

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE
IMATINIBE E A RESPOSTA AO TRATAMENTO DE
LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA EM PACIENTES DE
MANAUS

MAÍRA ARAÚJO HENRIQUES

MANAUS

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

MAÍRA ARAÚJO HENRIQUES

ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE
IMATINIBE E A RESPOSTA AO TRATAMENTO DE
LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA EM PACIENTES DE
MANAUS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, área de avaliação da eficácia e segurança de insumos e produtos farmacêuticos e cosméticos.

Orientador: Prof. Dr. Igor Rafael dos Santos Magalhães

Co-orientador: Prof. Dr. José Pereira De Moura Neto

MANAUS

2020

MAÍRA ARAÚJO HENRIQUES

ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE IMATINIBE E
A RESPOSTA AO TRATAMENTO DE LEUCEMIA MIELOIDE
CRÔNICA EM PACIENTES DE MANAUS

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, área de avaliação da eficácia e segurança de insumos e produtos farmacêuticos e cosméticos.

Aprovado em 31 de janeiro de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Profº Drº. Igor Rafael dos Santos Magalhães, Presidente
Universidade Federal do Amazonas

Profº Drº. Sérgio Roberto Lopes Albuquerque, Membro
Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas

Profº Drº. Tanise Vendruscolo Dalmolin, Membro
Universidade Federal do Amazonas

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

H519a **Henriques, Máira Araújo**
Associação entre os níveis plasmáticos de imatinibe e a resposta
ao tratamento de leucemia mieloide crônica em pacientes de
Manaus / Máira Araújo Henriques . 2020
89 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Igor Rafael dos Santos Magalhães
Coorientador: José Pereira De Moura Neto
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Leucemia mieloide crônica . 2. Mesilato de imatinibe . 3.
Monitoramento de drogas terapêuticas. 4. Adesão ao medicamento.
I. Magalhães, Igor Rafael dos Santos. II. Universidade Federal do
Amazonas III. Título

Ao meu pai e minha mãe, exemplos em
minha vida. E quem esteve ao meu
lado com amor, incentivo e força para
realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente à Deus, por ter me dado capacidade e força;

Ao meu orientador, pelos ensinamentos constantes e dedicação à execução
do projeto;

Aos colaboradores do laboratório NEPK da UFAM que participaram do
projeto;

À família por sempre estar presente, mesmo nos momentos difíceis;

Aos amigos da UFAM, pelo apoio, paciência e extensa ajuda;

À Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas por
ter nos recebido de braços abertos;

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos;

À Universidade Federal do Amazonas e ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas pela grande oportunidade de conhecimento.

Agradeço.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABL – Gene Abelson Murine Leukemia

ABRALE – Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia

BCR – *Gene Breakpoint Cluster Region*

CCEB – ABEP – Critério de Classificação Econômica Brasil

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

EDTA – Ácido etileno de aminotetracético de sódio

FA – Fase Acelerada

FB – Fase Blástica

FC – Fase Crônica

FDA – *Food and Drug Administration*

HEMOAM – Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*

INCA – Instituto Nacional do Câncer

ITK – Inibidor da Tirosina Quinase

LALNET – *Latin American Leukemia Net*

LMC – Leucemia Mieloide Crônica

MI – Mesilato de Imatinibe

Ph – Cromossomo Philadelphia

RCC – Resposta Citogenética Completa

RCP – Resposta Citogenética Parcial

RCMe – Resposta Citogenética Menor

RCMi – Resposta Citogenética Mínima

RHC – Resposta Hematológica Completa

RMC – Resposta Molecular Completa

RMM – Resposta Molecular Maior

SNP – *Single nucleotide polymorphism*

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

WHO – *World Health Organization*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Gene híbrido BCR-ABL	22
Figura 2 – Exemplar de lâmina de paciente com LMC na fase crônica	24
Figura 3 – Representação do transporte e metabolismo do MI	29
Figura 4 – Fluxograma do plano de recrutamento de pacientes realizado neste estudo..	41

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 – Definição da resposta terapêutica na leucemia mieloide crônica (LMC)....	31
Tabela 1 – Estudos de correlação entre concentração plasmática e resposta terapêutica..	37
Tabela 2 – Grau de adesão e pontuação no MMAS-8.....	44
Tabela 3 – Características gerais, sóciodemográficas e de saúde dos pacientes avaliados neste estudo.....	50
Tabela 4 – Dados relacionados ao tratamento com mesilato de imatinibe	54
Tabela 5 – Dados hematológicos dos pacientes do estudo.....	57
Tabela 6 – Resposta hematológica, molecular e faixa terapêutica dos pacientes do estudo.....	59
Tabela 7 – Análise de regressão logística binária para o alcance de resposta molecular maior nos pacientes do estudo.....	62

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Curva bioanalítica para determinação da concentração plasmática do MI.	55
Gráfico 2 – Distribuição da concentração plasmática do mesilato de imatinibe nos grupos de adesão ao tratamento.....	56
Gráfico 3 – Distribuição da concentração plasmática de MI de acordo com o gênero...	57
Gráfico 4 – Distribuição da concentração plasmática de MI e ocorrência de neutrofilia nos pacientes do estudo.....	59
Gráfico 5 – Distribuição da concentração plasmática de MI e resposta hematológica completa nos pacientes do estudo.....	60
Gráfico 6 – Distribuição da concentração plasmática de MI e ocorrência de RMM.....	61
Gráfico 7 – Distribuição da concentração plasmática de MI nos genótipos de ABCG2.	64

