FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2011/2012

Ana Filipa Sousa Lima

Farmacogenética na Artrite Reumatoide

março, 2012

FMUP

FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Ana Filipa Sousa Lima

Farmacogenética na Artrite Reumatoide

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Farmacologia e Terapêutica

Trabalho efetuado sob a Orientação de:

Professor Doutor António Albino Coelho Marques Abrantes Teixeira

Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:

Revista Portuguesa de Farmacoterapia

março, 2012

FMUP

U.PORTO
FMUP FACULDADE DE MEDICINA UNIVERSIDADE DO PORTO
UNIDADE CURRICULAR
PROJETO DE OPÇÃO
DISSERTAÇÃO / MONOGRAFIA

Projeto de Opção do 6º ano - DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Eu, Ana Filipa Sousa Lima, abaixo assinado, nº mecanográfico 060801167, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 16/03/2012

Assinatura: 

U.PORTO
FMUP FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Projeto de Opção do 6º ano – DECLARAÇÃO DE REPRODUÇÃO

Nome: Ana Filipa Sousa Lima

Endereço eletrónico: med06167@med.up.pt **Telefone ou Telemóvel**: 916998132

Número do Bilhete de Identidade: 13436123

Título da Monografia: Farmacogenética na Artrite Reumatoide

Orientador: Professor Doutor António Albino Coelho Marques Abrantes Teixeira

Ano de conclusão: 2012

Designação da área do projeto: Farmacologia e Terapêutica

É autorizada a reprodução integral desta Monografia para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projetos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 16/03/2012

Assinatura: Ana Filipa Sousa Lima

Índice

Resumo 3
Abstract 5
Lista de abreviaturas e siglas 7
Introdução 9
Métodos 12
Farmacogenética na reumatologia: o exemplo da artrite reumatoide 14
Azatioprina 17
Sulfassalazina 21
Metotrexato 23
Polimorfismos nos transportadores 26
Polimorfismos da via metabólica 27
Outros polimorfismos 29
Tratamento biológico 32
Conclusão 38
Referências Bibliográficas 40
Agradecimentos 45
Anexo 46
Normas de Apresentação de Artigos à Revista Portuguesa de Farmacoterapia 46

Lista de esquemas e tabelas

Esquema 1-Via de metabolização da AZA. 17
Esquema 2-Principais enzimas envolvidas no metabolismo do MTX. 25

Tabela 1-Terapêutica usada na AR. 15
Tabela 2-Polimorfismos mais importantes na via do MTX. 29
Tabela 3-Principais polimorfismos da terapêutica biológica. 37

Farmacogenética na Artrite Reumatoide

Pharmacogenetics in Rheumatoid Arthritis

Ana Filipa Lima

Aluna do 6ºano do Mestrado Integrado em Medicina

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Correspondência para:

Ana Filipa Lima

Telefone: 225513604

Endereço de correio eletrónico: med06167@med.up.pt

Endereço: Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Departamento de Farmacologia e Terapêutica. Alameda Professor Hernâni Monteiro. 4200-319 Porto

Resumo – Farmacogenética na Artrite Reumatoide

Objetivos: rever a importância da farmacogenética na artrite reumatoide (AR), identificar os principais polimorfismos que poderão influenciar a eficácia e segurança terapêutica e entender a aplicabilidade destes conhecimentos na prática clínica.

Fontes de dados: foi realizada uma pesquisa recorrendo à *Pubmed*, *Scopus* e *Google Schoolar*. Foram também incluídos alguns artigos referenciados nos artigos de base. No total foram utilizados 59 artigos publicados entre 1995-2011.

Métodos de Revisão: nas bases de dados utilizadas foram combinados os descritores *pharmacogenetic, pharmacogenetics, rheumatoid arthritis, rheumatology, rheumatic diseases, antirheumatic agents, azathioprine, sulfasalazine, methotrexate e anti-TNF*.

Resultados: a terapêutica da AR com maior potencial para poder ser usada como terapêutica personalizada, de acordo com perfil genético individual, é: azatioprina (AZA), sulfassalazina (SSZ), metotrexato (MTX) e os agentes biológicos. A genotipagem da enzima tiopurinametiltransferase, antes do início da terapêutica com AZA é na atualidade um protótipo de terapêutica personalizada na AR. O perfil acetilador de cada indivíduo (associado a polimorfismos no gene da N-acetiltransferase 2) parece ser importante para determinar o risco de desenvolver reações adversas à SSZ. O resultado mais consistente relativamente ao MTX é o que relaciona o polimorfismo C677T com a sua toxicidade. Os polimorfismos no TNFα podem influenciar as respostas ao tratamento biológico na AR, nomeadamente o polimorfismo -308.

Conclusões: na prática clínica apenas se utilizam testes farmacogenéticos para a AZA. A genotipagem antes da toma de SSZ tem o interesse potencial de evitar a toxicidade. Terão de ser realizados mais estudos para o MTX e agentes biológicos pois os resultados obtidos são muito díspares ou mesmo contraditórios. A aplicação quotidiana dos conhecimentos de farmacogenética para estes agentes ainda não deixou de ser apenas uma expectativa.

Palavras-chave: artrite reumatoide, farmacogenética, azatioprina, sulfassalazina, metotrexato e anti-TNF.

Artigo de Revisão

Abstract - Pharmacogenetics in Rheumatoid Arthritis

Objectives: to review the importance of pharmacogenetics in rheumatoid arthritis (RA), to identify the main polymorphisms that may influence the efficacy and safety and to understand the applicability of this knowledge in clinical practice.

Sources of data: a survey was conducted using the Pubmed, Scopus and Google Schoolar. Some articles cited in the articles of base were also included. In total there were used 59 articles published between 1995-2011.

Review methods: it was combined the key words pharmacogenetics, pharmacogenetic, rheumatoid arthritis, rheumatology, rheumatic diseases, antirheumatic agents, azathioprine, sulfasalazine, methotrexate and anti-TNF.

Results: the most promising personalized therapy for treatment of RA according to the individual genetic profile evaluated is: azathioprine (AZA), sulfasalazine (SSZ), methotrexate (MTX) and biological agents. For AZA, genotyping for thiopurine methyltransferase enzyme prior to its use is currently a prototype of personalized therapy in RA. For the SSZ acetylating profile of each individual (polymorphisms in the gene associated with N-acetyltransferase 2) seems important in determining the risk of developing adverse reactions. For the MTX the more consistent result is the one that correlates toxicity with C677T polymorphisms. The TNF polymorphisms may influence the outcome to treatment in RA, including the TNF -308 polymorphism.

Conclusions: clinical pharmacogenetic testing is used only with AZA. The SSZ genotyping has the potential to identify patients with greater susceptibility to toxicity. More studies are needed for the MTX and biological agents in order to clarify the mixed and contradictory results of the current studies. The application of pharmacogenetics for these agents is just an expectation.

Keywords: rheumatoid arthritis, pharmacogenetics, azathioprine, sulfasalazine, methotrexate and anti-TNF.

Review Article

Lista de abreviaturas e siglas

A – adenina

ADN – ácido desoxirribonucleico

AICAR – 5-aminoimidazole-4-carboxamida ribonucleotídeo

AMPc - adenosina monofosfato cíclico

AR – artrite reumatoide

ARNm - ácido ribonucleico mensageiro

ATIC – 5-aminoimidazole-4-carboxamida ribonucleotídeo trasnsformilase

AZA – azatioprina

C – citosina

DHF – dihidrotetrafolato

DHFR – dihidrofolato redutase

DMARD – modificadores da evolução da doença reumatismal

G – guanina

GGH - γ- glutamil hidrólase

HGPRT – hipoxantina-guanina fosforibosil transferase

IL - interleucina

IL-1RA - antagonista do recetor da interleucina-1

MTHFR - metilenotetrahidrofolato redutase

MTX – metotrexato

MTX-PG – poliglutamatos de metotrexato

NAT-2 – N-acetiltransferase 2

RFC-1 – transportador de folato reduzido

SNP – polimorfismos de nucleótido

SSZ – sulfassalazina

T – timina

THF – tetrahidrofolato

TNFα – fator de necrose tumoral α

TNFRSF1B - recetor recombinante do TNF

TPMT – tiopurinametiltransferase

TYMS – sintase do timidilato

UTR – região não traduzida

XO – xantina oxidase

Introdução

A resposta individual à terapêutica pode ser muito variável. Utilizando uma dose padronizada de alguns medicamentos uma proporção de pessoas não responde, ou responde parcialmente ou então, desenvolve reações adversas. Há portanto, uma grande variabilidade na eficácia terapêutica e na toxicidade de alguns medicamentos.[1] Esta variação pode ocorrer devido a vários fatores como a idade, a funcionalidade de órgãos, a natureza da doença, diferenças farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos medicamentos, fatores ambientais e fatores genéticos.[2]

Conhecem-se vários exemplos de diferenças interindividuais na resposta terapêutica que são devidas a variações genéticas. Estas variações são responsáveis por alterações na farmacocinética e na farmacodinamia.[3] Estes conhecimentos poderão vir a ser utilizados visando aplicar o conceito da terapêutica personalizada ou seja, otimizar o tratamento de acordo com as características genéticas de cada indivíduo.[2] O perfil genético individual poderá assim ser a chave para uma terapêutica personalizada, permitindo aumentar a efetividade da terapêutica e reduzir as reações adversas.[4]

Reconhecido o contributo da identificação da variabilidade genética para a melhoria da eficácia e segurança de um medicamento, a área da farmacogenética tem vindo a ser muito estudada. Esta área da farmacologia clínica avalia as influências genéticas sobre as respostas terapêuticas a medicamentos nomeadamente, estuda uma alteração ou variação específica de um gene e a forma como afeta a resposta terapêutica.[1]

O conceito "farmacogenética" foi introduzido na comunidade científica em 1959 por *Vogel*.[3] Decorridas cinco décadas a sequenciação do genoma humano pelo *Human Genome Project*[5] foi um passo importante pois, permitiu explorar a potencialidade da terapêutica personalizada baseada na genética.

O ácido desoxirribonucleico (ADN) é composto por sequências complexas de nucleótidos, que podem ser divididos em purinas: adenina (A) e guanina (G) e em pirimidinas: citosina (C) e timina (T). As variações nestas sequências, encontradas com frequência igual ou superior a 1% na população geral, são chamadas de polimorfismos genéticos.[6] As formas mais comuns de polimorfismos genéticos são: deleções, polimorfismos de nucleótido (SNP), variações no número de sequências repetidas, micro e minissatélites.[1]

As diferenças na resposta terapêutica individual estão geralmente associadas a polimorfismos que afetam a farmacocinética ou a farmacodinâmica.[1] Vários autores sugerem que SNP em genes que codificam transportadores de medicamentos ou os seus alvos, enzimas metabolizadoras de medicamentos ou envolvidas na síntese e reparação de ADN podem determinar a toxicidade ou eficácia terapêutica.[7]

Atualmente, a prática clínica em reumatologia baseia-se bastante na terapêutica empírica. Em vez deste método de terapêutica por tentativa-erro, há vários autores que tentam propor um novo esquema de tratamento das doenças reumáticas, através da identificação de polimorfismos de genes envolvidos no metabolismo, no transporte ou em alvos de medicamentos. Pretende-se que, desta forma, seja possível prever a resposta terapêutica.[8] Há vários fatores genéticos que influenciam a resposta aos medicamentos usados no tratamento de doenças reumáticas. Contudo, há apenas alguns exemplos que têm relevância clínica nesta área.[8] O exemplo da artrite reumatoide (AR) foi o escolhido devido à sua prevalência e por que é o exemplo de uma doença que quando não tratada precoce e corretamente conduz a graves consequências para os doentes, com grande incapacidade funcional.

