



Mafalda Maria Gonçalves Marques de Almeida

O Impacto da Farmacogenómica na Investigação Clínica

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor Sérgio Paulo Magalhães Simões e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Mafalda Maria Gonçalves Marques de Almeida

O Impacto da Farmacogenómica na Investigação Clínica

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor Sérgio Paulo Magalhães Simões e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Mafalda Maria Gonçalves Marques de Almeida, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2010130023, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de setembro de 2015

 20109115

O Tutor

(Professor Doutor Sérgio Paulo Magalhães Simões)

A Aluna

(Mafalda Maria Gonçalves Marques de Almeida)

*À mamã Isabel,
que guia o meu caminho através da genética e das estrelas.*

À minha família, pelo apoio incondicional na concretização de mais uma etapa e por todo o amor,

Aos meus amigos, que me acompanharam neste percurso, por todo o carinho, incentivo, e por todas as aventuras vividas,

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e a todos os professores, pelo contributo fundamental para a minha formação académica,

Ao Professor Doutor Sérgio Simões, pela orientação na elaboração deste trabalho,

A todos, um sincero Obrigado!

“The best way to predict the future is to invent it.”

Alan Curtis Kay, Informático Americano

Índice

| | |
|---|-----------|
| Lista de Acrónimos | 1 |
| Abstract..... | 2 |
| 1. Introdução..... | 3 |
| 2. Farmacogenómica – Conceito e Potencial..... | 4 |
| 3. Influência da Variabilidade Genética na Farmacocinética e Farmacodinâmica | 4 |
| 4. Vantagens da Incorporação da Farmacogenómica na Indústria Farmacêutica | 7 |
| 4.1. Aumento de dados relativos à Segurança e Eficácia | 7 |
| 4.2. Redução do Tempo e Custos de Desenvolvimento | 8 |
| 5. Tecnologia Genómica | 9 |
| 6. Aplicação da Farmacogenómica na I&D e no Desenvolvimento | 10 |
| 6.1. Colheita de Amostras de DNA | 10 |
| 6.2. Análise das Amostras de DNA..... | 12 |
| 6.3. Biomarcadores Preditivos | 14 |
| 6.3.1. Qualificação de Biomarcadores Preditivos..... | 15 |
| 6.4. Fases de Desenvolvimento e <i>Design</i> dos Estudos | 16 |
| 6.4.1. I&D..... | 16 |
| 6.4.2. Fase Pré-Clínica | 17 |
| 6.4.3. Fase Clínica | 18 |
| 7. A Farmacogenómica na Prática Clínica | 24 |
| 8. Conclusão – Perspetivas Futuras | 25 |
| 9. Bibliografia | 26 |
| 10. Anexos..... | 35 |

Lista de Acrónimos

ADME – Absorção, Distribuição, Metabolização e Eliminação

AIM – Autorização de Introdução no Mercado

CGAS – Estudos de Associação entre Genes Candidatos

CYP – Citocromo P450

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

EMA – European Medicines Agency

FDA – U. S. Food and Drug Administration

GWAS – Estudos de Associação do Genoma Completo

ICH – International Conference on Harmonization

I&D – Investigação e Descoberta

PD – Farmacodinâmica

PGx – Farmacogenómica

PK – Farmacocinética

RAM – Reação Adversa Medicamentosa

RCM – Resumo das Características do Medicamento

RCT – Ensaio Clínicos Randomizados

RNA – Ácido Ribonucleico

SNP – Polimorfismo num Único Nucleótido

Abstract

"It's far more important to know what person the disease has than what disease the person has." – Hippocrates.

The paradigm “one drug fits all”, related to the standardized patients’ prescription, is being abandoned due to the increasing unexpected occurrence of serious adverse reactions, as well as to an inadequate efficacy of medicines, which signals the importance of changing to a more individualized treatment approach, regarding interindividual variability. Precision Medicine is an innovative approach, with the main focus on the identification of subgroups differing in the response to a certain treatment, and on the subsequent therapeutic decision depending on both genetic and environmental factors of those subpopulations. One of the emerging fields of Precision Medicine is Pharmacogenomics, which researches how genetic variability can affect drug response. It is useful in the development of new medicines targeted to a specific patients’ subgroup, depending on its genetic polymorphisms. Due to its integration in the Pharmaceutical Industry, Drug Discovery and Development phases can be adapted, for instance, through genomic biomarker identification, patients’ genotyping and clinical trials remodelling, leading the way to Precision Medicine.

“É mais importante saber que tipo de pessoa tem uma doença do que saber que tipo de doença uma pessoa tem.” – Hipócrates.

O paradigma “one drug fits all”, que corresponde à prescrição padronizada dos doentes, está a ser ultrapassado, devido à frequência e à gravidade da ocorrência de reações adversas inesperadas e à eficácia inadequada de medicamentos, sinalizando a importância de passar para um modelo de tratamento mais individualizado, que tenha em consideração a variabilidade interindividual [1]. A Medicina de Precisão é uma abordagem inovadora, cujo foco principal reside na identificação de subpopulações que diferem na resposta a um tratamento específico, e na consequente decisão da escolha terapêutica em função dos fatores genéticos e ambientais dessas subpopulações [2]. Uma das áreas emergentes da Medicina de Precisão é a Farmacogenómica, a qual procura compreender de que modo a variabilidade genética afeta a resposta ao fármaco. A sua aplicabilidade destina-se ao desenvolvimento de novos fármacos direcionados a subgrupos de doentes específicos, em função dos respetivos polimorfismos genéticos. Decorrente do seu envolvimento na Indústria Farmacêutica, surgem adaptações ao nível da I&D e do Desenvolvimento, como a identificação de biomarcadores genómicos preditivos, a genotipagem dos participantes e a remodelação dos ensaios clínicos, contribuindo para alcançar a Medicina de Precisão.

I. Introdução

A Indústria Farmacêutica tem-se deparado com uma pressão crescente no processo de desenvolvimento de novos fármacos, contrabalançando o desejo de um rápido acesso ao mercado de moléculas inovadoras, com as restrições crescentes por parte das agências regulamentares.

O declínio da produtividade da Indústria Farmacêutica é o resultado de elevados investimentos na I&D e no Desenvolvimento que não se traduzem no aumento de novas moléculas aprovadas. A baixa probabilidade de sucesso, aliada aos elevados custos e tempo despendidos, espelha o risco de desenvolvimento de novos fármacos.

O risco é de facto considerável, já que se estima que 90% dos fármacos que iniciam os ensaios clínicos não chegam a ser aprovados. As causas de insucesso durante o desenvolvimento clínico são atribuídas a problemas na absorção, distribuição, metabolismo e excreção dos fármacos (ADME) (41%), à falta de eficácia (30%) e à toxicidade, estudos de mercado, entre outras (29%). O sucesso na fase III é de 50-70% e 40% das novas moléculas que sobrevivem esta fase não são aprovadas pela agência regulamentar [3, 4].

Adicionalmente, muitos dos fármacos que são aprovados têm um valor acrescentado limitado relativamente aos tratamentos já disponíveis, apesar de continuar a haver doenças para as quais ainda não há medicamentos adequados. Isto espelha o receio de arriscar grandes investimentos em novas moléculas, comparativamente a moléculas cuja eficácia já foi comprovada. Verifica-se assim uma ameaça à inovação ao nível da Indústria Farmacêutica.

Face a este panorama, um desafio crítico para a Indústria Farmacêutica é o aumento da sua produtividade, introduzindo novas estratégias direcionadas para o estímulo de I&D, melhorando a qualidade científica e a eficiência dos ensaios clínicos, e tomando decisões fundamentadas durante o processo de desenvolvimento clínico [5]. Como resposta a este desafio, a Indústria Farmacêutica tem vindo a implementar um novo modelo de I&D e Desenvolvimento promissor: a Farmacogenómica. O seu objetivo último é o desenvolvimento eficiente, em termos de custo e tempo, de medicamentos eficazes e seguros que deem resposta às necessidades atuais, permitindo a sustentabilidade da Indústria Farmacêutica.

Neste trabalho serão apresentadas as vantagens da aplicação da Farmacogenómica ao nível da Indústria Farmacêutica, bem como o seu modo de implementação em cada uma das fases de desenvolvimento de novos fármacos, e as diferentes possibilidades de *design* dos ensaios clínicos a efetuar.

2. Farmacogenômica – Conceito e Potencial

Segundo a International Conference on Harmonization (ICH), a Farmacogenômica, ou PGx, é definida como “O estudo das variações das características do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) e do Ácido Ribonucleico (RNA) relacionadas com a resposta ao fármaco” e tem um grande “potencial para melhorar a descoberta, desenvolvimento e uso dos medicamentos” [6]. Por outras palavras, a PGx estuda o modo como alterações na sequência do genoma humano influenciam a variabilidade interindividual na resposta a um fármaco, ao nível da farmacocinética, farmacodinâmica, eficácia e segurança.

Esta ciência defende que o conhecimento do perfil genético individual permite otimizar a resposta a um fármaco, tanto ao nível do seu desenvolvimento como ao nível da prática clínica.

Neste sentido, este termo engloba duas vertentes:

- o uso da informação genética da população na investigação, *design* e desenvolvimento de novos fármacos;
- o uso da informação genética do doente na decisão clínica da sua farmacoterapia, incluindo seleção do fármaco, dosagem e análise da sua toxicidade.

Esta última vertente corresponde à Medicina de Precisão, já que permite conduzir uma prescrição individualizada através do perfil genético de um determinado doente, otimizando a sua resposta ao tratamento, em detrimento da prescrição por tentativa-e-erro [7]. No entanto, é a primeira vertente que será abordada mais aprofundadamente neste trabalho.

3. Influência da Variabilidade Genética na Farmacocinética e Farmacodinâmica

Está bem estabelecido que existe variabilidade interindividual na resposta a um fármaco, tanto em relação à eficácia como à toxicidade. Para tal, contribuem com particular relevância os fatores genéticos, já que se calcula que a sua contribuição varie entre 20 e 95% [8], para além de outros fatores endógenos, como a idade e as funções renal e hepática, e de fatores ambientais, como as interações medicamentosas.

A influência de fatores genéticos na resposta a um fármaco é justificada pela correlação entre o genoma e a sua tradução em moléculas-chave que intervêm nas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas do fármaco [9].

A farmacocinética (PK) corresponde ao que o corpo faz ao fármaco, através da ADME, influenciando a sua concentração no sangue, e a farmacodinâmica (PD) corresponde ao que

o fármaco faz ao corpo, através da sua interação com os alvos moleculares, influenciando a resposta à terapêutica [10].

Cada indivíduo possui um perfil genético único, para o qual contribuem mutações, designadas de polimorfismos genéticos quando a sua ocorrência na população é superior a 1%. Alguns tipos de polimorfismo que podem ocorrer são: Polimorfismos num único nucleótido (SNPs, do inglês, *Single Nucleotide Polimorphisms*); Número variável de repetições em série (VNTRs, do inglês, *Variable Number of Tandem Repeats*); haplótipos; deleções ou inserções de um nucleótido; rearranjos citogenéticos como translocações, duplicações, deleções ou inversões; modificações do DNA, como metilação, entre outros [10].

A existência destes polimorfismos pode afetar as proteínas codificadas nos genes correspondentes, pelo que, se a função dessas proteínas estiver associada à PK ou à PD, estes polimorfismos conduzem à variabilidade interindividual na resposta aos fármacos [Anexo I].

Assim, em resposta à mesma dose padronizada, um indivíduo poderá responder bem a um determinado fármaco, enquanto que outro poderá desenvolver efeitos adversos ou não desenvolver qualquer resposta, o que origina um perfil benefício-risco variável em função do genótipo.

