

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA I E II

OTÁVIO AUGUSTO FERRARI

**ASPECTOS FARMACOGENÉTICOS NO TRATAMENTO
DA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA**

PORTO ALEGRE

2010

Otávio Augusto Ferrari

**ASPECTOS FARMACOGENÉTICOS NO TRATAMENTO
DA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial para
a obtenção do título de Farmacêutico
pelo curso de Farmácia da Universidade
Federal do Rio Grande do Sul.

Profa. Dra. Maria Luiza Saraiva Pereira

Orientadora

MSc. Ricardo Gioda

Co-Orientadora

Porto Alegre

2010

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, professora Dra. Maria Luiza Saraiva Pereira, pela orientação e assistência no trabalho desenvolvido.

Ao meu co-orientador, farmacêutico Ricardo Gioda, pelo tempo e pela ajuda prestada.

À minha mãe, Lidia, a pessoa mais fantástica que conheci; exemplo de amor, dedicação, carinho, força, caráter e sucesso. Agradeço por acreditar em mim, e por ter me dado condições de buscar os meus objetivos e alcançar minhas próprias vitórias.

Sabrina, minha irmã, que por muitas vezes foi minha segunda mãe, me ajudando dos primeiros aos últimos passos para que eu chegasse até aqui.

Tábitha, minha namorada, com quem aprendi a ser parte da pessoa que sou hoje; uma pessoa muito especial na minha vida que quero que esteja ao meu lado para sempre. E sua família, por ser minha segunda família e me acolher com muito carinho.

Gostaria de agradecer também aos meus amigos, por me lembrarem a cada dia que a vida vale à pena!

E finalmente, agradecer aos verdadeiros mestres, que me deram o conhecimento necessário pra chegar até aqui. Foi um privilégio!

Obrigado!

RESUMO

A Leucemia linfoblástica aguda é o tipo mais comum de câncer infantil, constituindo cerca de 1/3 de todas as neoplasias malignas em crianças. Entre os quimioterápicos utilizados no tratamento da leucemia linfoblástica aguda está o Metotrexato, análogo do ácido fólico, e a Mercaptopurina, análogo das purinas, e enzimas relacionadas com esses dois fármacos apresentam polimorfismos que resultam em diferentes respostas ao tratamento da leucemia linfoblástica aguda. No ciclo dos folatos, a enzima metilenotetraidrofolato redutase apresenta, comumente, dois polimorfismos associados à suscetibilidade a leucemias e a outras neoplasias. A enzima timidilato sintase apresenta um polimorfismo de 2 ou 3 repetições de 28 pares de base, onde a identificação dessa região polimórfica é um fator determinante na resposta farmacocinética e à toxicidade do Metotrexato. A enzima glutatona s-transferase inclui pelo menos sete subfamílias, onde três delas estão associadas com o aumento do risco do desenvolvimento de câncer devido à toxicidade do Metotrexato e polimorfismos nos genes dessas três subfamílias foram considerados como possíveis fatores de risco para o desenvolvimento de leucemia aguda. No metabolismo da Mercaptopurina, uma das vias da metabolização ocorre pela enzima tiopurina metiltransferase e polimorfismo no gene dessa enzima afeta a atividade enzimática, podendo aumentar o risco de toxicidade e ineficácia do tratamento com a Mercaptopurina. O estudo desses polimorfismos que envolvem a metabolização desses quimioterápicos pode ser uma estratégia farmacogenética determinante para a individualização da terapia e adaptada para cada paciente.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo celular e a sua relação com alguns antitumorais _____	<u>12</u>
Figura 2. Estrutura química do metotrexato _____	<u>16</u>
Figura 3. Estrutura química da mercaptopurina _____	<u>17</u>
Figura 4. Distribuição populacional da atividade da TPMT _____	<u>32</u>
Figura 5. Estrutura química da 6-metilmercaptopurina _____	<u>33</u>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classes de agentes quimioterápicos e nomes genéricos _____	<u>15</u>
Tabela 2. Distribuição genotípica e frequência do alelo MTHFR C677T e A1298C em crianças com LLA e NHL _____	<u>21</u>
Tabela 3. Níveis séricos de MTX para os genótipos MTHFR 677 CC, CT/TT e MTHFR 1298 AA, AC/CC em diferentes tempos _____	<u>22</u>
Tabela 4. Genótipos MTHFR C677T e A1298C e graus III/IV de toxicidade _____	<u>23</u>
Tabela 5. Frequência alélica e frequência genotípica da região TSER _____	<u>24</u>
Tabela 6. Polimorfismo TSER em pacientes e população _____	<u>25</u>
Tabela 7. Características dos 16 pacientes que desenvolveram neoplasias secundárias após o tratamento da leucemia e o genótipo da GST _____	<u>29</u>
Tabela 8. Distribuição dos genótipos GSTM1, GSTT1 e GSTP1 e sua associação com a ocorrência de neoplasias secundárias _____	<u>30</u>

LISTA DE ABREVIATURAS

5,10-THF	5,10-metilenotetraidrofolato
5-THF	5-metiltetraidrofolato
DHFR	Diidrofolato redutase
dTMP	Monofosfato de desoxitimidina
dTTP	Trifosfato de desoxitimidina
dUMP	Monofosfato de desoxiuridina
FH ₄	Tetraidrofolato
GST	Glutathione s-transferase
GSTM1	Subfamília do gene da enzima GST
GSTP1	Subfamília do gene da enzima GST
GSTT1	Subfamília do gene da enzima GST
MTHFR	Metilenotetraidrofolato redutase
NHL	Leucemia não-hodgkin
NTG	Nucleotídeos de tioguanina
SNPs	Polimorfismos de nucleotídeos simples
TPMT	Tiopurina metiltransferase
TSER	Região enhancer na timidilato sintase
TYMS	Timidilato sintase

SUMÁRIO

1. Introdução	11
1.1. Câncer	11
1.2. Leucemia Linfoblástica Aguda	14
1.3. Quimioterápicos utilizados na Leucemia Linfoblástica Aguda	15
2. Objetivo	18
3. Metodologia de Pesquisa	18
4. Polimorfismos Genéticos que Afetam as Rotas Metabólicas alvo do Metotrexato	19
4.1. Metilenotetraidrofolato Redutase	19
4.2. Timidilato Sintase	23
4.3. Glutathione S-transferase	27
5. Polimorfismo Genético que Afeta a Rota da Mercaptopurina	31
5.1. Tiopurina Metiltransferase	32
6. Considerações Finais	35
5. Bibliografia	37

1. INTRODUÇÃO

1.1 Câncer

O câncer é uma patologia cujo início e progressão envolve etapas nos quais o DNA acumula uma série de lesões. Essas alterações genéticas afetam diferentes passos nas vias que regulam os processos de proliferação celular, diferenciação e sobrevivência. Uma ou mais mutações podem ser herdadas ou podem surgir como consequência da exposição à carcinógenos ambientais ou a agentes infecciosos (Silva, 2006). Mutações em oncogenes, genes supressores tumorais e genes de estabilidade cromossômica representam, em última análise, o mecanismo responsável pela carcinogênese (Vogelstein *et al*, 2004).

A classificação do câncer é realizada de acordo com o tipo de célula normal que o originou, e não de acordo com os tecidos para os quais ele se disseminou. Portanto, o câncer pode ser classificado como carcinoma, sarcoma, linfoma, leucemia, mieloma, tumor de células germinativas, melanoma, glioma e neuroblastoma (Almeida *et al*, 2005).

O câncer foi apontado como a primeira causa de mortalidade no mundo, sendo os tipos mais comuns no sexo masculino o câncer de pulmão, próstata e bexiga e, entre as mulheres, o câncer de mama e câncer de colo do útero, por isso sua prevenção tem tomado uma dimensão importante no campo da ciência. No Brasil, o câncer é a segunda causa de morte por doença, apenas superada pelas doenças cardiovasculares (Gárfolo *et al*, 2004).

As neoplasias humanas mais sensíveis ao tratamento quimioterápico são as que exibem alta taxa de divisão celular. Por esse motivo, tecidos que apresentam essa característica (medula óssea, folículo piloso e epitélio intestinal) estão mais sujeitos à lesão por agentes quimioterápicos. Essa característica também explica a maior parte dos efeitos colaterais da quimioterapia: náuseas, perda de cabelo e susceptibilidade maior às infecções (Almeida *et al*, 2005), limitando a utilização desses fármacos. Portanto, a compreensão da cinética do ciclo celular é fundamental para o planejamento dos esquemas atuais de quimioterapia (Goodman *et al*, 2010). O ciclo celular e a sua relação com alguns antitumorais estão na figura 1.