Esta revisão tem como objetivos rever a importância da farmacogenética na AR, identificar os principais polimorfismos que poderão influenciar a eficácia e segurança terapêutica e entender a aplicabilidade destes conhecimentos na prática clínica. Serão abordados apenas os polimorfismos mais importantes e, melhor estudados, a considerar em algumas terapêuticas

utilizadas na AR, nomeadamente da azatioprina (AZA), sulfassalazina (SSZ), metotrexato (MTX) e agentes biológicos.

Esta revisão está organizada da seguinte forma: depois da introdução referem-se os métodos utilizados na pesquisa bibliográfica; de seguida caracteriza-se a AR e a sua terapêutica principal e com maior potencial para ser usada como terapêutica personalizada. Apresentam-se depois os resultados da pesquisa, organizados em diferentes subcapítulos para cada terapêutica abordada. Por último, apresentam-se as conclusões.

Métodos

Para obter os dados que serviram de base a este trabalho foi feita uma pesquisa na base de dados da *Pubmed* com os seguintes termos: *(pharmacogenetic OR pharmacogenetics) AND (rheumatoid arthritis OR rheumatology OR rheumatic diseases) AND (antirheumatic agents OR azathioprine OR sulfasalazine OR methotrexate OR anti-TNF)*. Obtiveram-se diretamente 120 artigos dos quais, após leitura de título e resumo, foram selecionados 50. Esta seleção inclui artigos em português e inglês e foi dada especial atenção a estudos que eram revisões sem contudo excluir outros tipos de estudos. Foram excluídos artigos em outras línguas, resultados que eram apenas comentários ou que se referiam a outras doenças que não a AR. Foram também excluídos artigos que apenas referiam o papel da genética na doença e que não abordassem a terapêutica. Apenas se conseguiu ter acesso a 34 artigos completos, com alguns diretamente pedidos aos autores por correio eletrónico. Os 34 artigos foram incluídos na bibliografia após leitura integral.

Foi também efetuada uma pesquisa complementar noutras bases de dados. Na base de dados *Scopus* foram utilizadas as mesmas palavras que as usadas na *Pubmed* e os mesmos critérios de inclusão e exclusão. Apenas nove artigos eram diferentes dos encontrados na *Pubmed*. Destes nove artigos foram incluídos pelo título e resumo dois e após leitura do artigo integral foram os dois incluídos.

Foi também efetuada uma pesquisa mais simples no *Google Schoolar,* na tentativa de encontrar artigos em português. Foram usadas as seguintes palavras: farmacogenética e doenças reumáticas e seguiram-se os mesmos critérios de inclusão e exclusão acima referidos. Obtiveram-se 25 artigos dos quais, após leitura de título e resumo apenas se selecionou um. Este foi incluído após a sua leitura integral.

No total das três bases de dados foram obtidos 37 artigos, na maioria artigos de revisão, em português ou inglês. A esta pesquisa foram adicionados 22 artigos referenciados nos artigos de base. Aqui foram incluídos artigos com relevância para o tema do trabalho, em inglês ou português, artigos de revisão ou outros (de coorte, prospetivos, transversais ou outros).

No seu conjunto, para a redação desta revisão, foram selecionados 59 artigos publicados entre 1995 e 2011.

Farmacogenética na reumatologia: o exemplo da artrite reumatoide

Idealmente a terapêutica das doenças reumáticas, como a AR, seria personalizada para cada indivíduo tendo em consideração o seu perfil genético e a gravidade da sua doença. Há muitos anos que se tem vindo a estudar a associação entre as características genéticas e a suscetibilidade para as doenças reumáticas. Contudo, apenas recentemente têm sido realizados estudos para entender o papel da genética na resposta terapêutica na área da reumatologia.[9] Uma grande parte destes estudos foi realizada na área da AR.

A AR é uma doença sistémica, inflamatória crónica, de etiologia desconhecida e uma das doenças autoimunes mais prevalentes a nível mundial.[10,11] Afeta cerca de 0,5-1% da população geral, sendo uma das doenças reumáticas mais frequentes (em conjunto com lúpus eritematoso sistémico).[12,13] A prevalência em Portugal, segundo o Observatório Nacional das Doenças Reumáticas, será de 0,8% em 2001. Nesta doença verifica-se hiperplasia da membrana sinovial que invade a cartilagem e o osso, destruindo-os. Vários mediadores inflamatórios e elementos celulares contribuem para sua patogénese, como a interleucina (IL) -1, o fator de necrose tumoral α (TNFα), as metaloproteinases, as células CD4+, os linfócitos B, os macrófagos e os fibroblastos sinoviais.[14] Em estados avançados a AR provoca grandes limitações funcionais, incapacitando muitos doentes da realização da sua atividade profissional. De facto, cerca de metade dos doentes com AR são incapazes de trabalhar durante alguma fase da doença.[12]

Apesar dos progressos no conhecimento da patogénese desta doença, o significativo número de agentes terapêuticos eficazes continua a ser empregue de forma empírica. Para além disso, existem alguns obstáculos a ultrapassar: primeiro, não existe um medicamento que seja eficaz em todos os doentes e a maioria, induz remissão da doença em apenas um terço dos doentes. Isto leva a que a prescrição seja baseada num método de tentativa-erro,

quando seria mais vantajoso iniciar o tratamento com o medicamento mais eficaz, logo desde o início. Assim, poder-se-iam evitar lesões irreversíveis e melhorar o prognóstico a longo prazo. Por outro lado, mesmo quando os medicamentos são eficazes têm efeitos adversos significativos. Acrescem os custos elevados de algumas terapêuticas. E finalmente, não existe nenhum medicamento que previna a AR.[11,15,16]

As terapêuticas atuais para AR encontram-se sumariadas na tabela 1. Continuam a ser de primeira escolha os tradicionais modificadores da evolução da doença reumatismal (DMARD). Mais recentemente surgiram os medicamentos anti-TNFα como o infliximab, etanercept e adalimumab e agentes dirigidos à IL-1 (anankira), às células T (abatacept) e células B (rituximab). Estes são também conhecidos como DMARD biológicos.[17]

Tabela 1- Terapêutica usada na AR. Adaptado de[17]

Glucocorticoides	
DMARD clássicos: - Metotrexato - Sulfassalazina - Azatioprina - Hidroxicloroquina - Sais de ouro - Leflunomida - Ciclosporina	DMARD biológicos: - Anti-TNFα: Etanercept, Infliximab, Adalimumab - Anti- IL-1: Anankira - Anti- CTL4: Abatacept - Anti- CD20: Rituximab

A eficácia dos DMARD, usados nas fases iniciais da doença, é globalmente reconhecida. A prevenção de danos na arquitetura articular encontra-se documentada para DMARD como MTX, SSZ e leflunomida.[12] Os DMARD biológicos, mais recentemente usados na terapêutica da AR, também têm tido bons resultados na diminuição da atividade inflamatória e na progressão da doença. No entanto, a eficácia destas terapêuticas é variável e o uso destes agentes encontra-se limitado pelo risco de desenvolvimento de reações adversas

individualmente imprevisíveis. Desta forma, por vezes é difícil decidir qual a terapêutica a instituir devido à dificuldade de prever com segurança as diferentes respostas, quer na eficácia quer na toxicidade.[12,13,18]

Verificou-se que a atividade de algumas enzimas, envolvidas na metabolização de DMARD (nomeadamente da SSZ e AZA), varia de pessoa para pessoa. Os avanços recentes na área da farmacogenética mostraram que estas diferenças resultam de polimorfismos genéticos. Este conhecimento tem encorajado a avaliação da aplicação da farmacogenética na AR e motivado vários estudos.[12]

O medicamento mais usado na AR é o MTX, sendo mesmo o DMARD de primeira escolha.[10] Nos últimos 10 anos, mais de 50 estudos analisaram a relação entre SNP e a sua eficácia ou toxicidade na AR.[19]

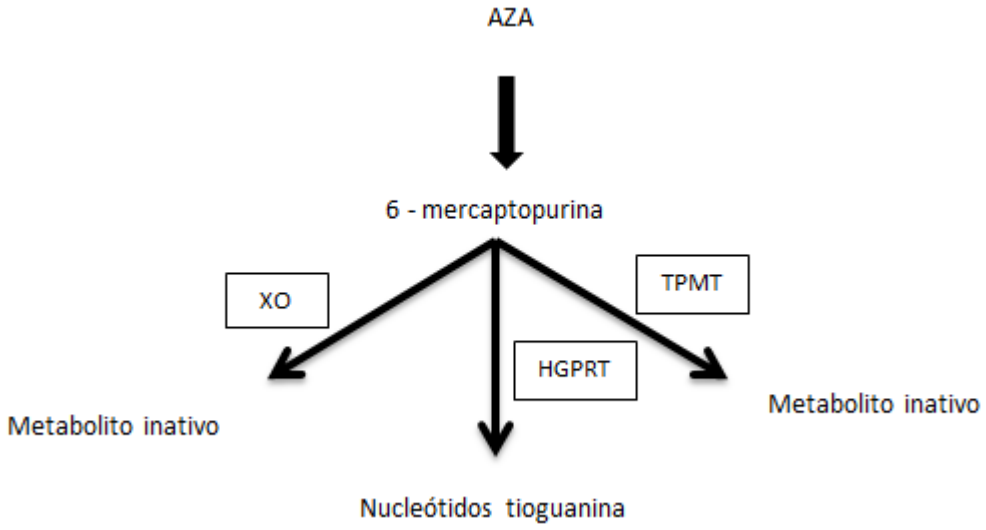
Já no que diz respeito aos DMARD biológicos estes foram introduzidos a partir da década de 90 e suscitaram a convicção da possibilidade de indução de remissão da AR.[11] Contudo, verificou-se que uma proporção de doentes não respondia a estes tratamentos. Dados os custos elevados e as preocupações acerca da sua toxicidade, tornou-se necessário encontrar preditores genéticos na resposta ao tratamento. Os primeiros estudos foram realizados com os agentes anti-TNFα caracterizando os polimorfismos do gene codificador da própria citocina. Vários estudos têm sido realizados na área da farmacogenética e anti-TNFα para tratamento da AR e a caracterização de biomarcadores genéticos associados ao tratamento biológico tem avançado muito.[10]

Os DMARD, como AZA, SSZ, MTX e os agentes biológicos, usados na AR são aqueles que têm maior potencial para poderem ser usados como terapêutica personalizada, de acordo com perfil genético individual.[20]

Azatioprina

A AZA é o medicamento com perfil farmacogenético melhor estudado e definido na área das doenças reumáticas.[21] Este fármaco tem uma vasta aplicação terapêutica: é usado na rejeição de transplante de órgão sólido, na doença inflamatória intestinal, em doenças neoplásicas e em doenças reumáticas, como o lúpus eritematoso sistémico e a AR. Embora a AZA tenha vindo a perder a sua importância no tratamento da AR, ainda é utilizada, sobretudo quando existem manifestações não controláveis com outros DMARD.[14,21]

A AZA é convertida em 6-mercaptopurina no fígado. A 6-mercaptopurina pode ser metabolizada pelas enzimas xantina oxidase (XO) ou tiopurinametiltransferase (TPMT) em metabolitos inativos, que são excretados. O efeito terapêutico deste fármaco resulta da ação da enzima hipoxantina-guanina fosforibosil transferase (HGPRT) que converte a 6-mercaptopurina em nucleótidos tioguanina. Estes nucleótidos são incorporados no ADN de células em proliferação e provocam citotoxicidade, bloqueando a replicação do ADN.[21] No esquema 1 encontra-se representado este mecanismo de metabolização da AZA.