Geralmente, é mais fácil caracterizar o impacto das variantes genéticas na PK do que na PD, já que é mais fácil medir os seus parâmetros. Em muitos dos casos, as diferenças na PK relacionam-se com polimorfismos genéticos bem estabelecidos das enzimas metabolizadoras de fármacos, pelo que essas diferenças podem ser antecipadas.

De facto, 30 a 50% dos medicamentos disponíveis no mercado são metabolizados por enzimas polimórficas, tanto de fase I (como enzimas do Citocromo P450 (CYP), tais como CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19) como de fase II (tal como, N-acetiltransferase-2 (NAT2), Tiopurina S-metiltransferase (TMPT), UDP-glucoroniltransferases (UGTs)), pelo que o seu impacto na alteração da resposta farmacológica é considerável [11].

Os polimorfismos genéticos associados às enzimas metabolizadoras alteram a sua atividade enzimática, dando origem aos seguintes fenótipos: metabolizadores lentos, rápidos e ultrarrápidos. Os metabolizadores lentos resultam de mutações ou deleções do gene em causa, levando a uma reduzida (neste caso, podem ser denominados de metabolizadores intermédios) ou nula expressão das respetivas enzimas. Os metabolizadores rápidos correspondem à situação normal (*wild-type*), possuindo uma certa capacidade

metabolizadora. Por sua vez, os metabolizadores ultrarrápidos possuem um metabolismo aumentado resultante de uma expressão elevada das enzimas metabolizadoras, associada a duplicações do gene que codifica a enzima.

Perante um fármaco que é inativado por uma via enzimática, os metabolizadores lentos apresentam uma concentração mais elevada desse fármaco, e por isso requerem uma dose inferior para evitar o desenvolvimento de toxicidade. Contrariamente, os metabolizadores ultrarrápidos requerem uma dose superior para atingir a concentração terapêutica efetiva. [Anexo 2]. No entanto, perante um pró-fármaco que seja ativado metabolicamente, a situação altera-se: o pró-fármaco terá um pequeno efeito terapêutico nos metabolizadores lentos mas produzirá toxicidade nos metabolizadores ultrarrápidos [12].

Desta forma, os polimorfismos genéticos associados às enzimas metabolizadoras podem afetar a resposta ao fármaco e a ocorrência de toxicidade, afetando a eficácia e a segurança.

Os polimorfismos genéticos associados a proteínas transportadoras também têm impacto na PK. Um exemplo é o caso do gene *SLCO1B1*, que codifica uma proteína transportadora de estatinas, pelo que o seu polimorfismo vai afetar a PK destas moléculas, levando à consequente ocorrência de efeitos adversos, como miopatia. Contudo, na maior parte dos casos, a sua influência ainda não foi clarificada, já que a sua monitorização é mais complexa [13].

Contrariamente à PK, a variabilidade genética que afeta a PD é mais difícil de detetar, já que os efeitos clínicos são mais complexos e mais variáveis ao longo do tempo para o mesmo indivíduo e entre indivíduos. Contudo, o impacto pode ser bastante elevado, influenciando a dosagem ótima, baseada na curva dose-resposta, na segurança e na eficácia. Por exemplo, para além das variantes genéticas nas enzimas metabolizadoras da Varfarina (*CYP2C9*), as variantes genéticas no seu alvo (*VKORC1*) afetam significativamente a resposta à Varfarina e, consequentemente, a sua dosagem [14].

Esta variabilidade interindividual é um dos desafios-chave na farmacoterapia, já que o conhecimento dos polimorfismos genéticos que influenciam a resposta ao fármaco em desenvolvimento permite identificar os genótipos para os quais o fármaco será eficaz, bem como os genótipos associados a um risco elevado de desenvolver efeitos adversos ou a não responder ao fármaco.

Assim, o seu aprofundamento é essencial para aumentar a probabilidade de sucesso no tratamento dos doentes, avaliando a necessidade de utilização exclusiva por certos genótipos ou de uma dosagem adaptada para outros, pelo que tem vindo a integrar o

processo de desenvolvimento de diversos fármacos [15]. Nesse sentido, a investigação da existência da associação da PGx com a PK e a PD deve ser feita o mais cedo possível durante o desenvolvimento clínico (nas fases I e II), possibilitando alcançar melhores resultados.

A sua investigação assume especial interesse no desenvolvimento de fármacos cuja margem terapêutica é muito estreita, já que uma pequena alteração no metabolismo do fármaco em causa poderá levar a uma toxicidade elevada.

4. Vantagens da Incorporação da Farmacogenómica na Indústria Farmacêutica

A PGx tem-se tornado na última década uma parte integrante da Indústria Farmacêutica ao nível da I&D e do Desenvolvimento moderno de novos fármacos, já que possibilita a redução da incerteza e do risco inerentes ao processo de desenvolvimento de novos fármacos, e uma maior eficiência no *design* dos ensaios clínicos, através do fornecimento de dados relativos à segurança e eficácia, baseados na evidência genómica, que suportem a decisão crítica do prosseguimento dos ensaios clínicos subsequentes, ou a sua interrupção. Esta capacidade decisional é crucial, já que tem elevados impactos ao nível do custo e tempo de desenvolvimento de novos fármacos, e permite diminuir o risco de insucesso numa fase avançada do desenvolvimento clínico, onde os custos são sucessivamente mais elevados [16]. Assim, estes fatores aumentam a hipótese de sucesso do novo fármaco, potenciam o retorno do investimento feito pela indústria e permitem a chegada ao mercado de medicamentos mais eficientes e mais seguros, diminuindo os custos do Sistema de Saúde, direta ou indiretamente [17].

4.1. Aumento de dados relativos à Segurança e Eficácia

O aumento das previsões quanto à segurança e eficácia do fármaco em estudo é, de facto, crucial para o seu sucesso futuro, a nível clínico e comercial.

Estes parâmetros possuem um destaque essencial no processo de desenvolvimento de novos fármacos já que, em última análise, tanto a ineficácia como a existência de efeitos adversos serão responsáveis pela exclusão de potenciais fármacos candidatos à entrada no mercado. Mesmo após a Autorização de Introdução no Mercado (AIM), o surgimento de efeitos adversos inesperados poderá levar à retirada do mercado do novo fármaco, comportando custos elevadíssimos para a indústria.

Nalguns casos, este insucesso poderá dever-se a uma grande variabilidade na resposta ao fármaco decorrente de uma variante genética desconhecida, pelo que na verdade o fármaco poderia ser eficaz numa subpopulação de doentes [18].

Nesse sentido, a utilização da informação genética dos participantes, através da aplicação da PGx, permite verificar se existem variantes genéticas com elevado impacto nas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas do fármaco e, nesse caso, identificar as subpopulações de doentes com maior probabilidade de responder eficazmente ao fármaco, bem como de doentes com maior risco de desenvolver efeitos adversos.

Deste modo, a identificação das subpopulações propensas a desenvolver efeitos tóxicos permite o estabelecimento de dosagens seguras adaptadas e, conseqüentemente, previne a ocorrência de efeitos adversos, potenciando a segurança associada ao fármaco em desenvolvimento [19].

Esta mais-valia reflete-se também na possibilidade de resgate de fármacos que tenham sido retirados do mercado devido a questões de segurança.

4.2. Redução do Tempo e Custos de Desenvolvimento

A aplicação da PGx através da pré-seleção dos participantes dos ensaios clínicos, possibilita também uma redução do tempo de desenvolvimento de um fármaco, bem como dos custos associados ao seu desenvolvimento.

Isto porque, por um lado, o recrutamento seletivo dos participantes que possuem o genótipo de interesse permite evitar que os resultados dos ensaios clínicos estejam dependentes da resposta média de toda a população tratada, o que facilitará a demonstração de eficácia nas fases iniciais dos ensaios clínicos e favorecerá a aprovação de novos medicamentos num menor período.

Por outro lado, o aumento do benefício decorrente dessa pré-seleção, traduzido num ganho de evidência obtido, possibilita uma redução significativa do tamanho do ensaio clínico necessário para demonstrar uma diferença significativa entre o grupo em estudo e o controlo. Conseqüentemente, o custo dos ensaios clínicos será reduzido significativamente [20].

Assim, segundo uma estimativa do Research Triangle Institute International, a aplicação da Farmacogenómica no desenvolvimento clínico origina uma redução do tempo de desenvolvimento de 19%, de cerca de 133.7 meses para 108.2 meses e o custo é reduzido de \$1241 milhões para \$676.9 milhões por fármaco aprovado, o que representa um

decréscimo de 45%. Adicionalmente, a probabilidade de aprovação do fármaco é 11% mais elevada [20].

Contudo, é de referir que a decisão de exclusividade do fármaco em desenvolvimento para uma subpopulação específica implica uma redução do seu mercado, pelo que será importante avaliar o mercado potencial do fármaco em estudo, de modo a acumular dados que favoreçam a continuação do seu desenvolvimento, ou a sua interrupção, permitindo tomar decisões em fases iniciais do desenvolvimento [20].

5. Tecnologia Genómica

Um grande contributo para a implementação da PGx na investigação clínica foi a conclusão da sequenciação do genoma humano em 2003, por parte do Human Genome Project e International Haplotype Mapping Project [21].

Desde então, as tecnologias que permitem a sequenciação do genoma têm evoluído e, atualmente, é possível amplificar e sequenciar cerca de 20 milhões de pares de base em poucas horas e a um custo que tem reduzido consideravelmente. Um exemplo são as tecnologias de sequenciação modernas (NGS, do inglês *Next-generation sequencing*), as quais permitem a sequenciação de DNA e RNA de forma muito mais rápida e barata que as técnicas anteriores, tendo revolucionado o estudo da genómica [22].

Relativamente à genotipagem de variantes genéticas específicas, há diversos métodos disponíveis, tal como *SNP arrays*. Estes possuem marcadores genéticos que permitem detetar milhares de SNPs, permitindo identificar muitas variantes comuns no genoma humano.

Esta evolução tecnológica tem permitido obter informação crescente, tal como a identificação de novos polimorfismos genéticos de interesse. Face à informação acumulada, um avanço igualmente importante relaciona-se com a criação de biobancos e da bioinformática, que tem permitido armazenar e integrar essa informação [23].

Deste modo, a existência de tecnologia avançada de genotipagem e sequenciação, aliada ao declínio exponencial dos seus custos, e ao desenvolvimento de bases de dados, têm potenciado a aplicação da PGx, por parte das Indústrias Farmacêuticas, no desenvolvimento de novos fármacos.

6. Aplicação da Farmacogenómica na I&D e no Desenvolvimento

A PGx tem vindo a alterar o modo como a I&D e os ensaios clínicos são conduzidos.

Esta ciência pode ser implementada nas diversas fases de desenvolvimento de novos fármacos, desde os estudos *in vitro* que são conduzidos na fase Pré-Clínica, até à fase de Farmacovigilância.

Os propósitos são diversos: compreender o papel dos polimorfismos na variabilidade da PK, PD, eficácia e segurança; investigar as bases moleculares ou mecanísticas que levam à falta de eficácia, ou à ocorrência de efeitos adversos; testar a resposta farmacológica em subgrupos específicos, entre outros. O objetivo final é a obtenção de dosagens adaptadas ou de recomendações que promovam a eficácia e a segurança do tratamento na população em geral ou em subpopulações geneticamente definidas, caso a variabilidade genética tenha uma influência importante [24].

Nesse sentido, há *guidelines* das agências regulamentares relativamente aos estudos que são requeridos ou recomendados nas diferentes fases do desenvolvimento, para assegurar um nível de evidência satisfatório que justifique o tratamento das subpopulações genéticas com o fármaco em causa.