RESUMO

A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal que afeta as células tronco hematopoiéticas, a qual é caracterizada pela presença do cromossomo Philadelphia, resultado de uma translocação recíproca e balanceada entre os braços 9 e 22 dos cromossomos ABL e BCR, respectivamente. O gene BCR-ABL tem ação sobre as proteínas tirosino quinases, impulsionando a proliferação celular da linhagem mieloide, mais especificamente a granulocítica. O mesilato de imatinibe (MI) é o fármaco de escolha para o tratamento desta doença. Entretanto, apesar da maioria dos resultados obtidos com a terapia serem excelentes, alguns pacientes ainda apresentam resposta terapêutica sub-ótima ou ainda desenvolvem algum tipo de resistência. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os níveis plasmáticos de MI em portadores de LMC atendidos em uma unidade de referência em Manaus e correlacioná-los às variáveis que possam interferir nestes níveis. Os dados de 52 pacientes foram obtidos através de um questionário padronizado contendo informações clínicas, sócio-demográficas, hábitos de vida e uso de outros medicamentos, bem como utilização do questionário *Morisky Medication Adherence Scale* para estimar adesão terapêutica. Foi realizada coleta sanguínea para mensurar a concentração plasmática do fármaco no paciente utilizando a técnica de HPLC-UV. Os estudos moleculares foram executados para identificar a presença de polimorfismo no transportador de membrana ABCG2, que pode influenciar a cinética do fármaco, diminuindo sua concentração intracelular. Dentre os resultados obtidos, a maioria dos pacientes foram do gênero masculino com média de idade de 52 anos. Após associar as respostas clínicas – hematológica e molecular – com a concentração plasmática obtida, houve correlação entre concentração plasmática e resposta molecular maior. Dessa forma, pacientes que possuem RMM, também possuem maiores concentrações plasmáticas de MI. Diante disto, concluiu-se que a monitorização terapêutica é ferramenta fundamental para respostas ótimas ao tratamento promovendo ajustes necessários e contribuindo para sobrevida do paciente.

Palavras chave: Leucemia Mieloide Crônica, Mesilato de Imatinibe, Monitoramento de Drogas Terapêuticas, Adesão ao Medicamento.

ABSTRACT

Chronic myeloid leukemia (CML) is a clonal myeloproliferative disease that affects hematopoietic stem cells, which is characterized by the presence of Philadelphia chromosome, resulting from a balanced reciprocal translocation between arms 9 and 22 of ABL and BCR chromosomes, respectively. BCR-ABL gene acts on protein tyrosine kinases, driving cell proliferation of myeloid lineage, more specifically the granulocyte. Imatinib mesylate (IM) is the drug of choice for the treatment of this disease. However, although most of the results obtained with the therapy are excellent, some patients still show sub-optimal therapeutic response or still develop some type of resistance. Therefore, the aim of this study was to assess IM plasma levels in CML patients attended at a reference unit in Manaus and correlate them with variables that may interfere with these levels. Data collection consisted of a standardized questionnaire containing clinical information, socio-demographic, life habits, and use of other medications, as well as the use of *Morisky Medication Adherence Scale* questionnaire to estimate therapeutic adherence. Additionally, blood collection was performed to measure plasma concentration of the drug in the patient using HPLC-UV method. Molecular studies were performed to identify the presence of polymorphism in ABCG2 membrane transporter, which can influence the kinetic of the drug, decreasing its intracellular concentration. Among the results obtained, most patients were male, with a mean age of 52 years. After associating the clinical responses – hematological and molecular – with the plasma concentration obtained, there was a correlation between plasma concentration and major molecular response. Thus, patients who have RMM also have higher plasma concentrations of IM. Finally, it was concluded that therapeutic monitoring is a fundamental tool for optimal responses to the treatment, promoting necessary adjustments and contributing to patient survival.

Keywords: Chronic Myeloid Leukemia, Imatinib Mesylate, Therapeutic Drug Monitoring, Medication Adherence.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	14
2. Revisão da literatura	19
2.1 Leucemias.....	19
2.2 Leucemia mieloide crônica.....	20
2.3 Diagnóstico e controle da doença.....	24
2.4 Tratamento da LMC e uso do Imatinibe.....	26
2.5 Monitorização terapêutica do MI	32
2.6 Fatores que podem influenciar nas concentrações plasmáticas do fármaco.....	34
3. Objetivos.....	38
3.1 Objetivo Geral	38
3.2 Objetivos Específicos	38
4. Metodologia.....	39
4.1 Tipo de Estudo.....	39
4.2 Local de Estudo	39
4.3 População de Estudo.....	39
4.4 Tamanho da Amostra.....	39
4.5 Critérios de Inclusão	39
4.6 Critérios de Exclusão.....	40
4.7 Plano de Recrutamento	40
4.10 Obtenção e Preparo das Amostras	45
4.11 Análises Moleculares.....	46
4.12 Determinação da Concentração Plasmática do MI.....	46
4.13 Análise das Amostras	46
4.14 Análise de parâmetros Hematológicos	47
4.15 Análise Estatística	47
4.16 Aspectos éticos	48
5. Resultados e discussão	49
5.1 Adesão à pesquisa.....	49
5.2 Características sócio-demográficas	49
5.3 Características de saúde.....	49
5.4 Características do tratamento.....	51
5.5 Concentrações plasmáticas de Imatinibe.....	55
5.6 Características laboratoriais.....	57
5.7 Eficácia terapêutica.....	59
5.8 Genotipagem de ABCG2.....	62
6. Conclusão	65
Referências	66

1. Introdução

As leucemias são doenças neoplásicas que afetam o sistema hematopoiético e causam alterações nos mecanismos de diferenciação e apoptose devido a uma proliferação desregulada de um clone celular. Neste contexto, a malignidade é caracterizada pela substituição das células sanguíneas normais (GABE; ALMEIDA; SIQUEIRA, 2009).

A leucemia mieloide crônica (LMC) consiste em uma doença mieloproliferativa crônica clonal das células precursoras (*stem cells*) e é caracterizada pela intensa proliferação de células mieloides. Os achados clínicos incluem leucocitose com desvio a esquerda, esplenomegalia e presença do cromossomo Filadélfia (Ph) ou t(9;22) (q34;q11), uma anormalidade citogenética adquirida (CHAUFFAILLE, 2009). Este cromossomo se origina pela translocação recíproca entre os pares 9 e 22 que resulta em um encurtamento dos braços longos de um dos cromossomos 22. A fusão destes cromossomos dá origem a uma proteína híbrida chamada BCR-ABL, com atividade aumentada de tirosino quinase (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008).

A incidência anual da LMC é cerca de 1,6 casos/100.000 habitantes/ano e representa cerca de 20% das leucemias do adulto. Acomete principalmente pacientes com idade média de 55 anos do sexo masculino e sua ocorrência em jovens com menos de 20 anos representa menos de 10% dos casos registrados, sendo mais agressiva que o normal (BOLLMANN; GIGLIO, 2011).