Esquema 1 - Via de metabolização da AZA: a AZA é convertida em 6-mercaptopurina e pode ser metabolizada pela XO ou TPMT em metabolitos inativos ou pela HGPRT que a converte em nucleótidos tioguanina, os quais causam citotoxicidade. (AZA: azatioprina; XO, xantina oxidase; HGPRT, hipoxantina-guanina fosforibosil transferase; TPMT, tiopurinametiltransferase). Adaptado de[9]

A AZA tem um efeito antiproliferativo, o que explica o seu uso em doenças neoplásicas. O seu uso nas doenças reumáticas, em doses menores, é justificado devido ao seu efeito na modulação de várias funções imunológicas.[8] Apesar das potencialidades terapêuticas da AZA, a elevada taxa de descontinuação terapêutica devido a efeitos adversos tem vindo a limitar o seu uso. Das 3 enzimas envolvidas no metabolismo da AZA, apenas a TPMT tem sido extensivamente estudada farmacogeneticamente.[12] Existem polimorfismos da atividade enzimática da TPMT que permitem identificar os indivíduos com atividade enzimática elevada (90% da população), atividade enzimática intermédia (10% da população) e indivíduos que tem deficiência de TPMT (0,3% da população).[13]

O alelo *wild-type* que codifica esta enzima é designado como TPMT*1 e já se encontram identificados pelo menos 18 alelos variantes.[22] Contudo, destes diferentes polimorfismos identificados, três deles (TPMT*2 – G238C, TPMT*3A – G460A e A719G e TPMT*3C – A719G) encontram-se associados a 80-95% dos casos de atividade enzimática intermédia ou baixa.[8,13]

Desta forma, os indivíduos que são homozigóticos para os alelos *wild type* (TPMT* 1) têm elevada atividade enzimática. Os indivíduos homozigóticos para os alelos variantes (TPMT*2, TPMT*3A e TPMT*3C) têm baixa ou nenhuma atividade enzimática. Os heterozigóticos, com alelos *wild-type* e variante, têm atividade intermédia.[12]

Os doentes com ausência de atividade da enzima TPMT, ao tomarem AZA, acumulam quantidades elevadas de nucleótido tioguanina provocando uma leucopenia severa, que é potencialmente fatal. Os doentes com atividade enzimática moderada, ao serem medicados com AZA, acumulam o dobro da quantidade de nucleótidos tioguanina, comparando com indivíduos com atividade elevada. Por isso, estes doentes também se encontram em risco de desenvolver toxicidade hematológica, sobretudo se tomarem doses elevadas de AZA.[23,24]

Alguns autores também verificaram que nos doentes com AR tratados com AZA era mais frequente ocorrer intolerância gastrointestinal naqueles com baixa atividade da TPMT.[25]

A variação na atividade enzimática da TPMT é assim relevante na terapêutica de doenças reumáticas, nomeadamente na AR em que há registo que cerca de 17% dos doentes que fazem terapêutica com AZA desenvolvem leucopenia.[26] Também se verificou que em cada três doentes com AR que desenvolvem toxicidade medular, dois têm deficiência da enzima TPMT e um tem baixa atividade da enzima 5-nucleotidase, que também está envolvida no metabolismo das purinas.[27]

Um exemplo do potencial uso da farmacogenética na reumatologia foi apresentado num estudo que envolveu 67 doentes com doenças reumáticas (maioria com AR) tratados com AZA.[8] Todos os doentes foram genotipados para os alelos da TPMT e verificou-se que seis doentes eram heterozigóticos para os alelos variantes da TPMT. Destes seis doentes, cinco descontinuaram a terapêutica após um mês de tratamento devido a leucopenia. Por outro lado, doentes com alelos *wild type* receberam tratamento durante 39 semanas. Este estudo demonstrou a utilidade do conhecimento do perfil genético da enzima TPMT antes da terapêutica com AZA.[23] Alguns autores defendem que os doentes homozigóticos para os alelos variantes deveriam evitar a terapêutica com AZA. A opinião na comunidade científica ainda é muito díspar quanto aos indivíduos heterozigóticos. Contudo, alguns autores defendem que se deve usar AZA em pequenas doses, para desta forma, evitar toxicidade e, ao mesmo tempo, manter a eficácia terapêutica.[28] Uma outra vantagem da caracterização do perfil metabólico da AZA é que permite que, nos doentes com atividade enzimática elevada, se possa fazer uma escalada terapêutica mais rapidamente. Se não se soubesse qual o perfil metabólico teria de se aumentar a dose de AZA lentamente em função da tolerabilidade do doente.

Atualmente já existem métodos, baseados na técnica de reação em cadeia da polimerase, para a identificação destes alelos. Estes métodos já foram validados e estão disponíveis em laboratórios de referência nos Estados Unidos e na Europa.[8,13] Um estudo realizado em Inglaterra conclui que 2/3 dos médicos questionados realizavam genotipagem da TPMT antes de iniciar tratamento com AZA.[29] Estudos de farmacoeconomia concluíram que há uma relação custo-benefício vantajosa no estudo dos polimorfismos da enzima TPMT antes de iniciar tratamento com AZA na AR. Os resultados obtidos permitiram concluir que ajustando a dose da AZA, de acordo com o genótipo da TPMT, se verificava diminuição dos custos e uma redução marcada da morbilidade associada à doença.[30]

Embora a AZA seja usada com menor frequência no tratamento da AR, a genotipagem da TPMT, antes do início da sua toma, é na atualidade um protótipo de terapêutica personalizada na AR.[12]

Sulfassalazina

A SSZ foi usada pela primeira vez na AR na década de 40, tendo sido incluída no grupo dos DMARD. A sua eficácia é semelhante a outros DMARD como hidroxicloroquina ou sais de ouro.[31] Contudo, o seu uso é limitado devido ao desenvolvimento de efeitos adversos em alguns doentes. Verificou-se toxicidade associada à SSZ em cerca de 20 a 30% dos doentes com AR.[12]

Após a toma da SSZ por via oral, é clivada pelas bactérias intestinais em 5-ácido amino salicílico e sulfapiridina. A sulfapiridina é metabolizada, a nível hepático, por acetilação, pela enzima N-acetiltransferase 2 (NAT-2). Os polimorfismos no gene desta enzima permitem dividir os indivíduos em dois grupos, de acordo com a sua capacidade de acetilação: os acetiladores lentos e os acetiladores rápidos. Os acetiladores lentos são mais suscetíveis a desenvolver efeitos adversos (sintomas gastrointestinais e hepatotoxicidade), após toma da SSZ, do que os acetiladores rápidos.[13,14] Alguns autores também verificaram que a maioria dos doentes que desenvolveram doença *lupus-like* e vasculite cutânea, após toma de SSZ, eram acetiladores lentos.[20]

Os indivíduos com, pelo menos um alelo *wild-type* (NAT2*4) são acetiladores rápidos, contudo, existem vários alelos variantes da NAT-2. Os polimorfismos responsáveis pelo perfil de acetilador lento são os correspondentes aos seguintes alelos variantes: NAT2*5A (T341C e C481T), NAT2*5B (T341C, C481T e A803G), NAT2* 5C (T341C e A803C), NAT2*6 (C282T e G590A) e NAT2*7 (C282T e G857A). Estes alelos variantes, quando em homozigotia, estão associados a um aumento na concentração de metabolitos tóxicos intermediários.[32]

O perfil acetilador de cada indivíduo, que está associado a polimorfismos no gene da NAT-2, parece ser importante para determinar o risco de desenvolver reações adversas após toma

de SSZ. Desta forma, métodos de identificação do genótipo da NAT-2 serão instrumentos com enorme potencial na prática clínica, para evitar a toxicidade associada à SSZ nos doentes com AR.[14]

Metotrexato

O MTX é o DMARD mais frequentemente usado no tratamento da AR.[33,34] Vários estudos confirmaram o seu papel central quer em monoterapia quer em combinação com outros DMARD. Apesar do aparecimento da terapêutica biológica, o MTX continua a ser de primeira linha no tratamento da AR devido à sua eficácia associada ao seu baixo custo, à elevada experiência no seu uso e por poder ser usado em terapêutica combinada (com outros clássicos ou com biológicos).[35]

O seu principal efeito farmacológico pensa-se que será o antagonismo do folato[14] mas estudos mais recentes indicam que a sua eficácia está relacionada com a libertação de adenosina.[36,37] Apesar de os principais mecanismos de ação do MTX na AR continuarem por esclarecer, vários estudos demonstraram a sua eficácia clínica no tratamento desta doença,[12] incluindo nos doentes com doença refratária ou grave.[38] Alguns estudos demonstraram mesmo que o MTX pode melhorar a funcionalidade e a qualidade de vida dos doentes.[39]