Devido ao interesse crescente na utilidade dos dados farmacogenómicos, as companhias farmacêuticas estão a apostar no desenvolvimento clínico de novos fármacos com recurso à PGx. No entanto, a sua implementação requer diversas considerações, incluindo a recolha adequada de DNA de todos os participantes, o desenvolvimento de biomarcadores preditivos, e a seleção do *design* dos ensaios clínicos que permita alcançar resultados interpretáveis clinicamente.

6.1. Colheita de Amostras de DNA

Um pré-requisito importante da investigação Farmacogenómica no desenvolvimento de novos fármacos é a colheita de amostras de DNA, idealmente estendida a todos os participantes dos ensaios clínicos, ao longo de todas as fases de desenvolvimento.

Nesse sentido, e uma vez que os ensaios clínicos representam a fonte mais rica de informação genética controlada, existem *guidelines* e recomendações das agências regulamentares, de modo a facilitar a colheita sistemática de DNA e o seu armazenamento em todos os programas de desenvolvimento clínico de novos fármacos.

O armazenamento da informação genética recolhida de todos os participantes, como parte integrante dos ensaios clínicos, assegura que os resultados de análises farmacogenómicas subsequentes refletem a população em estudo, evitando a introdução de vieses e a diminuição do poder estatístico, o que poderia comprometer o rigor científico dos estudos. Por outro lado, o armazenamento das amostras de DNA deve permanecer diversos anos após a entrada do medicamento no mercado, para permitir estudos posteriores da relação genótipo-fenótipo, caso surjam novos dados genómicos [25].

O plano de colheita de DNA deve ser especificado antes do início do ensaio clínico, de modo a minimizar um potencial viés de seleção. Isto é particularmente importante quando os doentes abandonam o estudo antes da sua conclusão. Quando não é possível obter uma amostragem completa, as razões devem ser descritas e os potenciais vieses estimados [26]. As amostras de DNA ganham especial importância quando se conhecem fatores genéticos prováveis de influenciar a eficácia, segurança ou a dosagem do fármaco em estudo. No entanto, essa correlação pode estar associada a variantes genéticas que ainda não estão bem caracterizadas, pelo que a colheita de DNA em análises exploratórias deve ser uma rotina, de modo a tornar possível procurar a explicação para as alterações na PK ou PD, que não eram conhecidas no início do estudo. Assim, se se descobrirem *outcomes* associados a uma variante genética no decorrer dos ensaios clínicos, é possível fazer um estudo retrospectivo a partir das amostras de DNA previamente recolhidas [26].

A colheita de DNA é possível apenas com o consentimento do doente, e de acordo com a regulamentação e o comité de ética vigente no país onde são conduzidos os ensaios clínicos. A tendência atual para adotar ensaios clínicos a nível global oferece a oportunidade para avaliar as propriedades dos fármacos numa população diversa e mais representativa das condições reais do mundo do que os *designs* tradicionais. Contudo, esta situação também aumenta a heterogeneidade da informação clínica, o que pode originar dificuldades na sua interpretação. Assim, é particularmente importante incluir amostras de DNA no *design* de ensaios a nível global, tendo especial atenção às diferentes regulamentações existentes nos diferentes países relativamente à sua colheita [27].

A informação proveniente da análise das amostras de DNA permitirá relacionar as variantes genéticas com a resposta ao fármaco.

6.2. Análise das Amostras de DNA

Há diversas plataformas tecnológicas que possibilitam uma rápida caracterização da contribuição das variantes genéticas para a variabilidade das propriedades PK e PD de um fármaco, permitindo gerar hipóteses e compreender melhor a associação genética com o fenótipo em estudo (ou seja, da característica física ou bioquímica observável, como a diminuição da *clearance* ou o aumento da toxicidade, entre outros) [28].

Exemplos de metodologias com aplicação dessas plataformas são:

- **Estudos de Associação entre Genes Candidatos**

Os Estudos de Associação entre Genes Candidatos (CGAS, do inglês *Candidate Gene Association Studies*) consistem na genotipagem de dezenas a milhares de variantes genéticas de interesse, num ou em vários genes, tanto da sequência codificante como da não codificante.

Para efetuar a genotipagem, são selecionados genes polimórficos conhecidos que codifiquem proteínas envolvidas nas vias farmacocinéticas e farmacodinâmicas do fármaco em desenvolvimento. Estes genes são considerados genes candidatos, e a sua relação com o fenótipo é examinada.

Deste modo, estes estudos possuem a vantagem de direcionar os recursos para diversos polimorfismos genéticos importantes, tendo uma maior hipótese *a priori* de descobrir interações gene-fármaco relevantes. Contudo, têm a consequente desvantagem de não incluir na análise os genes para os quais não há informação prévia sobre a sua relação com a resposta ao fármaco.

A associação do fenótipo aos genes explorados terá poder estatístico suficiente para fornecer hipóteses credíveis em ensaios clínicos de pequena escala, devendo no entanto ser confirmadas em estudos prospetivos [29].

- **Estudos de Associação do Genoma Completo**

Também denominados de hipótese da “doença comum, variante comum” (já que defendem que doenças comuns são atribuíveis, em parte, a variantes alélicas presentes em mais de 1% da população) [30], os Estudos de Associação do Genoma Completo (GWAS, do inglês, *Genome-Wide Association Studies*) permitem a genotipagem do exoma (sequência codificante do genoma, obtida após o *splicing* do RNA mensageiro) ou de todo o genoma (inclui os intrões, regiões não codificantes), utilizando *microarrays* capazes de analisar centenas ou milhares de SNPs. A comparação da frequência de SNPs entre os indivíduos que respondem

ao fármaco e os que não respondem, ou entre os que apresentam toxicidade ao fármaco e os que não apresentam, possibilita a identificação de variantes genéticas que estejam associadas ao fenótipo em causa.

Deste modo, os GWAS possibilitam a identificação de um gene candidato (gene onde se encontram os SNPs de interesse) durante o processo de desenvolvimento clínico [31, 32].

Assim, possuem a vantagem de não necessitar de informação prévia ou de hipóteses específicas relativamente a um gene candidato, já que é possível detetar SNPs nos genes que não eram considerados candidatos anteriormente.

Os GWAS impulsionaram a identificação de associações farmacogenéticas com potencial clínico, tendo já associado centenas de variantes genéticas comuns com mais de 250 doenças [33].

O poder estatístico dos GWAS é limitado à deteção de variantes genéticas comuns, estando dependentes da diversidade genética da população, pelo que é necessário a participação de um número elevado de doentes. Assim, a fase inicial pode não ter diversidade genética suficiente que permita a deteção de todas as variantes genéticas de interesse, enquanto que a fase III já possui um tamanho suficiente para a obtenção de resultados estatisticamente significativos. A condução dos ensaios clínicos de fase III ocorre muitas vezes a nível internacional, o que favorece a diversidade genética. Contudo, as análises genéticas necessitam de ter em consideração a estratificação da população, especialmente em ensaios largos que recrutem indivíduos de muitos países [34].

É importante conduzir estudos de replicação e validação *in vitro* e *in vivo*, de modo a evitar a geração de falsos positivos, a confirmar a generalização das descobertas à população de doentes, e a caracterizar a base mecanística do efeito desses genes na ação do fármaco.

Perante as metodologias apresentadas, as variáveis que ditam a aproximação que deve ser feita são o tamanho da população em estudo e a existência inicial de informação. Assim, idealmente, uma boa hipótese seria testada por um CGAS na fase II, ou gerada por um GWAS na fase III, e, se suportado por dados suficientes, seria confirmado por testes prospetivos na fase III [35].

Quando há evidência suficiente de que uma variante genética afeta a função desse gene ou a biologia da doença, pode criar-se uma hipótese no protocolo clínico, que inclua a análise desse gene ou das suas variantes genéticas nos estudos subsequentes. Caso a evidência não seja suficiente para suportar a inclusão de um teste genético específico, a opção possível é a colheita de DNA dos participantes para uma pesquisa genética futura [35].

Desta forma, a adoção destes estudos traduz-se na oportunidade de melhorar o pipeline do fármaco em desenvolvimento, e potenciar a eficácia dos fármacos já em uso.

6.3. Biomarcadores Preditivos

Um biomarcador genómico é definido pelo ICH como “uma característica mensurável de DNA e/ou RNA que é um indicador de processos biológicos normais, processos patogénicos, e/ou da resposta à terapêutica ou a outra intervenção” [6].

Os genes candidatos identificados através de CGAS ou GWAS que possuem interesse em ser incluídos nos ensaios clínicos são potenciais biomarcadores genómicos preditivos, assim denominados já que permitem prever a resposta ao fármaco quanto à sua segurança e eficácia [36].

A incorporação de biomarcadores preditivos na investigação clínica poderá ter grande utilidade, já que permite avaliar qual a dose mais eficaz do fármaco em desenvolvimento, determinar a sua segurança e especificar critérios de inclusão de doentes para os ensaios clínicos [37]. Nesse sentido, permite definir uma subpopulação específica de doentes que poderá beneficiar substancialmente com o tratamento experimental relativamente ao controlo, mais do que o benefício médio entre todos os doentes [38].

A identificação de uma subpopulação promissora é particularmente desejável quando:

- o tratamento experimental tem um *outcome* pior que o controlo na população em geral, mas apresenta um *outcome* melhor num subgrupo;
- o tratamento experimental tem um *outcome* melhor que o controlo na população em geral, mas esse *outcome* não compensa os efeitos adversos a não ser num subgrupo [39].

Esta informação poderá então ser usada para ajustar o *design* dos ensaios clínicos de fase III, o que representa uma estratégia de redução do risco dos estudos desta fase, tornando-a mais eficiente.

6.3.1. Qualificação de Biomarcadores Preditivos

Os biomarcadores potenciais devem ser qualificados para que possam ser utilizados nos ensaios clínicos e, posteriormente, na prática clínica [40].

A sua qualificação pode ocorrer a qualquer altura durante o desenvolvimento de novos fármacos, desde a descoberta até à fase de Farmacovigilância, sendo o ideal que esta ocorra o mais cedo possível, antes de iniciar a fase III.

Contudo, uma vez que o processo de acumulação de evidência para a qualificação do biomarcador é longo e pode ter custos elevados, o benefício da sua inclusão nos ensaios clínicos deve ser avaliado [41].

O seu desenvolvimento pode ser dividido em 3 fases: *Descoberta*, *Validação Interna* e *Validação Externa*.

Durante a fase da *Descoberta*, são usadas plataformas ómicas (genómica, proteómica e metabolómica), tais como CGAS e GWAS, para identificar potenciais candidatos a biomarcadores. Para tal, é necessário selecionar uma população homogénea de doentes com fenótipos clínicos bem definidos. Os dados são analisados através de métodos estatísticos de modo a identificar genes, proteínas ou metabolitos que sejam expressos diferentemente em indivíduos doentes relativamente aos indivíduos saudáveis, em estudos de coorte. A literatura também permite encontrar potenciais candidatos a biomarcadores que possam ser validados posteriormente.

Algumas considerações a ter na identificação de biomarcadores farmacogenéticos são: a compreensão do mecanismo de ação do fármaco em estudo; a informação da biologia da doença; a frequência da variante na população em estudo; o poder estatístico para detetar uma associação genótipo-fenótipo; o *design* do ensaio clínico [35].

A decisão para prosseguir para a validação dos candidatos a biomarcadores não depende apenas do seu significado estatístico ou bioinformático, mas também do seu potencial para contribuir para um balanço positivo de eficácia-custo da terapêutica [42].

A *Validação* é um processo evolutivo e integrativo, cujo objetivo final é garantir que cada biomarcador identificado é útil e está qualificado para ser aplicado no contexto específico a que foi proposto, um princípio designado por *fit-for-purpose*. Segundo este princípio, o nível

dos critérios de validação pode variar consoante o contexto de utilização previsto para o biomarcador.