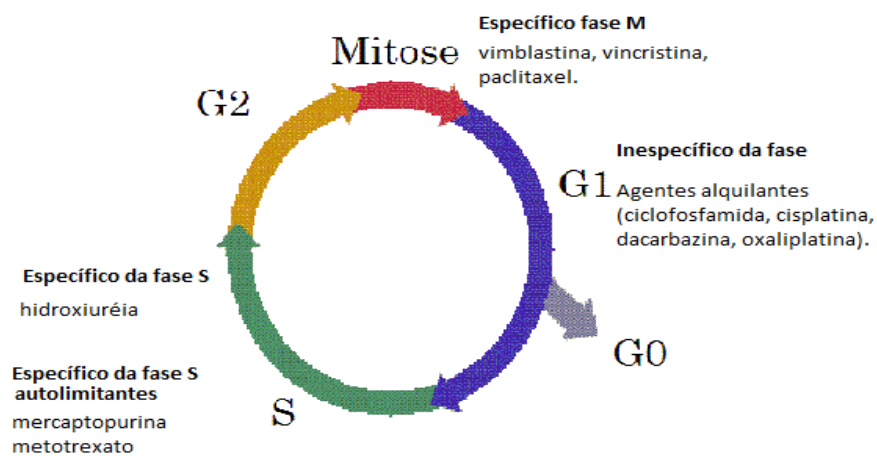


Figura 1: Ciclo celular e a sua relação com alguns antitumorais (adaptado de Almeida *et al*, 2005; Goodman *et al*, 2010).

Os agentes citotóxicos devem ser utilizados o mais próximo da sua dose máxima individual e frequentemente administrado para desestimular um novo crescimento

tumoral e maximizar a intensidade da dose, pois cada ciclo da terapia destrói menos que 99% das células, e é necessário então repetir o tratamento em múltiplos ciclos para erradicar as células tumorais (Almeida *et al*, 2005).

Nem todos os esquemas terapêuticos são apropriados para todos os pacientes, sendo necessário considerar as funções renais e hepáticas, reserva da medula óssea e problemas médicos concomitantes. O tratamento da maioria dos pacientes com câncer exige interação de múltiplas modalidades de tratamento, como cirurgia e irradiação com fármacos (Goodman *et al*, 2010). Estes fármacos geralmente apresentam uma estreita janela terapêutica e, dessa forma, nas doses que precisam ser administrados para que os efeitos terapêuticos sejam observados, frequentemente é observada severa toxicidade. Toxicidade não é, entretanto, o único complicador do manejo clínico da quimioterapia; podem ocorrer também refratariedade ao tratamento, internações para o tratamento de intercorrências (especialmente infecciosas) levando ao aumento da incidência de ineficácia da quimioterapia. O uso da poliquimioterapia tem por objetivo atingir diferentes alvos moleculares e vias intracelulares justamente para reduzir essa probabilidade (Reis, 2006).

As neoplasias mais frequentes em adultos dificilmente ocorrem em crianças. Assim, entre menores de 15 anos de idade, diagnosticam-se mais frequentemente leucemias, linfomas, tumores do sistema nervoso central e do sistema simpático entre outros. O câncer infantil compreende de 0,5% a 3% de todas as neoplasias na maioria das populações, estimando-se uma incidência anual de cerca de 200 mil casos em todo o mundo. Dentre todas as neoplasias infantis, as leucemias representam as mais frequentemente diagnosticadas, sendo responsáveis, na maioria das populações, por 25% a 35% de todas as neoplasias malignas pediátricas (Braga *et al*, 2002).

1.2. Leucemia Linfoblástica Aguda

Leucemia linfoblástica aguda ou leucemia linfóide aguda (LLA) é o tipo mais comum de câncer infantil, constituindo cerca de 1/3 de todas as neoplasias malignas em crianças (Gurney *et al*, 1995). A incidência de LLA dos americanos é aproximadamente 3,4 casos por 100.000 crianças com menos de 15 anos, com um pico maior de incidência ocorrendo entre 3 e 4 anos de idade (Pedrosa *et al*, 2002). A LLA é caracterizada pela expansão clonal das células leucêmicas na medula óssea, linfonodos timo e baço (Mrozek *et al*, 2009).

O tratamento da LLA é prolongado, variando de 2 a 3 anos. Os protocolos modernos, invariavelmente são constituídos de cinco grandes fases: *indução da remissão* (Pedrosa *et al*, 2002), onde são utilizados 3 ou 4 drogas (Camitta *et al*, 1994) - os protocolos atuais apresentam remissão completa de 98% a 99% (Pui *et al*, 1997), *intensificação-consolidação* (é indicada para erradicar as células leucêmicas creditando-se a essa fase a melhora dos resultados) (Chessells *et al*, 1995), *reindução, prevenção de leucemia no sistema nervoso central* (normalmente mediante o uso de quimioterapia intratecal e radioterapia de crânio) e *continuação ou manutenção da remissão* (Pedrosa *et al*, 2002).

O século XX assistiu a um notável progresso não só em relação a um melhor conhecimento, mas também quanto ao tratamento de câncer infantil, principalmente as leucemias (Marina *et al*, 1997). Até metade do século passado, as leucemias eram consideradas como uma doença fatal (Pedrosa *et al*, 2002). O desenvolvimento de combinações terapêuticas utilizando diversas drogas citotóxicas tem aumentado o percentual de cura de crianças com LLA em mais de 80% (Brenner *et al*, 1999). É

estimado atualmente que 1 a cada 1000 adulto jovem seja um sobrevivente do câncer (Pedrosa *et al*, 2002).

1.3 Quimioterápicos utilizados na Leucemia Linfoblástica Aguda

São poucas as categorias de fármacos que possuem um índice terapêutico mais estreito e com maior potencial de efeitos adversos quanto os agentes antineoplásicos. Desta forma, é necessário ter uma compreensão completa de sua farmacologia, bem como das interações medicamentosas e efeitos colaterais. Os fármacos são mais efetivos quando utilizados em combinação, podendo atuar de forma sinérgica, considerando suas interações bioquímicas, desde que seus principais efeitos tóxicos não se sobreponham (Goodman *et al*, 2010). A figura abaixo mostra algumas classes e nomes genéricos dos principais agentes quimioterápicos atualmente utilizados no tratamento das doenças neoplásicas.

CLASSE/TIPO DE AGENTES	NOMES GENÉRICOS
Agentes alquilantes	Ciclofosfamida, ifosfamida, cisplatina, dacarbazina, oxaliplatina, bussulfano
Antimetabólitos	Metotrexato (MTX), fluouracila, citarabina, mercaptopurina
Produtos naturais e semi-sintéticos	Vimblastina, vincristina, paclitaxel, etoposídeo, bleomicina, doxorubicina
Agentes diversos	Hidroxiuréia, bortezomibe, interferon-alfa
Hormônios e antagonistas	Mitotano, acetato de megestrol, tamoxifeno, bicalutamida, anastrozol

Tabela 1: Classes de agentes quimioterápicos e nomes genéricos (adaptado de Goodman *et al*, 2010).

Dentre os quimioterápicos atualmente utilizados no tratamento antitumoral, da classe dos antimetabólitos, fazem parte o Metotrexato (MTX) e a Mercaptopurina (MP), que pertencem à subclasse dos agentes análogos do ácido fólico e análogos das purinas, respectivamente.

O MTX (figura 3) é um agente quimioterápico utilizado desde os anos 50 (Wu *et al*, 2010), indicado para tratar diversos tipos de câncer, tais como câncer de cabeça, pescoço, pulmão, mama e LLA (Goodman *et al*, 2010). Seu mecanismo de ação é bem compreendido a nível celular. O MTX atua inibindo competitivamente a enzima diidrofolato redutase (DHFR), que reduz o ácido fólico a tetraidrofolato (FH₄), inibindo também a timidilato sintase. (Wolff *et al*, 2010). Como efeitos colaterais mais frequentes, os quais necessitam maior atenção médica, está melena, hematêmese, diarreia e hematuria. Pode eventualmente ocorrer vômitos, anorexia e náuseas. Alopecia raramente é relatada (Almeida, 2004).

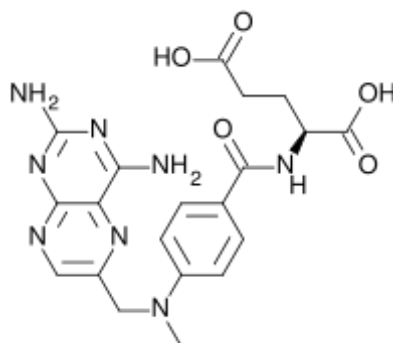


Figura 2. Estrutura química do metotrexato (adaptado de Almeida, 2004).

A MP (figura 4) está indicada para o tratamento da LLA, granulocítica aguda e granulocítica crônica (Goodman *et al*, 2010). Agindo como um antimetabólito análogo da purina, interferindo na síntese do DNA, com menor efeito sobre o RNA. Vômitos, náuseas, anorexia, cefaléia, diarreia, estomatite, hepatotoxicidade são alguns dos efeitos adversos que ocorre durante o tratamento, além de ser altamente mielossupressora. Muitos efeitos colaterais são inevitáveis e representam a ação farmacológica da droga, tais como leucopenia e trombocitopenia (Almeida, 2004).