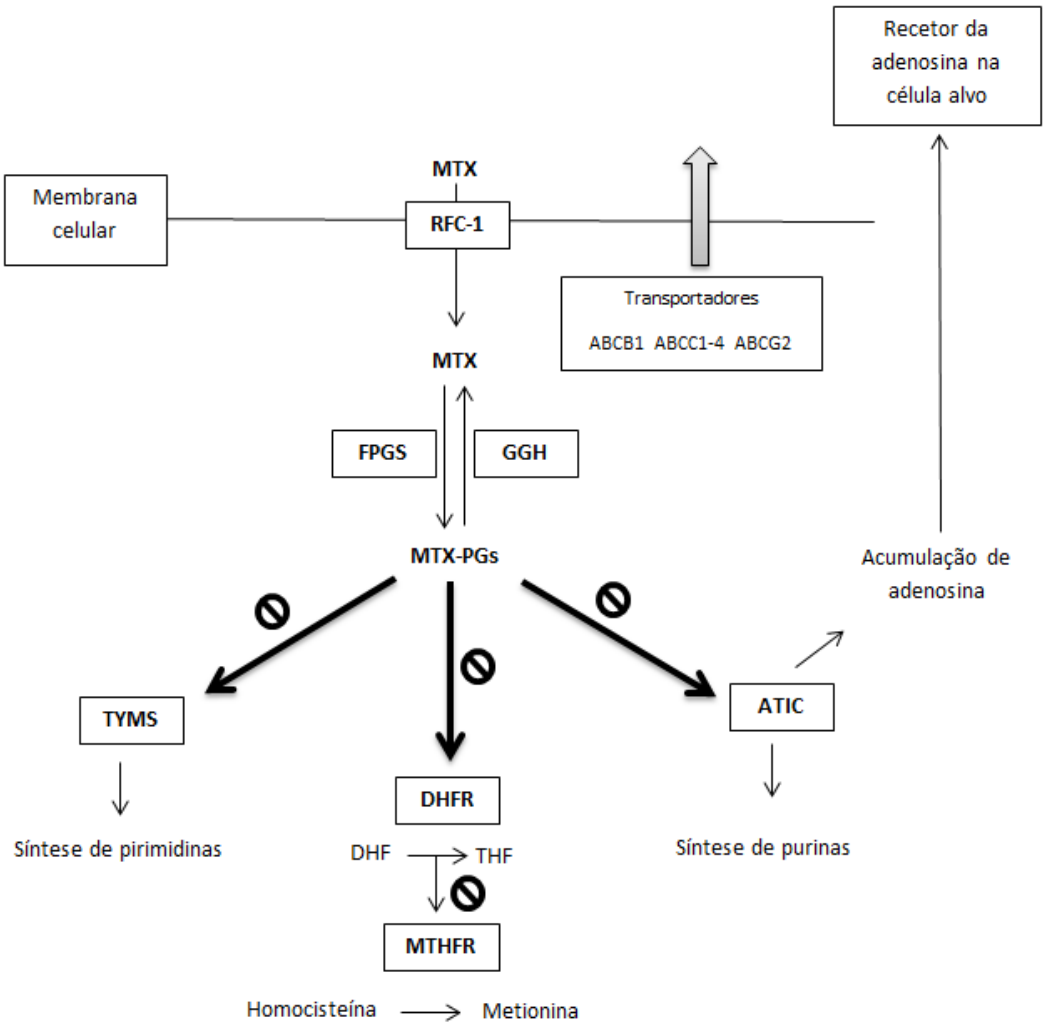
Apenas 46 a 65% dos doentes medicados com MTX respondem ao tratamento e a dose de MTX necessária, para diminuir a atividade da doença é variável.[40] Por outro lado, a toxicidade ao MTX ocorre em alguns doentes e noutros não. De facto, aproximadamente 10 a 20% dos doentes com AR abandona o tratamento com MTX devido ao desenvolvimento de efeitos adversos.[35] Alguns dos efeitos adversos documentados são: nodulose (8%), pneumonite de hipersensibilidade (2-5%), toxicidade do sistema nervoso central (1-35%), sintomas gastrointestinais (60%), aumento das transaminases hepáticas (20-58%), anomalias hematológicas (1-2%) como leucopenia, trombocitopenia, anemia megaloblástica e pancitopenia; rash (1-2%) e alopecia (5%).[35]

A variabilidade na eficácia e, também na toxicidade, no tratamento da AR com o MTX pode, em parte, ser determinada geneticamente.[33] Como se pensa que a sua eficácia, e parte da

sua toxidade, se devam à inibição do metabolismo do folato, o conhecimento de polimorfismos genéticos nesta via pode fornecer informações importantes acerca da resposta terapêutica.[34,36]

A via de metabolização do MTX encontra-se representada no esquema 2. O MTX entra nas células por atividade de um transportador de folato reduzido (RFC-1) e uma vez dentro da célula, sofre poliglutamação, sendo convertido em poliglutamatos de MTX (MTX-PGs) pela enzima folipoliglutamil sintase (FPGS). Esta poliglutamação do MTX facilita a retenção intracelular do mesmo, aumentando a sua semivida intracelular.[14,36] O processo de poliglutamação pode ser revertido por ação da enzima γ- glutamil hidrólase (GGH). O efluxo do MTX para o meio extracelular é realizado pela família de transportadores *ATP-binding cassette*: ABCB1, ABCC1-4 e ABCG2.[35]

O MTX inibe diretamente várias enzimas da via do folato, incluindo a dihidrofolato redutase (DHFR), a sintase do timidilato (TYMS) e a 5-aminoimidazole-4-carboxamida ribonucleotídeo (AICAR) trasnsformilase (ATIC). Outras enzimas do folato não são inibidas diretamente pelo MTX, como a metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR), mas o seu nível de expressão possivelmente contribui para o efeito de antagonismo do folato provocado pelo MTX.[41]



Esquema 2 – Principais enzimas envolvidas no metabolismo do MTX: o MTX entra nas células por atividade do RFC-1 e é convertido em MTX-PGs pela FPGS, este processo pode ser revertido pela GGH. Os MTX-PGs inibem a TYMS, DHFR, ATIC e indiretamente a MTHFR. (MTX-metotrexato; RFC-1, transportador de folato reduzido; MTX-PGs, poliglutamatos de MTX; FPGS, folipoliglutamil sintase; GGH, γ - glutamil hidrólase; DHF, dihidrofolato; THF, tetrahidrofolato; TYMS, sintase do timidilato; DHFR, dihidrofolato redutase; MTHFR, metilenotetrahidrofolato redutase; ATIC, 5-aminoimidazole-4-carboxamida ribonucleotídeo trasnsformilase). Adaptado de[42]

A inibição da enzima DHFR pelos MTX-PGs impede a conversão do dihidrotetrafolato (DHF) em tetrahidrofolato (THF). Como resultado, há acumulação de homocisteína e diminuição dos níveis de metionina, o que determina diminuição da metilação do ADN. A inibição da enzima TYMS interfere com a síntese de ADN. E por fim, a inibição da ATIC resulta na acumulação de AICAR, que inibe a enzima adenosina desaminase e adenosina monofosfato desaminase com aumento da libertação de adenosina na circulação sanguínea. A

adenosina extracelular liga-se aos seus recetores, ativando-os, o que determina aumento de adenosina monofosfato cíclico (AMPc). O aumento do AMPc inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias envolvidas na AR como o TNFα, interferão- γ e IL-1. O MTX tem assim variadas ações anti-inflamatórias mediadas através de diferentes vias.[38]

Dado que o MTX apresenta diferenças na sua eficácia e toxicidade (obrigando a uma monitorização regular incómoda e dispendiosa) e também, devido ao facto de ter um preço muito inferior à nova terapêutica biológica, é um alvo atrativo para a realização de estudos farmacogenéticos.[42] O estudo de polimorfismos do MTX em doentes com AR, antes do início do tratamento, poderá ajudar a diminuir a morbilidade associada a efeitos adversos, reduzir a necessidade de realizar testes laboratoriais dispendiosos para monitorizar a sua toxicidade e ajudar a selecionar os doentes que melhor responderão ao tratamento.[35]

Vários estudos documentam uma variedade de polimorfismos associados ao MTX. Os estudos farmacogenéticos mais recentes focaram a sua atenção particularmente em enzimas envolvidas no transporte do MTX, para dentro e fora das células, e em enzimas envolvidas no seu metabolismo.[38,43] Alguns estudos abordam os polimorfismos numa perspetiva de eficácia do MTX e outros tentam estabelecer relação com toxicidade. Dada a enorme variedade de polimorfismos encontrada serão abordados apenas os mais frequentemente estudados e com maior potencial para serem aplicados na atividade clínica.

Polimorfismos nos transportadores

Os polimorfismos que influenciam o transporte do MTX através da membrana celular envolvem os transportadores RFC-1 (G80A) e o ABCB1 (C3435T). Relativamente ao RFC-1, verificou-se que os doentes com genótipo 80AA respondiam melhor ao tratamento com MTX do que os que têm o alelo *wild-type* (80GG).[14] Contudo, um estudo mais recente não encontrou associação da eficácia do MTX com este polimorfismo.[13]

Verificou-se que doentes com os genótipos ABCB1 3435CC e 3435CT têm maior risco de AR severa, comparativamente com os indivíduos com o genótipo 3435TT, que respondem melhor ao MTX.[14] Mas num estudo mais recente obteve-se um resultado contraditório em que este polimorfismo estava associado a uma diminuição da eficácia do MTX.[13,44]

Polimorfismos da via metabólica

A TYMS é uma enzima chave na síntese de novo de timidilato, convertendo a deoxiuridina monofosfato em deoxitimidina monofosfato. Foi identificada na região não traduzida (UTR)-5' do gene da TYMS uma sequência polimórfica de repetições, com um número variável de 28 pares de bases. Quanto maior o número de repetições, maior é a expressão de ácido ribonucleico mensageiro (ARNm) e maior a atividade enzimática, logo menor será a eficácia do MTX. Desta forma, indivíduos homozigóticos para o alelo com repetição tripla têm menor resposta terapêutica do que indivíduos homozigóticos para alelo de repetição dupla.[13,14] Outro polimorfismo também descrito na TYMS consiste na deleção de 6 pares de bases com a sequência TTAAAG, no nucleótido 1494, da UTR-3', da TYMS. Esta deleção pode estar associada a uma diminuição da expressão do ARNm da TYMS, resultando numa maior eficácia do MTX. [13,14, 44]

A ATIC converte o AICAR em AICAR-10-formil. Esta enzima é inibida diretamente pelo MTX, levando à acumulação de AICAR e de adenosina (uma purina anti-inflamatória). Um estudo concluiu que o polimorfismo C347G da ATIC, em homozigotia, em conjunto com o polimorfismo de repetição da TYMS e com o polimorfismo do RFC-1, descrito acima, parece aumentar a resposta ao MTX.[13,45]

A MTHFR é uma enzima central no metabolismo do folato, pois é a principal responsável pela regeneração do folato. De entre mais de uma dúzia de polimorfismos documentados nesta enzima, há dois polimorfismos que se encontram bem estudados e parecem estar

associados a uma diminuição na sua atividade enzimática. A alteração da atividade da enzima MTHFR parece por sua vez, influenciar a eficácia ou toxicidade do MTX.[12] A diminuição da sua atividade determina também aumento da homocisteína que pode provocar lesões no sistema nervoso central e no sistema cardiovascular e altera a distribuição do folato.[9,37] Os dois polimorfismos desta enzima melhores estudados são: o C677T, que consiste numa substituição de C por T resultando numa substituição da alanina por valina, e o polimorfismo A1298C, em que há uma troca de A por C provocando uma substituição da glutamina por alanina. Na presença do primeiro polimorfismo verifica-se uma hiperhomocisteinemia, que não se verifica na presença do segundo.[20]

O polimorfismo C677T resulta numa variante termolábil da MTHFR, com diminuição da sua atividade enzimática: os indivíduos heterozigóticos para o polimorfismo têm uma redução na atividade da MTHFR de 30-40%, e os indivíduos homozigóticos têm uma redução da atividade enzimática de 70%.[21] Há também uma grande variabilidade de efeitos clínicos relacionados com este polimorfismo, como aumento de efeitos adversos gastrointestinais, aumento da toxicidade hepática e de outros efeitos adversos. Contudo, apesar destes resultados, outros autores não encontraram qualquer efeito deste polimorfismo na toxicidade e eficácia do MTX.[13,14,44]

O segundo polimorfismo muito estudado no gene da MTHFR é o A1298C. Este também resulta numa diminuição na atividade enzimática da MTHFR. Alguns estudos sugerem que os portadores deste alelo têm maior suscetibilidade para AR, respondem mais eficazmente ao MTX e têm maior risco de toxicidade. Contudo, outros não encontraram associação com o efeito deste polimorfismo na eficácia ou toxicidade da resposta ao MTX. [13,14]

Também se encontram descritos polimorfismos em outras enzimas da via do MTX como para GGH, DHFR mas o seu significado clínico e funcional permanece desconhecido.[14] Os

principais polimorfismos associados ao metabolismo do MTX encontram-se sumariados na tabela 2.