No sentido de regular este processo, a U. S. Food and Drug Administration (FDA) tem desenvolvido *guidelines*, nas quais classifica os biomarcadores farmacogenómicos como *exploratórios*, *válidos prováveis*, *válidos conhecidos* e *substitutivos*, consoante o nível de confiança que atingem durante o processo de validação.

Os biomarcadores *exploratórios* necessitam de sofrer validação interna e externa para se designarem de *prováveis*. A *Validação Interna* é efetuada dentro do coorte inicial, avaliando a sensibilidade e especificidade do biomarcador candidato. Já a *Validação Externa* avalia os mesmos parâmetros mas num coorte externo independente. Os biomarcadores podem ainda ser classificados de *conhecidos* através da realização de ensaios clínicos prospetivos de fase I e II. Se se demonstrar sensibilidade e especificidade suficientes ao longo dos ensaios clínicos, incluindo na fase III, o biomarcador poderá atingir a qualificação de *substitutivo*, considerada o *Holly Grail* do desenvolvimento de biomarcadores [43].

6.4. Fases de Desenvolvimento e *Design* dos Estudos

A PGx tem diferente aplicabilidade em cada uma das fases de desenvolvimento, sendo descrita seguidamente para cada uma das fases [Anexo 3].

6.4.1. I&D

O conhecimento da genética da doença e da diversidade de genes que influenciam uma via molecular relacionada com essa doença pode ser usado para encontrar alvos terapêuticos. Uma das abordagens para aprofundar esse conhecimento é efetuada tirando partido de técnicas genómicas, como CGAS e GWAS. Estas técnicas possibilitam a identificação de genes associados à doença, os quais serão considerados potenciais alvos terapêuticos.

Assim que um gene ou uma via molecular são considerados potenciais alvos, são utilizados métodos informáticos que geram previsões de potenciais *leads*. Por exemplo, é possível combinar a informação estrutural de uma proteína com a informação estrutural de uma molécula, de modo a prever interações gene-fármaco favoráveis. Após a geração de tais previsões será necessário confirmar essas interações através de um *follow-up* experimental antes de prosseguir os estudos com essas moléculas. Assim, perante os *leads* identificados, procede-se à investigação farmacogenómica *in vitro* [44].

6.4.2. Fase Pré-Clínica

Na fase Pré-Clínica, a PGx pode ser aplicada na descoberta de genes de interesse e suas variantes genéticas, através de estudos *in vitro*.

Estes estudos permitem elucidar a estrutura e a função do fármaco e do seu recetor e, também, identificar a variabilidade interindividual da capacidade de metabolização e transporte do fármaco, o que possibilita compreender melhor a correlação entre a resposta ao fármaco e a variabilidade genética associada [45].

Os estudos *in vitro* referentes ao metabolismo dos fármacos utilizam enzimas humanas, através da utilização de linhas celulares, tendo como objetivo identificar as enzimas metabolizadoras do fármaco em estudo, bem como identificar e caracterizar os metabolitos (tanto farmacologicamente ativos como tóxicos) formados através das vias metabólicas candidatas.

Segundo a European Medicines Agency (EMA), uma via metabólica é considerada importante quando os dados *in vitro* indicam que >50% do fármaco é eliminado por uma só enzima metabolizadora polimórfica. Nestes casos, é aconselhável que na fase I se proceda à genotipagem do gene que codifica essa enzima, de modo a evitar questões de segurança relacionadas com a variabilidade genética na exposição à substância [46].

O envolvimento de proteínas transportadoras do fármaco também pode ser estudado através de estudos com sistemas *in vitro*, recorrendo a modelos animais, ou ainda, utilizando informação referente a substâncias similares. Contudo, poderá ser difícil estabelecer previsões acerca da sua contribuição *in vivo* [47].

Desta forma, a aplicação da PGx nesta fase permite:

- Prever o impacto da variação genética na modificação da eficácia e dos efeitos secundários;
- Excluir alvos do fármaco que sejam altamente polimórficos ou desenvolver estudos individualizados para tais alvos polimórficos;
- Identificar os polimorfismos relevantes na ADME do fármaco em estudo;
- Prever toxicidade associada a genótipos específicos antes da sua aplicação em humanos [48].

Assim que se verifica ausência de toxicidade do *lead* em modelos animais, a molécula passa para a fase Clínica.

6.4.3. Fase Clínica

Quando os dados farmacogenômicos apresentam relevância para o desenvolvimento do fármaco, os ensaios clínicos devem ser planejados com recurso à PGx.

É essencial selecionar o *design* do estudo apropriado à pesquisa farmacogenética em cada uma das fases de desenvolvimento, previamente ao início do estudo, uma vez que há diversos *designs* possíveis, cada um com diferente aplicabilidade e interesses [49].

O *design* do estudo escolhido deve ser tão eficiente quanto possível relativamente ao tempo, custos e tamanho da amostra. Adicionalmente, deve resultar no maior ganho de evidência, de modo a verificar se o tratamento guiado pela PGx é benéfico relativamente ao tratamento *standard* ou não [50], permitindo tomar decisões fundamentadas, como a descontinuação do desenvolvimento do fármaco, o seu codesenvolvimento com um teste farmacogenético, ou ignorar a informação farmacogenética caso esta se demonstre irrelevante.

❖ Fase I

Esta fase estuda os parâmetros farmacocinéticos e a segurança e tolerabilidade do fármaco em desenvolvimento, em indivíduos saudáveis, podendo incluir até 100 indivíduos [51].

Nesse sentido, a PGx será usada para investigar *in vivo* a contribuição de polimorfismos importantes na alteração das propriedades farmacocinéticas de um fármaco ou do seu metabolito ativo, através da utilização de amostras de DNA.

Se o efeito de um polimorfismo é confirmado *in vivo* (definido pela EMA, quando >25% do fármaco é eliminado pela enzima polimórfica *in vivo*), é recomendado genotipar o gene em causa em tantos estudos de Fase I e fases seguintes quanto possível. Deste modo pretende-se maximizar a quantidade de informação proveniente de estudos em subpopulações geneticamente definidas [46].

Adicionalmente, os indivíduos cujo genótipo indique um aumento da exposição ao fármaco ou aos seus metabolitos deverão receber doses inferiores às doses consideradas seguras para os metabolizadores rápidos.

As vantagens da aplicação da PGx nestes estudos são :

- Compreender a magnitude do impacto de uma variante genética prevista pelos dados pré-clínicos;
- Evitar o insucesso de um fármaco se o motivo for falta de eficácia ou efeitos adversos associados à variabilidade genética;
- Estimar o impacto relativo das variações farmacogenéticas vs interações fármaco-fármaco, efeitos da idade, do peso, entre outros, desenvolvendo critérios de inclusão e exclusão nos estudos de fase II [48].

❖ Fase II

Os estudos desta fase envolvem até 1000 doentes, sendo suficientemente largos para estabelecer parâmetros de eficácia e segurança, uma parte crucial destes estudos [51]. A genotipagem dos candidatos contribui para este objetivo, já que permite estabelecer associações entre determinados polimorfismos e as diferenças de eficácia do fármaco em estudo.

Um outro objetivo da fase II é a otimização da dosagem. A influência da farmacogenética nas propriedades farmacocinéticas que seja clinicamente relevante, identificada na fase I, deve ser considerada no *design* dos estudos da fase II, para a investigação da dosagem adequada.

Caso a análise de dados da fase II indique diferenças clinicamente importantes na exposição ao fármaco numa subpopulação definida geneticamente, deve ser avaliada a necessidade de um ajuste de dose baseado no genótipo [52].

Esta fase tem um grande impacto na decisão de prosseguir ou não com o desenvolvimento do fármaco e tem potencial para obter informação que permita escolher o *design* dos estudos da fase III [53, 54].

❖ Fase III

Os estudos desta fase são constituídos por 1000 a 5000 doentes e fornecem a maior evidência de eficácia e segurança [51]. É, no entanto, a fase mais dispendiosa dos ensaios clínicos.

Quando os dados da fase II indicam uma diferença significativa na exposição do fármaco ou do metabolito numa subpopulação definida geneticamente relativamente à população em geral, deve proceder-se à genotipagem dos genes relevantes, de toda a população que entra na fase III, e as doses devem ser ajustadas consoante o seu genótipo.

A genotipagem em maior escala nesta fase possibilita descobrir novos biomarcadores de interesse e reações adversas menos comuns.

A aplicação da PGx nestes estudos permite:

- Direcionar o fármaco para subgrupos definidos genotipicamente que apresentem elevada eficácia e excluir os que apresentam elevado risco de desenvolver efeitos adversos ou que não respondem ao fármaco (ou seja, definir critérios de inclusão/ exclusão);
- Obter evidência clara relativamente à inclusão da informação farmacogenómica no RCM [53].

Há diversas formas de aplicar o conhecimento farmacogenómico para desenhar um ensaio de fase III, de modo a confirmar se o tratamento guiado pelo genótipo proposto é benéfico relativamente ao tratamento standard.

Consoante o momento da randomização e da genotipagem há diferentes *designs* que podem ser utilizados, alguns dos quais serão abordados seguidamente [Anexo 4]:

○ Estudos Observacionais

❖ *Design* de Estudo de Coorte com biomarcador

Os indivíduos são randomizados sem se recorrer à genotipagem. Esta é apenas efetuada no final do estudo para estudar uma possível relação entre o biomarcador e os *outcomes*. Assim, este *design* é usado em estudos exploratórios, como é o caso da identificação de um biomarcador de segurança [55].

- **Estudos experimentais**

- **Ensaio Clínicos Randomizados**

Os Ensaio Clínicos Randomizados (RCT, do inglês, *Randomized Clinical Trials*) constituem o *gold standard* dos ensaios clínicos, sendo normalmente utilizados já que permitem minimizar vieses e têm um papel importante na determinação da segurança e eficácia do fármaco em desenvolvimento [56].

- ❖ *Design* Estratificado com Biomarcador

A genotipagem é efetuada previamente à randomização (isto é, os doentes são estratificados com base no seu genótipo e randomizados separadamente entre o grupo de intervenção e o controlo).

A grande vantagem deste *design* é que o tamanho da população em estudo é determinado tendo em conta o tamanho da amostra da subpopulação. Assim, se a prevalência da variante genética selecionada não for proporcional ao genótipo mais prevalente (*wild-type*), é possível incluir participantes de modo seletivo no início do ensaio clínico, para criar um número equilibrado de genótipos por braço de tratamento.

Desta forma, a possibilidade de randomizar em função do genótipo aumenta as possibilidades de obter um resultado estatisticamente significativo e minimiza a probabilidade de vieses introduzidos por uma distribuição genotípica desigual entre os subgrupos.

Este é o *design* mais rigoroso na identificação da população-alvo ótima. Contudo, pode ser difícil de aplicar quando há muitos braços de tratamento [55, 57].

- ❖ *Design* Enriquecido com Biomarcador

Tal como no *Design* Estratificado com Biomarcador, os resultados da genotipagem são usados na randomização. A diferença reside na exclusão dos doentes negativos para o biomarcador neste *design*, ao contrário do anterior. Assim, os indivíduos previstos de não responder ao fármaco, ou com risco elevado de desenvolver efeitos adversos podem ser excluídos.

Contudo, este estudo só deve ser usado quando há uma clara associação do biomarcador com a segurança ou a eficácia do fármaco, e o seu impacto deve ser bem analisado. Isto porque este *design* não fornece dados relativos aos subgrupos excluídos, pelo que não se pode confirmar que a segurança e a eficácia não são também atingidas por estes subgrupos [58, 59].

