trocou o Dasatinibe de 100mg para o de 150mg. Os três pacientes mantiveram o medicamento com a dosagem ajustada até o fim das coletas de dados deste estudo.

Segundo o manual de Diagnósticos e Terapêuticas para o tratamento da LMC do Ministério da Saúde (2015), para o uso do Imatinibe na fase crônica, a quantidade mais comum é de 400 mg por dia; para o Dasatinibe é 100 mg; e para o Nilotinibe é de 200 mg. O autor considera os aumentos das dosagens do ITQ como um indicador para ausência de resposta farmacológica, requerendo alterações da terapia por parte do médico.

Souza *et al.* (2012) recomendam que após a manifestação de resistência à dosagem de 400 mg do Imatinibe, o paciente deva priorizar passar para o tratamento com o Dasatinibe e o Nilotinibe ao invés do reajuste de doses, uma vez que seu levantamento apontou que a porcentagem de respostas clínicas podem ser maiores em pacientes que utilizavam o Dasatinibe a 140 mg do que para os que utilizavam o Imatinibe a 800 mg.

Desta forma, a resistência aos ITQs representa um desafio para os pacientes com LMC, sendo mais frequentes em casos detectados no estado inicial ou controlado da doença. As

respostas de toxicidade e resistência são indicadores importantes para se compreender a evolução do perfil de resposta a farmacoterapias (CORTES e KANTARJIAN, 2016).

5.1.4 Reações relatadas durante o tratamento

Os resultados da Tabela 5 foram relacionados em categorias de frequência dos sintomas seguindo as classificações das bulas clínicas da Novartis (2019) e da Anvisa (2013) para o Imatinibe e o Dasatinibe.

Tabela 5 – Frequência de desconfortos/Efeitos adversos informados pelos pacientes do HCAL durante o tratamento com o Imatinibe e o Dasatinibe.

Desconforto/Efeito adverso relatado pelo paciente	Número de Pacientes (n)	Categoria do Sintoma
Diarreia	8 (40%)	Muito Comum
Enjoo	7 (35%)	Muito Comum
Cefaleia	6 (30%)	Muito Comum
Vômito	4 (20%)	Muito Comum
Falta de apetite	2 (10%)	Incomum
Tontura	2 (10%)	Comum
Insônia	2 (10%)	Comum
Dores gastrointestinais	2 (10%)	Muito Comum
Sem reação percebida	2 (10%)	

Fonte: Dados do Autor, 2019

De acordo com as orientações do CML Support (2015) o tratamento para LMC com ITQs (principalmente durante o começo da farmacoterapia) pode causar nos pacientes reações adversas ao medicamento (RAMs). Os efeitos fisiológicos causados pelos ITQs, assim como demais medicamentos, dependem do perfil do paciente, podendo variar com base na: idade, saúde, dosagem e o tipo de fármaco administrado (LLS, 2014).

Os pacientes relataram que a maioria dos sintomas ocorreram nos períodos iniciais ao tratamento, durante o uso do Imatinibe na fase crônica da LMC. Embora alguns sintomas tenham persistido ao longo do período de terapia, os efeitos mais agudos cessaram após os primeiros meses de uso do ITQ.

De acordo com os dados levantados pela bula da Novartis, há um número maior de pacientes que relatam RAMs em algum momento do tratamento, com os principais sintomas detectados sendo: neutropenia, trombocitopenia, anemia, cefaleia, dispepsia, edema, aumento de peso, náusea, vômito, câimbras musculares, dor musculoesquelética, diarreia, erupção

cutânea, fadiga e dor abdominal. Alguns desses sintomas foram detectados nos pacientes em tratamento no HCAL.

Neste estudo, além dos sintomas listados na Tabela 3, outras reações foram relatadas pelos pacientes, como: sangramentos, aumento do abdômen, surgimento de: bolhas no corpo, palidez após atividade física, dor ao urinar, manifestação de intolerância a lactose, surgimento de hematomas pelo corpo, coceiras, “vermelhidões”, dores nas articulações, e “aperto no peito”. Estas reações foram relatos isolados, sendo confirmados por apenas um paciente respectivamente para cada sintoma.

O estudo de Alvarenga *et al.* (2010) conclui que os efeitos adversos causados pelo uso do ITQ em indivíduos com LMC são frequentes, tendo detectado 76% dos pacientes estudados apresentaram reações adversas durante o tratamento. As reações mais comuns encontradas foram: cefaleias (76%), náuseas (33%), vômitos (31%) e edemas (33%). O autor ainda destaca a necessidade de avaliação desses efeitos adversos para manter a terapia farmacológica, presando pela sobrevida do paciente.

Durante um ano, os efeitos adversos representaram 6,25% das motivações de abandono das terapias com o Imatinibe no estudo de Andrade *et al.* (2019) em pacientes com LMC, embora este não tenha sido o principal fator registrado que tenha afetado a perda de resposta as terapias com o ITQ.

5.2 GENOTIPAGEM E FREQUÊNCIA DOS SNPs

5.2.1 ABCC1/ rs28364006

A Tabela 6 ilustra a frequência de alelos encontrados nos pacientes e a divisão dos mesmos em grupos que obtiveram resposta positiva ou falha ao tratamento com o Imatinibe

Tabela 6 – Resultados da genotipagem das amostras para a variante rs28364006.

Alelo	Frequência (%)	Resposta positiva	Falha de resposta
A/A	20 (100%)	13	7
A/G	0	0	0
G/G	0	0	0

Fonte: Dados do Autor, 2019

Em pacientes com LMC, o conhecimento dos diferentes níveis de resistência celular à concentração de Imatinibe e Dasatinibe representa a formação de modelos para a identificação

de processos de MDR relacionados a genes. A ação regulatória do gene ABCC1 é descrita por Cole (2014) como importante na eficácia e toxicidade de certas drogas, destacando a atenção que este gene tem recebido nas perspectivas de respostas a fármacos antineoplásicos que sofrem ação de transporte da MRP1. Esta ação resulta no processo de diminuição dos níveis de acúmulo de substâncias xenobióticas em células multirresistente (GROMICHO *et al.*, 2011).

A presença de 100% do genótipo A/A nas amostras do HCAL indica a ausência do polimorfismo rs28364006 nesta população. Segundo dos dados da Pharmgkb (2016), o genótipo A/A não foi profundamente explorado para estabelecer relações com a resposta de certos quimioterápicos (como o MTX), todavia, a presença do alelo A/G é tida como um possível modulador de respostas farmacogenética.

Neste trabalho o valor-p encontrado na análise estatística para o genótipo A/A foi de 0,3711, não indicando significância para relação da presença do alelo com a resposta dos pacientes ao ITQ.

Devido ao caráter inédito deste estudo quanto a sua população e a utilização de uma variante genética pouco explorada em aplicações farmacogenéticas no tratamentos com Imatinibe, um número pequeno de estudos comparativos em populações com LMC foram encontrados na literatura. Entretanto, tendo como base o fato de que alterações somáticas ocorrem com certa frequência em regiões importantes das vias de alvos de ITQs, Klerk *et al.* (2018) descreve as mutações em transportadores ABC, como parte de fenômenos associados a quadros de resistência terapêutica em quimioterápicos.

Jemnitz *et al.* (2010) ressaltam que durante a progressão de um tratamento oncológico há a possibilidade de aumento das chances de um paciente desenvolver resistência as quimioterapias graças a alterações nos genes transportadores da família ABC. O estudo de Zaman *et al.* (1994) em tecido animal buscou avaliar a relação entre o potencial da proteína MRP e a resistência a drogas anticâncer, indicando uma associação com a MDR. Especificamente na superfamília ABC, a investigação de Walsh *et al.* (2009) em tecidos cancerígenos de 95 pacientes submetidos a tratamento com antineoplásicos, detectou a expressão em 100% da proteína MRP1 nas amostras estudadas, indicando que o gene ABCC1 pode estar relacionado com a manifestação de fenótipos de MDR em terapias quimioterápicas.

O trabalho de Jiye e Jianting (2015) buscou estreitar a relação entre os efeitos de MDR e os polimorfismos em MRP1/ABCC1, apontando as possíveis influências desses SNPs na resposta terapêutica, predição de prognóstico, toxicidade de drogas e a suscetibilidade e severidade em diversos tipos de canceres.

O trabalho de Mahjoubi e Akbari (2012) utilizando uma população iraniana avaliou o gene ABCC1 em 42 pacientes pediátricos com LLA e a presença de fenótipos de falha de terapêutica. Os autores detectaram quadros de superexpressão da MRP1 nos pacientes, sem que outras correlações significativas tivessem sido detectadas em outras características clínicas.

Utilizando populações asiáticas distintas, o trabalho de Zhang *et al.* (2014) descreveu resultados de investigações de quatro SNPs associados a resposta farmacológica no MRP1, tendo encontrado frequências que variavam entre 0,5-5,8% no grupo de estudo. Estas frequências são apontadas no estudo como sendo correlacionadas com diminuições de resistência e aumento da resposta farmacológica a medicamentos anticâncer, como o MTX e o etoposideo.