Estudos verificaram que há maior incidência de LMC em sobreviventes da bomba atômica em Hiroshima e Nagasaki durante a Segunda Guerra Mundial, em pacientes submetidos à radioterapia para tratamento de doenças oncológicas e em pessoas expostas ao benzeno. Apesar dessa relação causal entre radiação ionizante, exposição a substâncias

tóxicas como o benzeno e o aparecimento da LMC, a maioria dos casos parece ser esporádica, aparentemente sem fator predisponente (VIVONA, 2011).

Alguns pacientes são assintomáticos (cerca de 20 a 45%) no momento do diagnóstico, porém manifestações de hipercatabolismo que incluem febre, fadiga, fraqueza, dores de cabeça, irritabilidade, suor noturno e perda de peso podem ocorrer, bem como esplenomegalia (aumento do baço) e hepatomegalia (aumento do fígado), sendo este menos comum (BERGANTINI et al., 2005; BOLLMANN; GIGLIO, 2011).

A LMC é uma doença bi ou trifásica; a fase inicial, denominada fase crônica (FC) possui duração variável e apresenta progressão para a fase blástica (FB), sendo precedida ou não pela fase acelerada (FA). A fase crônica é caracterizada pelo excessivo número de células mieloides, assim como células eritróides e plaquetas no sangue periférico, além de intensa hiperplasia na medula óssea (DOBBIN; GADELHA, 2002). A fase acelerada é caracterizada pelo aumento de blastos na medula óssea e no sangue periférico, bem como leucocitose e basofilia, anemia e trombocitopenia. O paciente comumente torna-se resistente à terapia utilizada na fase crônica e apresenta progressão da hepato-esplenomegalia (BERGANTINI et al., 2005).

A fase blástica possui características hematológicas distintas, como o aumento de blastos leucêmicos (linfóides ou mieloides) no sangue periférico e ou na medula óssea (superior a 20%). Esta fase da doença apresenta um mau prognóstico, uma vez que o paciente pode evoluir para o óbito num curto espaço de tempo (cerca de seis meses). A fase crônica pode durar anos, porém a progressão para a fase blástica e acelerada pode estar associada à instabilidade genômica, uma vez que esta condição pode favorecer o aparecimento de outras anormalidades genéticas (BERGANTINI et al., 2005).

O diagnóstico é estabelecido pela relação entre achados clínicos, alterações hematológicas no sangue periférico e medula óssea e alterações citogenéticas. Inicialmente, dados hematológicos fornecem aumento significativo da linhagem mieloide (leucocitose e frequentemente trombocitose), que difere de um processo descrito como benigno. É o caso da reação leucemoide, que simula e pode ser confundida com leucemia, mas de fato é reacional a outra doença e as anormalidades hematológicas desaparecem quando é corrigida a condição subjacente (SOUZA et al., 2013).

Portanto, a combinação dos achados clínicos com a citogenética (presença do cromossomo filadelfia e/ou presença de um gene quimérico BCR-ABL) é de fundamental importância para determinar o diagnóstico da leucemia mieloide crônica. Achados moleculares também fazem parte do diagnóstico, detectados pela reação em cadeia da polimerase (PCR) (SOUZA et al., 2013).

As proteínas BCR-ABL quiméricas promovem a desregulação da atividade de tirosino quinases, portanto tornaram-se um alvo na terapêutica. Consequentemente, após a descoberta do rearranjo BCR-ABL por técnicas moleculares foram desenvolvidos novos fármacos inibidores desta ação, que permitem controlar a progressão da doença para fase acelerada ou blástica (ALMEIDA et al., 2009)

O tratamento inicialmente utilizado pelos pacientes com leucemia mieloide crônica, além do transplante de medula óssea, incluía irradiação corporal total ou esplênica, uso de derivados de arsênico (licor de Fowley), o bussulfano e a hidroxycarbamida. Porém estas abordagens terapêuticas apenas resultavam em controle hematológico, não atingindo o alvo genético da doença, por conseguinte não havia mudança na progressão da doença, somente uma tentativa de manter os níveis sanguíneos

da linhagem alterada. O primeiro agente com o qual se conseguiu uma remissão citogenética foi o interferon- α (ARANHA, 2008).

Em 2001, o mesilato de imatinibe (MI) foi introduzido como inibidor de tirosino quinase e foi aprovado para o tratamento de LMC baseado no alto nível de atividade nos estudos de fase 2. Os resultados iniciais do estudo randomizado internacional de fase 3 do Interferon e STI571 (IRIS) mostraram que o MI na dose de 400 mg uma vez ao dia era mais potente e possuía menos efeitos colaterais que o interferon alfa e citarabina em pacientes com LMC diagnosticada na fase crônica (HOCHHAUS et al., 2017).

A idiosincrasia específica de cada paciente ocasiona diferentes respostas ao tratamento com os inibidores da tirosino quinase, tanto no tempo para alcançar a remissão como no grau de diminuição da quantidade de transcritos. As diferenças podem ocorrer simplesmente pela heterogeneidade intrínseca da leucemia ou devido a comportamentos distintos frente a administração, distribuição, metabolismo e excreção de fármacos, que influenciam na concentração e por conseguinte, a ação do fármaco no organismo. Portanto, a avaliação da resposta ao tratamento deve ser constante (CHAUFFAILLE, 2009).

Ainda assim, há uma pequena parcela de pacientes que não respondem à terapia por intolerância ou resistência. Cerca de 15% dos casos apresentam alguma forma de resistência ao tratamento (PAGNANO, 2008). Diante destes casos não responsivos, faz-se necessário a utilização de medicamentos de segunda geração, como o dasatinibe e o nilotinibe, que também pertencem à classe dos inibidores de tirosino quinase, e estão disponíveis como alternativa terapêutica (ALMEIDA et al., 2009).

A resposta ao medicamento pode ser influenciada por diversos fatores. Estudos relatam que alguns pacientes têm predisposição a desenvolver reações adversas. Além

disso, fatores genéticos, idade, condição geral de saúde, função renal e hepática, álcool, tabagismo, dieta e fatores ambientais, influenciam na interação medicamentosa e níveis plasmáticos do fármaco utilizado. A farmacogenética estuda as influências genéticas sobre a resposta ao medicamento e é importante, pois detecta possíveis alterações que influenciam os níveis plasmáticos do fármaco e conseqüentemente sua ação (METZGER; SOUZA-COSTA; TANUS-SANTOS, 2006).