- **Ensaio Clínico com *Design* Adaptável**

O interesse nestes *designs* surge da sua promessa de melhorar o desenvolvimento de novos fármacos, em comparação com os métodos convencionais.

Segundo a FDA, um Ensaio Clínico com *Design* Adaptável é definido como “um estudo que inclui uma oportunidade planeada prospetivamente de modificar um ou mais aspetos dos ensaios clínicos através da análise interina dos participantes do estudo” [60].

A análise interina refere-se à análise dos dados obtidos num estudo, enquanto ele decorre. O momento desta análise é planeado de modo a permitir disponibilizar informação a tempo de proceder às adaptações necessárias.

A análise dos dados obtidos permite tomar melhores decisões, levando a um processo de desenvolvimento mais eficiente e, conseqüentemente, aumentando a probabilidade de sucesso nesta fase.

Este *design* pode ser benéfico na pesquisa farmacogenómica quando existe incerteza relativamente ao papel exato e à relevância clínica da variabilidade genética na resposta ao fármaco. Isto porque, ao contrário de um *design* fixo, quando a evidência não é suficientemente forte no início do ensaio clínico, as variáveis do estudo (como critérios de inclusão e dosagens selecionadas) podem ser modificadas à medida que este vai decorrendo, em função da informação farmacogenómica acumulada.

Assim, um Ensaio Clínico com *Design* Adaptável pode começar por incluir doentes independentemente do seu genótipo e, consoante a análise interina, vai sendo decidido se se continua o estudo inalterado e se estabelece a segurança e eficácia do fármaco para toda a população, ou se se modifica o ensaio, incluindo seletivamente indivíduos com o genótipo de interesse, ou ainda eliminando o genótipo para o qual o tratamento não é benéfico, e se confirma a segurança e eficácia nos restantes genótipos [Anexo 5].

Estes *designs* permitem a conclusão antecipada dos ensaios clínicos. Se a análise interina mostrar que não há efeito relativamente ao comparador, ou que ele é mínimo, ou se se observarem efeitos adversos, é possível tomar a decisão de descontinuar o ensaio, o que irá poupar tempo, dinheiro e inclusão adicional de doentes. Contrariamente, o fármaco pode já mostrar eficácia aquando da análise interina, o que permite a conclusão do ensaio devido a eficácia demonstrada [61].

Desta forma, os Ensaio Clínicos com *Design Adaptável* surgem como estratégias inovadoras no *design* de estudos, promotoras de flexibilidade e eficiência, sem diminuir a sua validade e integridade.

Os resultados obtidos poderão simplificar o desenvolvimento das recomendações farmacogenómicas na prática clínica.

Devido ao seu impacto regulamentar, a FDA desenvolveu *guidelines* de modo a orientar o uso correto destes estudos, para que forneçam a evidência necessária do benefício da nova molécula relativamente ao comparador, e se evitem vieses e conclusões incorretas.

❖ Fase IV

Esta fase, também designada de Farmacovigilância, ocorre após a AIM respeitante ao fármaco desenvolvido. Corresponde ao conjunto de atividades relacionadas com a deteção, avaliação e prevenção de reações adversas, com o objetivo de aumentar a segurança no uso dos medicamentos.

Os estudos nesta fase que incorporam amostras de DNA podem responder a questões que não eram conhecidas durante a fase de Desenvolvimento, tal como compreender a base genética associada a eventos adversos raros que não foram descobertos durante a fase Clínica ou a subpopulações de doentes que são *outliers* na resposta ao novo fármaco [62].

Assim, a aplicação da PGx nesta fase possibilita:

- compreender, para cada notificação de uma Reação Adversa a Medicamentos (RAM), se a mesma se deveu a variantes genómicas e qual a sua incidência em subgrupos específicos;
- proceder a alterações no Resumo das Características do Medicamento (RCM);
- avaliar a necessidade de desenvolver um dispositivo de diagnóstico genético associado ao medicamento para selecionar os doentes ou adequar a dosagem;
- reduzir significativamente o risco de RAMs no futuro.

Deste modo, a sua aplicação pode aumentar a probabilidade de sucesso do tratamento dos doentes, tendo um impacto positivo na ponderação do benefício-risco na prática clínica [52].

7. A Farmacogenómica na Prática Clínica

A informação farmacogenómica de interesse relativa ao fármaco desenvolvido é traduzida para a prática clínica através da utilização de um dispositivo de diagnóstico genético, ou seja, de um teste farmacogenómico que terá sido desenvolvido em simultâneo com o fármaco. Este codesenvolvimento possibilita que a informação genética seja incluída no RCM aquando do registo do novo fármaco.

Os dispositivos de diagnóstico genético incorporam os biomarcadores preditivos validados para o fármaco desenvolvido, pelo que permitem conhecer a segurança e eficácia do medicamento relativamente ao doente em causa através da identificação da sua variante genética, promovendo a prescrição individualizada [Anexo 6].

O seu potencial para melhorar as decisões do tratamento a nível individual evita que os doentes recebam um tratamento que não lhes é benéfico, evitando custos socioeconómicos, e aumenta o sucesso do tratamento com o novo fármaco. Assim, em função da sensibilidade individual ao fármaco, é estabelecida uma dosagem segura, ou recomendada a prescrição de outro fármaco, proporcionando um benefício máximo e um risco mínimo para o doente [63].

Consoante o nível de evidência dos dados disponíveis após a conclusão dos ensaios clínicos, a incorporação da informação farmacogenómica no RCM, incluindo a realização do teste farmacogenómico, poderá ter um nível informativo, recomendado ou mandatório. A *guideline Summary of Product Characteristics (SmPC)* fornece informação sobre o modo de apresentação dos dados farmacogenómicos [64].

O desenvolvimento de medicamentos que dependem do uso de um teste diagnóstico tem-se tornado mais comum. De facto, tem havido um aumento do número de medicamentos que já possuem *guidelines* farmacogenómicas no seu RCM, os quais podem ser consultados nas seguintes plataformas:

<http://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm> e <https://www.pharmgkb.org/cpic/pairs> [65, 66].

Contudo, ainda há diversas barreiras que dificultam a sua tradução para a prática clínica, tais como a falta de formação de médicos, farmacêuticos e doentes relativamente à PGx, e a dificuldade na acessibilidade aos testes farmacogenómicos, na obtenção dos resultados em tempo útil e na sua interpretação. Assim, há ainda um caminho a percorrer de modo a facilitar a tradução dos conhecimentos farmacogenómicos para a prática clínica.

8. Conclusão – Perspetivas Futuras

A implementação emergente da Farmacogenómica na I&D e no Desenvolvimento de novos fármacos reflete-se num sucesso partilhado entre a Indústria Farmacêutica e a prática clínica decorrente da crescente aprovação de moléculas inovadoras, seguras e eficazes.

Relativamente à Indústria Farmacêutica, a evolução das tecnologias de sequenciação genómica tem possibilitado a realização de estudos de associação, a qualificação de novos biomarcadores preditivos e a consequente aplicação de estratégias inovadoras no *design* de ensaios clínicos, o que se tem traduzido no crescente sucesso de novos fármacos destinados a subgrupos específicos, com redução dos custos e tempo de desenvolvimento.

Estes benefícios transpostos para a prática clínica correspondem à possibilidade de condução da decisão terapêutica em função do genótipo, selecionando o tratamento mais provável de oferecer um perfil benefício-risco favorável para o doente em causa, potenciando a implementação da Medicina de Precisão.

Apesar do otimismo face à aplicação da Farmacogenómica, há diversos desafios que são necessários ultrapassar para que a Medicina de Precisão seja uma realidade do dia a dia.

Alguns dos desafios mais importantes são:

- compreensão dos mecanismos complexos associados a vias biológicas, patológicas e farmacológicas ainda desconhecidos (apesar do acesso a uma grande quantidade de dados que os avanços tecnológicos possibilitaram), bem como a compreensão da influência de múltiplos fatores genéticos e ambientais em determinados fenótipos;
- desenvolvimento de plataformas que facilitem a colheita, análise, integração e partilha de toda a informação obtida;
- contínua cooperação das agências regulamentares com a indústria através de *guidelines* que facilitem o desenvolvimento de moléculas inovadoras e os processos regulamentares associados à sua aprovação;
- elaboração de *guidelines* acessíveis que facilitem a adoção dos testes farmacogenómicos disponíveis e a sua interpretação por parte dos médicos, favorecendo a tradução da Farmacogenómica para a prática clínica;
- colaborações internacionais entre as várias entidades: grupos científicos, Indústria Farmacêutica, agências regulamentares, médicos e farmacêuticos [67].

Trabalhando neste sentido, é possível antever a chegada à Era da Medicina de Precisão.

9. Bibliografia

- [1] GROSSMAN, I.; GOLDSTEIN, D. B. – **Pharmacogenetics and Pharmacogenomics**. In: GINSBURG, G. S.; WILLARD, H. F., *Essentials of Genomic and Personalized Medicine*. Elsevier Inc., 2010. ISBN 9780123749345, 175-188.
- [2] SHAH, R. R.; DEVRON, R. S. – **Personalized medicine: is it a pharmacogenetic mirage?** *British Journal of Clinical Pharmacology*. 74, 4 (2012) 698-721.
- [3] Gordian, M.; Singh, N.; Zimmel, R.; Elias, T. – **Why Products Fail in Phase III**. In *Vivo*. 24,4 (2006).
- [4] DOUGLAS, F. L.; MITCHELL, L. – **Assessing Risk and Return: Personalized Medicine Development & New Innovation Paradigm**. Ewing Marion Kauffman Foundation. (2008). [Acedido a 28 de agosto de 2015]. Disponível na Internet: http://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=1295507
- [5] MCCARTHY, A. D.; KENNEDY, J. L.; MIDDLETON, L. T. – **Pharmacogenetics in drug development**. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. 29, 360 (2005) 1579-1588.
- [6] HHS; FDA; CDER; CBER – **Guidance for Industry - E15 Definitions for Genomic Biomarkers, Pharmacogenomics, Pharmacogenetics, Genomic Data, and Sample Coding Categories**. (2008). [Acedido a 7 de agosto de 2015]. Disponível na Internet: <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm073162.pdf>
- [7] Pirmohamed, M. – **Pharmacogenetics: past, present and future**. *Drug Discovery Today*. 16, 19/20 (2011) 852-861.
- [8] EVANS, W. E.; MCLEOD, H. L. – **Pharmacogenomics - drug disposition, drug targets and side effects**. *The New England Journal of Medicine*. 348 (2003) 538-549
- [9] MADIAN, A. G.; WHEELER, H. E.; JONES, R. B.; DOLAN, M. E. – **Relating Human Genetic Variation to Variation in Drug Responses**. *Trends in Genetics*. 28, 10 (2012) 487-495.