A possibilidade de que as variabilidades em genes MDR possam ser influenciadas por fatores populacionais e geográficos foi explorada no estudo de Wang *et al.* (2005), tendo sido analisada a frequência de haplótipos no gene ABCC1 em populações americanas com diferentes origens étnicas (europeia, africana, chinesa, malaio e indianos). Entre os 227 haplótipos investigados, os resultados apontaram frequências de distribuição de variantes com diferentes níveis de significância para cada grupo, tendo certos marcadores obtido frequências exclusivas para determinados grupos étnicos (e com pelo menos um dos haplótipos ocorrendo em uma população do estudo). Os autores apontam haver uma diversidade alta de variantes no gene ABCC1, mesmo que não tenha sido detectada uma distribuição óbvia entre as populações.

A ausência de outros genótipos nos pacientes do HCAL possibilita afirmar que o alelo A/A não indicou ter desempenhado uma interferência significativa na terapêutica

5.2.2 ABCC2 / rs717620

Na Tabela 7 foi registrado a detecção dos alelos do gene ABCC2.

Tabela 7– Resultados da genotipagem das amostras para a variante rs717620.

Alelo	Frequência (%)	Resposta positiva	Falha de resposta
C/C	13 (65%)	9	4
C/T	5 (25%)	4	1
T/T	1 (5%)	0	1
Não Amplificado	1 (5%)	0	1

Fonte: Dados do Autor, 2019

Alsanosi *et al.* (2014) descreve que a presença de variações nos genes ABCs, embora sejam consideradas “raras”, e por vezes não tenham demonstrado influência significativa em trabalhos clínicos, destaca o desconhecimento da farmacocinética humana em genes como o ABCC2 e o seu papel em processos fisiológicos, como desintoxicação dos hepatócitos e conjugação de xenobióticos, podendo desempenhar função em respostas clínicas.

Os SNPs do gene ABCC2 apresentaram maior incidência dentre os casos de LMC deste trabalho. A frequência alélica encontrada por Gil *et al.* (2018) em estudo farmacogenético no ABCC2 em pacientes que estavam em tratamento oncológico, foi similar ao encontrado neste estudo, tendo o genótipo polimorfismo C/T como o mais detectado.

Embora não seja relacionado diretamente com a resposta de ITQs, de acordo com os dados apontados pela Pharmagkb (2018), o genótipo C/C possui uma correlação com menor risco de toxicidade com o quimioterápico MTX utilizado no tratamento de pacientes com Leucemias Linfoblásticas. O risco de manifestação de toxicidade aumenta quando comparado com a presença das variantes C/T e T/T.

Dentre os genótipos investigados neste estudo, não encontramos relevância estatística na correlação com a resposta ao tratamento com o Imatinibe para nenhum dos alelos apresentados na Tabela 9, obtendo um valor-p de 0,4.

Em demais estudos com pacientes em tratamento oncológico, o gene ABCC2 já foi explorado como um possível fator de interferência terapêutica as respostas a quimioterápicos. Em uma população espanhola de 151 pacientes pediátricos com LLA, Lopez-Lopez *et al.* (2013) encontrou correlações significativas em haplótipos no gene ABCC2 associados a toxicidade em terapias com o MTX. Por sua vez, o trabalho de Hulot *et al.* (2015) levantando dados de 103 pacientes com Linfoma entre 2000-2003, identificou por meio do histórico clínico a resposta farmacocinética e de toxicidade dos pacientes que faziam uso de MTX, assim como investigou o perfil genético por meio de isolamento de fragmentos de genes em modelos *in vitro* para utilizá-los como vetores em cultura celular e analisar a mutagênese do ABCC2. Os dados do monitoramento farmacológico e da identificação molecular apontou a presença de alterações em ABCC2, sugerindo que a MRP2 possui um desempenho significativo na eliminação de substâncias em humanos, ressaltando também implicações nos achados quanto ao potencial do ABCC2 de causar resistência a terapias anticâncer utilizando fármacos inibidores.

Além das associações com o MTX, os genes ABCs já foram relacionados com as terapias envolvendo os ITQs. O trabalho de Au *et al.* (2014) investigando o gene ABCC2 em população asiática com LMC destaca ter detectado uma associação com a variante 3972TT e

a resistência ao Imatinibe. Apesar disso, os autores também afirmam que seus dados não demonstraram uma associação estatística que estabelecesse a frequência do haplótipo estudado com uma resposta preditiva para as terapias com o inibidor. Já a presença de rs717620 no trabalho de Xue e Lu (2016), em pacientes asiáticos submetidos a tratamento com antiepilépticos, os dados obtidos levaram os autores a ressaltarem a possibilidade de associação encontrada entre a MRP2 com a resposta de MDR. Assim, ambos os autores indicam a necessidade de novos estudos com um número maior de amostras e em uma população etnicamente mais diversa.

A discussão de fatores de variabilidade populacional reflete o proposto por Bruhn e Cascorbi (2014), que abordam as características étnicas como possíveis responsáveis por influenciar a manifestação de haplótipos polimórficos dos genes ABCC2 e ABCC3 e afetar as respostas de MDR em pacientes.

5.2.3 ABCC3 / rs9895420

A Tabela 8 ilustra a distribuição alélica encontrada no gene ABCC3.

Tabela 8 – Resultados da genotipagem das amostras para a variante rs9895420.

Alelo	Frequência (%)	Resposta positiva	Falha de resposta
T/T	16 (80%)	10	6
T/A	2 (10%)	2	0
A/A	2 (10%)	1	1

Fonte: Dados do Autor, 2019

Assim como as demais variantes dos genes ABCs investigadas neste estudo, a análise estatística revelou valores não significativos para os genótipos de ABCC3 e a resposta a terapia com o Imatinibe, tendo obtido um valor-p de 0,7.

Em comparação com outros genes da família ABC, a contribuição de ABCC3 é explorada como influenciadora de MDR, principalmente em casos de falha a quimioterapias. O estudo de Zhao *et al.* (2013) com tecido de 199 pacientes em tratamento oncológico para câncer pulmonar, propôs que a expressão de ABCC3 pode ser utilizada como um modelo marcador de predição para resposta a quimioterapia, associada com os diferentes níveis de quimiosensibilidade a drogas de nova geração. Os autores apontaram que o grupo de casos selecionados como “resistentes” as drogas e que possuía expressão positiva para ABCC3 apresentou menor sobrevida global. Posteriormente, Balaji *et al.* (2016) detectou uma expressão de ABCC3 significativamente alta em múltiplos tecidos de câncer de mama (96

amostras), concluindo ser um possível fator que desempenhe papel na indução de resistência a quimioterapia, sugerindo que terapias com inibidores/reguladores para a expressão da MRP3 podem ter benefícios para o tratamento oncológico.

Em estudos investigando as variações de ABCC3, Yang *et al.* (2013) avaliaram o perfil de genes ABC em 208 pacientes pediátricos com osteosarcoma em tratamento quimioterápico, e sugeriu que o polimorfismo rs4148416 possui alta probabilidade de levar a uma resposta negativa a terapia, além de estar relacionado com a menor sobrevida global dos pacientes.

Dentre os demais genes deste estudo, ABCC3 foi o que apresentou maior número de trabalhos descritos que correlacionavam suas variantes com processos de influência de resposta em tratamentos com ITQs.

Um estudo avaliou a significância clínica do gene ABCC3 ao tratamento com o Imatinibe em pacientes com LMC, indicando haver possível influência do mesmo na falha de tratamento (porém, não necessariamente à progressão da doença), sendo considerado um substrato para a proteína MRP3. Com este resultado, os autores afirmam que o diagnóstico de pacientes com altas expressões do gene ABCC3 sofrem risco de uma resposta menos favorável ao tratamento devido a regulação por efluxo da concentração intracelular em doenças que utilizem o imatinibe como terapia (MAFFIOLI *et al.*, 2014).

Tomonari *et al.* (2016) avaliaram a influência do ABCC3 com o ITQ Sorafenibe, considerando seu potencial de desempenhar resistência em células renais cancerígenas. Em conclusão o autor sugeriu haver um papel de influência da proteína MRP3 na resistência ao tratamento de Carcinoma Hepatocelular utilizando inibidores de quinase. De igual forma, no estudo de Zelcer *et al.* (2001) avaliando tratamentos à base de fármacos inibidores, conclui-se que a proteína MRP3 pode desempenhar resistência ao etoposide e teniposide em células cancerosas, sendo importante na eliminação de compostos tóxicos em mamíferos. Os autores também afirmam que o gene ABCC3 possui uma contribuição inferior a MDR se comparado ao gene ABCC1.