O estudo dos fatores que influenciam a concentração plasmática do fármaco é relevante para tentar prever de antemão a resposta ao tratamento, que neste caso é importante para o prognóstico da doença. Em paralelo, não só fatores fisiológicos podem influenciar na terapia, a adesão do paciente é importante. Esse termo se refere ao comportamento do paciente frente ao tratamento da sua patologia e vai além do simples seguimento da prescrição médica. Os aspectos referem-se ao sistema de saúde, fatores socioeconômicos e fatores relacionados propriamente ao tratamento, paciente e à própria doença (GUSMÃO; MION-JR, 2006).

Os problemas relacionados ao medicamento (PRMs) são inerentes à terapia, e identificá-los permite que estes sejam minimizados ou solucionados para favorecer a adesão ao tratamento. Os PRMs relacionados à quimioterapia do câncer podem acarretar conseqüências devido à alta toxicidade do fármaco. Neste sentido, o profissional farmacêutico pode atuar de maneira eficaz juntamente com a equipe médica buscando identificar esses PRMs e também é responsável pela segurança e efetividade da quimioterapia (TORRIANI, 2008). Com isso, identificar os fatores que influenciam na terapia do paciente é fundamental para um bom prognóstico, principalmente se tratando de quimioterapia, que influencia de maneira direta na sobrevida do paciente.

2. Revisão da literatura

2.1 Leucemia

O câncer segundo o Instituto Nacional do Câncer é um termo genérico que se refere a um conjunto de doenças que possuem em comum um crescimento desordenado de células, que são capazes de invadir órgãos e tecidos além de causar metástase em outros locais do corpo. A progressão tende a ser agressiva e incontrolável, ocasionando a formação de tumores por acúmulo de células cancerosas.

A classificação é realizada de acordo com o local em que ocorre a patologia. Os cânceres que se desenvolvem em tecidos conjuntivos são denominados sarcomas, os que afetam os tecidos epiteliais, carcinomas. Os linfomas são os cânceres que se desenvolvem no sistema linfático e os gliomas nas células da glia do sistema nervoso central. As leucemias correspondem aos cânceres do sistema hematopoiético, e sua classificação depende de marcadores celulares presentes na membrana e no citoplasma das células leucêmicas (LAGO; PETRONI, 2017).

Os cânceres em sua maioria são caracterizados pela formação de tumores sólidos, entretanto as leucemias não apresentam massa tumoral. A doença inicia na medula óssea, nas células tronco hematopoiéticas, que fisiologicamente dariam origem às células sanguíneas diferenciadas, porém há um acúmulo de células jovens anormais no tecido. A leucemia pode ser do tipo mieloide ou linfoide, de acordo com a linhagem comprometida, bem como possuir caráter crônico ou agudo (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008).

As leucemias crônicas por possuírem um intervalo de latência lento, permite que as células se diferenciem, e mesmo alteradas ainda possam desenvolver sua função, sendo raro o aparecimento na infância. Diferentemente, as leucemias agudas possuem progressão rápida e exacerbada, em que as células medulares e sanguíneas são substituídas por células imaturas (blastos), e impossibilita que estas desenvolvam suas

respectivas funções, afetando diretamente a capacidade de defesa do organismo (PEREIRA et al., 2018).

Estima-se que surgirão cerca de 5.940 novos casos em homens e 4.860 novos casos de leucemia em mulheres entre os anos de 2018 e 2019. Os dados obtidos fornecem um risco estimado de 5,76 casos novos a cada 100 mil habitantes homens e 4,56 novos casos para cada 100 mil mulheres. A leucemia entre homens é a quinta mais frequente na região norte (4,17/100 mil habitantes), e para mulheres é a sexta mais frequente na região norte (3,29/100 mil habitantes), fonte: INCA.

2.2 Leucemia mieloide crônica

A leucemia mieloide crônica foi descrita pela primeira vez em 1845, por John Hughes Bennet, e o termo leucemia origina-se do grego, que significa sangue branco (DE AZEVEDO et al., 2017). Trata-se de uma neoplasia clonal mieloproliferativa ocasionada pela translocação recíproca e balanceada entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22 - t(9;22) (q34; q11) que dá origem ao cromossomo Philadelphia (Ph), um cromossomo menor do que seu homólogo e tido como cariótipo marcador. O rearranjo cromossômico origina o gene de fusão BCR-ABL consistindo das sequências 5' do gene BCR presentes no cromossomo 22 unidos a porção 3' do proto-oncogene c-ABL, localizado no cromossomo 9, e por fim este produz uma tirosino quinase constitutivamente ativa (DA SILVA, 2008).

O híbrido BCR-ABL atua promovendo a perda de adesão celular devido a fosforilação de substratos específicos que impedem o funcionamento do citoesqueleto; causa um desequilíbrio no ciclo celular resultante do aumento na atividade quinásica da célula; resistência à apoptose via inibição da atividade da caspase 3; e interação com a

via bioquímica RAS cuja proteína é um importante transdutor de sinais nas vias de sinalização intracelular (SANTOS; FERREIRA, 2006).

A desregulação da proteína tirosino quinase, cuja atividade consiste em fosforilar substratos proteicos e atuar no crescimento celular, causa a proliferação descontrolada de células mieloides (principalmente granulócitos) diferenciadas, levando a uma alteração hematológica e consequente esplenomegalia (LUSKIN; DEANGELO, 2018). A proteína alterada é responsável pela desregulação da divisão celular e avanço da neoplasia (GODOY, 2016).

A translocação resultante codifica proteínas que diferem de tamanho, em função do local de clivagem do gene BCR. Os tamanhos variam entre 190, 210 e 230 KD. A proteína de 230 KD é responsável pela maioria das anormalidades fenotípicas na fase crônica (MORALES et al., 2010).