Tabela 2- Polimorfismos mais importantes na via do MTX. Adaptado de [14,38]

Enzima	Polimorfismo e percentagem das variantes na população geral	Efeito do polimorfismo	Farmacogenética (resultados de diferentes estudos)
RFC- 1	**G80A:** GG-28% GA-52% AA-20%	Aumento da entrada intracelular do MTX	- Genótipo AA associado a melhor resposta terapêutica -Estudo mais recente não encontrou esta associação
ABCB1	**C3435T:** CC-27% CT-54% TT-18%	Papel no transporte do MTX	- Genótipo TT associado a melhor resposta terapêutica - Estudo mais recente associou polimorfismo a uma diminuição da eficácia
TYMS	Repetição de 28 pares de bases em UTR-5'	Aumento do ARNm e da atividade enzimática	Diminuição da eficácia do MTX
	Deleção de 6 pares de bases em UTR-3'	Diminuição do ARNm	Aumento da eficácia do MTX
ATIC	**C347G:** CC-43% CG-40% GG-17%	Acumulação de AICAR e aumento de adenosina	Em conjunto com o polimorfismo de repetição da TYMS e com polimorfismo RFC-1 está associado a aumento da reposta ao MTX
MTHFR	**C677T:** CC-37% CT-51% TT-12%	Variante termolábil da enzima com diminuição da sua atividade	- Aumento da toxicidade e menor eficácia do MTX - Alguns estudos não encontraram efeitos na eficácia e toxicidade do MTX
	A1298C: AA-70% AC-27% CC-3%	Diminuição da atividade enzimática	- Aumento da eficácia do MTX - Aumento da suscetibilidade para AR - Aumento do risco de toxicidade - Alguns estudos não encontraram associação com toxicidade e eficácia

Outros polimorfismos

Encontram-se descritos polimorfismos noutros genes, para além dos envolvidos na via de metabolização do MTX, nomeadamente no gene da IL-1 e no antagonista do seu recetor (IL-1RA). Verificou-se que os indivíduos, que não respondiam ao MTX, tinham maior frequência

do alelo IL-1RN*3.[13,46] Um outro estudo conclui que o genótipo HLA-DRB1*03 era mais frequentemente encontrado nos doentes que não respondiam ao MTX.[46]

Apesar da disparidade de resultados encontrados nos diferentes estudos, o resultado mais consistente é o que relaciona o polimorfismo C677T com a toxicidade do MTX. Esta associação foi verificada consistentemente em mais do que um estudo.[13]

Dada a complexidade da via de metabolização do MTX, parece pouco provável que uma única variação genética seja suficiente para prever a eficácia e/ou toxicidade do MTX. A solução para este problema poderá passar pelo desenvolvimento de um "índice farmacogenético" que associa diferentes variantes genéticas na toxicidade e eficácia do MTX. Esse índice poderia ser o passo crucial para poder aplicar, na prática clínica, os testes farmacogenéticos do MTX.[38]

Alguns autores já desenvolveram possíveis índices farmacogenéticos. Um deles inclui os polimorfismos, já referidos, na ATIC (C347G), TYMS (sequência de repetições de 28 pares de bases) ou RFC-1 (G80A). Um doente homozigótico, para pelo menos uma variante genética destas enzimas, responde melhor ao MTX comparativamente a doentes não homozigóticos.[13,47] Este seria um exemplo de um índice farmacogenético para a eficácia do MTX.

Um outro exemplo de um índice farmacogenético, mas relacionado com toxicidade do MTX, foi proposto e foi denominado de índice "toxicogenético". Este inclui polimorfismos nas enzimas: MTHFR (C677T), TYMS (sequência de repetições de 28 pares de bases) e ATIC (C347G) e o polimorfismo C1420T, na serina hidroximetiltransferase1, uma enzima importante na síntese de 5,10-metileno-THF. A combinação dos genótipos de risco propostos parece ser um potencial modo de detetar os doentes que desenvolverão reações adversas ao MTX.[13,48]

Outros possíveis índices têm vindo a ser propostos. Contudo, a investigação futura nesta área deverá incluir não só estes dados farmacogenéticos, como também dados clínicos e demográficos.

Verifica-se assim que ainda não conseguimos prever a resposta terapêutica ao MTX existindo um longo caminho a percorrer.[34,43,49] Um dos principais problemas que condiciona diferentes resultados é o pequeno tamanho das amostras usadas nos estudos. Outra limitação dos estudos é o facto de utilizarem diferentes formas para avaliar a resposta ao tratamento, isto ocorre sobretudo com os estudos feitos no Japão que consideram que os doentes que respondem ao MTX são aqueles que necessitam de menos de 6mg por semana. Ora esta dose tão baixa quase nunca é usada na América do Norte e Europa em que a resposta terapêutica geralmente ocorre para doses iguais ou superiores a 15mg por semana. Portanto, os doentes da América do Norte e Europa, segundo os critérios dos Japoneses, seriam classificados como não respondedores mesmo que houvesse uma melhoria na doença. Por outro lado, um polimorfismo numa determinada população associado a uma determinada resposta, não significa que tenha o mesmo significado noutra população. [49,50]

Mais estudos terão de ser feitos e estes devem tentar ultrapassar as limitações dos que já existem. Num futuro muito próximo ainda não vai ser útil clinicamente realizar testes farmacogenéticos antes do início do tratamento com MTX. Talvez com o desenvolvimento crescente na área da farmacogenética esta possibilidade se torne uma realidade.

Tratamento biológico

A introdução dos DMARD biológicos foi um importante avanço na terapêutica da AR. Contudo, são mais frequentemente utilizados após ocorrência de efeitos adversos ou ineficácia de um ou mais DMARD, nomeadamente do MTX.[16,51] Estes tratamentos não são eficazes em todos os doentes pois apenas 50 a 70% têm uma resposta adequada. Para além disso, esta terapêutica tem elevados custos e pode desencadear reações adversas graves.[52] Desta forma, a identificação dos doentes que respondem aos agentes biológicos, e a qual deles, seria bastante útil para que esta terapêutica pudesse ser aplicada com uma boa relação custo-eficácia.[14]

À medida que o conhecimento dos mediadores inflamatórios na AR foi evoluindo, foram-se desenvolvendo bloqueadores das principais citocinas envolvidas na AR: IL-1 e TNFα. Os bloqueadores destas citocinas são conhecidos como agentes biológicos. Os bloqueadores do TNFα mais utilizados atualmente são: etanercept, infliximab e adalimumab.[51] O etanercept é formado a partir de um recetor recombinante do TNF (TNFRSF1B) e o adalimumab e infliximab tiveram origem em anticorpos monoclonais anti-TNFα. Embora os mecanismos de ação destes compostos sejam diferentes, todos eles envolvem a inibição da ação do TNFα, pois impedem que este se ligue aos seus recetores, na superfície celular. Por isso, também são conhecidos como agentes anti-TNFα. Esta terapêutica anti-TNFα é muito eficaz, mas nem todos os doentes têm o mesmo grau de resposta.[53] Esta variabilidade poderá ocorrer devido a diferenças existentes no gene do TNFα, que modulam a magnitude da resposta secretora desta citocina. A anakinra é outro agente biológico também usado no tratamento da AR.[14]

A maioria dos estudos encontrados avalia estes quatro agentes, pelo que serão apenas estes abordados nesta revisão. Contudo, também estão disponíveis outros como o abatacept (anti-CTL4) e o rituximab (anti-CD20) para o tratamento da AR.[54]

O tratamento com agentes anti-TNFα está associado a um aumento do risco de infeções bacterianas e víricas (do sistema respiratório, infeções cutâneas e dos tecidos moles e infeções do trato urinário), reativação de tuberculose latente e maior risco de desenvolver neoplasia cutânea. Também houve dúvidas quanto ao risco de linfoma, mas atualmente pensa-se que esse risco estará mais relacionado com a própria doença do que com o tratamento.[55]

O etanercept é uma proteína de fusão do recetor p75 do TNF humano com a região Fc da imunoglobulina humana IgG1. A sua eficácia no tratamento da AR está comprovada quer em monoterapia, quer em associação com o MTX. Contudo, alguns efeitos adversos foram descritos como infeções (por exemplo a tuberculose) e insuficiência cardíaca. O risco de desenvolver estes efeitos aumenta se, ao mesmo tempo, o doente for medicado com corticosteroides ou MTX. Também se tem sugerido uma associação do uso do etanercept com a ocorrência de doenças desmielinizantes.[14]

O infliximab é um anticorpo monoclonal que se liga ao TNFα e neutraliza a sua ação. É um anticorpo quimérico que resulta da combinação de regiões variáveis de anticorpos de rato com uma região constante da imunoglobulina humana IgG1. Este foi o primeiro anti-TNFα usado no tratamento da AR demonstrando-se eficácia terapêutica, melhoria de qualidade vida dos doentes, prevenção do dano articular e possível reparação óssea. Pode ser usado eficazmente em monoterapia, ou em combinação com o MTX, para o tratamento da doença de crohn, espondilite anquilosante e artrite psoriática. Contudo, o infliximab tem também alguns efeitos adversos como o etanercept, nomeadamente infeções oportunistas. Encontram-se também descritas doenças desmielinizantes, insuficiência cardíaca e doenças autoimunes.[14]

O adalimumab é um anticorpo monoclonal totalmente humano cujo mecanismo de ação é semelhante ao do infliximab pois liga-se ao TNFα circulante e impede que este se ligue aos seus recetores p55 e p75. Este anticorpo também exerce a sua ação através da redução dos níveis de IL-6 e de metaloproteinases. Pode ser usado em monoterapia ou em associação com

o MTX. O adalimumab também inibe a progressão do dano articular a longo prazo em doentes com AR que não tiveram uma reposta eficaz aos DMARD clássicos. Os efeitos adversos associados são os já referidos para o etanercept e infliximab.[14]

A anankira é uma forma recombinante humana do IL-1RA e atua como antagonista da ação da IL-1 através da inibição competitiva da ligação da IL-1 ao seu recetor na superfície celular. A sua eficácia tem vindo a ser estudada, em monoterapia e em associação com MTX e outros DMARD. A terapêutica combinada com o etanercept é contraindicada devido ao aumento do risco de infeções oportunistas. Um importante benefício deste agente é a inibição da progressão do dano estrutural na AR. Contudo, também surgiram algumas reações adversas como pneumonias e infeções cutâneas.[14]

Há convicção de que os polimorfismos que regulam a produção ou função de citocinas podem influenciar não só o curso natural da doença, como também influenciar a resposta terapêutica aos agentes biológicos.[52] Serão abordados nesta revisão os polimorfismos mais frequentemente encontrados na revisão bibliográfica e com maior relevância clínica.