Embora não tenha sido encontrado uma associação entre a variante rs9895420 e a resposta ao Imatinibe em populações com LMC, os dados de Carvalho *et al.* (2018) apontaram uma incidência significativa da mesma variante em uma população amazônica, mas em pacientes com LLA que apresentaram o alelo A/T e A/A. Com isso, o alelo A/A indicou possuir uma correlação com a diminuição de toxicidade ao tratamento com o MTX.

6 CONCLUSÃO

Buscando compreender melhor o perfil epidemiológico dos pacientes com LMC em tratamento com ITQs no Amapá, este estudo detectou que pacientes homens foram o grupo mais detectado, uma vez que o sexo masculino é um fator de risco para os casos de manifestação da doença. Também foi detectado maior número de casos em indivíduos com idade de diagnóstico abaixo dos 40 anos, sendo uma faixa etária considerada inferior ao apontado pela literatura como fator de risco para a LMC.

Uma representação significativa da diversidade genética do Brasil compõe o perfil da população estudada, ressaltando a formação da população amapaense, que foi marcada por uma elevada diversidade étnica. Esta diversidade pode ser um fator que colabora na indução de alterações na atividade de carreamento de substâncias das proteínas expressadas pelos genes transportadores, o que motivou a realização deste estudo e sua associação com a resposta farmacológica em terapias quimioterápicas.

A resposta detectada nos pacientes com LMC ao tratamento com ITQs no Estado de Amapá não apresentou relação significativa com alterações investigadas nos genes de transporte de substâncias ABCC1, ABCC2 e ABCC3.

As respostas de resistência ao ITQ na população deste estudo podem apontar a existência de outros possíveis fatores que estejam interferindo nas respostas clínicas, e que talvez ainda não tenham sido investigadas.

Sugere-se novos estudos farmacogenéticos que descrevem melhor a população da região norte, abrangendo mais grupos de indivíduos com histórico de miscigenação populacional. Novos estudos devem incluir outros SNPs com potencial de afetar a resposta farmacológica dos pacientes em tratamento com ITQs, principalmente em genes transportadores de substâncias.

A descrição do perfil genético populacional beneficiaria futuras aplicações clínicas destes dados, podendo gerar melhorias na farmacoterapêutica de pacientes com LMC com ITQs.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACS. American Cancer Society. **Cancer facts & figures 2017**. 2017. Disponível em: <<https://www.cancer.org>>. Acesso em: 19 dezembro de 2018.

ACS. American Cancer Society. **Risk Factors for Chronic Myeloid Leukemia (CML)**. 2018. Disponível em: <<https://www.cancer.org>>. Acessado em: 11 de Junho de 2019.

ACS: **American Cancer Society. Treating Chronic Myeloid Leukemia**. 2018. Disponível em: <<https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8687.00.pdf>>. Disponível em: 19 de Julho de 2019.

ALMEIDA, C. B.; SOUZA, E. F.; OLIVEIRA, G. G. Use of Tyrosine Kinase Inhibitors for Treatment of Chronic Myeloid Leukemia. **Scientific Electronic Archives**, v. 9, n. 5, p. 131-146. 2016

ALVARENGA, T. F.; CARVALHO, L. O.; LUCENAS, S. B.; DOBBINS, J.; AZEVEDO, A.; FERNANDEZ, T. S.; ORNELLAS, M. H. Adverse events and cytogenetic response in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**; v. 32, n. 2, p. xxx-xxx.2010.

ALVEZ, R. S. Analysis of chronic myelogenous leukemia patients with primary or secondary resistance to imatinib mesylate. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 3, p. 166-177. 2009

ANDERSEN, V.; SVENNINGSSEN, K.; KNUDSEN, L. A.; HANSEN, A. K.; HOLMSKOV, U.; STENSBALLE, A.; VOGEL, U. Novel Understanding of ABC Transporters ABCB1/MDR/ P-glycoprotein, ABCC2/MRP2, and ABCG2/BCRP in Colorectal Pathophysiology. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, n. 41, p. 11862-11876. 2015.

ANDRADE, A. R.; LEITÃO, D. S.; PAZ, I. P.; EVANGELISTA, T. R.; MELLO, V. J.; HAMOY, M. Analysis of imatinib adherence in chronic myeloid leukemia: a retrospective study in a referral hospital in the Brazilian Amazon. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v.41, n. 2, p. 106-113. 2019.

ANVISA. Bula Para o Paciente – Sprycel. 2013. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=10590882013&pIdAnexo=1904470>, Acessado em: 09 de Agosto de 2019.

APPERLEY, J. F. Chronic myeloid leukaemia. **Lancet**, v. 385, p. 1447-1459. 2015.

ASH: American Society of Hematology. **Chronic myeloid leukemia: With great success comes great responsibility**. 2018. Disponível em: <<https://www.cml-foundation.org>>. Acessado em: 12 de Julho de 2019.

AU, A.; BABA, A. A.; AZLAN, H.; NORSAL, B.; ANKATHIL, R. Clinical impact of ABCC1 and ABCC2 Genotypes and Haplotypes in Mediating Imatinib Resistance Among Chronic Myeloid Leukaemia Patients. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**. 2014.

AU, A.; BABA, A. A.; GOH, A. S.; FADILHA, A. W.; TEH, A.; ROSLINE, H.; ANKATHIL, R. Association of Genotypes and Haplotypes of Multi-Drug Transporter Genes ABCB1 and ABCG2 With Clinical Response to Imatinib Mesylate In Chronic Myeloid Leukemia Patients. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 68, p. 343–349. 2014.

AZEVEDO, L. D.; BASTOS, M. M.; OLIVEIRA, A. P. O.; BOECHA, N. Sínteses e Propriedades de Fármacos Inibidores da Tirosina Quinase BCR-ABL, Utilizados no Tratamento da Leucemia Mieloide Crônica. **Química Nova**. V. 40, n. 7, p. 791-809. 2017.

BACCARANI, M. European LeukemiaNet Recommendations for the Management of Chronic Myeloid Leukemia. **Blood**, v. 122, n. 6. 2013.

BALAJI, S. A.; UDUPA, N.; CHAMALLAMUDI, M. R.; GUPTA, V.; RANGARAJAN, A. Role of the Drug Transporter ABCC3 in Breast Cancer Chemoresistance. *Plos One*, v. 11, n.5, p. 1-22. 2016.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed. 2015.

BMS. Bristol-Myers Squibb. **Sprycel: Bula do Profissional da Saúde**. São Paulo: Bristol-Myers Squibb, 2016. Bula de remédio.

BONIFAZ-PEÑA, V.; CONTRERAS, A. V.; STRUCHINER, C. J.; ROELA, R. A.; FURUYA-MAZZOTTI, T. K.; CHAMMAS, R.; RANGEL-ESCAREÑO, C.; URIBE-FIGUEROA, L.; GÓMEZ-VÁ, M. J.; GOMEZ-VÁZQUEZ, M. J.; MCLEOD, H. L.; HIDALGO-MIRANDA, A.; PARRA, E. J.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. C.; SUAREZ-KURTZ, G. Exploring the Distribution of Genetic Markers of Pharmacogenomics Relevance in Brazilian and Mexican Populations. **Plos One**, v. 9, n. 11, p. 22. 2014.

BORDA, C. C.; VEGA, C. Aplicação da técnica de sequenciamento em célula individual na fisiopatologia do câncer. **Atlas de Ciências da Saúde**, v. 5, n. 1; 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas em Oncologia. Secretaria de Atenção à Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 355 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas em Oncologia. Secretaria de Atenção à Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 355 p.

BRASIL. **Oncologia: Manual de Bases Técnicas. Ministério da Saúde.** 2013. Disponível em:
<http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/manual_oncologia_15_edicao_06_09_2013.pdf>
Acessado em: 25 de Julho de 2019.

BRASIL. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Leucemia Mieloide Crônica Do Adulto. 2015. Disponível em: <
[http://conitec.gov.br/images/FichasTecnicas/PCDT_LeucemiaMieloide Cr
%C3%B4nicaAdulto_Retificada.pdf](http://conitec.gov.br/images/FichasTecnicas/PCDT_LeucemiaMieloideCr%C3%B4nicaAdulto_Retificada.pdf)> Acessado em: 15 de Julho de 2019.

BRITO, A. M. **Análise espacial da leucemia mielóide crônica por região de desenvolvimento econômico do estado de Pernambuco.** Dissertação (Mestrado Profissional em Saúde Pública), Recife, Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, 2010.

BRITO, M. A farmacogenética e a medicina personalizada. **Saúde & Tecnologia**, n. 14, p. 5-10.

BRUHN, O.; CASCORBI, I. Polymorphisms of the drug transporters ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC3 and their impact on drug bioavailability and clinical relevance. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 10, n. 10, p. 18. 2014.

BRUNTON, L.; HILAL-DANDAN, R. GOODMAN R. **Manual of Pharmacology and Therapeutics.** 1. ed. McGraw-Hill Medical, 2008.

CAMPOS, S. F.; MORAL, D. J. A. G.; LINO, M. R. O. Análise estatística dos registros de aspirado de medula óssea no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 50, n. 2, p. 21-24. 2018.