As proteínas de tamanhos diferentes são originadas pelos distintos pontos de quebra dos genes envolvidos na translocação 9;22. Como resultado, tem-se a formação de diferentes transcritos para o gene BCR: maior (M-bcr), menor (m-bcr) e μ -bcr. Os diferentes pontos de quebra são expressos pela nomenclatura que consiste em um par alfanumérico. O primeiro par refere-se ao exon do gene BCR que se funde ao segundo exon do ABL. O M-bcr possui os exons da região b1 a b5; os exons da m-bcr de e1, e2, e1' e e2' e os exons do μ -bcr de e19 e e20. Na LMC o gene híbrido BCR-ABL é resultado da junção b3a2 ou b2a2 que codifica a proteína de fusão de 210 KDa (p210). Alguns pacientes possuem os transcritos e1a2 (p190), comumente encontrada em crianças com Leucemia Linfóide Aguda (LLA) e em alguns casos em adultos. Os transcritos p210 podem ser encontrados também na Leucemia Mieloide Aguda (LMA) Filadélfia

positivo. A junção e19 e e20 raramente ocorre na LMC e origina a proteína p230 (CARVALHO, 2011).

A característica molecular apresentada por cada paciente ocasiona manifestações clínicas distintas. O paciente que possui o BCR-ABL p210 (mais comumente encontrada) apresenta o quadro clássico, entretanto, os pacientes que apresentam o BCR-ABL p190 possuem um maior número de monócitos. Ainda, os pacientes que possuem a alteração p230 possuem rara variante neutrofílica (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008).

O cromossomo Filadélfia também é encontrado em outras leucemias, como por exemplo a leucemia linfoblástica aguda, 5% em pacientes infantis de 25% em adultos. A translocação de material genético entre os genes ABL (*Abelson Murine Leukemia*) no cromossomo 9 e o gene BCR (*Breakpoint Cluster Region*) no cromossomo 22, forma o gene quimérico BCR-ABL, que na LMC é encontrado em todas linhagens celulares hematopoiéticas, porém em menor frequência nas células B e T (BARBOZA et al., 2000; SINGH et al., 2009).

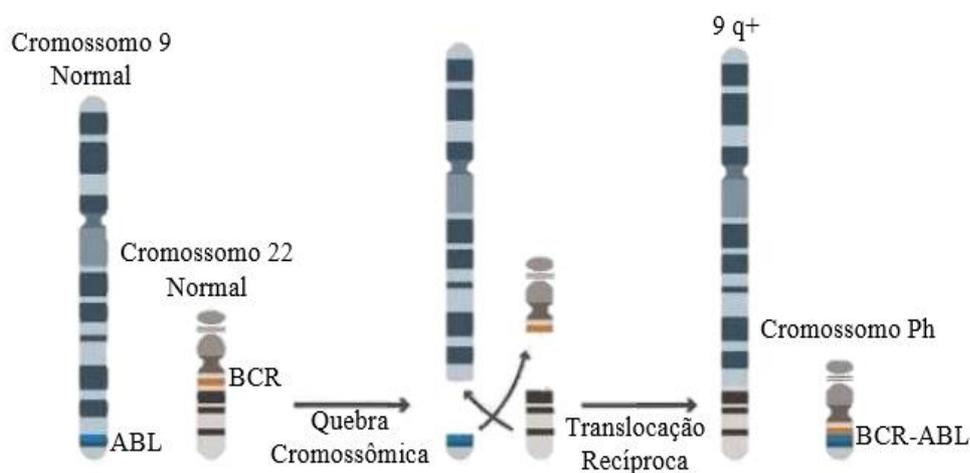


Figura 1 – Gene Híbrido BCR-ABL. Fonte: BARBOSA, 2015.

O cromossomo Filadélfia (presente em cerca de 95% dos casos) foi descrito nos pacientes com LMC pela primeira vez em 1960 e o gene híbrido BCR-ABL em 1984.

Estima-se que em 2016 o número de óbitos foi de 10.070 pessoas, sendo 5.540 homens e 4.530 mulheres no Brasil (DE AZEVEDO et al., 2017). Este número acompanha as pesquisas que indicam a ocorrência principalmente em homens na idade adulta, na faixa de 50 a 55 anos, não sendo identificado até os dias de hoje a causa, porém sabe-se que a frequência entre os expostos a radiação, como no caso dos sobreviventes aos ataques à bomba durante a Segunda Guerra Mundial e indivíduos expostos ao benzeno é significativa (BOLLMANN; GIGLIO, 2011).

Alguns pacientes são assintomáticos (cerca de 20 a 45%) no momento do diagnóstico, porém manifestações de hipercatabolismo que incluem febre, fadiga, fraqueza, dores de cabeça, irritabilidade, suor noturno e perda de peso podem ocorrer, bem como esplenomegalia (aumento do baço) e hepatomegalia (aumento do fígado), sendo este menos comum (BERGANTINI et al., 2005; BOLLMANN; GIGLIO, 2011).

A doença possui três fases distintas: Fase Crônica (FC), Fase Acelerada (FA) e Fase Blástica (FB). A fase crônica é caracterizada pela proliferação clonal intensa da linhagem granulocítica, mantendo sua capacidade de diferenciação, portanto, a doença pode ser controlada nesta fase de maneira efetiva. Os achados hematológicos incluem leucocitose com desvio a esquerda, podendo ser encontradas células imaturas como mieloblasto, promielocito, mielocito e metamielócito; basofilia e eosinofilia e discreta anemia. A fosfatase alcalina intra leucocitária encontra-se abaixo do normal em 90% dos pacientes na fase crônica, tornando-se elevada na fase acelerada e crise blástica. Achados clínicos incluem esplenomegalia e hepatomegalia. O não tratamento durante esta fase favorece a progressão para fase acelerada e posteriormente para fase blástica. Mesmo com a ausência de sintomas, a transição da FC para FA é subclínica, portanto a monitorização laboratorial do paciente é necessária para verificar qualquer indício de avanço da LMC (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008).