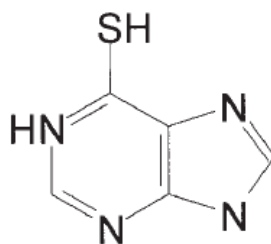


Figura 3. Estrutura química da mercaptopurina (adaptado de Coulthard, 2001).

Durante o tratamento farmacológico, podem ocorrer variações na resposta ao tratamento. Os pacientes podem não responder, responder de maneira parcial e muitas vezes apresentar reações adversas muito intensas ao medicamento. Portanto, os aspectos relacionados com essa variação à resposta ao tratamento e reações adversas tão severas devem ser estudados (Metzger *et al*, 2006). Essas variações podem ser decorrentes de diferentes fatores, como doenças pré-existentes, farmacodinâmica e farmacocinética do fármaco, idade do paciente, fatores ambientais, sociais e genéticos (Shastry, 2006). Considerando que fatores genéticos possuem relevância considerável na eficácia e segurança do medicamento, a farmacogenética e farmacogenômica vêm sendo bastante abordadas e discutidas nos últimos tempos (Metzger *et al*, 2006). O termo farmacogenética foi criado para designar o estudo da variabilidade na resposta aos medicamentos, devido à hereditariedade (Silva, 2006), enquanto a farmacogenômica estuda, simultaneamente, vários genes e suas interações (Metzger *et al*, 2006).

Os principais polimorfismos encontrados nas rotas metabólicas alvo do MTX estão relacionados com a enzima timidilato sintase (TYMS) (Krajinovic *et al*, 2002), glutationa s-transferase (GST) e metilenotetraidrofolato redutase (MTHFR) (Imanishi *et al*, 2007).

Para a MP, o principal polimorfismo relacionado ao seu metabolismo se dá na enzima tiopurina metiltransferase (TPMT) (Zhou *et al*, 2007).

A descrição da sequência completa do genoma humano trouxe perspectivas de aplicações potenciais das informações do genoma, possibilitando, em um futuro breve, o uso da medicação individualizada (Hirata *et al*, 2006).

2. OBJETIVO

Nesta revisão, abordaremos os principais polimorfismos envolvidos nos alvos metabólicos do MTX e na metabolização da MP, quimioterápicos utilizados no LLA, seus efeitos na população em tratamento e sua relação com o desenvolvimento de neoplasias secundárias.

3. METODOLOGIA DE PESQUISA

Para a realização deste trabalho, foram utilizadas como ferramentas de busca as seguintes bases de dados: *Pubmed*, *Science Direct*, *EBSCOhost*, *SciELO*, usando as palavras-chaves a seguir: *polymorphism genetic*, *pharmacogenetic*, *ALL*, *methotrexate*, *mercaptopurine*, *toxicity*, *TPMT*, *MTHFR*, *GST*, *TYMS*, entre os meses de agosto a novembro de 2010. As referências aqui utilizadas foram selecionadas de acordo com o ano de publicação e seu grau de relevância, dando ênfase àquelas dos últimos cinco anos. Artigos adicionais também foram referenciados por estarem citadas nessas publicações.

4. POLIMORFISMOS GENÉTICOS QUE AFETAM AS ROTAS METABÓLICAS ALVO DO METOTREXATO

Quando o MTX é administrado em doses iguais, pacientes variam consideravelmente suas respostas, reações adversas e toxicidade. Essa diversidade pode, de certa maneira, estar associado à variação na sequência do gene envolvido na absorção, no metabolismo, na excreção, no transporte e no local de ação do fármaco. Entretanto, o impacto desse polimorfismo pode variar dependendo da doença em questão e da dose de MTX utilizada no tratamento (Schmiegelow, 2009).

Vários estudos têm demonstrado polimorfismos nas enzimas que regulam a rota de metabolização alvo do MTX. Muitos desses polimorfismos genéticos estão sendo ligados à eficácia e segurança do fármaco, mas as evidências ainda não são conclusivas (Ghodke *et al*, 2008).

4.1 Metilenotetraidrofolato redutase

A MTHFR é a enzima que catalisa a redução do 5,10-metilenotetraidrofolato (5,10-THF) para 5-metiltetraidrofolato (5-THF), que é utilizado como doador carbono à remetilação da homocisteína em metionina (Giovannetti *et al*, 2008).

O gene da MTHFR está localizado no braço curto do cromossomo 1, contendo 11 éxons. Existem dois polimorfismos mais comuns para esse gene, os quais provocam alteração na atividade da enzima codificada. Um desses polimorfismos é C677T, que resulta na troca de C por T no nucleotídeo 677 e o outro é A1298C, resultando na troca de um A por C no nucleotídeo 1298. Em ambos os casos, a atividade da enzima

codificada pelos alelos polimórficos é sempre inferior àquela codificada pelos alelos selvagens (Kantar *et al*, 2009).

Tanto o polimorfismo C677T quanto A1298C estão associados à suscetibilidade a leucemias e outras neoplasias. Mas esses dados ainda são controversos devido ao fato que vários estudos, em crianças e adultos, relataram que a toxicidade induzida pelo MTX pode ou não estar relacionada ao polimorfismo da via do folato (Costea *et al*, 2006; Reddy *et al*, 2006). No que diz respeito especialmente à LLA, diferentes estudos relataram resultados conflitantes. Ambos os polimorfismos foram associados com a diminuição da suscetibilidade de LLA em crianças e adultos (Gemmati *et al*, 2004; Franco *et al*, 2001), enquanto outros autores não sustentam tal associação (Chiusolo *et al*, 2004; Balta *et al*, 2003). Além disso, o efeito protetor das variantes da MTHFR estava presente em crianças que tinham sido suplementadas com ácido fólico durante a gestação (Krajinovic *et al*, 2004).

Um estudo realizado na Turquia analisou as concentrações séricas de MTX, hematotoxicidade, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade, após 156 infusões (Kantar *et al*, 2009). O grupo de estudo foi composto de 37 pacientes com idade entre 2 a 17 anos, onde 20 crianças tinham LLA e 17 apresentavam outra neoplasia maligna.

Para o polimorfismo C677T do gene da MTHFR, 19 indivíduos (51,3%) tinham o genótipo selvagem (CC), 14 indivíduos (37,8%) eram heterozigotos (CT) e 4 (10,9%) homozigotos (TT). Para o polimorfismo A1298C, 11 indivíduos (29,7%) tinham o genótipo selvagem (AA), 19 indivíduos (51,3%) eram heterozigotos (AC) e 7 (19,0%) homozigotos conforme mostra a tabela 1. A distribuição genotípica e a frequência dos alelos polimórficos do gene não foi significativa entre os pacientes com LLA e a outra neoplasia maligna ($p= 0,29$ e $0,28$ respectivamente).

Tabela 2. Distribuição genotípica e frequência do alelo MTHFR C677T e A1298C em crianças com LLA e LNH (adaptado de Kantar *et al*, 2009).

Distribuição genotípica e frequência alélica	LLA (n = 20)	LNH (n = 17)	TOTAL (n = 37)
MTHFR C677T			
GENÓTIPO			
CC n (%)	8	11	19 (51.3%)
CT n (%)	9	5	14 (37.8%)
TT n (%)	3	1	4 (10.9%)
FREQUÊNCIA ALÉLICA			
C n (%)	25	27	52 (70.3%)
T n (%)	15	7	22 (29.7%)
MTHFR A1298C			
GENÓTIPO			
AA n (%)	6	5	11 (29.7%)
AC n (%)	12	7	19 (51.3%)
CC n (%)	2	5	7 (19.0%)
FREQUÊNCIA ALÉLICA			
A n (%)	24	17	41 (55.4%)
C n (%)	16	17	33 (44.6%)

MTHFR, metilenotetraidrofolato redutase; LLA, leucemia linfoblástica aguda; LNH, linfoma não - Hodgkin.

Após a administração de doses elevadas de MTX ($5\text{g}/\text{m}^2$), aumento de 9 % nos níveis sérico do fármaco foi observado às 24 horas, 42,2% às 36 horas, 46% às 42 horas, 58,5% às 48 horas e 41,7% às 72 horas, respectivamente (Kantar *et al*, 2009).

Para o polimorfismo C677T, os indivíduos que possuíam o polimorfismo ou genótipo TT apresentaram aumentos significativos na concentração de MTX às 24 horas, quando comparado com os indivíduos com genótipo selvagem CC. Níveis de MTX foram menores em outros tempos para esse grupo. Durante esse período, os níveis de MTX em indivíduos com o polimorfismo A1298C foram constantemente mais elevados, sendo significativo após 48 horas (tabela 2).