CARVALHO, A. R. S. G. **Pesquisa e quantificação do transcrito BCR-ABL em amostras de sangue total, neutrófilos e células CD34+. Sua relação com a resposta à terapêutica.** Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública) Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra, 2018.

CARVALHO, A. R. S. G. Pesquisa e quantificação do transcrito BCR-ABL em amostras de sangue total, neutrófilos e células CD34+. **Sua relação com a resposta à terapêutica**. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública) Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra, 2018.

CAVALCANTE, M. S.; ROSA, I. S. S.; TORRES, F. Leucemia Linfoide Aguda e Seus Principais Conceitos. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, v. 8, n. 2, p.151-164. 2017.

CHAUFFAILLE, M. L. L. F., BANDEIRA, A. C. A.; SILVA, A. S. G. Diversity of Breakpoints of Variant Philadelphia Chromosomes in chronic Myeloid Leukemia in Brazilian Patients. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 37, n. 1, p. 17–20. 2015.

CHAUFFAILLE, M. L. L. F., BANDEIRA, A. C. A.; SILVA, A. S. G. Diversity of Breakpoints of Variant Philadelphia Chromosomes in chronic Myeloid Leukemia in Brazilian Patients. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 37, n. 1, p. 17–20. 2015.

Chen, Y., Wang, H.; Kantarjian, H.; Cortes, J. Trends in chronic myeloid leukemia incidence and survival in the United States from 1975 to 2009. *Leukemia & Lymphoma*, v. 54, n. 7, p. 1411–1417. 2013.

CID, D. M.; C.; MAGALHÃES, S. M. M.; QUIXADÁ, A. T. S.; HONÓRIO, R. P. P.; COSTA, P. F. T. F.; REIS, S. R. C.; CARVALHO, S. M. A.; CID, D. A. C.; SUCUPIRA, R. M.; OLIVEIRA, M. F. C. Chronic Myeloid Leukemia: an Overview of the Determinants of Effectiveness and Therapeutic Response in The First Decade of Treatment With Imatinib Mesylate in a Brazilian Hospital. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 35, n. 6, p. 389-94. 2013.

CISNEROS, S. A. V.; GONZÁLEZ, R. P.; PÉREZ, M. P.; JIMÉNEZ, M. L. L. A.; RODRÍGUEZ, A. E. L. M.; GUIARTE, J. L. **Bioética Bioderecho y Farmacología**. México: Universidad De Guadalajara. 1 ed, p. 375. 2018.

CLARKE, C. J.; HOLYOAKE. Preclinical approaches in chronic myeloid leukemia: from cells to systems. **Experimental Hematology**, v. 47, p.13-23. 2017.

CML Support. Treating CML. 2015. Disponível em: <<https://cmllsupport.org.uk/section/treating-cml>>. Acessado em: 13 de Julho de 2019.

COLE, S. P. C. Multidrug Resistance Protein 1 (MRP1, ABCC1), a “Multitasking” ATP-binding Cassette (ABC) Transporter. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 45, p. 30880 –30888. 2014.

COOPER, G. M.; HAUSMAN, R. E. **A Célula: Uma Abordagem molecular**. 3 ed. São Paulo: Artmed, 2007.

COOPER, G. M.; HAUSMAN, R. E. **A Célula: Uma Abordagem molecular**. 3 ed. São Paulo: Artmed, 2007.

CORTES, J.; KANTARJIAN, H. Chronic myeloid leukemia: sequencing of TKI therapies. **Hematology**, v.1, p. 154-169. 2016.

COSTA, S. S.; SOUZA, H. R.; COSTA, I. S. O Papel do Cirurgião-Dentista no Diagnóstico Precoce da Leucemia e Sua Responsabilidade Ética e Legal – Revisão de Literatura. **Revista Brasileira de Odontologia Legal**, v. 4, n. 2, p.65-77. 2017.

CRUZ, P. S.; SANTOS, M.; L. S. C.; SANTOS, W. A.; TROVATTI, P.; FULY, P. S. C. Quality of Life of Patients With Chronic Myeloid Leukemia in Imatinib. *Revista de Enfermagem*, v. 11, n. 6, p. 2423-31. 2017.

DEAN, M. **The Human ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter Superfamily**. National Center for Biotechnology Information (US). 2001. Disponível em: <www.ncbi.nlm.nih/>. Acessado em: 22 de Maio de 2019.

DEAN, M.; ANNILO, T. Evolution of the ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter Superfamily In Vertebrates. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 6; p. 123–42. 2005.

DELAMAIN, M. T.; CONCHON, M. Os Inibidores de Tirosino Quinase de Segunda Geração. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.30, n. 1, p. 37-40. 2008.

DHARMAPURI, G.; DONETI, R.; HAROLDPHILIP, G.; KALLE, A. M. Celecoxib Sensitizes Imatinib-Resistant K562 Cells to Imatinib by Inhibiting MRP1–5, ABCA2 and ABCG2 transporters via Wnt and Ras signaling pathways. **Leukemia Research**, v. 39, n. 7, p. 696-701. 2015.

DRUGBANK. **Nilotinib**. 2007. Disponível em: <<https://www.drugbank.ca/>>. Acessado em: 26 de Junho de 2019.

DURMUS, S.; VAN DER VALK, M.; TEUNISSEN, S. F.; SONG, J. Y.; WAGENAAR, E.; BEIJNEN, J. H.; SCHINKEL, A. H. **ABC transporters Mdr1a/1b, Bcrp1, Mrp2 and Mrp3 determine the sensitivity to PhIP/DSS-induced colon carcinogenesis and inflammation**. *Archives of Toxicology*. 2018.

EDEN, R. E.; COVIELLO, J. M. **Cancer, Chronic Myelogenous Leukemia (CML, Chronic Granulocytic Leukemia)**. 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531459/>>. Acesso em: 12 de Julho de 2019.

EL-DALY, M.; SAIFEDDINE, M.; MIHARA, K.; RAMACHANDRAN, R.; TRIGGLE, C. R.; HOLLENBERG, M. D. Proteinase-Activated Eeceptors 1 and 2 and the Regulation of Porcine Coronary Artery Contractility: a Role for Distinct Tyrosine Kinase Pathways. **British Journal of Pharmacology**, 171(9): 2413–2425. 2014.

ESMO. **Chronic Myeloid Leukemia: A Guide for Patients**. 2013. Disponível em: <<https://www.esmo.org/content/download/6597/114989/file/EN-CML-Guide-for-Patients.pdf>>. Acessado em: 13 de Julho de 2019.

ESMO. **Chronic Myeloid Leukemia: A Guide for Patients**. 2013. Disponível em: <<https://www.esmo.org/content/download/6597/114989/file/EN-CML-Guide-for-Patients.pdf>>. Acessado em: 13 de Julho de 2019.

FASSINA, K. Estimativa do Número de Afetados e Manejo da Leucemia Mielóide Crônica no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

FERRER, D. M. P.; SOUZA, E. B.; MOURÃO, L. C.; NEIVA, A. R. L. F. Contribuição dos Telômeros e da Telomerase no Surgimento de Neoplasias e no Processo de Envelhecimento. **Revista Interdisciplinar Ciências e Saúde**, v. 4, n.2, p. 89-99, 2017.

FORTUNATO, A., BODDY, A., MALLO, D., AKTIPIS, A., MALEY, C. C., & PEPPER, J. W. Natural Selection in Cancer Biology: From Molecular Snowflakes to Trait Hallmarks. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 7, n. 2. 2017.

FRANCEZ, P. A. C; FAUSTINO S. M. M.; FRAZÃO, G.; BORGES, N.; SANTOS, S. E. B. **Caracterização genética da população miscigenada de Macapá – aspectos populacionais e forenses**. 54, SBG, 2008, Salvador, BA. Anais (on-line). Congresso Brasileiro [resumo] Congresso Brasileiro de Genética. Bahia: SBG, 2008. Disponível em: “<http://www.sbg.org.br>” Acessado em: 06 de junho de 2019.

FRIZZO, M. N.; DICK, A. P.; TRACHYNSK, J. O Mesilato de Imatinibe como Tratamento para Inibir a Proliferação das Células Neoplásicas em Pacientes com Leucemia Mieloide Crônica. **Revista Contexto & Saúde**, v. 16, n. 30, p. 66-76. 2016.

FRIZZO, M. N.; DICK, A. P.; TRACHYNSK, J. O Mesilato de Imatinibe como Tratamento para Inibir a Proliferação das Células Neoplásicas em Pacientes com Leucemia Mieloide Crônica. **Revista Contexto & Saúde**, v. 16, n. 30, p. 66-76. 2016.

FUJIKURAA, K.; INGELMAN-SUNDBERGB, M.; LAUSCHKE, V. M. Genetic variation in the human cytochrome P450 supergene family. **Pharmacogenetics and Genomics**, v. 0, n. 0, p.1-11. 2015.