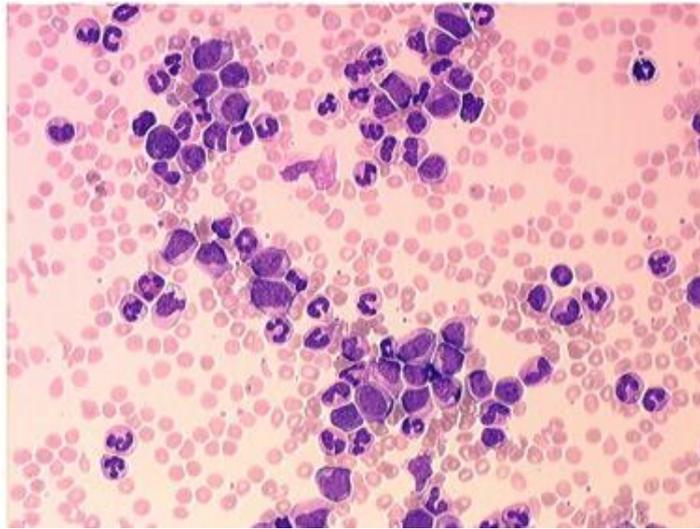


Figura 2 – Exemplo de lâmina de paciente com LMC na fase crônica. Nesta figura, é possível observar-se neutrofilia, basofilia e desvio à esquerda com frequente mielócitos e metamielócitos. Fonte: (HANLON; COPLAND, 2017)

A fase acelerada pode instalar-se após período variável, sendo caracterizada pelo aumento de blastos na medula óssea e sangue periférico, bem como leucocitose e basofilia, anemia e trombocitopenia. A partir desta fase, o paciente tende a ser não responsivo à terapia convencional utilizada na fase anterior e pode haver progressão da hepato-esplenomegalia. Por fim, a fase blástica ou crise blástica é definida pela contagem superior a 20% de blastos leucêmicos (linfóides ou mielóides) no sangue periférico e ou medula óssea. A fase blástica possui um mau prognóstico, podendo evoluir para o óbito em poucos meses (BERGANTINI et al., 2005). Nas fases avançadas, FA e FB, há uma redução da maturação celular, predominando o desvio à esquerda escalonado.

2.3 Diagnóstico e controle da doença

Os critérios para o diagnóstico incluem contagem sanguínea, que apresenta leucocitose ($>25.000/\mu\text{L}$), podendo haver também trombocitose; contagem diferencial de granulócitos imaturos; detecção do cromossomo Filadélfia resultante da translocação, e/ou rearranjo BCR-ABL no sangue periférico ou medula óssea. O cromossomo

Filadelfia pode não ser detectado, por isso a confirmação é realizada através de estudo citogenético e /ou teste molecular (*Polymerase Chain Reaction* – PCR ou *Fluorescence In Situ Hybridization* – FISH), com o achado do gene híbrido BCR-ABL (QUINTÁS-CARDAMA; CORTES, 2006).

O mielograma é realizado para confirmação do diagnóstico e consiste em uma punção da medula óssea, sendo esta realizada na crista íliaca ou no esterno. Neste exame, são investigados marcadores celulares presentes na membrana e no citoplasma de células leucêmicas, distinguindo o subtipo de leucemia (LAGO; PETRONI, 2017).

O diagnóstico da LMC pode ser realizado em cada uma das três fases, porém comumente é realizado na fase crônica. Os critérios de diagnóstico estabelecidos pela OMS incluem em cada fase, respectivamente (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008):

- Fase crônica

Valores inferiores a 10% de blastos no sangue periférico ou medula óssea; menos de 20% de basófilos no sangue periférico e contagem de plaquetas maior ou igual a $100 \times 10^9/L$. todos esses critérios devem estar presentes caracterizando a fase crônica.

- Fase acelerada

Presença de até 20% de blastos no sangue periférico ou medula óssea e valores iguais ou superiores a 20% de basófilos no sangue periférico. As plaquetas possuem contagem superior a $1000 \times 10^9/L$ não responsivo à terapia ou menor que $100 \times 10^9/L$ não relacionado ao tratamento. Possui esplenomegalia, leucocitose sem resposta à terapia, citogenética em evolução clonal, proliferação de megacariócitos e fibrose. Para determinar o diagnóstico desta fase da LMC é necessário pelo menos atender a um destes critérios.

- Fase blástica

A fase blástica é caracterizada por no mínimo 20% de blastos no sangue periférico ou medula óssea. Após realização de biópsia da medula são encontrados grandes focos ou aglomerados de blastos e proliferação de blastos extra medular (exceto baço). A fase blástica é determinada pela presença de um ou mais dos critérios citados.

O controle da LMC é realizado através da realização do cariótipo até o desaparecimento do cromossomo Ph, além de testes moleculares quantitativos de BCR-ABL. O acompanhamento do cariótipo deve ser realizado anualmente, até em casos em que este já possua resultado negativo, no sentido de que se houver evolução clonal, esta seja detectada o mais rápido possível. A detecção de evoluções clonais pode indicar a iminência de uma crise blástica (HAMERSCHLAK, 2008).

2.4 Tratamento da LMC e uso do Imatinibe

As terapias utilizadas para o tratamento da LMC incluíam comumente quimioterapia com hidroxycarbamida, interferon-alfa (IFN- α), bissulfano ou citarabina, infusão linfocitária (DOBBIN; GADELHA, 2002). Entretanto, nenhum destes medicamentos possuía ação sobre o cromossomo Philadelphia, impossibilitando assim o curso natural da doença (BOLLMANN; GIGLIO, 2011).

A hidroxiureia ainda é utilizada em um curto espaço de tempo no manejo da LMC, até que o diagnóstico seja confirmado, sendo substituída pelo Mesilato de Imatinibe (MI). O interferon-alfa é o medicamento de escolha na terapia de mulheres grávidas, uma vez que o MI não é indicado para uso durante a gravidez (RÊGO, 2014).

O transplante alogênico de células tronco hematopoiéticas começou a ser realizado em 1980 sendo reconhecido como a primeira alternativa curativa da LMC e os

pacientes que apresentavam recidiva eram tratados com infusão de linfócitos do doador. A partir de 1990, o transplante de medula óssea torna-se o tratamento de escolha para pacientes leucêmicos com menos de 50 anos. Os que não eram elegíveis eram tratados com IFN associado ou não à citarabina. A descoberta da proteína BCR-ABL em 1986 possibilitou uma fase de estudos com desenvolvimento de novas drogas, com alvo molecular estabelecido, tornando-se a primeira doença a ser referenciada como possuindo uma “terapia-alvo” (BOLLMANN; GIGLIO, 2011).