- [10] GROSSMAN, I.; GOLDSTEIN, D. B. – **Pharmacogenetics and Pharmacogenomics**. In: GINSBURG, G. S.; WILLARD, H. F., *Essentials of Genomic and Personalized Medicine*. 2ª Edição. Elsevier Inc., 2013. ISBN 9780123749345, 175-190.
- [11] FLOCKHART, D. A.; DESTA, Z. – **Pharmacogenetics of Drug Metabolism**. In: ROBERTSON, D.; WILLIAMS, G. H., *Clinical and Translational Science*. Elsevier Inc., 2009. ISBN: 978-0-12-373639-0, 301-317.
- [12] MCLEOD, H. L. – **Pharmacogenetics and Pharmacogenomics**. In: GINSBURG, G. S.; WILLARD, H. F., *Essentials of Genomic and Personalized Medicine*. 2ª Edição. Elsevier Inc., 2013. ISBN 9780123749345, 362-371.
- [13] CREWS, K. R.; HICKS, J. K.; PUI, C. H.; RELLING, M. V.; EVANS, W. E. – **Pharmacogenomics and individualized medicine: translating science into practice**. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 92, 4 (2012) 467-475.
- [14] MCMILLIN, G. A. – **Pharmacogenetics**. In: BRUTIS, C.; ASHWOOD, E.; BRUNS, D., *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Saunders, 2012. ISBN: 978-0-323-08985-2.
- [15] EHMANN, F.; CANEVA, L.; PAPALUCA, M. – **European Medicines Agency initiatives and perspectives on pharmacogenomics**. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 77, 4 (2014) 612-617.
- [16] US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – **Paving the Way for Personalized Medicine: FDA's Role in a New Era of Medical Product Development**. (2013). [Acedido a 25 de agosto de 2015]. Disponível na Internet: <http://www.fda.gov/downloads/ScienceResearch/SpecialTopics/PersonalizedMedicine/UCM372421.pdf>
- [17] Evans, W. E.; Johnson, J. A. – **Pharmacogenomics: the inherited basis for interindividual differences in drug response**. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 2 (2001) 9-39.
- [18] BURNS, D. K. – **Developing Pharmacogenetic Evidence Throughout Clinical Development**. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 88, 6 (2010) 867-870.

- [19] Urban, T. J.; Goldstein, D. B. – **Pharmacogenetics at 50: Genomic Personalization Comes of Age**. *Science Translational Medicine*, 6, 220 (2014).
- [20] KIRK, R. J.; HUNG., J. L.; HORNER, S. R.; PEREZ, J. T. – **Implications of Pharmacogenomics for Drug Development**. *Experimental Biology and Medicine* (2008) 1484-1497.
- [21] NIH – **An Overview of the Human Genome Project**. 2015. [Acedido a 21 de agosto de 2015]. Disponível na Internet: <http://www.genome.gov/12011238>.
- [22] PETTERSSON, E.; LUNDEBERG, J.; AHMADIAN, A. – **Generations of sequencing technologies**. *Genomics*. 93, 2 (2009) 105-11.
- [23] MCCARTY, C. A.; WILKE, R. A. – **Biobanking and pharmacogenomics**. *Pharmacogenomics*. 11, 5 (2010) 637-641.
- [24] ZINEH, I.; PACANOWSKI, M. A. – **Pharmacogenomics in the assessment of therapeutic risks versus benefits: inside the United States Food and Drug Administration**. *Pharmacotherapy*. 31, 8 (2011) 729-735.
- [25] HHS; FDA; CDER; CBER; CDRH. – **Guidance for industry: Clinical Pharmacogenomics: Premarket Evaluation in Early-Phase Clinical Studies and Recommendations for Labeling**. 2013. [Acedido a 14 de agosto de 2015]. Disponível na Internet: <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm337169.pdf>
- [26] KELLY, P. J.; STALLARD, N.; WHITTAKER, J. C. – **Statistical design and analysis of pharmacogenetic trials**. *Statistics in Medicine*. 24 (2005) 1495-1508.
- [27] Glickman, S. W.; McHutchison, J. G.; Peterson, E. D.; Cairns, C., B.; Harrington, R. A.; Califf, R. M.; Schulman, K. A. – **Ethical and scientific implications of the globalization of clinical research**. *The New England Journal of Medicine*. 360 (2009) 816-823.

- [28] CHEN, R.; SNYDER, M. – **Promise of Personalized Omics to Precision Medicine**. Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine. 5, 1 (2013) 73-82.
- [29] GRANT, S. F.; HAKONARSON, H. – **Recent development in pharmacogenomics: from candidate genes to genome-wide association studies**. Expert Review of Molecular Diagnostics. 7, 4 (2007) 371-393.
- [30] SCHORK, N. J.; MURRAY, S. S.; FRAZER, K. A.; TOPOL, E. J. – **Common vs Rare Allele Hypothesis for Complex Diseases**. Current Opinion Genetics & Development. 19, 3 (2009) 212-219.
- [31] LIOU, S.-Y.; STRINGER, F.; HIRAYAMA, M. – **The Impact of Pharmacogenomics Research on Drug Development**. Drug Metabolism and Pharmacokinetics. 27, 1 (2012) 2-8.
- [32] DALY, A. K. – **Genome-wide association studies in pharmacogenomics**. Nature Reviews Genetics. 11 (2010) 241-246.
- [33] HARPER, A. R.; TOPOL, E. J. – **Pharmacogenomics in clinical practice and drug development**. Nature Biotechnology. 30, 11 (2012) 1117-1124.
- [34] JOHNSON, K. J.; ECK, S. L. – **Pharmacogenomics in Drug Discovery and Development**. In: GINSBURG, G. S.; WILLARD, H. F., Genomic and Personalized Medicine. Elsevier Inc., 2013. ISBN 9780123822277, 353-361.
- [35] BIENFAIT, K. L.; SHAW, P. M.; MURTHY, G.; WARNER, A. W. – **Mobilizing pharmacogenomic analyses during clinical trials in drug development**. In: Pharmacogenomics. 14, 10 (2013) 1227-1235.
- [36] JANES, H.; PEPE, M. S.; BOSSUYT, P. M.; BARLOW, W. E. – **Measuring the performance of markers for guiding treatment decisions**. Annals of Internal Medicine. 154, 4 (2011) 253-259.

- [37] US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – **Guidance for Industry – Drug Metabolism/ Drug Interaction Studies in the Drug Development Process: Studies In Vitro**. 1997. [Acedido a 4 de setembro de 2015]. Disponível na Internet: <http://www.fda.gov/downloads/AboutFDA/CentersOffices/CDER/UCMI42439.pdf>
- [38] HOPKINS, M. M.; IBARRETA, D.; GAISSER, S.; ENZING, C. M.; RYAN, J.; MARTIN, P. A.; LEWIS, G.; DETMAR, S.; VAN DEN AKKER-VAN MARLE, M. E.; HEDGECOE, A. M.; NIGHTINGALE, P.; DREILING, M.; HARTIG, K. J.; VULLINGS, W., FORDE, T. – **Putting pharmacogenetics into practice**. *Nature Biotechnology*. 24, 4 (2006) 403-410.
- [39] BAKER, S. G.; KRAMER, B. S.; SARGENT, D. J.; BONETTI, M. – **Biomarkers, Subgroup Evaluation, and Clinical Trial Design**. *Discovery Medicine*. 13, 70 (2012) 187-192.
- [40] GOODSAY, F. – **Challenges of biomarkers in drug discovery and development**. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 76, 6 (2012) 457-461.
- [41] OTSUBO, Y.; ISHIGURO, A.; UYAMA, Y. – **Regulatory perspective on remaining challenges for utilization of pharmacogenomics-guided drug developments**. *Pharmacogenomics*. 14, 2 (2013) 195-203.
- [42] BAST, R. C.; LILJA, H.; URBAN, N.; RIMM, D. L.; FRITSCH, H.; GRAY, J.; VELTRI, R.; KLEE, G.; ALLEN, A.; KIM, N.; GUTMAN, S.; RUBIN, M. A.; HRUSZKEWYCZ, A. – **Translational crossroads for biomarkers**. *Clinical Cancer Research*. 11, 17 (2005) 6103-6108.
- [43] LIN, D.; HOLLANDER, Z. – **Searching for «omic» biomarkers**. *The Canadian Journal of Cardiology*. 25, Supl A (2009) 9^A-14A.
- [44] KARCZEWSKI, K. J.; DANESHJOU, R.; ALTMAN, R. B. – **Pharmacogenomics**. *PLOS Computational Biology*. 8, 12 (2012) 1-18.

- [45] GIACOMNI, K. M.; HUANG, S. M.; TWEEDIE, D. J.; BENET, L. Z.; BROUWER, K. L.; CHU, X.; DAHLIN, A.; EVERS, R.; FISCHER, V.; HILLGREN, K. M.; HOFFMASTER, K. A.; ISHIKAWA, T.; KEPPLER, D.; KIM, R. B.; LEE, C. A.; NIEMI, M.; POLLI, J. W.; SUGIYAMA, Y.; SWAAN, P. W.; WARE, J. A.; WRIGHT, S. H.; YEE, S. W.; ZAMEK-GLISZCZYNSKI, M. J.; ZHANG, L. – **Membrane transporters in drug development.** *Nature Reviews Drug Discovery.* 9, 3 (2010) 215-236.
- [46] EUROPEAN MEDICINES AGENCY – **Guideline on the use of pharmacogenetic methodologies in the pharmacokinetic evaluation of medicinal products.** (2011). [Acedido a 7 de junho de 2015] Disponível na Internet: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/02/WC500121954.pdf
- [47] EUROPEAN MEDICINES AGENCY – **Guideline on the Investigation of Drug Interactions.** (2012). [Acedido a 7 de junho de 2015] Disponível na Internet: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/07/WC500129606.pdf
- [48] ISSA, A. M. – **Ethical considerations in clinical pharmacogenomics research.** *Trends in Pharmacological Sciences.* 21 (2000) 247-249.
- [49] BLAKEY, J. D.; HALL, I. P. – **Current progress in pharmacogenetics.** *British Journal of Clinical Pharmacology.* 71, 6 (2011) 824-831.
- [50] ENCePP – **Design and analysis of pharmacogenetic studies.** In: ENCePP Guide on Methodological Standards in Pharmacoepidemiology. Rev 4, 2015 [Acedido a 2 de junho de 2015] Disponível na Internet: http://www.encepp.eu/standards_and_guidances/methodologicalGuide9_3.shtml#.
- [51] MAHFOUZ, T. M.; CROSSGROVE, J. S. – **Clinical Trials and the Food and Drug Administration.** In: GAD, S. C., *Clinical Trials Handbook.* John Wiley & Sons, 2009. ISBN: 9780471213888, 227-243.
- [52] MALIEPAARD, M.; NOFZIGER, C.; PAPALUCA, M.; ZINEH, I.; UYAMA, Y.; PRASAD, K.; GRIMSTEIN, C.; PACANOWSKI, M.; EHMANN, F.; DOSSENA, S.; PAULMICHL, M. – **Pharmacogenetics in the evaluation of new drugs: a multiregional regulatory perspective.** *Nature Reviews Drug Discovery.* 12, 2 (2013).

- [53] STINGL, J. C.; BROCKMÖLLER, J. – **Why, When, and How Should Pharmacogenetics be Applied in Clinical Studies?: Current and Future Approaches to Study Designs.** *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 89, 2 (2011) 198-209.
- [54] O'DONNELL, P. H.; STADLER, W. M. – **Pharmacogenomics in Early Phase Oncology Clinical Trials: Is There a Sweet Spot in Phase II?.** *Clinical Cancer Research*. 18, 10 (2012) 2809-2816.
- [55] SAKAMOTO, Y.; OTSUBO, Y.; ISHIGURO, A. UYAMA, Y. – **PGx/Biomarker Utilization for Regulatory Decision Making.** In: PADMANABHAN, S., *Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine*. Academic Press, 2014. ISBN 9780123868831, 960-962.
- [56] ROSS, S.; ANAND, S. S.; JOSEPH, P.; PARÉ, G. – **Promises and challenges of pharmacogenetics: an overview of study design methodological and statistical issues.** *JRSM Cardiovascular Disease*. 1, 12 (2012).
- [57] FREIDLIN, B.; MCSHANE, L. M.; KORN, E. L. – **Randomized clinical trials with biomarkers: design issues.** *Journal of the National Cancer Institute*. 102, 3 (2010) 152-160.
- [58] TAJIK, P.; ZWINDERMAN, A. H.; MOL, B. W.; BOSSUYT, P. M. – **Trial Designs for Personalizing Cancer Care: A Systematic Review and Classification.** *Clinical Cancer Research*. 19, 17 (2013) 4578-4588.
- [59] SARGENT, D. J.; CONLEY, B. A.; ALLEGRA, C.; COLLETE, L. – **Clinical trial designs for predictive marker validation in cancer treatment trials.** *Journal of Clinical Oncology*. 23, 9 (2005) 2020-2227.
- [60] HHS; FDA; CDER; CBER – **Adaptive Design Clinical Trials for Drugs and Biologics.** (2010). [Acedido a 21 de agosto de 2015] Disponível na Internet: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm201790.pdf>
- [61] BAAN, F. – **Personalized Medicine - Pharmacogenetic Testing in Drug Development and Clinical Practice.** The Netherlands: Gildeprint Drukkerijen, 2012. ISBN 978-94-6108-306-7.