FUNKE, V. A. M. Terapia Alvo Com Mesilato de Imatinibe: Um Estudo de 98 Pacientes Com Leucemia Mielóide Crônica. Dissertação (Pós-Graduação em Medicina Interna) - Universidade Federal do Paraná, 2005.

GIL, S. G.; DÍAZ, R. R.; CASARIEGOA, G. J. N.; MONOZ, M. L.; ROMERO, M. M. V.; CALEROC, B. M.; PEREZ, J. A. P.; NICOLÁS, F. G. Effect of UGT, SLCO, ABCB and ABCC polymorphisms on irinotecan toxicity. **Medicina Clinica**. p. 2387-0206. 2018.

GROMICHO, M.; DINIS, J.; MAGALHA, M.; FERNANDES, A. R.; TAVARES, P.; LAIRES, A.; RUEFF, J.; RODRIGUES, A. S. Development of Imatinib and Dasatinib Resistance: Dynamics of Expression of Drug Transporters ABCB1, ABCC1, ABCG2, MVP, and SLC22A1. **Leukemia & Lymphoma**, v. 52, n. 10, p. 1980–1990. 2011.

Hamerschlak, N. Myeloid leukemia: are we getting better? **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 37, n. 1, p. 3-4. 2015.

HAMERSCHLAK, N.; BOUZAS, L. F. S.; SEBER, A.; SILLA, L.; RUIZ, M. A. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea 2012. **Angra dos Reis**, RJ: SBTMO, 2012.

HARTMANN, J. T.; HAAP, M.; KOPP, H. G.; LIPP, H. P. Tyrosine kinase inhibitors - a review on pharmacology, metabolism and side effects. *Current Drug Metabolism*. **Bentham Science**, v.10, n. 5, p. 470 – 481. 2009.

HOCHHAUS, A.; SAUSSELE, S.; ROSTI, G.; MAHON, F-X; JANSSEN, J. J. W. M.; HJORTH-HANSEN, H., RICHTER, J.; BUSKE, C. Chronic Myeloid Leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. **Annals of Oncology** **28**, v. 41, n. 4, p. 26. 2017

HOGLUND, M.; Sandin, F.; Simonsson, B. Epidemiology of chronic myeloid leukaemia: an update. **Annals of Hematology**, v. 94, n. 2, p.241–247. 2015.

HUBER, P. C.; MARUIAMA, C. H.; ALMEIDA, W. P. Glicoproteína-P, resistência a múltiplas drogas (MDR) e relação estrutura-atividade de moduladores. **Química. Nova**, v. 33, n. 10, p. 2148- 2154. 2010

Hulot, J-S.; Villard, E.; Maguy, A.; Morel, V.; Mirg, L.; Tostivint, I.; William-Faltaos, D.; Fernandez, C.; Hatem, S.; Deray, G.; Komajda, M.; Leblond, V.; Lechat, P. A mutation in the drug transporter gene ABCC2 associated with impaired methotrexate elimination. **Pharmacogenetics and Genomics**, v. 15, n. 5. 2015.

INCA. Estimativa 2018: **Incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2018.

IQBAL, N.; IQBAL, N. Imatinib: a breakthrough of targeted therapy in cancer. **Chemotherapy Research and Practice**. 2014.

JABBOUR, E.; KANTARJIAN, H. Chronic myeloid leukemia: Update on Diagnosis, Monitoring, and Management. *Am J Hematol*, v. 87, n. 11, p. 1037-45, 2012.

JEMAL, A.; VINEIS P.; BRAY, F.; TORRE, L.; FORMAN, D. O ATLAS DO CÂNCER. **American Cancer Society**, v. xx, n. 2., p. xx-xx. 2014.

JEMNITZ, K.; HEREDI-SZABO, K.; JANOSSY, J.; IOJA, E.; VERECZKEY, L.; KRAJCSI, P. ABCC2/Abcc2: a Multispecific Transporter With Dominant Excretory Functions. **Drug Metabolism Reviews**, v. 42, n. 3, p. 402-436. 2010.

JIYE, Y.; JIANTING, Z. Multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1/ABCC1) polymorphism: from discovery to clinical application. *NIH Public Access*, v. 36, n. 10, p. 927–938. 2011.

KADIVAR, A.; KAMALIDEHGHAN, B.; JAVAR, H. A.; DAVOUDI, E. T.; ZAHARUDDIN, N. D.; SABETI, B.; CHUNG, L. Y.; NOORDIN, M. I. Formulation and In Vitro, In Vivo Evaluation of Effervescent Floating Sustained-Release Imatinib Mesylate Tablet. **Plos One**, p. 1-23. 2015.

KATHAWALA, R. J.; GUPTA, P.; ASHBY, C. R.; CHEN, Z. S. The modulation of ABC transporter-mediated multidrug resistance in cancer: A review of the past decade. **Drug Resistance Updates**, v. 18, p. 1-17. 2014.

KLERK, D. J.; HONEYWELL, R. J.; JANSEN, G.; PETERS, G. J. Transporter and Lysosomal Mediated (Multi)drug Resistance to Tyrosine Kinase Inhibitors and Potential Strategies to Overcome Resistance. **Cancers**, v. 10, n. 12. 2018.

KOOL, M.; LINDEN, M. V. D.; HAAS, M.; SCHEFFER, G. L.; VREE, J. M. L.; SMITH, A. J.; JANSEN, G.; PETERS, G. J.; PONNE, N.; SCHEPER, R. J.; ELFERINK, R. P. J. O.; BAAS, F.; BORST, P. MRP3, an organic anion transporter able to transport anti-cancer drugs. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 96, p. 6914–6919. 1999.

LABNETWORK. **XGEN Oferece Teste de Biologia Molecular Para Diagnóstico de Leucemia**. 2017. Disponível em: <www.labnetwork.com.br>. Acessado em: 18 de Junho de 2019.

LAGO, C.; PETRONI, T. F. Fisiopatologia e Diagnóstico da Leucemia Mieloide Crônica. **Revista Saúde UniToledo**, v. 01, n. 01, p. 121-133. 2017.

LEONARD, B. Leukemia: A Research Report. DIANE Publishin, v. xx, n. xx, p.63. 1993.

LESLIEA, E. M.; DEELEYB, R. G.; COLEB, S. P.C. Multidrug Resistance Proteins: Role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in Tissue Defense. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 204, p. 216-237. 2005.

LEVITAN, D. A.; NANDA R.; ROWLEY J.D. **Myeloproliferative Disorders**. Cancer Medicine. 6° edição. Hamilton: BC Decker; 2003. p. 115–26.

LIMA, C. H. V. **Farmacogenética do Gene TPMT na Resposta a 6-Mercaptopurina, em Pacientes com Leucemia Linfoblástica Aguda**. Dissertação (Mestrado em Oncologia e Ciências Médicas), Belém, Universidade Federal do Pará, 2017.

LLS. Leukemia & Linfoma Society. **Chronic Myeloid Leukemia**. 2014. Disponível em: <<https://www.lls.org>>. Acessado em: 12 de Junho de 2019.

LLS: Leukemia & Lymphoma Society. Chronic Myeloid Leukemia. 2014. Disponível em: <https://www.lls.org/sites/default/files/file_assets/cml.pdf>. Acessado em: 12 de Julho de 2019.

LOPES, N. R.; ABREU, M. T. C. L. Inibidores de tirosino quinase na leucemia mioeloid crônica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31 (6): 1-5. 2009.

Lopez-Lopeza, E.; Ballesteros, J.; Piñanc, M. A.; Toledod, J. S.; Andoine, N. G.; Garcia-Miguelf, P.; NAJAVAS, A.; GARCIA-Orad, A. Polymorphisms in the methotrexate transport pathway: a new tool for MTX plasma level prediction in pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Pharmacogenetics and Genomics**, v. 23, n. 2, p. 53-61. 2013.

MACIEL, L. G. L.; RODRIGUES, E. M. R.; DOS SANTOS, N. P. C; DOS SANTOS, Â.R.; GUERREIRO, J. F.; SANTOS, A. S. Afro-Derived Amazonian Populations: Inferring Continental Ancestry and Population Substructure. **Human Biology**, v. 83, n. 5, p. 627-636. 2011.

MAFFIOLI, M.; GENONI, A.; CARAMAZZA, D.; MORA, B.; BUSSINI, A.; MERLI, M.; GIORGINO, T.; CASALONE, R.; PASSAMONTI, F. The Clinical Significance of ABCC3 as an Imatinib Transporter in Chronic Myeloid Leukaemia. **Leukemia**, v. 28, p. 1360–1363. 2014.

MAHJOUBI, F.; AKBARI, S. Multidrug Resistance-Associated Protein 1 Predicts Relapse in Iranian Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 13, p. 2285-2289. 2012

MARTINO, C. C.; JUNIOR L. C. G. P.; GIULIANI, R. R. S.; SOUZA, T. A.; FERREIRA, E. C. P. M. **Estudo do Tratamento de Pacientes com Leucemia Mielóide Crônica que Fazem Uso de Inibidor de Tirosina Quinase Registrados no Núcleo de Hematologia e Hemoterapia de Santos**. UNILUS Ensino e Pesquisa. v. 12, n. 26, p. 64. 2015.