Tabela 3. Níveis séricos de MTX para os genótipos MTHFR 677 CC, CT/TT e MTHFR 1298 AA, AC/CC em diferentes tempos (adaptado de Kantar *et al*, 2009).

	24 h	36 h	42 h	48 h	72 h
677 CC (n=19)	71.2 ± 7.6	7.7 ± 4.6	5.0 ± 3.1	4.1 ± 2.9	0.4 ± 0.1
677 CT/TT (n=18)	87.9 ± 8.3	5.2 ± 0.9	2.4 ± 0.3	1.0 ± 0.2	0.5 ± 0.1
<i>p</i>	0.009	0.02	0.11	0.82	0.76
1298 AA (n=11)	74.5 ± 11.3	3.9 ± 0.6	1.5 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.3 ± 0.05
1298 AC/CC (n=26)	80.8 ± 6.4	7.8 ± 3.7	4.8 ± 2.5	3.6 ± 2.3	0.5 ± 0.1
<i>p</i>	0.57	0.55	0.20	0.02	0.31

Quanto à toxicidade da terapia, o desenvolvimento de anemia foi observado em 50,6%, leucopenia em 61,4% e trombocitopenia em 41,0% dos casos, com grau III e IV de toxicidade. Neutropenia febril foi registrado em 41,2% dos casos após o tratamento. Hepatotxicidade de grau III e IV foi observada em menos de 10,0% e nefrotoxicidade em 1,2% dos casos após o tratamento com MTX. A tabela 3 mostra um resumo do grau de toxicidade dos indivíduos com os genótipos polimórficos e selvagens. Para o polimorfismo C677T, os indivíduos com o genótipo selvagem CC apresentaram trombocitopenia e hiperbilirrubinemia com grau III e IV maior que os indivíduos com genótipos CT e TT. O polimorfismo CT e o genótipo TT parecem não causar hepatotoxicidade e nem nefrotoxicidade ou frequentes episódios de neutropenia febril. Por outro lado, para o polimorfismo A1298C do gene da MTHFR, os indivíduos com o polimorfismo AC e genótipos CC tinham mais anemia e trombocitopenia de grau III e IV e frequentes episódios de neutropenia febril do que os indivíduos com o genótipo selvagem AA.

Tabela 4. Genótipos MTHFR C677T e A1298C e graus III/IV de toxicidade (adaptado de Kantar *et al*, 2009).

Toxicidade grau III/IV	MTHFR C677T			MTHFR A1298C		
	CC (%)	CT/TT (%)	p	AA (%)	AC/CC (%)	p
Hemoglobina	61.5	48.4	0.11	41.3	62.5	0.02
Glóbulos Brancos	67.5	53.9	0.10	51.1	66.3	0.09
Plaquetas	52.5	26.6	0.001	19.1	51.5	0.0001
ALT	14.6	4.8	0.13	3.3	13.4	0.24
AST	12.2	2.4	0.06	0	11.8	0.04
Bilirrubina total	13.5	0	0.007	0	9.8	0.31
Uréia	2.1	0	0.29	0	1.7	0.99
Creatinina	2.1	0	0.29	0	1.7	0.99
Número de episódio de neutropenia febril	45.1	36.3	0.28	23.4	49.5	0.004

Efeitos tóxicos, como estomatite, febre, diarreia e infecções, não foram associados com o polimorfismo C677T em indivíduos tratados com 1 ou 5 mg/m² (Seidemann *et al*, 2006). Da mesma forma, não foi observado qualquer relação entre o polimorfismo C677T e o aumento do risco de desenvolvimento de toxicidade relacionado com o MTX em crianças com genótipo heterozigoto ou homozigoto quando comparado com crianças com o genótipo selvagem (Kantar *et al*, 2009). No entanto, crianças com genótipo heterozigoto e homozigoto para o polimorfismo A1298C do gene MTHFR, apresentaram maior hepatotoxicidade e hematotoxicidade do que aqueles com genótipo selvagem, sugerindo que o polimorfismo A1298C está mais relacionado com toxicidade induzidas pelo MTX do que o polimorfismo C677T (Kantar *et al*, 2009).

4.2 Timidilato sintase

A TYMS é uma enzima chave na síntese “de novo” dos nucleotídeos do DNA, catalisando a conversão do monofosfato de desoxiuridina (dUMP) para monofostato de desoxitimidina (dTMP). A inibição dessa enzima, causa a depleção de trifosfato de

desoxitimidina (dTTP), causando dano no cromossomo e, conseqüentemente morte celular (Giovannetti *et al*, 2008).

O gene da TYMS está localizado no cromossomo 18. Sequências repetidas em tandem, perto da região de iniciação (TSER), foram identificadas e são polimórficas, contendo duas (2R) ou três (3R) repetições de 28 pares de bases (Acuña *et al*, 2006). A presença de polimorfismos mostrou influenciar a expressão do gene *in vitro* e *in vivo*; em crianças com LLA, homozigotos para 3R, mostraram pior prognóstico em comparação com a presença de pelo menos um alelo 2R. A identificação desse polimorfismo pode ser um fator determinante para prever a resposta farmacocinética e toxicidade dos pacientes submetidos ao tratamento com MTX. (Krajinovic *et al*, 2002).

Na tabela 4, a frequência alélica e a frequência genotípica da região TSER está demonstrada (Marsh *et al*, 1999). O estudo foi realizado em amostras de DNA genômico de 96 indivíduos caucasianos, 95 indivíduos do sudeste asiático e 96 chineses, todos saudáveis.

Tabela 5. Frequência alélica e frequência genotípica da região TSER. Adaptado de Marsh *et al*, 1999.

Grupo étnico	n	Frequência genotípica			Frequência alélica	
		2/2	2/3	3/3	2	3
Caucasianos	96	19%	43%	38%	0.40	0.60
Sudeste da Ásia	95	16%	44%	40%	0.38	0.62
Chineses	96	2%	31%	67%	0.18	0.82
Japoneses (Horie <i>et al</i> , 1995)	21	n/a	n/a	n/a	0.19	0.81

2/2=homozigotos com duas repetições, 2/3= heterozigotos com duas e três repetições, 3/3= homozigotos com três repetições, n/a= resultados não avaliados, n= número de indivíduos analisados.

A frequência genotípica e a frequência alélica em caucasianos e indivíduos do sudeste da Ásia foram quase idênticas. Em contrapartida, a frequência genotípica foi significativamente diferente em chineses e caucasianos, sendo 67% dos chineses homocigotos 3R comparado com 38% dos caucasianos ($p < 0,001$). A frequência de alelos também foi diferente nas duas populações: alelo 2R constituiu 40% dos caucasianos e apenas 18% dos chineses (Marsh *et al*, 1999). A frequência alélica observada em 96 chineses é quase idêntica ao dos 21 japoneses descritos em outro estudo (Horie *et al*, 1995). Isto sugere que há uma relativa frequência alélica estável ao polimorfismo TSER entre a população do leste asiático (Marsh *et al*, 1999).

Em estudo realizado na Indonésia, a frequência genotípica do TSER foi obtida a partir de 71 amostras a partir de células de LLA em crianças (Giovannetti *et al*, 2008) e comparada com 157 amostras de células de LLA em crianças de origem caucasianas, publicado em outro estudo (de Jonge *et al*, 2005). Além disso, amostras de sangue de 44 crianças indonésias sadias foram analisadas para avaliar se o genótipo seria devido à etnia e não uma característica das células de leucemia (Giovannetti *et al*, 2008).

A frequência dos genótipos TSER em células de leucemia não foi significativamente diferente do grupo controle, embora um número pequeno de controles foram analisados.

Na tabela 5, são listadas as frequências alélicas e comparada com os dados de outro estudo já realizado.

Tabela 6. Polimorfismo TSER em pacientes e população (adaptado de Giovannetti *et al*, 2008).

Origem	Etnia	N	Genótipos (%)		
			2R/2R	2R/3R	3R/3R
Controle pediátrico	Indonésios	44	0.0 (0)	9.1 (4)	90.9 (40)
Leucemia pediátrico	Indonésios	71	1.4 (1)	22.5 (16)	76.1 (54)
	Holandeses	157	21.0 (33)	45.9 (72)	33.1 (52)
Controle adulto	Caucasianos	96	19.0 (18)	43.0 (41)	38.0 (37)
	Chineses	96	2.0 (2)	31.0 (30)	67.0 (64)

Uma diferença grande foi encontrada nas amostras de celular de LLA entre crianças da Indonésia e caucasianos. A frequência do genótipo 3R/3R em crianças caucasianas foi de 33,1%, enquanto que, nas amostras da Indonésia, foi de 76,1% ($p < 0,001$). O genótipo 2R/2R esteve presente em 1,4% dos pacientes da Indonésia, enquanto que, em caucasianos, esteve presente em 21% das amostras e o genótipo 2R/3R foi observado em 22,5% dos pacientes da Indonésia e 45,9% dos caucasianos (Giovannetti *et al*, 2008).