A descoberta do mecanismo de ação da tirosino quinase alterada propiciou o surgimento de novos alvos terapêuticos que permitem controlar a progressão da doença. A proteína tirosino quinase fisiologicamente se liga com o trifosfato de adenosina (ATP) e transfere fosfato para resíduos de tirosina em proteínas específicas. Na LMC, a proteína quinase é ativada pelo oncogene BCR-ABL e realiza sua função, porém de modo anormal, portanto o bloqueio dessa ligação com o ATP é fundamental para a interrupção das etapas subsequentes (DE AZEVEDO et al., 2017)

A descoberta dos inibidores da tirosino quinase (ITK) revolucionou o tratamento da LMC, e estes tornaram-se referência na terapia. O MI foi demonstrado por Druker e colaboradores em 2001 como primeiro inibidor seletivo de tirosino quinase constitutivamente ativo, tornando-se um medicamento extremamente bem tolerado e efetivo na LMC. Estudos subsequentes confirmaram a melhoria da qualidade de vida dos pacientes em comparação aos tratamentos utilizados anteriormente (LUSKIN; DEANGELO, 2018). Além do MI, posteriormente surgiram os ITKs de segunda geração, sendo estes – nilotinibe, dasatinibe e bosutinibe, farmacologicamente mais potente e utilizados em casos de resistência (ALMEIDA et al., 2009).

A indicação do tratamento com o imatinibe é apenas para adultos, e este é reconhecido pelos órgãos internacionais como FDA e *The European Agency for the Evaluation of Medicine Products* (EMA). Pacientes menores de 18 anos não devem fazer uso do medicamento, segundo a Comissão Nacional de Ética e Pesquisa do Conselho Nacional de Saúde. O uso do mesilado de imatinibe para o tratamento da LMC Philadelphia positivo foi aprovado pelo FDA em 2006 (TORRIANI, 2008).

O MI é o principal fármaco de escolha para o tratamento da LMC. É administrado por via oral em forma de comprimido, geralmente na dose de 400 mg diária e, em estágios avançados, de até 600 mg. O agente é rapidamente absorvido pelo intestino e a concentração plasmática atinge o valor máximo de 0,19mg/dL em um intervalo de duas a quatro horas e a meia vida é de aproximadamente dezoito horas. Cerca de 68% do fármaco é excretado nas fezes e 13% na urina (TORRIANI, 2008).

O metabolismo do fármaco é realizado pelo citocromo P450, mais amplamente pela CYP3A4 e CYP3A5, bem como apresenta alta ligação proteica, principalmente com a albumina (JOSEPHS et al., 2013; KASSOGUE et al., 2014; RICO et al., 2013). Dentre os metabólitos ativos o principal encontrado é o N-desmetilimatinibe (10 a 15% do imatinibe administrado). Estudos sugerem a investigação da distribuição celular deste metabólito e interação com transportadores da família ABC (MLEJNEK et al., 2011).

Após administração oral, o MI é absorvido e interage com a glicoproteína P (P-gp) na membrana das células epiteliais do intestino, sendo transportado para o lúmen intestinal. Ao chegar no fígado o fármaco é transportado para os hepatócitos pelo transportador de cátions orgânicos 1 (OCT1), onde pode ser metabolizado em N-desmetilimatinibe pelo citocromo hepático P450 (CYP) 3A4. Uma porção do MI e N-desmetilimatinibe é então glucuronizado em O ou N-glucuronídeos por UDP-

glucuronosiltransferases. O transporte dos hepatócitos para a bile ocorre através da proteína de resistência ao câncer de mama (BCRP), que está localizada na membrana apical do hepatócito. Os glucuronídeos de MI e N-desmetilimatinibe são excretados na bile e podem ser recirculados e reconvertidos na circulação enterohepática ao MI e ao N-desmetilimatinibe pelas glicuronidases bacterianas do cólon. A biodisponibilidade oral do MI é de 98,3% (TAKAHASHI; MIURA, 2011). A via é demonstrada na Figura 3.

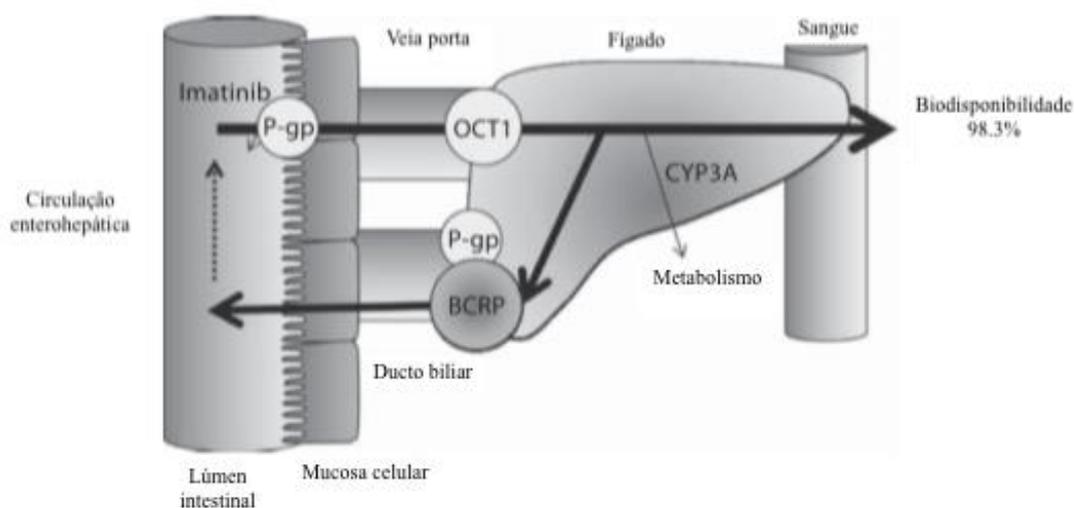


Figura 3 – Representação do transporte e metabolismo do MI. Fonte: (TAKAHASHI; MIURA, 2011).

Os medicamentos utilizados em associação que possuam perfil indutor ou inibidor enzimático podem modificar os níveis plasmáticos do fármaco, interferindo na ação do mesmo. Fármacos que são indutores enzimáticos como a dexametasona, carbamazepina, fenitoína e fenobarbital diminuem o nível plasmático do MI, e os inibidores enzimáticos, aumentam a concentração da substância no plasma. Dentre os inibidores estão a eritromicina, azitromicina, cetoconazol, amiodarona e fluoxetina. A concentração plasmática do MI deve ser estabelecida durante a terapia para fornecer dados importantes ao tratamento, como níveis abaixo da concentração mínima efetiva, que ocasionariam uma falha na resposta ou níveis acima da concentração máxima

tolerada, com toxicidade prejudicial ao paciente. Portanto, o monitoramento do fármaco é imprescindível durante o tratamento para identificar fatores que possam influenciar sua ação, verificando se há interação medicamentosa ou até mesmo não adesão à terapia, que é refletido na concentração plasmática do medicamento (PAGNANO, 2008).