MCINNES, R. R.; WILLARD, H. F.; NUSSBAUM, R. **Thompson & Thompson Genética Médica**. 8ed. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil: 2016. 560 p.

MILLER, G. D.; BRUNO, B. J.; LIM, C. S. Resistant mutations in CML and Ph+ALL– role of ponatinib. **Biologics: Targets and Therapy**, n. 8, p. 243–254, 2014.

MORAES, E. S.; MELLO, M. S. C.; NOGUEIRA, F. A. M.; OTERO, U. B. O.; CARVALHO, F. N. C. Analysis of Individuals With Leukemia: Cancer Surveillance System Limitations. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 10, p. 3321-3332. 2017.

MOSCOW, J.; MORROW, C.S.; COWAN, K.H. Resistance to Multiple Drugs. Por: KUFU, D.W.; POLLOCK, R.E.; WEICHSELBAUM R. R. **Cancer Medicine**. 6th edition. Hamilton: BC Decker; 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 20 de Fevereiro de 2019.

MUNOZ, M.; HENDERSON, M.; HABER, M.; NORRIS, M. Role of the MRP1/ABCC1 Multidrug Transporter Protein in Cancer. **IUBM-LIFE**, v. 59, n. 12, p. 752-757. 2007.

NCBI. **ABCC3 ATP binding cassette subfamily C member 3 [Homo sapiens (human)]**. 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 28/05/2019.

NCBI. National Cancer Institute. **Chronic Myelogenous Leukemia Treatment: Health Professional Version**. 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.gov/>>. Acesso em: 17 de novembro de 2018.

NCI. National Cancer Institute. **Chronic Myelogenous Leukemia Treatment: Health Professional Version**. 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.gov/>>. Acesso em: 17 de novembro de 2018.

NEVES, W. B. **Análise espacial da Leucemia Mielóide Crônica por região de desenvolvimento econômico do estado de Pernambuco**. 2010. 69 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Saúde Pública) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2010.

NIES, A. T.; KEPPLER, D. The Apical Conjugate Efflux Pump ABCC2 (MRP2). **European Journal of Physiology**, v. 453, n. 5, p. 643-659.2007.

NOVARTIS. **Gleevec Tablets (Novartis)**. 2005. Disponível em: <www.theodora.com>. Acessado em: 18 de Junho de 2019.

Novartis. Mesilato de Imatinibe: **Bula para o Profissional da Saúde**. 2015. Disponível em: <<https://portal.novartis.com.br/UPLOAD/ImgConteudos/1821.pdf>>. Acessado em: 14 de Julho de 2019.

NOVARTIS. **Tasigna: Bula do Paciente (Novartis)**. 2016. Disponível em: <www.theodora.com>. Acessado em: 18 de Junho de 2019.

O'BRIEN, S.; ABOUD, C. N.; AKHTARI, M.; ALTMAN, J.; BERMAN, E.; DEANGELO, D. J.; DEVINE, S.; FATHI, A. T.; GOTLIB, J.; JAGASIA, M.; MOORE, J. O.; PINILLA-IBARZ, J.; RADICH, J. P.; REDDY, V. V. B.; SHAH, N. P.; SHAMI, P. J.; SMITH, B. D. S.; SNYDER, D. S.; WETZLER, M.; YUNUS, F. Chronic Myelogenous Leukemia: Clinical Practice Guidelines in Oncology. **National Comprehensive Cancer network**, v. 10, n. 1, p. 65-110. 2012.

OKUNO, E. Epidemiologia do câncer devido a radiações e a elaboração de recomendações. **Revista Brasileira de Física Médica**, v. 3, n. 1, p. 43-55. 2019.

OLIVEIRA, D. A. B. Drogas Inibidoras da Proteína Quinase de Adesão Focal: Uma Nova Perspectiva no Combate ao Câncer Via Planejamento Racional. **Revista Científica do ITPAC, Araguaína**, v.7, n.4. 2014a.

OLIVEIRA, S. C. C. **Farmacocinética dos Inibidores das Proteínas Tirosina-Cinases e sua Modulação Terapêutica**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Porto: Universidade Fernando Pessoa. 2014b.

OTTMANN, O.; SAGLIO, G.; APPERLEY, J. F.; ARTHUR, C.; BULLORSKY, E.; CHARBONNIER, A.; CORTES, J. E. Long-Term Efficacy and Safety of Dasatinib in Patients With Chronic Myeloid Leukemia in Accelerated Phase Who are Resistant to or Intolerant of Imatinib. **Blood Cancer Journal**, n. 8, v. 9, p. 88. 2018.

PAZ, A. A. **Características dos Doadores De Medula Óssea e Seu Impacto no Desfecho dos Pacientes Submetidos a Transplante Alogênico no Hospital de Clínicas de Porto Alegre**. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas), Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2015.

PENA, S. D. J. Razões para Banir o Conceito de Raça da Medicina Brasileira. **História, Ciências, Saúde**, v. 12, n. 1, p. 321-46. 2005.

Pharmagkb. **Clinical Annotation for rs28364006 (ABCC1); methotrexate; Psoriasis (level 3 Efficacy)**. 2016. Disponível em: < <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA450428/clinicalAnnotation/655385257>> Acessado em: 13 de Agosto de 2019.

Pharmagkb. **Clinical Annotation for rs717620 (ABCC2); methotrexate; Precursor Cell Lymphoblastic Leukemia-Lymphoma (level 3 Toxicity/ADR)**. 2018. Disponível em: <<https://www.pharmgkb.org/variant/PA166153953/clinicalAnnotation/1184473109>>. Acessado em: 13 de Agosto de 2019.

Radich, J. P. Chronic Myeloid Leukemia: Global Impact from a Local Laboratory. **Cancer**, p. 2594-2596. 2017.

RADIVOYEVITCH, T.; JANKOVIC, G. M.; TIU, R. V.; SAUNTHARARAJAH, Y.; JACKSON, R. C.; HLATKY, L. R.; GALE, R. P.; SACHS, R. K. Sex Differences in the Incidence of Chronic Myeloid Leukemia. **Radiat Environ Biophys**, n. 53, v. 1, p. 55–63. 2014.

RÊGO, M. F N. **Leucemia Mieloide Crônica – Aspectos Clínicos e Fatores Que Influenciaram a Resposta Citogenética em Pacientes Tratados Com Imatinibe no Estado Do Piauí**. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) - Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. 2014.

REIS, D. M. S.; VISENTAINER, J. E. L.; MACEDO, L. C. APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS MOLECULARES NO DIAGNÓSTICO DAS NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v.12, n.1, p.57- 65, 2017.

REKSODIPUTRO A, H.; TADJOEDIN, H.; SUPANDIMAN, I.; ACANG, N.; KAR, A. S.; BAKTA, M.; BENYAMIN, A. F.; ASHARIATI, A.; SUHARTI, C.; RINALDI, I.; SALIM, N.; RAJABTO, W.; PRAYOGO, N.; TOBING, D. L.; SYAMPURNAWATI, M.; KURNIANDA, J.; MARYONO, S.; DARMAWAN, B.; MACHSOES, B. D.; SYAHRIR, M.; PRENGGONO, D.; KUMAAT, H. H.; SARI, R. M.; AGUSTINI, S.; TORUAN, T. L.; AKBAR, D. F. Epidemiology Study and Mutation Profile of Patients with Chronic Myeloid Leukemia (CML) in Indonesia. **Journal of Blood Disorders & Transfusion**, v. 6, n. 3, p. 13. 2015.

RESQUE, R.; GUSMÃO, L.; GEPPERT, M.; ROEWER, L.; PALHA, T.; ALVAREZ, L.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A.; SANTOS, S. Male Lineages in Brazil: Intercontinental Admixture and Stratification of the European Background. **PlosOne**, v. 11, n. 4. 2016.

REZENDE, V. M. **Monitoramento Terapêutico de Mesilato de Imatinibe: Relação Entre Níveis Séricos e Alcance de Resposta Molecular Maior na Leucemia Mielóide Crônica**. Dissertação (Doutorado em Ciências), São Paulo: Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo. 2017.

RIBEIRO, S. L. **Alterações Cromossômicas, Prognóstico e Diretrizes Terapêuticas na Leucemia Mielóide Crônica**. Em: IV PESQUISAR - Seminário Interdisciplinar de Produção Científica. Anais (online). Goiânia: Faculdade Alfredo Nasser, 2015. Disponível em: <<http://www.faculdadealfredonasser.edu.br>>. Acesso em: 02 de fevereiro de 2019.