Em crianças da Indonésia, uma grande proporção do alelo 3R foi observada, especialmente com genótipo 3R/3R. Não há diferença no polimorfismo TSER entre crianças caucasianas com LLA e adultos controles. Já a distribuição do genótipo TSER nas amostras de LLA da Indonésia foi um pouco diferente das amostras controles, que pode ser devido ao número relativamente pequeno de controles (Giovannetti *et al*, 2008).

As crianças da Indonésia são tratadas de acordo com protocolos da prática clínica da Holanda. Portanto, é importante levantar a questão se esses polimorfismos têm consequências no tratamento da leucemia com o MTX. Embora o genótipo TSER tenha sido relacionado com o prognóstico da LLA (Krajinovic *et al*, 2002), nenhuma relação clara entre o genótipo TSER e sensibilidade ao MTX foi encontrado em estudos prévios, com 157 crianças caucasianas (Uchida *et al*, 2004).

Este estudo fornece evidências de que mais genes devem estar envolvidos na homeostase do folato, e que podem desempenhar um papel adicional ao tratamento, devendo ser considerados na avaliação da sensibilidade e nos resultados do tratamento da LLA com o MTX (Giovannetti *et al*, 2008).

A menor incidência de toxicidade foi relatada em pacientes que possuíam a enzima TYMS 3R/3R, e isto pode ser atribuído pela relação entre a atividade e os

polimorfismos da enzima TYMS, que existe em tecidos normais, mas não em células cancerosas, significando que células normais com genótipo 3R/3R têm uma maior atividade da TYMS e são menos sensíveis ao MTX. Assim, os pacientes com genótipo 3R/3R podem ter sido tratados com subdoses no passado, bem como pacientes da Indonésia e, possivelmente, pacientes de outros países asiáticos. Os resultados apóiam a individualização da prescrição do MTX e as doses devendo variar de acordo com a contagem dos glóbulos brancos. Isto é firmado em muitos protocolos de LLA e que parece ser esquecido muitas vezes na prática clínica (Giovannetti *et al*, 2008).

4.3 Glutathione S-transferase

A GST é uma enzima de fase II envolvida na conjugação e detoxificação de uma ampla variedade de xenobióticos, incluindo carcinógenos ambientais e agentes quimioterápicos por catalisar sua conjugação com a glutathione (Ye *et al*, 2005; Jazbec *et al*, 2003). É uma família de enzimas citosólicas, altamente expressa em tecidos que possuem grande capacidade de detoxificação, como o fígado e os rins (Ophuis *et al*, 2006). Em humanos, a enzima GST citosólica inclui pelo menos sete subfamílias distintas, denominada de α (A), μ (M), π (P), σ (S), ζ (Z), ω (O), θ (T), baseado na diferença sequencial dos aminoácidos (Hayes *et al*, 2005). Grande variabilidade na atividade da enzima foi observada e indivíduos com baixa atividade da GST apresentam risco aumentado de câncer de pulmão e câncer de mama, enquanto indivíduos com alta atividade da enzima podem ser resistentes à quimioterapia. As enzimas da subfamília GSTM1(localizada no cromossomo 1), GSTP1 (localizada no cromossomo 11) e GSTT1(localizada no cromossomo 22) (Lo *et al*, 2007) estão associadas com o aumento do risco do desenvolvimento de câncer devido à toxicidade da quimioterapia (Meyling

et al, 2006). Assim, polimorfismos no gene GSTM1, GSTP1 e GSTT1 foram considerados como possíveis fatores de risco para o desenvolvimento de leucemia aguda (Ye *et al*, 2005). Esses polimorfismos são encontrados em todas as populações. O alelo GSTM1*0 (GSTM1 nulo) e GSTT1*0 (GSTT1 nulo) representam deleções dos genes GSTM1 e GSTT1, respectivamente, e resultam em perda da atividade da enzima (Rebbeck *et al*, 1997). A transição de A por G no alelo GSTP1 dá origem ao polimorfismo Ile105Val, substituição da isoleucina por valina na posição 105 (GSTP1 Val), que confere atividade reduzida da enzima (Ali-Osman *et al*, 1997). Aumento da frequência de genótipos GSTM1 nulo e GSTT1 nulo têm sido associados a uma série de tumores malignos (Johns *et al*, 2000).

Uma revisão sistemática e meta-análise foram realizadas no período de Janeiro de 1997 até Julho de 2004 para investigar o efeito do polimorfismo da GST e do risco de leucemia aguda (Ye *et al*, 2005). Os resultados demonstraram que a frequência do genótipo GSTM1 nulo foi de 32,0% a 53,5% nos asiáticos, 44,1% a 57,8% nos europeus e 27,6% a 56,9% nos americanos. A frequência do genótipo GSTP1 Val variou de 65,2% a 75,4% em europeus e de 65,2% a 68,4% nos americanos. A frequência do genótipo GSTT1 nulo foi 30,2% a 54,0% nos asiáticos, 8,0% a 25,5% nos europeus e de 13,8% a 31,6% nos americanos.

O estudo indicou que indivíduos que não possuem os genes GSTM1 e GSTT1 são mais propensos a desenvolver câncer e um risco moderado de desenvolver LLA do que os indivíduos que possuem o gene, o que parece não estar relacionado com o genótipo GSTP1. É concebível, então, que o genótipo GSTM1 nulo e GSTT1 nulo podem desempenhar um papel na indução da leucemia (Ye *et al*, 2005).

Em outro estudo realizado na Eslovênia, o risco do desenvolvimento de neoplasias secundárias em crianças em tratamento para leucemia aguda foi avaliado

(Jazbec *et al*, 2003). As proporções dos genótipos GSTM1, GSTT1 e GSTP1 em crianças que desenvolveram neoplasias secundárias foram comparadas a um grupo controle de crianças que não desenvolveram nenhuma segunda neoplasia durante o tratamento à leucemia aguda com base em protocolos idênticos. Foram registrados, no Registro de Câncer da Eslovênia, um total de 449 pacientes com leucemia aguda com menos de 16 anos, num período de janeiro de 1961 a outubro de 2000. Destes, 16 pacientes desenvolveram uma segunda neoplasia em 1,76 a 20,4 anos após o diagnóstico de leucemia (tabela 6).

Tabela 7. Características dos 16 pacientes que desenvolveram neoplasias secundárias após o tratamento da leucemia e o genótipo da GST (adaptado de Jazbec *et al*, 2003).

Número de pacientes	Idade do diagnóstico da leucemia	Tempo de surgimento da segunda neoplasia (em anos)	GSTM1 (- = Genótipo nulo)	GSTT1 (- = Genótipo nulo)	GSTP1
1	12.9	7.1	-	+	Ile/Ile
2	8.5	20.4	-	+	Ile/Ile
3	3.5	9.3	+	+	Val/Val
4	5.5	8.5	+	+	Ile/Ile
5	3.5	9.8	+	-	Ile/Ile
6	6.3	10.0	-	+	Val/Val
7	5.2	8.7	-	+	Val/Val
8	4.8	3.7	+	+	Val/Val
9	4.2	9.4	+	-	Ile/Ile
10	16	8.6	+	+	Ile/Val
11	6.3	7.6	-	+	Val/Val
12	16.1	2.3	-	+	Ile/Val
13	2.5	12.0	+	+	Ile/Ile
14	7.0	1.7	+	-	Val/Val
15	1.5	16.6	+	+	Ile/Ile
16	3.5	12.7	-	+	Ile/Ile

Casos (16 pacientes) e controles (32 pacientes), com diagnóstico, foram pareados quanto ao sexo, tempo de observação e idade do diagnóstico. A neoplasia secundária mais frequente foi neoplasias do sistema nervoso central (6 casos), seguido do linfoma não-Hodgkin (3 casos) linfoma de Hodgkin e leucemia mieloblástica aguda (2 casos). Osteosarcoma, fibrossarcoma e carcinoma de células basais foram observados em um caso cada. O genótipo GSTM1 esteve presente em 52% da população do estudo, GSTM1 nulo em 48 %, GSTT1 77%, GSTT1 nulo em 23%, GSTP1 Ile/Ile em 42%, Ile/Val em 45% e Val/Val em 13%. Na tabela 7, a distribuição dos genótipos GSTM1,

GSTM1 e GSTP1 e suas associações com a ocorrência de neoplasias secundárias em casos e controles pode ser observada.

Tabela 8. Distribuição dos genótipos GSTM1, GSTT1 e GSTP1 e sua associação com a ocorrência de neoplasias secundárias (adaptado de Jazbec *et al*, 2003).