- [62] COMMISSION, E. – **A Guideline on Summary of Product Characteristics.** (2009). [Acedido a 29 de agosto de 2015] Disponível na Internet: http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-2/c/smcp_guideline_rev2_en.pdf
- [63] ABUL-HASN, N. S.; OBENG, A. O.; SANDERSON, S. C.; GOTTESMAN, O.; SCOTT, S. A. – **Implementation and utilization of genetic testing in personalized medicine.** Journal of Pharmacogenomics and Personalized Medicine. 7 (2014) 227-240.
- [64] CAUDLE, K. E.; KLEIN, T. E.; HOFFMAN, J. M.; MULLER, D. J.; WHIRL-CARRILLO, M.; GONG, L.; MCDONAGH, E. M.; SANGKUHL, K.; THORN, C. F.; SCHWAB, M.; AGUNDEZ, J. A.; FREIMUTH, R. R.; HUSER, V.; LEE, M. T.; IWUCHUKWU, O. F.; CREWS, K. R.; SCOTT, S. A.; WADELIUS, M.; SWEN, J. J.; TYNDALE, R. F.; STEIN, C. M.; RODEN, D.; RELLING, M. V.; WILLIAMS, M. S.; JOHNSON, S. G. I. – **Incorporation of Pharmacogenomics into Routine Clinical Practice: the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline Development Process.** Current Drug Metabolism. 5, 2 (2014) 209-217.
- [65] FDA – [Acedido a 26 de agosto de 2015]. Disponível na Internet: <http://www.fda.gov>.
- [66] PharmGKB – [Acedido a 26 de agosto de 2015] Disponível na Internet: <https://www.pharmgkb.org>.
- [67] JOHNSON, J. A. – **Pharmacogenetics in clinical practice: how far have we come and where are we going?** Pharmacogenomics. 14, 7 (2013) 835-843.
- [68] LI, J.; BLUTH, M. H.; FERREIRA-GONZALEZ, A. – **Pharmacogenomics and Personalized Medicine.** In: MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R., Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22ª Edição, Philadelphia: Saunders, 2011. ISBN: 1437709745, 1359-1382.
- [69] PFIZER – [Acedido a 2 de setembro de 2015]. Disponível na Internet: <https://www.pfizer.pt/Medicina-personalizada-223.aspx>

- [70] PERRY, T. E.; COLLARD, C. D. – **Drug Metabolism and Pharmacogenetics**. In: HEMMINGS, H.; EGAN, T., *Pharmacology and Physiology for Anesthesia: Foundations and Clinical Application*. Philadelphia: Saunders, Elsevier Inc., 2013. ISBN 9781437716795, 58-69.
- [71] MILLAR, H. – **The Changing Face of Clinical Trials**. *Genome*, 2014. [Acedido a 28 de agosto de 2015]. Disponível na Internet: http://genomemag.com/the-changing-face-of-clinical-trials/#.VfDbPKZ3_HI

10. Anexos

- Anexo I

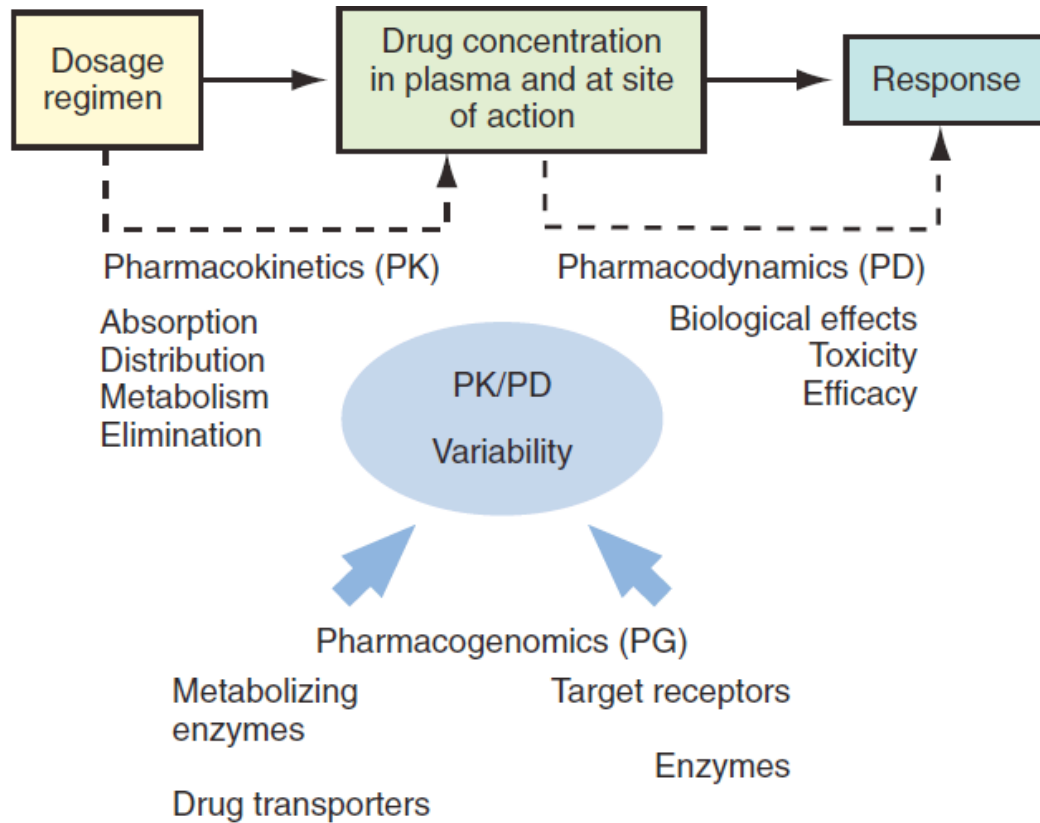


Figura I – Ilustração esquemática das interações entre a Farmacocinética (PK), Farmacodinâmica (PD), e a Farmacogenómica. A PK relaciona a dosagem com a concentração do fármaco no organismo em função do tempo, e a PD relaciona a concentração do fármaco com a magnitude dos efeitos pretendidos ou adversos produzidos. As variações genéticas envolvidas na biodisponibilidade do fármaco (como genes codificantes de enzimas metabolizadoras e de proteínas transportadoras do fármaco) e na sua ação (como recetores e enzimas) contribuem para a variabilidade interindividual PK/PD. (Adaptado de [68]).

• Anexo 2

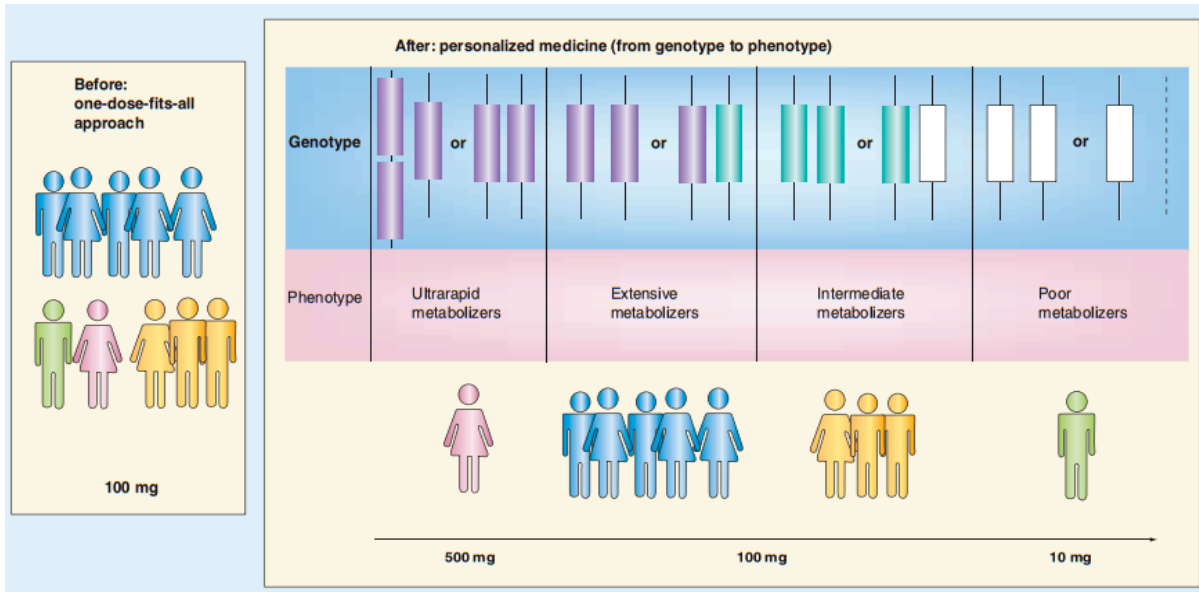


Figura 2 – Representação do paradigma “one drug fits all” vs Medicina de Precisão. Do lado esquerdo está representada uma situação em que todos os doentes recebem a mesma dose de um fármaco, independentemente do genótipo. O lado direito mostra a abordagem da Medicina de Precisão, através da qual o fármaco é selecionado em função da variabilidade genotípica e, conseqüentemente, fenotípica, das enzimas metabolizadoras. (Adaptado de [8]).

• Anexo 3

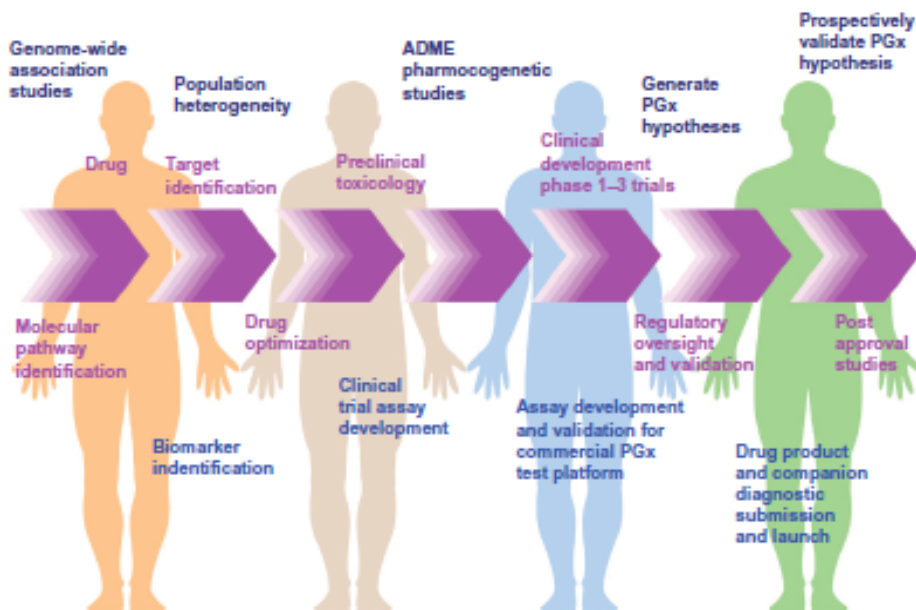


Figura 3 – Esquematisação das fases de I&D e Desenvolvimento de novos fármacos, as quais ocorrem numa linha de tempo bem definida. A Farmacogenómica é integrada neste processo nos intervalos assinalados. (Adaptado de [35]).