RIBEIRO, S. L. **Alterações Cromossômicas, Prognóstico e Diretrizes Terapêuticas na Leucemia Mielóide Crônica**. Em: IV PESQUISAR - Seminário Interdisciplinar de Produção Científica. Anais (online). Goiânia: Faculdade Alfredo Nasser, 2015. Disponível em: <<http://www.faculdadealfredonasser.edu.br>>. Acesso em: 02 de fevereiro de 2019.

ROCHA, C. R. R. **Mecanismos de Resistência à Quimioterápicos em Células Tumorais**. Dissertação (Doutorado em Ciências), São Paulo: USP/Instituto Butantan. 2015.

RODWELL, V. W.; BENDER, D. A.; BOTHAM, K. M.; KENNELLY, P. J.; WEIL, A. **Bioquímica Ilustrada de Harper**. 30° ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

RODWELL, V. W.; BENDER, D. A.; BOTHAM, K. M.; KENNELLY, P. J.; WEIL, A. **Bioquímica Ilustrada de Harper**. 30° ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

ROSA, D.; FERRIS, F.; GARCIA, P. **Hematologia**. São Paulo: DCL, 2012.

SACHS, L. The Control of Hematopoiesis and Leukemia: From basic biology to the clinic. Medical Sciences. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 10, p.4742-4749. 1996.

SAGLIO, G.; FAVA, C. **Treatment of Chronic Myeloid Leukemia**. 1 ed. Londres: Future Medicine, 2013.

SANTOS, F. P. S.; CORTES, J. Dasatinib for the treatment of Philadelphia chromosome-positive leukemias. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, n. 13, v. 16, p. 2381–2395. 2012.

SANTOS, S. L. F.; PESSOA, C. V.; ALVEZ, H. H. S.; OLIVEIRA, C. P. A.; BARROS, K. B. N. T. B. Farmacogenética aplicada a Oncologia: realidades e perspectivas na prática clínica. **Boletim Informativo Geum**, v. 7, n. 3, p. 49-55. 2016.

SATHWIK, G.; DUBEY, S.; PRABITHA, P.; KUMAR, D. R. H. Analytical Method Development and Validation of Solid Dosage Form of Antineoplastic Drug Imatinib Mesilate By Rp Hplc. **International Journal of Pharma Sciences and Research**, v.6, n. 4, p. 697-705. 2015.

SCHOOR, L. W. E. V.; VERKADE, H. J.; KUIPERS, F.; JONKER, J. W. New insights in the biology of ABC transporters ABCC2 and ABCC3: impact on drug disposition. **Expert Opinion on Drug Metabolism Toxicology**, v. 11, n. 2, p. 273-293. 2014.

SE: **Saúde Evidência. Leucemia: Conceito Geral**. 2018. Disponível em: <www.saudeinevidencia.com>. Acessado em: 18 de Junho de 2019.

SELLECKCHEM. **Dasatinib Hydrochloride**. 2005. Disponível em:< www.selleckchem.com>. Acessado em: 18 de Junho de 2019.

SENE, F. M. **Cada Caso, um Caso... Puro Acaso: Os processos de Evolução Biológica dos Seres Vivos**. – Ribeirão Preto – SP: Sociedade Brasileira de Genética. 2009. p. 252.

SHANMUGANATHAN, N.; HUGHES, T. P. Molecular monitoring in CML: how deep? How often? How should it influence therapy? **The American Society of Hematology**, v.132, n. 20, p. 2125-2133. 2018.

SILVA, D. C. **Caracterização do Perfil de Resistência da Linhagem de Leucemia Mieloide Crônica K-IM, Resistente ao Imatinibe**. Dissertação (Mestrado em Oncologia), Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer. 2017.

SILVA, R. A.; BOAS, V. V.; CARMO, H.; OLIVEIRA, R. J. D.; CARVALHO, F.; BASTOS, M. L. B.; REIMÃO, F. Modulation of P-glycoprotein efflux pump: induction and activation as a therapeutic strategy. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 149. p. 123. 2015.

SOSANI, K.; PATEL, A.; KATHAWALA, R. J.; CHEN, Z. S. Multidrug Resistance Associated Proteins in Multidrug Resistance. **Chinese Anti Cancer Association**, v. 31, n. 2, p. 58-73. 2012.

SOSSELA, F. R.; ZOPPAS, B. C. A.; WEBE, L. P. Leucemia Mieloide Crônica: aspectos clínicos, diagnóstico e principais alterações observadas no hemograma. **RBAC**, v. 49, n. 2, p. 127-30. 2017.

SOUZA, C. A., PAGNANO, K. B.; BENDIT, I.; CONCHON, M.; FREITAS, C. M.; COELHO, A. M.; FUNKE, V. A.; BERNARDO, W. M. Chronic myeloid leukemia treatment guidelines: Brazilian Association of Hematology, Hemotherapy and Cell Therapy. Brazilian Medical Association Guidelines Project – 2012. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v 34, n. 5, p. 367-82. 2012.

SOUZA, V. S.; DORNELLES, R. C.; JÚNIOR, C. E. A. C.; SANTOS, R. V. S. História da genética no Brasil: um olhar a partir do Museu da Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. **História, Ciências, Saúde**, v.20, n.2, p. 675-694. 2013.

STOMKA, M.; SOLBALSKA-KWAPIS, M.; KORYCHA-MACHALA, M.; BARTOSZ, G.; DZIADEK, J.; STRAPAGIEL, D. Genetic variation of the ABC transporter gene ABCC1 (Multidrug resistance protein 1 – MRP1) in the Polish population. **BMC Genetics**, v. 16, n. 114, p. 1-16. 2015.

Suarez-Kurtz, G. Pharmacogenetic Testing in Oncology: a Brazilian Perspective. **Clinics**, v. 73, n. 1. 2018.

TANIGUCHI, C.; GUENGERICH, F. P. Metabolismo de Fármacos. In: GOLAN, D. E.; TASHJUA JR., A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de farmacologia: A Base Fisiopatológica da Farmacoterapia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. Capítulo 4.

TOMONARI, T.; TAKEISHI, S.; TANIGUCHI, T.; TANAKA, T.; TANAKA, H.; FUJIMOTO, S.; KIMURA, T.; OKAMOTO, K.; MIYAMOTO, H.; MUGURUMA, N.;

TAKAYAMA, T. MRP3 as a Novel Resistance Factor for Sorafenib in Hepatocellular Carcinoma. **Oncotarget**, v. 7, p. 7207-7215. 2016.

UNESP. Disponível em: <<http://www.unesp.br/prope/projtecn/Saude/saude48a.htm>>. Acessado em: 12/07/2019.

VIANA, M. R. **Análise Citogenética e Molecular (Fish) de Pacientes com Leucemia Mielóide Crônica em Terapia com Inibidores de Tirosino Quinase no Estado da Bahia**. Dissertação (Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, 2012.

VLAMING, M. L. H.; PALA, Z.; ESCH, A. V. E.; WAGENAAR, E.; TELLINGEN, O. V.; WAART, D.; ELFERINK, R. P. J. O.; WETERING, K. V.; SCHINKEL, A. H. Impact of Abcc2 (Mrp2) and Abcc3 (Mrp3) on the In vivo Elimination of Methotrexate and its Main Toxic Metabolite 7-hydroxymethotrexate. **Clinical Cancer Research**, v. 14, n. 24, p. 8152-8160. 2008.

VLAMING, M. L. H.; MOHRMANN, K. WAGENAAR, E.; WAART, D. R.; ELFERINK, R. P. J. O.; LAGAS, J. S.; VAN TELLINGEN, O.; VAINCHTEIN, L. D.; ROSING, H.; BEIJNEN, J. H.; SCHELLENS, J. H. M.Ç; SCHINKEL, A. H. Carcinogen and Anticancer Drug Transport by Mrp2 in Vvo: Studies Using Mrp2 (Abcc2) Knockout Mice. **The Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics**, v. 318, n. 1, 2006.

WALSH, N.; LARKIN, A.; KENNEDY, S.; CONNOLLY, L.; BALLOT, J.; OOI, W.; GULLO, G.; CROWN, J.; CLYNES, M.; O'DRISCOL, L. Expression of multidrug resistance markers ABCB1 (MDR-1/P-gp) and ABCC1 (MRP-1) in renal cell carcinoma. *Biomed Central Urology*, v., 9, n. 6, p. 1-7. 2009.

WANG, X.; REN, Q.w.; LIU, X. x.; YANG, Y. T.; WANG, B.H.; ZHAI, R.; QI, J. G.; WANG, H. B.; BI, Y. Synthesis and Biological Evaluation of Novel H6 Analogues as Drug Resistance Reversal Agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 161, n. 1, p. 364-377. 2018.

WANG, Z.; WANG, B.; TANG, K.; LEE, E. J. D.; CHONG, S. S.; LEE, C. G. L. A functional polymorphism within the MRP1 gene locus identified through its genomic signature of positive selection. *Human Molecular Genetics*, v. 14, n. 14, p. 2075–2087. 2005.