Genótipos	Casos (N=16)	Controles (N=32)	P
GSTM1			
+	9 (56%)	16 (50%)	0.768
Nulo	7 (44%)	16 (50%)	(0.942)
GSTT1			
+	13 (81%)	24 (75%)	0.729
Nulo	3 (19%)	8 (25%)	(0.781)
GSTP1 _{codon 105}			
Ile/Ile	8 (50%)	12 (37%)	0.537
Ile/Val or Val/Val	8 (50%)	20 (63%)	(0.991)

Em geral, não houve diferenças estatisticamente significativas entre a distribuição dos genótipos GST em pacientes com neoplasias secundárias em comparação ao grupo de pacientes controles pareados. Além disso, na população de estudo, a prevalência do genótipo GSTM1 nulo e GSTT1 nulo foi de 48% e 23% respectivamente, o que é comparável com a população em geral da Eslovênia, onde o genótipo GSTM1 nulo e GSTT1 nulo encontrado são de 54% e 24%, respectivamente (Jazbec *et al*, 2003). Esses resultados também são semelhantes à frequência encontrada em pacientes caucasianos com estes genótipos (Chen *et al*, 1997). A frequência do genótipo GSTP1 também é comparável com a população saudável da Eslovênia, sendo que o genótipo GSTP1 Ile/Ile é encontrado em 54% dos indivíduos, enquanto que o genótipo Ile/Val é encontrado em 44% dos indivíduos e o genótipo Val/Val é encontrado em 12% dos indivíduos (Jazbec *et al*, 2003). Este estudo sugere que os

polimorfismos genéticos da GST não acentuam o risco do desenvolvimento de uma neoplasia secundária em crianças tratadas para LLA.

Um estudo realizado com 302 crianças com LLA constatou que 57 delas desenvolveram leucemia relacionada com o tratamento ou síndrome mielodisplásica e não encontraram nenhuma associação entre genótipos GSTM1 e GSTT1 com doenças relacionadas ao tratamento (Woo *et al*, 2000). Entretanto, um risco aumentado de neoplasias hematológicas secundárias induzidas pelo tratamento foi relatado em pacientes com carcinoma de mama e com o genótipo GSTM1 nulo e GSTT1 nulo (Haase *et al*, 2002). Portanto, novos estudos, com tamanho de amostra adequado, serão necessários para confirmar o papel do polimorfismo da GST no risco do desenvolvimento de uma segunda neoplasia (Jazbec *et al*, 2003).

5. POLIMORFISMO GENÉTICO QUE AFETA A ROTA DA MERCAPTOPURINA.

As tiopurinas são uma família que incluem, entre outros fármacos, a mercaptopurina. São pró-fármacos inativos que requerem sua ativação enzimática para exercer sua citotoxicidade. A ação citotóxica é através da incorporação de nucleotídeos de tioguanina (NTG) no DNA (Abraham *et al*, 2006). Existem três vias principais para o metabolismo da mercaptopurina (MP), onde uma se dá pela enzima TPMT. Esta enzima está envolvida na conversão da MP em nucleotídeos da MP, que causam a inibição da síntese ‘de novo’ do DNA (Feng Zhou *et al*, 2007) e também catalisa a metilação da MP, formando metabólito inativo (Maitland, 2006).

3.1 Tiopurina metiltransferase (TPMT)

A atividade da enzima TPMT é herdada com traço autossômico codominante (Abraham *et al*, 2006). Seu gene encontra-se no cromossomo 6, possuindo 10 éxons (Feng Zhou *et al*, 2007) onde codifica 8 proteínas (Abraham *et al*, 2006). É uma enzima citosólica que catalisa a metilação (inativação) da mercaptopurina, comumente utilizada na etapa de manutenção de remissão da LLA. A TPMT exibe polimorfismo genético que determina uma distribuição populacional trimodal (figura 5) da atividade da enzima medida em eritrócitos, onde 89% dos indivíduos possuem atividade enzimática alta (S/S), 11% apresentavam atividade enzimática intermediária (S/M) e 1 em cada 300 indivíduos não apresentava atividade detectável (M/M) (Reis, 2006).

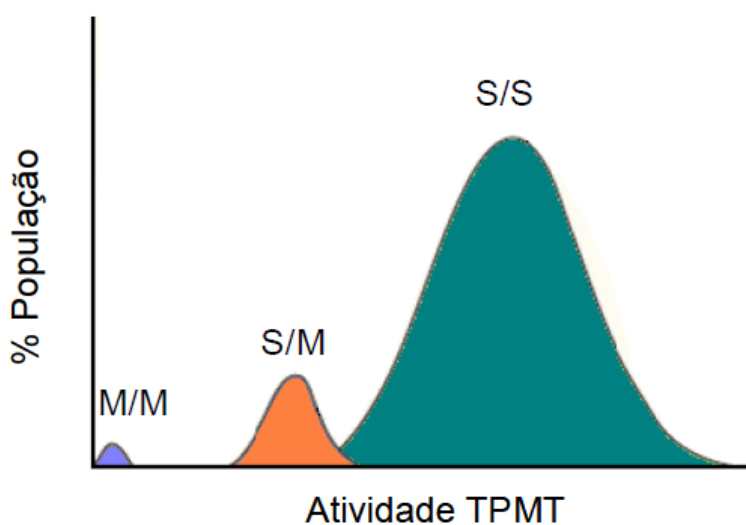


Figura 4. Distribuição populacional da atividade da TPMT (adaptado de Reis, 2006).

S/S= genótipo homocigoto selvagem;

S/M= genótipo heterocigoto, onde um dos alelos é mutante

M/M= genótipo homocigoto mutantes

Vários alelos foram identificados para TPMT. Entre os principais encontram-se TPMT *2, TPMT *3A, TPMT *3C (TPMT*1, genótipo selvagem). Quase todos os

alelos da TPMT resultam de polimorfismos de nucleotídeos simples – SNPs (Feng Zhou *et al*, 2007). O alelo TPMT *3A é o mais prevalente entre caucasianos, enquanto o TPMT *3C é o mais comum entre africanos, asiáticos e populações afro-americanas (Nagasubramanian *et al*, 2003). Cerca de 10% da população caucasiana são heterozigotos (atividade intermediária) e 0,3% são homozigotos (inativos) para os alelos da TPMT e para estes, a terapia com MP pode causar grave toxicidade hematopoiética, pois se acumula NTG nesses tecidos, podendo ser fatal (Abraham *et al*, 2006).

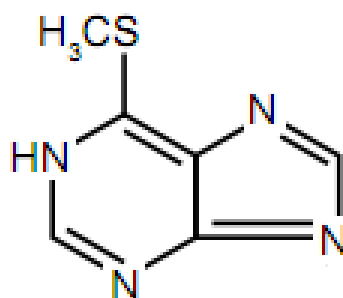


Figura 5. Estrutura química da 6-metilmercaptipurina, nucleotídeo tioguanina.

Em estudos de análise genética para os três principais polimorfismos associados à deficiência da TPMT, em um grupo com intolerância a MP, foi demonstrado que 100% dos indivíduos eram homozigotos. No entanto, pacientes heterozigotos, que apresentam tolerância intermediária à mercaptopurina, podem ser tratados com sucesso quando administrado uma dose 10 a 15 vezes menor do que a dosagem padrão (Feng Zhou *et al*, 2007).

A mutação, quando resulta numa expressão reduzida da enzima TPMT, pode aumentar o risco de desenvolvimento de um segundo câncer, induzido pela MP. Crianças com deficiência na atividade da enzima têm um risco aumentado de

desenvolver mielodisplasia secundária ou leucemia mielóide aguda, provavelmente associado ao dano no DNA provocado pelo acúmulo de NTG (Abraham *et al*, 2006).

Em um estudo realizado na Rússia, com 995 indivíduos, onde 446 foram diagnosticados com doença maligna, 55 deles foram identificados como portadores da variação alélica na TPMT. Novecentos e quarenta indivíduos apresentaram o genótipo selvagem TPMT*1/*1; 45 indivíduos tinham o genótipo TPMT*1/*3A, 8 o genótipos TPMT*1/*3C e 2 possuíam genótipo TPMT*1/*2. As variantes encontradas foram significativamente maiores em pacientes com malignidade do que comparado com o grupo controle ($p= 0, 0199$), embora esses resultados não sejam justificativas suficientes para considerar a existência uma relação ou associação entre o desenvolvimento de malignidade e a presença de SNPs na TPMT. Eles devem ser a base para continuar a investigação (Samochatova *et al*, 2009).