O gene do TNFα encontra-se no cromossoma 6, muito próximo dos genes HLA-B e HLA-DR, e pode ocasionalmente haver interação entre eles. Os alelos HLA-DRB1 contêm uma sequência semelhante de nucleótidos, na terceira região hipervariável da molécula DR (chamada *shared epitope*), que se encontra associada com a AR e, pode também, estar relacionada com a resposta ao seu tratamento.[46] Verificou-se que doentes com duas cópias dos alelos HLA-DRB1 *shared epitopes* respondiam melhor ao etanercept do que os doentes com apenas um alelo ou nenhum.[13,14] Uma vez que existem muitos genes, com papel importante no sistema imune, na região do HLA, pensa-se que muitos outros genes influenciem a resposta ao tratamento.[13,14] Embora o papel do HLA-DRB1 na AR seja bem conhecido, a sua possível associação com a resposta terapêutica ainda não foi demonstrada de forma definitiva, pois existem outros estudos em que nenhuma associação foi encontrada.[46] Alguns autores

concluíram que a presença dos microssatélites D6S273_4/ BAT2_2 do HLA corresponde a uma melhor resposta ao infliximab. De igual forma, verificou-se esta associação com a presença do haplótipo TNFα 11;b4.[13,14]

Noutros estudos demonstrou-se a relação entre os polimorfismos do TNFα -308G e -857T com uma boa resposta ao etanercept.[14] No entanto, existem trabalhos com resultados contraditórios, em que não se encontrou uma associação entre o polimorfismo -308G e a eficácia do etanercept.[46] Também foram realizados estudos em outros polimorfismos do TNFα, nomeadamente na posição +489 e -238, em que se verificou que o genótipo GG em ambos estaria associado a manifestações mais graves da doença, mas não se encontraram efeitos na resposta ao etanercept.[14]

Também foram efetuados estudos farmacogenéticos com o infliximab. O genótipo – 308 GG, na região do promotor do TNFα, encontra-se associado a uma melhor resposta ao infliximab. O polimorfismo -308 poderá influenciar a resposta ao tratamento com infliximab devido aos seus efeitos nos níveis de TNFα em circulação.[56,57] A presença do alelo A (elevada produção de TNF), em homozigotia ou em heterozigotia, estaria relacionada com baixa eficácia do infliximab. Contudo, outros estudos deste polimorfismo não documentaram qualquer relação com a resposta ao infliximab.[14,57]

Outras investigações foram feitas para estudar a resposta do etanercept ou infliximab em doentes, com AR severa que não responderam previamente ao MTX, em combinação com outros DMARD. Os que tinham o genótipo do recetor do TNFα, TNFRSF1B 196TT respondiam melhor ao etanercept, durante 24 semanas, do que os doentes com genótipo TG/TG. Conclui-se então que, o genótipo 196TT está relacionado com uma maior resposta à terapêutica anti-TNFα (etanercept e adalimumab) na AR. Enquanto a presença do alelo G se relaciona com uma resposta menor. [13,14]

A combinação do genótipo do TNFα -308 GG com o genótipo -1087GG da Il-10 também se encontra associada a uma melhor resposta ao tratamento com etanercept. Os doentes com estes dois polimorfismos têm uma resposta inflamatória menos acentuada. O etanercept parece assim ser mais eficaz nos doentes que possuem um perfil genético que lhes confere uma menor resposta inflamatória.[58] Outro estudo demonstrou que polimorfismos microssatélite no promotor da Il-10 estão associados a uma melhor resposta do etanercept.[56]

Para além da capacidade de neutralizar citocinas, os agentes biológicos também exercem a sua função através do seu fragmento Fc da IgG1 e ligam-se aos recetores celulares Fcγ (FcγR). Têm sido feitos vários estudos para encontrar polimorfismos no FcγR que possam ser clinicamente relevantes no tratamento biológico da AR. Contudo, os resultados encontrados não foram suficientemente convincentes.[46]

Os estudos farmacogenéticos feitos com anankira mostraram uma elevada associação entre a presença do alelo T na região +4845 da IL-1 e um aumento da resposta a este agente biológico. Ainda em relação à IL-1 verificou-se que doentes com a presença do alelo IL-1RN*2 respondiam melhor ao infliximab.[46]

Concluindo, não há evidência de que a identificação de variações no ADN permita prever com segurança a resposta terapêutica aos agentes biológicos. Algumas das limitações destes estudos podem contribuir para esta insegurança, nomeadamene: serem em escasso número; terem uma amostra pequena; incluírem doentes com diferentes características de doença (nomeadamente em termos de duração, atividade inflamatória e uso de medicação concomitante); incluírem diferentes populações e por usarem diferentes parâmetros para avaliar a resposta terapêutica.[51,52,59]

Contudo, apesar de não existirem conclusões definitivas cada vez mais se pensa que polimorfismos no TNFα podem influenciar as respostas ao tratamento na AR, nomeadamente

o polimorfismo -308 do TNFα. O qual parece ser o mais relevante, apesar dos resultados heterogéneos.[46,59]

Os principais polimorfismos em estudo para a terapêutica biológica encontram-se resumidos de forma simples na tabela 3. De notar que os resultados dos diferentes estudos apresentados nesta tabela não são definitivos pois é possível encontrar estudos com resultados contraditórios.

Tabela 3– Principais polimorfismos da terapêutica biológica. Adaptado de[14]

Gene	Posição do polimorfismo	Alelos	Farmacogenética (resultados de diferentes estudos)
HLA	HLA-DRB1 *shared epitopes*		- Presença de duas cópias dos alelos HLA-DRB1 associado a uma melhor resposta ao etanercept - Alguns estudos não encontraram associação
	Microssatélites do HLA: BAT 2 e D6S273		Presença do haplótipo D6S273_4/ BAT2_2 associado a uma melhor resposta ao infliximab
TNFα	TNFα11;b4	haplótipo	Associado a uma melhor resposta ao infliximab.
	-308	G A	- Genótipo GG associado a uma melhor resposta ao infliximab - Alguns estudos não encontram associação
	-857	C T	Associado a uma melhor resposta ao etanercept
	+489	G A	Genótipo GG associado a doença mais severa mas sem efeito na resposta ao etanercept
	-238	G A	
TNFRSF1B	Codão 196	T G	Genótipo TT associado a um aumento da resposta ao tratamento anti-TNFα
IL-10	-1087	G A	Genótipo GG aumenta a resposta ao etanercept em combinação com o polimorfismo do TNFα -308GG
IL-1	+4845	G T	Presença do alelo T associada a aumento da resposta à anakinra
	-	IL-1RN*2	Presença deste alelo está associada a melhor resposta ao infliximab

Conclusão

Apesar dos vários estudos realizados para tentar introduzir uma terapêutica personalizada na AR, baseada no perfil genético individual, poucas das expectativas iniciais foram atingidas. Muitos estudos têm sugerido um futuro promissor da farmacogenética na AR mas de facto apenas para a AZA se realizam testes farmacogenéticos antes de iniciar o tratamento. Também se verificou que para o caso da SSZ a genotipagem antes da sua toma tem o potencial de evitar a toxicidade associada nos doentes com AR. Pelo que, se espera que brevemente surjam testes que poderão ser aplicados na prática clínica para o uso da SSZ e com uma boa relação custo-benefício, tal como acontece já com a AZA.

Existem muitos resultados diferentes e mesmo contraditórios relativamente ao MTX e aos tratamentos biológicos, apesar de vários polimorfismos terem sido estudados. Esta disparidade de conclusões deveu-se a vários obstáculos e limitações dos estudos realizados. Muitos estudos foram realizados com uma amostra pequena de doentes e tiveram dificuldade em controlar confundidores não genéticos como interações com outras terapêuticas concomitantes, dieta, tabaco, diferentes etnias e diferentes durações da doença. Outras limitações dos estudos estavam relacionadas com o facto de usarem diferentes critérios de resposta terapêutica, uns estudos usavam critérios japoneses, outros europeus e outros usavam critérios americanos.

Para além destas limitações dos estudos, verificou-se também a presença de outras dificuldades inerentes a este tema e que contribuem para a dificuldade em encontrar resultados consistentes. Uma dessas dificuldades foi a falta do conhecimento da patofisiologia da AR. Outros obstáculos relacionaram-se com a complexidade da via de metabolização da terapêutica usada, nomeadamente do MTX, cujo mecanismo de ação não se encontra

completamente esclarecido e também com o facto de existirem imensos polimorfismos que podem influenciar a resposta e toxicidade terapêutica.

Mais estudos com o MTX e medicamentos biológicos terão de ser feitos. Estes estudos terão de incluir um maior número de doentes, uma maior amostra do genoma, para além de polimorfismos isolados, e deverão incluir não só as características genéticas do indivíduo mas também as suas características fenotípicas (como o peso, idade, sexo, alimentação, estilo de vida). Só assim poderá ser possível encontrar de forma consistente características genéticas com verdadeiro impacto na terapêutica para MTX e agentes biológicos. Mas no futuro próximo continuar-se-á a usar esta terapêutica empiricamente adaptando-se doente a doente em função da sua resposta e tolerabilidade individual pois ainda há um caminho longo a percorrer. A aplicação quotidiana dos conhecimentos da farmacogenética para o MTX e agentes biológicos ainda não conseguiu deixar de ser apenas uma expectativa e tornar-se uma realidade.

Referências Bibliográficas

1. Metzger IF, Souza-Costa DC, Tanus-Santos JE. Farmacogenética: principios, aplicações e perspectivas. Medicina, Ribeirão Preto. 2006 Dez;39 (4):515–21.

2. Shastry BS. Pharmacogenetics and the concept of individualized medicine. Pharmacogenomics J. 2006 Fev;6(1):16–21.

3. Shin J, Kayser SR, Langaee TY. Pharmacogenetics: from discovery to patient care. Am J Health Syst Pharm. 2009 Abr 1;66(7):625–37.

4. Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics--drug disposition, drug targets, and side effects. N. Engl. J. Med. 2003 Fev 6;348(6):538–49.

5. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. Science. 2001 Fev 16;291(5507):1304–51.

6. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. Science. 1999 Out 15;286(5439):487–91.

7. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics: an opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. J. Intern. Med. 2001 Set;250(3):186–200.

8. Siva C, Yokoyama WM, McLeod HL. Pharmacogenetics in rheumatology: the prospects and limitations of an emerging field. Rheumatology (Oxford). 2002 Nov;41(11):1273–9.

9. Cronstein BN. Pharmacogenetics in the rheumatic diseases. Bull NYU Hosp Jt Dis. 2006;64(1-2):16–9.

10. Marsal S, Julià A. Rheumatoid arthritis pharmacogenomics. Pharmacogenomics. 2010 Mai;11(5):617–9.

11. Klareskog L, Catrina AI, Paget S. Rheumatoid arthritis. Lancet. 2009 Fev 21;373(9664):659–72.

12. Taniguchi A, Kamatani N. Pharmacogenetic approaches to rheumatoid arthritis. Pharmacogenomics J. 2004;4(6):350–3.

13. Davila L, Ranganathan P. Pharmacogenetics: implications for therapy in rheumatic diseases. Nat Rev Rheumatol. 2011;7(9):537–50.

14. Rego-Pérez I, Fernández-Moreno M, Blanco FJ. Gene polymorphisms and pharmacogenetics in rheumatoid arthritis. Curr. Genomics. 2008 Set;9(6):381–93.

15. Plenge RM, Raychaudhuri S. Leveraging human genetics to develop future therapeutic strategies in rheumatoid arthritis. Rheum. Dis. Clin. North Am. 2010 Mai;36(2):259–70.

16. Plenge RM, Criswell LA. Genetic variants that predict response to anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatoid arthritis: current challenges and future directions. Curr Opin Rheumatol. 2008 Mar;20(2):145–52.

17. Bridges SL Jr. Personalized medicine in rheumatoid arthritis: hopes and challenges. Bull NYU Hosp Jt Dis. 2007;65(3):174–7.

18. Taniguchi A, Urano W, Tanaka E, Furihata S, Kamitsuji S, Inoue E, et al. Validation of the associations between single nucleotide polymorphisms or haplotypes and responses to disease-modifying antirheumatic drugs in patients with rheumatoid arthritis: a proposal for prospective pharmacogenomic study in clinical practice. Pharmacogenet. Genomics. 2007 Jun;17(6):383–90.

19. Fisher MC, Cronstein BN. Metaanalysis of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms affecting methotrexate toxicity. J. Rheumatol. 2009 Mar;36(3):539–45.

20. Tanaka E, Taniguchi A, Urano W, Yamanaka H, Kamatani N. Pharmacogenetics of disease-modifying anti-rheumatic drugs. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2004 Abr;18(2):233–47.

21. Cronstein BN. Pharmacogenetics in the rheumatic diseases. Ann. Rheum. Dis. 2004 Nov;63 Suppl 2:ii25–ii27.

22. Zhou S. Clinical pharmacogenomics of thiopurine S-methyltransferase. Curr Clin Pharmacol. 2006 Jan;1(1):119–28.

23. Black AJ, McLeod HL, Capell HA, Powrie RH, Matowe LK, Pritchard SC, et al. Thiopurine methyltransferase genotype predicts therapy-limiting severe toxicity from azathioprine. Ann. Intern. Med. 1998 Nov 1;129(9):716–8.

24. Evans WE, Hon YY, Bomgaars L, Coutre S, Holdsworth M, Janco R, et al. Preponderance of thiopurine S-methyltransferase deficiency and heterozygosity among patients intolerant to mercaptopurine or azathioprine. J. Clin. Oncol. 2001 Abr 15;19(8):2293–301.

25. Asanuma Y, Xie H-G, Stein CM. Pharmacogenetics and rheumatology: Molecular mechanisms contributing to variability in drug response. Arthritis Rheum. 2005 Mai;52(5):1349–59.

26. Clunie GPR, Lennard L. Relevance of thiopurine methyltransferase status in rheumatology patients receiving azathioprine. Rheumatology (Oxford). 2004 Jan;43(1):13–8.

27. Kerstens PJ, Stolk JN, De Abreu RA, Lambooy LH, van de Putte LB, Boerbooms AA. Azathioprine-related bone marrow toxicity and low activities of purine enzymes in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1995 Jan;38(1):142–5.

28. Tavadia SM, Mydlarski PR, Reis MD, Mittmann N, Pinkerton PH, Shear N, et al. Screening for azathioprine toxicity: a pharmacoeconomic analysis based on a target case. J. Am. Acad. Dermatol. 2000 Abr;42(4):628–32.

29. Fargher EA, Tricker K, Newman W, Elliott R, Roberts SA, Shaffer JL, et al. Current use of pharmacogenetic testing: a national survey of thiopurine methyltransferase testing prior to azathioprine prescription. J Clin Pharm Ther. 2007 Abr;32(2):187–95.

30. Oh K-T, Anis AH, Bae S-C. Pharmacoeconomic analysis of thiopurine methyltransferase polymorphism screening by polymerase chain reaction for treatment with azathioprine in Korea. Rheumatology (Oxford). 2004 Fev;43(2):156–63.

31. Rains CP, Noble S, Faulds D. Sulfasalazine. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in the treatment of rheumatoid arthritis. Drugs. 1995 Jul;50(1):137–56.

32. Wadelius M, Stjernberg E, Wiholm BE, Rane A. Polymorphisms of NAT2 in relation to sulphasalazine-induced agranulocytosis. Pharmacogenetics. 2000 Fev;10(1):35–41.

33. Braun J, Rau R. An update on methotrexate. Curr Opin Rheumatol. 2009 Mai;21(3):216–23.

34. Ranganathan P, Eisen S, Yokoyama WM, McLeod HL. Will pharmacogenetics allow better prediction of methotrexate toxicity and efficacy in patients with rheumatoid arthritis? Ann. Rheum. Dis. 2003 Jan;62(1):4–9.

35. Ranganathan P, McLeod HL. Methotrexate pharmacogenetics: the first step toward individualized therapy in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2006 Mai;54(5):1366–77.

36. Tian H, Cronstein BN. Understanding the mechanisms of action of methotrexate: implications for the treatment of rheumatoid arthritis. Bull NYU Hosp Jt Dis. 2007;65(3):168–73.

37. Hughes LB, Danila MI, Bridges Jr. SL. Recent advances in personalizing rheumatoid arthritis therapy and management. Per Med. 2009;6(2):159–70.

38. Stamp L, Roberts R, Kennedy M, Barclay M, O'Donnell J, Chapman P. The use of low dose methotrexate in rheumatoid arthritis - are we entering a new era of therapeutic drug monitoring and pharmacogenomics? Biomed. Pharmacother. 2006 Dez;60(10):678–87.

39. Strand V, Tugwell P, Bombardier C, Maetzel A, Crawford B, Dorrier C, et al. Function and health-related quality of life: results from a randomized controlled trial of leflunomide versus methotrexate or placebo in patients with active rheumatoid arthritis. Leflunomide Rheumatoid Arthritis Investigators Group. Arthritis Rheum. 1999 Set;42(9):1870–8.

40. Bathon JM, Martin RW, Fleischmann RM, Tesser JR, Schiff MH, Keystone EC, et al. A comparison of etanercept and methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis. N. Engl. J. Med. 2000 Nov 30;343(22):1586–93.

41. Kremer JM. Toward a better understanding of methotrexate. Arthritis Rheum. 2004 Mai;50(5):1370–82.

42. Hider SL, Bruce IN, Thomson W. The pharmacogenetics of methotrexate. Rheumatology (Oxford). 2007 Out;46(10):1520–4.

43. Kim Y-I. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and pharmacogenetics: a new role of single nucleotide polymorphisms in the folate metabolic pathway in human health and disease. Nutr. Rev. 2005 Nov;63(11):398–407.

44. Kooloos WM, Huizinga TWJ, Guchelaar H-J, Wessels JAM. Pharmacogenetics in treatment of rheumatoid arthritis. Curr. Pharm. Des. 2010;16(2):164–75.

45. Dervieux T, Furst D, Lein DO, Capps R, Smith K, Walsh M, et al. Polyglutamation of methotrexate with common polymorphisms in reduced folate carrier, aminoimidazole carboxamide ribonucleotide transformylase, and thymidylate synthase are associated with methotrexate effects in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2004 Set;50(9):2766–74.

46. Bansard C, Lequerré T, Daveau M, Boyer O, Tron F, Salier J-P, et al. Can rheumatoid arthritis responsiveness to methotrexate and biologics be predicted? Rheumatology (Oxford). 2009 Set;48(9):1021–8.

47. Dervieux T, Furst D, Lein DO, Capps R, Smith K, Caldwell J, et al. Pharmacogenetic and metabolite measurements are associated with clinical status in patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate: results of a multicentred cross sectional observational study. Ann. Rheum. Dis. 2005 Ago;64(8):1180–5.

48. Weisman MH, Furst DE, Park GS, Kremer JM, Smith KM, Wallace DJ, et al. Risk genotypes in folate-dependent enzymes and their association with methotrexate-related side effects in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2006 Fev;54(2):607–12.

49. Krajinovic M, Moghrabi A. Pharmacogenetics of methotrexate. Pharmacogenomics. 2004 Out;5(7):819–34.

50. Cronstein BN. Pharmacogenetics in the rheumatic diseases, from prêt-à-porter to haute couture. Nat Clin Practi Rheum. 2006;2(1):2–3.

51. Kooloos WM, de Jong DJ, Huizinga TWJ, Guchelaar H-J. Potential role of pharmacogenetics in anti-TNF treatment of rheumatoid arthritis and Crohn's disease. Drug Discov. Today. 2007 Fev;12(3-4):125–31.

52. Ingegnoli F, Favalli EG, Meroni PL. Does polymorphysm of genes coding for pro-inflammatory mediators predict the clinical response to tnf alpha blocking agents? A review analysis of the literature. Autoimmun Rev. 2011 Jun;10(8):460–3.

53. Lipsky PE, van der Heijde DM, St Clair EW, Furst DE, Breedveld FC, Kalden JR, et al. Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. Anti-Tumor Necrosis Factor Trial in Rheumatoid Arthritis with Concomitant Therapy Study Group. N. Engl. J. Med. 2000 Nov 30;343(22):1594–602.

54. Danila MI, Hughes LB, Bridges SL. Pharmacogenetics of etanercept in rheumatoid arthritis. Pharmacogenomics. 2008 Ago;9(8):1011–5.