WHO. World Health Organization. **Globocan 2018: estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2018**. 2018a. Disponível em:<http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx>. Acesso em: 20 de dezembro de 2018.

XUE, T.; LU, Z. N. Association between the polymorphisms in the ATP-binding cassette genes ABCB1 and ABCC2 and the risk of drug-resistant epilepsy in a Chinese Han population. **Genetics and Molecular Research**, n. 15, v. 4. 2016.

YANG, J.; WANG, Z-G.; CAI, H-Q; LI, Y-C.; XU, Y-L. Effect of Variation of ABCB1 and ABCC3 Genotypes on the Survival of Bone Tumor Cases after Chemotherapy. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 14, p. 4595-4598. 2013

YIN, J.; ZHANG, J. Multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1/ABCC1) polymorphism: From discovery to clinical application. **Journal of Central South University Medical sciences**, v. 36, n. 10, p. 927-38. 2011.

ZAMAN, G. J. R.; FLENS, M. J.; VAN LEUSDEN, M. R.; DE HAAS, M.; MULDER, H. S.; LANKELMA, PINEDO, J.; H. M.; SCHEPER, R. J.; BAAS, F; BROXTERMAN, H. J.; BORST, P. The human multidrug resistance-associated protein MRP is a plasma membrane drug-efflux pump. **Proceedings of the National Academy of Science of United States of America**, n. 91, v. 19, p. 8822–8826. 1994.

ZELCER, N.; SAEKI, T.; REID, G.; BEIJNEN, J. H.; BORST, P. Characterization of Drug Transport by the Human Multidrug Resistance Protein 3 (ABCC3). **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 49, p. 46400–46407. 2001.

ZHANG, W.; ZHOU, H.; LIU, Z.; CHEN, X.; HE, Y. Pharmacogenomics in China. In: PADMANABHAN, S., **Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine**. Elsevier, 2014, p. 999-1013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012386882400044X>> Acesso em: 19 de Junho de 2019.

ZHAO, Y.; LU1, H.; YAN, A.; YANG, Y.; MENG, Q.; SUN, L.; PANG, H.; LI1, C.; DONG, X.; CAI, L. ABCC3 as a marker for multidrug resistance in non-small cell lung cancer. **Scientific Reports**, v. 3, n. 1, p. 1-6.2013.

ZHOU, T.; MEDEIROS, L. J.; HU, S. **Chronic Myeloid Leukemia: Beyond BCR-ABL1**. Current Hematologic Malignancy Reports 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11899-018-0474-6>>. Acesso em: 18 de novembro de 2018.

ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCS**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde

O Sr. (a) está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada **ESTUDO FARMACOGENÉTICO DE PACIENTES ADULTOS DA AMAZÔNIA COM CROMOSSOMO PHILADELPHIA (PH) POSITIVO EM TRATAMENTO COM INIBIDORES DE TIROSINO QUINASE**, sob a responsabilidade da pesquisadora Tainá Lobato Vanzeler, a qual pretende investigar características genéticas relacionadas ao metabolismo de fármacos de pacientes com Cromossomo Filadélfia positivo (Ph⁺) em tratamento com inibidores de tirosino quinase, podendo contribuir futuramente para a diminuição das possíveis reações adversas causadas pelos mesmos.

Sua participação é voluntária e obedecerá as normas da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Para isso você precisa fornecer uma amostra de sangue periférico, responder à um questionário contendo algumas perguntas acerca das reações adversas que ocorrem durante o seu tratamento e permitir a obtenção de seus dados clínicos em nível de prontuário.

Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa podem se dar em um possível desconforto no momento da coleta. Se você aceitar participar, estará contribuindo para uma possível diminuição das reações adversas e a melhora no tratamento de cada paciente.

Se depois de consentir em sua participação o Sr (a) desistir, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa. O (a) Sr (a) não terá nenhuma despesa e também não receberá nenhuma remuneração. Os resultados da pesquisa

serão analisados e publicados, mas sua identidade não será divulgada, sendo guardada em sigilo. Para qualquer outra informação, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com o pesquisador pelo telefone (96) 98128-4694, ou poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Amapá – CEP/UNIFAP, para obter informações sobre a pesquisa e/ou sua participação na mesma, pelos telefones 4009-2804 e 4009-2805.

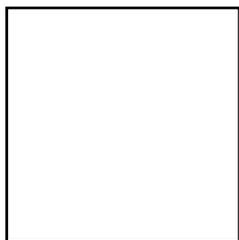
Consentimento Pós-Informação:

Eu, _____, fui informado sobre o que o pesquisador quer fazer e porque precisa da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser. Este documento é emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

Macapá-AP, ____ de _____ de _____.

Assinatura do paciente

Tainá Lobato Vanzeler
(Pesquisadora/Mestranda)



Impressão do dedo polegar
(Caso não saiba assinar)

Testemunha 01: _____

Testemunha 02: _____

ANEXO B – Questionário sobre o perfil clínico do paciente



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ

QUESTIONÁRIO

Nome: _____ Idade: _____
Duração do tratamento: _____

1) Qual a frequência com que você vem fazer o tratamento?

2) Você deixa de tomar o remédio em algum dia da semana, por exemplo: aos finais de semana, quando ingere algum alimento diferente ou bebida alcoólica?

3) Durante o tratamento, você sente algum tipo de desconforto? Qual?

4) Geralmente você sofre algum efeito colateral dos efeitos colaterais abaixo?

- () dispepsia
- () diarreia
- () edema
- () outro

Qual?

5) Você sente essas reações quando toma algum outro tipo de medicamento? Qual?

6) Você acredita que está reagindo ao tratamento? Por que?

7) Alguém da sua família passa pelo mesmo problema que você ou tem reações adversas quando toma algum tipo de medicamento?

8) Você possui uma alimentação saudável e nos horários certos?

9) Faz ingestão de algum tipo de bebida alcoólica? Qual?

10) É fumante?

ANEXO C – Carta de Anuência



CARTA DE ANUÊNCIA

Macapá-AP, 11 de Julho de 2018.

Declaro para os devidos fins, que está autorizada a realização da pesquisa com título: **"ESTUDO FARMACOGÊNICO DE PACIENTES ADULTOS DA AMAZÔNIA COM CROMOSSOMO PHILADELPHIA (PH) POSITIVO EM TRATAMENTO COM INIBIDORES DE TIROSINO QUINASE"**, sob a responsabilidade da acadêmica: Tainá Lobato Vanzeler, do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, com a orientação da Prof.^a Dr.^a em Biologia Funcional e Molecular Dayse de Souza Dantas e Prof. Dr. em Biologia Genética e Molecular Rafael Lima Resque, a ser realizada no Hospital de Clínicas Dr. Alberto Lima – HCAL, Macapá-AP. Ressaltamos que os dados coletados deverão assegurar a confidencialidade, a privacidade e a não estigmatização dos participantes da pesquisa de acordo com a Resolução do Conselho Nacional de Saúde (CNS/MS) 466/12 e suas complementares, que trata de pesquisa envolvendo Seres Humanos e deve haver o termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelo participante da pesquisa. Salientamos ainda, que tais dados sejam utilizados tão somente para a realização deste estudo. A instituição solicitante deverá dispor de EPI,s e crachás de identificação aos seus acadêmicos. Na certeza de contarmos com a sua colaboração, agradecemos antecipadamente a atenção, ficando à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessários.

Atenciosamente,

Alex Souza dos Santos
Diretor do Hospital de Clínicas
Dr. Alberto Lima/SESA
Decreto nº 10.007/2017
ALEX-SOUSA-DOS-SANTOS
DIRETOR DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DR. ALBERTO LIMA

ANEXO D – Autorização do Comitê nacional de Ética em Pesquisa



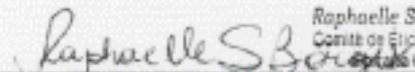
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CERTIFICADO

Título da Pesquisa: ESTUDO FARMACOGENÉTICO DE PACIENTES ADULTOS DA AMAZÔNIA COM CROMOSSOMO PHILADELPHIA (PH) POSITIVO EM TRATAMENTO COM INIBIDORES DE TIROSINO QUINASE
Pesquisador Responsável: Tainá Lobato Vanzeler
CAAE: 95908318.7.0000.0003
Submetido em: 15/08/2018
Instituição Proponente: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Situação da Versão do Projeto: Parecer Consubstanciado Emitido (Aprovado)
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável

Certificamos que o Projeto cadastrado está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Humana, adotados pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), em reunião realizada em 16/08/2018.

Macapá, 16 de agosto de 2018


Raphaelle Souza Borges
Comitê de Ética em Pesquisa
Portaria nº 051/2015

Prof.^a Msc. Raphaelle Souza Borges
Coordenadora - CEP-UNIFAP
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa/PROPESPG
Portaria nº 051/2015

Universidade Federal do Amapá
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP - UNIFAP
Rod. JK km 2, Marco Zero CEP 68908-130 – Macapá – AP - Brasil
Email: cep@unifap.br