Pacientes com LLA com deficiência na TPMT e tratados com MP podem apresentar profunda e duradoura citopenia, complicações infecciosas e interrupções prolongadas no tratamento de manutenção, que conseqüentemente, aumentam os riscos de falha na terapêutica. Como alternativa, pode ser administrado doses reduzidas do fármaco, sem que ocorra diminuição da eficiência citostática e sem redução da chance de cura (Relling, 1999). A maioria dos pacientes com LLA que possuíam variações na TPMT tinham características associadas com melhoria no prognóstico, e recaídas foram menos frequentes nesse grupo, embora diferenças não tenham sido demonstradas estatisticamente (Samochatova *et al*, 2009).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho realizado buscou informações sobre polimorfismos nas enzimas alvo da rota metabólica do MTX e do metabolismo da MP, seus efeitos e a sua relação com o desenvolvimento de neoplasia secundária na população em tratamento da LLA, que apresentam polimorfismos nessas enzimas. A eficácia do tratamento da LLA aumentou expressivamente ao longo dos anos, contudo ainda encontra limitações determinadas pela elevada incidência de toxicidade. Um projeto lançado nos Estados Unidos tem como objetivo a identificação de genes cujos produtos possam ser utilizados como alvos para a terapêutica seletiva do câncer. A expectativa é que o desenvolvimento de fármacos que apresentem elevada especificidade para alvos moleculares, aumentará a eficácia do tratamento com a concomitante redução dos efeitos adversos (Reis, 2006).

No tratamento da LLA encontramos enzimas relacionadas com a resposta, sensibilidade e toxicidade ao quimioterápico. Essas enzimas têm distribuição heterogênea na população, onde cada etnia apresenta suas peculiaridades e assim, cada indivíduo respondendo de maneiras diferentes ao mesmo tratamento. Os polimorfismos encontrados nas enzimas, muitas vezes estão relacionados com a diminuição de sua atividade, o que acarreta menor eficiência e prejuízos ao tratamento, podendo provocar importante toxicidade e, em alguns casos, o aparecimento de uma segunda neoplasia, embora essa associação seja controversa.

Portanto, os estudos desses polimorfismos podem ser uma estratégia farmacogenética determinante, que permitiria aos médicos fornecer um tratamento quimioterápico eficaz e adaptado para cada paciente. A individualização da terapia se torna bastante promissora para a terapia do câncer, através da escolha do tratamento mais adequado e da individualização de doses. Porém é fundamental observar que

muitos genes podem influenciar as respostas aos medicamentos, o que torna bastante complexa a tarefa de identificar as variações genéticas que possuem maior relevância na eficácia do tratamento.

7. BIBLIOGRAFIA

ABRAHAM, J.; EARL, H. M.; PHAROAH, P. D.; CALDAS, C. Pharmacogenetics of cancer chemotherapy. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1766: 168–183, 2006.

ACUÑA, M.; EATON, L.; CIFUENTES, L.; MASSARDO, D. Genetic variants in the enhancer region of the thymidylate synthase gene in the Chilean population. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 61: 677–782, 2006.

ALMEIDA, J. R. C. *Farmacêuticos em oncologia: uma nova realidade*. São Paulo: Atheneu, pp.228-233, 2004.

ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. D. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não-específicos que interagem com o DNA: Uma introdução. *Química Nova*, 28: 118-129, 2005.

BALTA, G.; YUKSEK, N.; OZYUREK, E.; ERTEM, U.; HICSONMEZ, G.; ALTAY, C.; GURGEY, A. Characterization of MTHFR, GSTM1, GSTT1, GSTP1, and CYP1A1 genotypes in childhood acute leukemia. *The American Journal of Hematology*, 73: 154-160, 2003.

BRAGA, P. E.; LATORRE, M. R. D. O.; CURADO, M. P. Childhood cancer: a comparative analysis of incidence, mortality, and survival in Goiania (Brazil) and other countries. *Caderno Saúde Pública*, 18: 33-44, 2002.

BRENNER, M. K.; PINKEL, D. Cure of leukemia. *Seminars in Hematology*, 36: 73-83, 1999.

CAMITTA, B.; MAHONEY, D.; LEVENTHAL, B.; LAUER, S. J.; SHUSTER, J. J.; ADAIR, S.; CIVIN, C.; MUNOZ, G.; STEUBER, P.; STROTHER, D. Intensive intravenous methotrexate and mercaptopurine treatment of higher-risk non-T, non-B acute lymphocytic leukemia: A Pediatric Oncology Group study. *Journal of Clinical Oncology* 12: 1383-1389, 1994.

CHEN, C. L.; LIU, Q.; PUI, C. H.; RIVERA, G. K.; SANDLUND, J. T.; RIBERIRO, R.; EVANS, W. E.; RELING, M. V. Higher frequency of glutathione S-transferase deletions in black children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 89:1701–1707, 1997.

CHESELLS, J. M.; BAILEY, C.; RICHARDS, S. M. Intensification of treatment and survival in all children with lymphoblastic leukemia: results of UK Medical Research Council trial UKALL X. Medical Research Council Working Party on Childhood Leukemia. *Lancet*, 345: 143-148, 1995.

CHIUSOLO, P.; REDDICONTO, G.; CIMINO, G.; SICA, S.; FIORINI, A.; FARINA, G.; VITALE, A.; SORA, F.; LAURENTI, L.; BARTOLOZZI, F.; FAZI, P.; MANDELLI, F.; LEONE, G. Methylene tetrahydrofolate reductase genotypes do not play a role in acute lymphoblastic leukemia pathogenesis in the Italian population. *Haematologica*, 89: 139-144, 2004.

COSTEA, I.; MOGHRABI, A.; LAVERDIERE, C.; GRAZIANI, A.; KRAJINOVIC, M. Folate cycle gene variants and chemotherapy toxicity in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*, 91: 1113–1116, 2006.

COULTHARD, S. A.; HALL, A. G. Recent advances in the pharmacogenomics of thiopurine methyltransferase. *The Pharmacogenomics Journal*, 1: 254–261, 2001.

de JONGE, R.; HOOIJBERG, J. H.; VAN ZELST, B. D.; JANSEN, G.; VAN ZANTWIJK, C. H.; KASPERS, G. J.; PETERS, G. J.; RAVINDRANATH, Y.; PIETERS, R.; LINDEMANS, J. Effect of polymorphisms in folate-related genes on in vitro methotrexate sensitivity in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 106: 717–720, 2005.

FENG ZHOU, S.; CHOWBAY, B. Clinical Significance of Thiopurine S-Methyltransferase Gene Polymorphisms. *Current Pharmacogenomics*, 5: 103-115, 2007.

FRANCO, R. F.; SIMOES, B. P.; TONE, L. G.; GABELLINI, S. M.; ZAGO, M. A.; FALCAO, R. P. The methylene tetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism decreases the risk of childhood acute lymphocytic leukemia. *British Journal of Haematology*, 115: 616-618, 2001.

GARÓFOLO, A.; AVESANI, C. M.; CAMARGO, K. G.; BARROS, M. E.; SILVA, S. R. J.; TADDEI, J. A. A. C.; SIGULEM, D. M. Diet and cancer: An epidemiological view. *Revista Nutrição*, 17: 491-505, 2004.

GEMMATI, D.; ONGARO, A.; SCAPOLI, G. L.; DELLA, M. P.; TOGNAZZO, S.; SERINO, M. L.; di BONA, E.; RODEGHIERO, F.; GILLI, G.; REVERBERI, R.; CARUSO, A.; PASELLO, M.; PELLATI, A.; de MATTEI, M. Common gene polymorphisms in the metabolic folate and methylation pathway and the risk of acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin's lymphoma in adults. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 13: 787-794, 2004.

GHODKE, Y.; CHOPRA A.; JOSHI K.; PATWARDHAN B. Are Thymidylate synthase and Methylene tetrahydrofolate reductase genes linked with methotrexate response (efficacy, toxicity) in Indian (Asian) rheumatoid arthritis patients? *Clinical Rheumatology*, 27: 787–789, 2008.

GIOVANNETTI, E.; UGRASENA, D. G.; EDDY SUPRIYADI, E.; VROLING, L.; AZZARELLO, A.; DE LANGE, D.; PETERS, G. J.; VEERMAN, A. J. P.; CLOOS, J. Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T and thymidylate synthase

promoter (TSER) polymorphisms in Indonesian children with and without leukemia. *Leukemia Research*, 32: 19–24, 2008.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. *Manual de Farmacologia e Terapêutica*. 1ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill, pp. 853-879, 2010.

GURNEY, J. G.; SEVERSON, R. K.; DAVIS, S.; ROBISON, L. L. Incidence of cancer in children in the United States. Sex- race, and 1-year age-specific rates by histologic type. *Cancer*, 75: 2186-2195, 1995.

HAASE, D.; BINDER, C.; BUNGER, J.; FONATSCH, C.; STREUBEL, B.; SCHNITTGER, S.; GRIESINGER, F.; WESTPHAL, G.; SCHOCH, C.; KNOPP, A.; BERKOVICZ, D.; KRIEGER, O.; WÖRMANN, B.; HILGERS, R.; HALLIER, E.; SCHULZ, T. Increased risk for therapy-induced hematologic malignancies in patients with carcinoma of the breast and combined homozygous gene deletions of glutathione transferases M1 and T1. *Leukemia Research*, 26: 249–254, 2002.

HAYES, J. D.; FLANAGAN, J. U.; JOWSEY, I. R. Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45: 51–88, 2005.