55. Rosenblum H, Amital H. Anti-TNF therapy: safety aspects of taking the risk. Autoimmun Rev. 2011 Jul;10(9):563–8.

56. Schotte H, Schlüter B, Drynda S, Willeke P, Tidow N, Assmann G, et al. Interleukin 10 promoter microsatellite polymorphisms are associated with response to long term treatment with etanercept in patients with rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 2005 Abr;64(4):575–81.

57. Ferraccioli G, Tolusso B, De Santis M. Pharmacogenetic of antirheumatic treatments: clinical implications. Pharmacogenomics J. 2007 Fev;7(1):2–9.

58. Padyukov L, Lampa J, Heimbürger M, Ernestam S, Cederholm T, Lundkvist I, et al. Genetic markers for the efficacy of tumour necrosis factor blocking therapy in rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 2003 Jun;62(6):526–9.

59. Coenen MJH, Toonen EJM, Scheffer H, Radstake TRDJ, Barrera P, Franke B. Pharmacogenetics of anti-TNF treatment in patients with rheumatoid arthritis. Pharmacogenomics. 2007 Jul;8(7):761–73.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Professor Doutor António Albino Teixeira, pelo tempo despendido e apoio fundamental na redação desta monografia.

Anexo

Normas de Apresentação de Artigos à Revista Portuguesa de Farmacoterapia

A *Revista Portuguesa de Farmacoterapia* aceita para publicação artigos originais, nas áreas de investigação farmacológica, fármaco-epidemiológica, farmacoterapêutica, fármaco-económica, ensaios clínicos e farmacocinéticos, bem como artigos de revisão, artigos de opinião e outros que possam contribuir para o desenvolvimento dos conhecimentos científicos nestas áreas. São também aceites destaques temáticos, notas bibliográficas e cartas ao Diretor. Todos os artigos deverão ser redigidos em português, podendo ser aceites textos em inglês.

Os artigos propostos não podem ter sido objeto de qualquer outro tipo de publicação, nem ter sido simultaneamente propostos para publicação noutras revistas ou jornais. As opiniões expressas são da inteira responsabilidade dos autores. Os artigos publicados ficarão propriedade da *Revista Portuguesa de Farmacoterapia* e não poderão ser reproduzidos, no todo ou em parte, sem prévia autorização do seu Diretor.

A *Revista Portuguesa de Farmacoterapia* subscreve os requisitos constantes das normas de Vancouver, cuja última revisão publicada se encontra no sítio Internet do International Committee of Medical Journal Editors (ICJME) (http://www.icmje.org/). Recomenda-se aos autores a sua leitura atenta. Estas normas são publicadas anualmente na *Revista Portuguesa de Farmacoterapia*, considerando-se em vigor a última versão publicada.

Este documento pode ser copiado ou reimpresso sem autorização.

Artigos de Revisão: Estudos de revisão bibliográfica e trabalhos de síntese ou atualização. Os estudos de revisão não deverão ultrapassar as 12 000 palavras, em texto datilografado a dois espaços, sendo admitidas até dez ilustrações (quadros, figuras ou fotografias) por artigo.

Elementos Comuns a Todas as Tipologias de Artigo: todos os artigos apresentados à *Revista Portuguesa de Farmacoterapia* deverão ter um título, a descrição dos Autores, um corpo de texto e referências bibliográficas. Na maioria das tipologias será necessário um resumo. No caso de existirem pessoas que tenham feito contributos importantes para o artigo mas que não cumpram os critérios de autoria poderá ser incluída uma secção denominada Agradecimentos que será colocada a seguir às referências bibliográficas. Em determinadas tipologias de artigos poderão ser incluídas ilustrações no corpo de texto. O artigo terá que ter um título e um resumo em português e em inglês. Os resumos deverão ser seguidos por

palavras-chave (no máximo seis). As Referências Bibliográficas devem seguir o formato indicado nas normas internacionais (estilo de Vancouver).

Artigos de Revisão:

- Conteúdo: Consistem em estudos de revisão bibliográfica, trabalhos de síntese ou atualização clínica que possam constituir instrumentos auxiliares de atualização e de aperfeiçoamento da prática clínica. Os autores são encorajados a seguir as normas PRISMA (previamente chamada QUOROM) para revisões sistemáticas e MOOSE para meta-análises de estudos observacionais. Os autores de artigos de revisão baseada na evidência podem considerar úteis as recomendações publicadas na revista *American Family Physician*.

- Dimensão**:** Os estudos de revisão não deverão ultrapassar as 12 000 palavras, sendo admitido o número máximo de dez ilustrações (quadros ou figuras) por artigo.

- Estrutura**:** Os artigos devem incluir um Título, um Resumo e Palavras-chave (no máximo seis). O corpo de texto é subdividido em: Introdução, Métodos, Resultados, Conclusões. Poderão ser incluídos Agradecimentos. O artigo deve incluir Referências Bibliográficas.

- Corpo do artigo: A Introdução deverá ser sintética. Deve apresentar claramente o problema em questão, referir os motivos que levaram à execução do estudo e discutir a sua oportunidade. A pergunta e o objetivo específico da revisão deverão aparecer claramente formulados no final da introdução. Os Métodos deverão descrever a metodologia usada para efetuar o processo de revisão. Devem, nomeadamente, ser indicados o tópico em revisão, definições várias (por exemplo, critérios de diagnóstico), processo utilizado para a pesquisa bibliográfica (período a que diz respeito a revisão, bases de dados eletrónicas ou documentais consultadas, descritores utilizados para a pesquisa, pesquisa manual de bibliografias, contacto com peritos na área para identificação de artigos relevantes) e processos e critérios de seleção dos artigos. Os Resultados devem ser apresentados de forma estruturada e sistematizada e com recurso a subtítulos, se necessário. Devem incluir os resultados da pesquisa e elementos de argumentação crítica (avaliação de qualidade dos dados, síntese de dados, perspetivas em confronto, identificação de problemas não resolvidos). As Conclusões devem fornecer um resumo crítico dos dados relevantes, enfatizar os aspetos práticos, equacionar os problemas que subsistem e propor perspetivas futuras.

- Resumo**:** O Resumo deve expor os objetivos do trabalho, a metodologia básica, os resultados e conclusões principais e realçar aspetos novos e importantes da revisão. É obrigatoriamente estruturado, incluindo os seguintes subtítulos: Objetivos, Fontes de Dados,

Métodos de Revisão, Resultados e Conclusões. Podem ser incluídos os achados qualitativos e quantitativos mais relevantes.

Organização Formal dos Artigos:

Primeira Página deverá incluir apenas:

1. O título do artigo, que deverá ser conciso.

2. O nome do autor ou autores (devem usar-se apenas dois ou três nomes por autor).

3. O grau, título ou títulos profissionais e/ou académicos do autor ou autores.

4. O serviço, departamento ou instituição onde trabalha(m).

Segunda Página deverá incluir apenas:

1. O nome, telefone/fax, endereço de correio eletrónico e endereço postal do autor responsável pela correspondência com a revista acerca do manuscrito.

2. O nome, endereço de correio eletrónico e endereço postal do autor a quem deve ser dirigida a correspondência sobre o artigo após a sua publicação na revista.

Terceira Página deverá incluir apenas:

1. Título do artigo.

2. Um resumo que não deve ultrapassar as 300 palavras. O resumo deve respeitar as normas indicadas para o tipo de artigo em questão e tornar possível a compreensão do artigo sem que haja necessidade de o ler.

3. Seis palavras-chave no máximo ou curtas frases.

4. Indicação da tipologia do artigo (a que secção da revista se destina).

Páginas Seguintes: as páginas seguintes incluirão o texto do artigo, devendo cada uma das secções em que este se subdivida começar no início de uma página. Primeira Página a Seguir ao Texto: deverá conter o início do capítulo Referências Bibliográficas. Primeira Página a Seguir a Referências Bibliográficas: deverá incluir o capítulo Agradecimentos, quando este exista.

Normas de Estilo:

O uso de abreviaturas e símbolos, bem como as unidades de medida, devem estar de acordo com as normas internacionalmente aceites.

1. As maiúsculas devem usar-se apenas nas seguintes situações:

a) no título e nas principais secções do trabalho;

b) no início do subtítulo (caso exista);

c) na primeira palavra de todos os períodos;

d) nas palavras principais de capítulos, subcapítulos, secções e subsecções;

e) nas palavras dos títulos das figuras e quadros;

f) em nomes de escalas e instrumentos de medida;

g) em substantivos determinados por numeral ou letra;

h) em nomes de cadeiras ou disciplinas académicas.

2. Usar sempre o nome farmacológico. Pode, se justificado, incluir-se o nome comercial em parênteses, após a primeira referência ao fármaco no texto.

3. Escrever por extenso algarismos menores que 11. As exceções são: quando se fazem comparações com números iguais ou superiores a 11, se utilizam unidades de medida, para representar funções matemáticas, quantidades faccionais, percentagens e razões. Nunca iniciar uma frase com um algarismo.

4. Usar sempre algarismos para designar tempo, data, idade, amostra e população, tamanho, resultados, dosagens, percentagens, graus de temperatura, medidas métricas e pontos duma escala

5. Por regra, não usar abreviaturas fora de parênteses. As abreviaturas utilizadas pelos sistemas de medidas (por exemplo, kg) são a exceção.

6. Os acrónimos só devem ser utilizados se fazem parte da linguagem corrente (por exemplo, OMS) ou para designar uma sigla ou uma expressão técnica que vai ser utilizada repetidamente (por exemplo, DPOC). Neste caso, o seu uso deve ser apresentado entre parênteses, depois da expressão original, na primeira vez que é utilizado no texto.

7. Devem-se evitar estrangeirismos, sempre que possível.

8. Não usar sublinhados.

9. Usar negrito apenas em títulos.

10. Usar itálico apenas nas seguintes situações: referências bibliográficas, palavras estrangeiras e nomes técnicos das classificações científicas.

11. Os símbolos estatísticos (por exemplo, t, r, M, DP, p) devem ser escritos em itálico, com exceção dos símbolos em grego.

12. A indicação da casa decimal deve fazer-se através de uma vírgula e não de um ponto final.

13. No texto, os números decimais devem ser apresentados apenas com duas casas e com arredondamento, a não ser em casos excecionais em que tal se justifique.

14. Os operadores aritméticos e lógicos, tais como +, -, =, <, e >, levam espaço antes e depois.

Referências Bibliográficas: As Referências Bibliográficas devem ser assinaladas no texto com algarismos árabes em elevado, pela ordem de primeira citação e incluídas neste capítulo, utilizando exatamente a mesma ordem de citação no texto. Os nomes das revistas devem ser

abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus. O numeral da referência deverá ser colocado após a pontuação (ponto, vírgula, etc.). Se após uma frase houver lugar à citação de mais do que uma referência estas deverão ser separadas por vírgulas, exceto se forem sequenciais; nessa circunstância serão separadas por hífen. As referências a documentação legal deverão ser concisas mas, ao mesmo tempo, completas, incluindo informação sobre o tipo de diploma e seu número e data, o local onde foi publicado e as páginas.