- Anexo 4

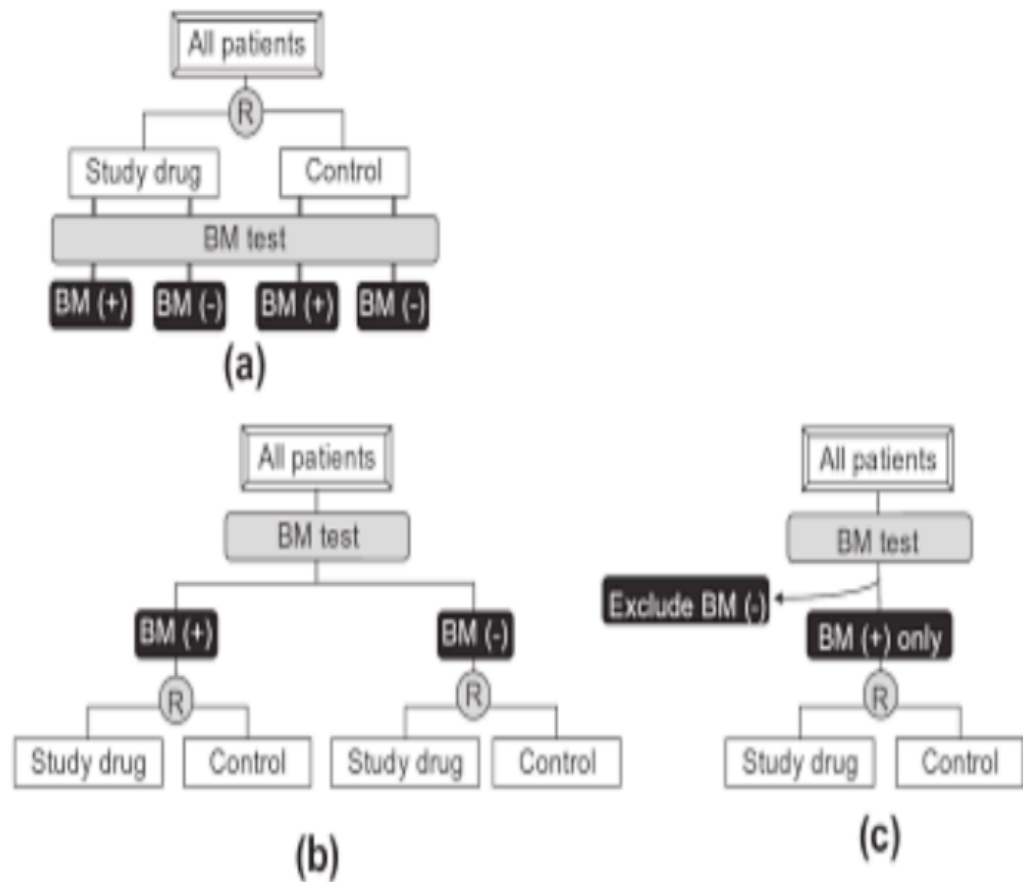


Figura 4 – Representação de *designs* de estudos utilizados em ensaios clínicos utilizando biomarcadores. **(a)** *Design* de Coorte com Biomarcador – A randomização é independente dos resultados farmacogenómicos. **(b)** *Design* Estratificado com Biomarcador – A randomização é feita em função dos resultados PGx. **(c)** *Design* Enriquecido com Biomarcador – Os doentes negativos para o biomarcador são excluídos. R: Randomização; BM (+): Subpopulação positiva para o biomarcador; BM (-): Subpopulação negativa para o biomarcador. (Adaptado de [56]).

• Anexo 5

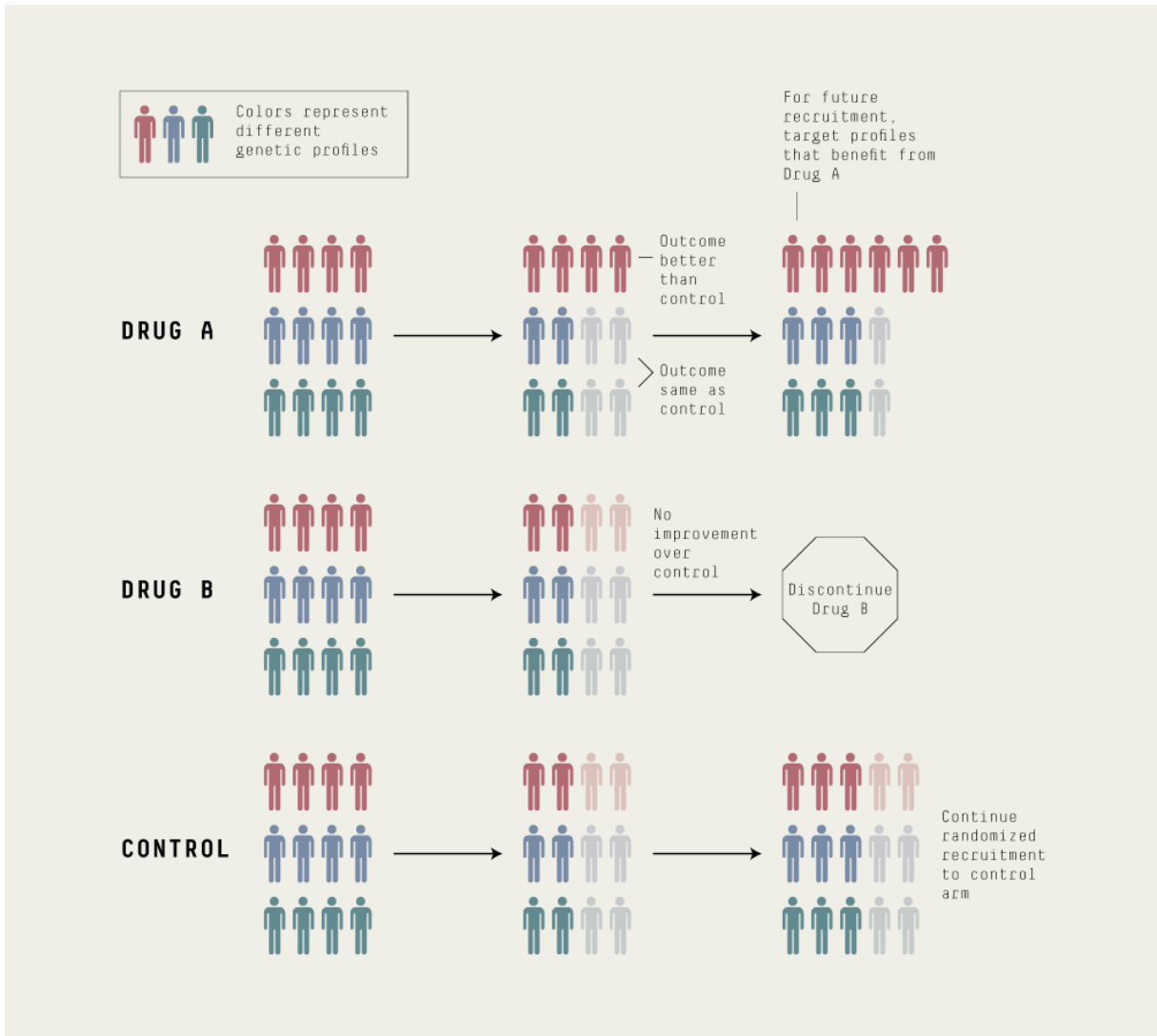


Figura 5 – Exemplo de um Ensaio Clínico com *Design* Adaptável. Como o nome indica, é possível modificar o curso do estudo com base na análise interina. Assim, neste caso, os doentes são genotipados e posteriormente randomizados dentro de cada subgrupo genético formado, entre o Fármaco A, Fármaco B e Controlo. Aquando da análise interina, os braços do tratamento constituídos pelos subgrupos genéticos para os quais se verifica que o *outcome* é melhor que o controlo são enriquecidos com o genótipo correspondente, como ocorre para o Fármaco A. No caso do Fármaco B, como nenhum subgrupo genético apresenta melhoria relativamente ao controlo o seu estudo é descontinuado. (Adaptado de [71]).

• Anexo 6

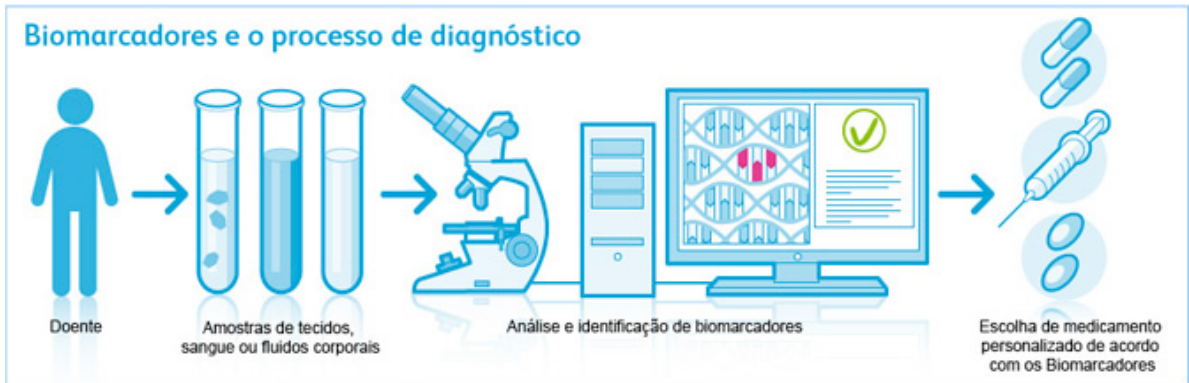


Figura 6 – A Medicina de Precisão fundamenta-se na identificação de Biomarcadores através da análise de amostras de tecido, sangue ou outros fluidos corporais de um dado doente, culminando na escolha do regime mais adequado e efetivo para o mesmo. [Adaptado de [69)].

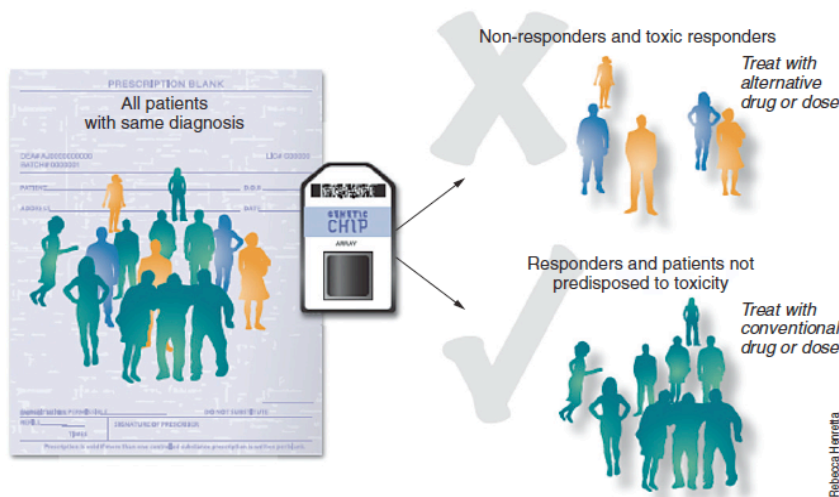


Figura 7 – Representação da aplicação da Medicina de Precisão através da utilização de um dispositivo de diagnóstico genético. A resposta preditiva dos indivíduos ao fármaco é assim identificada e a escolha terapêutica será decidida de acordo com a mesma. (Adaptado de [70]).