HIRATA, M. H.; TAVARES, V.; HIRATA, R. D. C. From molecular biology to medicine: methods commonly used in pharmacogenetics. *Medicina Ribeirão Preto*, 39: 522-534, 2006.

HORIE, N.; AIBA, H.; OGURO, K.; HOJO, H.; TAKEISHI, K. (1995). Functional analysis and DNA polymorphism of the tandemly repeated sequences in the 59-terminal regulatory region of the human gene for thymidylate synthase. *Cell Structure and Function*, 20: 191–197, 1995.

IMANISHI, H.; OKAMURA, N.; YAGI, M.; NORO, Y.; MORIYA, Y.; NAKAMURA T; HAYAKAWA, A.; TAKESHIMA, Y.; SAKAEDA, T.; MATSUO, M.; OKUMURA, K. Genetic polymorphisms associated with adverse events and elimination of methotrexate in childhood acute lymphoblastic leukemia and malignant lymphoma. *The American Journal of Human Genetics*, 52: 166–171, 2007.

JAZBEC, J.; APLENC, R.; DOLZAN, V.; DEBELJAK, M.; JEREB, B. GST polymorphisms and occurrence of second neoplasms after treatment of childhood leukemia. *Leukemia*, 17: 2540–2542, 2003.

JOHNS, L. E.; HOULSTON, R. S. Glutathione S-transferase mu1 (GSTM1) status and bladder cancer risk: a meta-analysis. *Mutagenesis*, 15: 399–404, 2000.

KANTAR, M.; KOSOVA, B.; CETINGUL, N.; GUMUS, S.; TOROSLU, E.; ZAFER, N.; TOPCUOGLU, N.; AKSOYLAR, S.; CINAR, M.; ASLI, A. T.; ZUHAL, Z. E. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C gene polymorphisms and therapy-related toxicity in children treated for acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma. *Leukemia & Lymphoma*, 50: 912–917, 2009.

KRAJINOVIC, M.; COSTEA, I.; CHIASSON, S. Polymorphism of the thymidylate synthase gene and outcome of acute lymphoblastic leukaemia. *The Lancet*, 359: 1033-34, 2002.

KRAJINOVIC, M.; LAMOTHE, S.; LABUDA, D.; LEMIEUX, E. B.; THEORET, Y.; MOGHRABI, A.; SINNETT, D. Role of MTHFR genetic polymorphisms in the susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 103: 252-257, 2004.

LO, H. W.; OSMAN, F. A. Genetic polymorphism and function of glutathione S-transferases in tumor drug resistance. *Current Opinion in Pharmacology*, 7:367-374, 2007.

MAITLAND, M. L.; VASISHT, K.; RATAIN, M. J. TPMT, UGT1A1 and DPYD: genotyping to ensure safer cancer therapy? *Trends in Pharmacological Sciences*, 27: 432-437, 2006.

MARINA, N. Long-term survivors of childhood cancer. The medical consequences of cure. *Pediatric Clinics of North America*, 44: 1021-1042, 1997.

MARSH, S.; COLLIE, E. S. R. D.; LI, T.; LIU, X.; MCLEOD, H. L. Ethnic Variation in the Thymidylate Synthase Enhancer Region Polymorphism among Caucasian and Asian Populations. *Genomics*, 58: 310-312, 1999.

METZGER, I. F.; COSTA, D. C. S.; SANTOS, J. E. T. Pharmacogenetic: principles, application and, perspectives. *Medicina Ribeirão Preto*, 39: 515-521, 2006.

MEYLING, H.; CHEOK, H. M.; WILLIAM, E. E. Acute lymphoblastic leukaemia: a model for the pharmacogenomics of cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 6: 117-129, 2006.

MROZEK, K.; HARPER, D. P.; APLAN, D. P. Cytogenetics and Molecular Genetics of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 23: 991-1010, 2009.

NAGASUBRAMANIAN, R.; INNOCENTI, F.; RATAIN, M. J. Pharmacogenetics in cancer treatment. *Annual Review of Medicine*, 54: 437-452, 2003.

OPHUIS, M. B. O.; MANNI, J. J.; PETERS, W. H. Glutathione S-transferase T1 null polymorphism and the risk for head and neck cancer. *Acta Oto-Laryngologica*, 126: 311-317, 2006.

OSMAN, F. A.; AKANDE, O.; ANTOUN, G.; MAO, J. X.; BUOLAMWINI, J. Molecular cloning, characterization, and expression in Escherichia coli of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *The Journal of Biological Chemistry*, 272: 1004-1012, 1997.

PEDROSA, F.; LINS, M. Acute lymphoblastic leukemia: a curable disease. *Revista brasileira de saúde materno infantil*, 2: 63-68, 2002.

PUI, C. H. Acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric Clinics of North America*, 44: 831-846, 1997.

REBBECK, T. R. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 6: 733-743, 1997.

REDDY, H.; JAMIL, K.; Polimorphisms in the MTHFR gene and their possible association with susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia in an Indian population. *Leukemia & Lymphoma*, 47:1333–1339, 2006.

REIS, M. Farmacogenética aplicada ao câncer. Quimioterapia individualizada e especificidade molecular. *Medicina Ribeirão Preto*, 39: 577-586, 2006.

RELLING, M. V.; HANCOCK, M. L.; RIVERA, G. K.; SANDLUND, J. T.; RIBEIRO, R. C.; KRYNETSKI, E. Y.; PUI, C. H.; EVANS, W. E. Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus. *Journal of the National Cancer Institute*, 91: 2001–2008, 1999.

SAMOCHATOVA, E.V.; CHUPOVA, N. V.; ANASTASSIA RUDNEVA, A.; MAKAROVA, O.; NASEDKINA, T. V.; FEDOROVA, O. E.; GLOTOV, A. S.; KOZHEKBAEVA, Z. H.; MAIOROVA, O. A.; ROUMYANTSEV, A. G.; KRYNETSKI, E. Y.; KRYNETSKAIA, N. F.; EVANS, W. E.; RIBEIRO., R. C. TPMT Genetic variations in populations of the Russian Federation. *Pediatric Blood and Câncer*, 52: 203–208, 2009.

SCHMIEGELOW, K. Advances in individual prediction of methotrexate toxicity: a review. *British Journal of Haematology*, 146: 489–503, 2009.

SEIDEMANN, K.; BOOK, M.; ZIMMERMANN, M.; MEYER, U.; WELTE, K.; STANULLA, M.; REITER, A. MTHFR 677 (C →T) polymorphism is not relevant for prognosis or therapy-associated toxicity in pediatric NHL: results from 484 patients of multicenter trial NHL-BFM 95. *Annals Hematology*, 85: 291–300, 2006.

SHASTRY, B. S. Pharmacogenetics and the concept of individualized medicine. *Journal of Pharmacogenomics*, 6: 16-21, 2006.

SILVA, R. L. A. Oncogênes e genes supressores de tumor. In: FERREIRA, C. G.; ROCHA, J. C. *Oncologia Molecular*. 1.ed. São Paulo: Atheneu, pp. 29-42, 2006.

UCHIDA, K.; HAYASHI, K.; KAWAKAMI, K.; SCHNEIDER, S.; YOCHIM, J. M.; KURAMOCHI, H.; TAKASAKI, K. D.; DANENBERG, P. V. Loss of heterozygosity at the thymidylate synthase (TS) locus on chromosome 18 affects tumor response and survival in individuals heterozygous for a 28-bp polymorphism in the TS gene. *Clinical Cancer Research*, 10: 433–439, 2004.

VOGELSTEIN, B.; KINZLER, K. W. Cancer genes and the pathways they control. *Nature Medicine*, 10: 789-799, 2004.

WOLFF, J. E.; KORTMANN, R.D.; WOLFF, B.; PIETSCH, T.; PETERS, O.; SCHMID, H.J.; RUTKOWSKI, S.; METZ, M.W.; KRAMM, C. High dose methotrexate for pediatric high grade glioma: results of the HIT-GBM-D pilot study. *Journal of Neurooncology*, 2010.

WOO, M. H.; SHUSTER, J. J.; CHEN, C.; BASH, R. O.; BEHM, F. G.; CAMITTA, B.; FELIX, C. A.; KAMEN, B. A.; PUI, C. H.; RAIMONDI, S. C.; WINICK, N. J.; AMYLON, M.D.; RELING, M.V. Glutathione S-transferase genotypes in children who develop treatment-related acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 14: 232–237, 2000.

WU, Z.; SHAH, A.; PATEL, N.; YUAN, X. Development of methotrexate proline prodrug overcome resistance by MDA-MB-231 cells. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20: 5108-5112, 2010.

YE, Z.; SONG, H. H. Glutathione s-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) and the risk of acute leukaemia: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Cancer*, 41: 980-989, 2005.

ZHOU, S. F.; CHOWBAY , B. Clinical Significance of Thiopurine S-Methyltransferase Gene polymorphisms. *Current Pharmacogenomics*, 5: 103-115, 2007.