Segundo Aquino e colaboradores (2009), o fármaco é um inibidor específico e potente de todas as quinases relacionadas ao ABL. O agente compete pelos sítios de ligação da enzima BCR- ABL tirosino quinase com o ATP, inibindo a fosforilação da tirosina das proteínas envolvidas na transdução do sinal BCR-ABL. Além da alta especificidade para o BCR-ABL, o imatinibe também possui ação no receptor do fator de crescimento plaquetário e o receptor C-Kit tirosina-quinase, responsável pela proliferação de tumores do estroma gastrointestinal (GIST). A substância causa redução da proliferação tumoral e aumento da apoptose.

O tratamento com o grupo terapêutico vem progressivamente substituindo o transplante de medula óssea e este atualmente não é mais a primeira escolha no manejo clínico da neoplasia. O alotransplante somente é indicado para os casos em que o tratamento é insatisfatório frente aos ITK, ou em casos em que ocorrem resistência (ALMEIDA et al., 2009).

A resistência ao tratamento pode estar associada à novas anormalidades citogenéticas, superexpressão do BCR-ABL, evolução clonal e mutações do ABL (HAMERSCHLAK, 2008). Pode ser do tipo primária ou secundária. Na primária, o paciente não apresenta resposta desde o início do tratamento, enquanto na resistência secundária, o paciente inicialmente apresenta resposta, porém é perdida ao longo da evolução. Os mecanismos de resistência podem ser dependentes ou não do BCR-ABL (BOLLMANN; GIGLIO, 2011; SOUZA et al., 2013). Os mecanismos de resistência ao

tratamento com MI independentes do receptor BCR-ABL podem ser decorrentes de processos farmacocinéticos, como falhas no mecanismo de absorção, vias de metabolismo, interação com outros fármacos e alterações nas concentrações plasmáticas do fármaco no sítio de ação (MORALES et al., 2010).

De acordo com Baccarani e colaboradores (2009), a resposta terapêutica pode ser de três tipos: Resposta Hematológica, Citogenética e Molecular conforme o quadro 1.

Resposta Hematológica	Resposta Citogenética	Resposta Molecular
Completa (RHC): Leucócitos < 10x10 ⁹ /L, basófilos < 5%, plaquetas <450x10 ⁹ /L, ausência de mieloblastos, baço não palpável.	Completa (RCC): Ph+ 0% Parcial (RCP): Ph+ 1%-35% Menor (RCMe): Ph+ 36%-65% Mínima (RCMi): Ph+ 66%-95% Nenhuma: Ph+ > 95%	Completa (RMC): transcritos BCR-ABL são indetectáveis. Maior (RMM): razão BCR-ABL ≤ 0,1%.

Quadro 1 – Definição da resposta terapêutica na leucemia mieloide crônica (LMC).

A variação da resposta do paciente ao tratamento, tanto no tempo para alcançar a remissão bem como a redução da quantidade de transcritos, faz necessária a monitorização destas condições. Fatores correspondentes ao próprio paciente,

relacionados à farmacocinética ou até mesmo inerentes à leucemia, podem interferir na ação do fármaco (CHAUFFAILLE, 2008).

2.5 Monitorização terapêutica do MI

O termo monitorização terapêutica refere-se a uma ferramenta disponível na medicina utilizada para otimizar o tratamento do paciente. Consiste em um processo que propõe o ajuste de dose de um medicamento baseado nas informações de concentrações plasmáticas no estado de equilíbrio, visando sempre a melhor resposta terapêutica e menor incidência de efeitos adversos. Assim sendo, deve ser empregado adicionalmente à observação clínica (FERNÁNDEZ et al., 2009; STORPITIS et al., 2011).

A monitorização após início do tratamento com MI deve ser realizada através de análises de hemograma, citogenéticas e moleculares com implicações prognósticas (BOLLMANN; GIGLIO, 2011). A *European LeukemiaNet* recomenda avaliação molecular, por PCR, a cada três meses, até atingir a RMM. Já a resposta citogenética, consiste na análise do cariótipo nos meses 3, 6 e 12 após início do tratamento até que a RCC seja alcançada (BACCARANI et al., 2013).

A falha no tratamento medicamentoso pode ser também ocasionada pela não adesão terapêutica, uma vez que a adesão ao tratamento é fundamental para o gerenciamento de uma doença crônica. Segundo a *World Health Organization* (WHO, 2003) adesão ao tratamento consiste em “a medida com que o comportamento de uma pessoa – tomar sua medicação, seguir dieta e/ou mudar estilo de vida – corresponde às recomendações de um profissional de saúde”. Apesar da importância salientada pelos profissionais de saúde no cumprimento de orientações relacionadas à terapia, os pacientes em muitos casos as desconsideram. A baixa adesão ao tratamento de doenças crônicas consiste em um problema de saúde mundial e a possui a expressiva taxa de 50% de não

adesão em tratamentos de longo prazo em países desenvolvidos. Em países em desenvolvimento estas taxas são ainda maiores.

Alguns fatores podem influenciar negativamente na adesão ao tratamento, dentre eles os relacionados ao paciente (sexo, idade, etnia, estado civil, escolaridade e nível sócio econômico); à doença (cronicidade, ausência de sintomas e consequências tardias); às crenças de saúde, hábitos de vida e culturais (percepção da seriedade do problema, desconhecimento, experiência com a doença no contexto familiar e auto estima); ao tratamento no que tange a qualidade de vida do paciente (custo, efeitos indesejáveis, esquemas terapêuticos complexos) ou até mesmo fatores relacionados à instituição de saúde em que esta terapia é realizada ou orientada, como filas de espera, entrega do medicamento e acesso ao serviço de saúde. Portanto, identificar estes obstáculos podem influenciar de maneira direta na adesão do paciente ao tratamento e na resposta clínica da doença (GUSMÃO; MION-JR, 2006).

Segundo Noens e colaboradores (2009), de um total de 202 pacientes, apenas 14,2% eram perfeitamente aderentes ao tratamento com MI. Larson e colaboradores (2008) sugerem que uma adequada concentração plasmática de MI é importante para uma resposta clínica eficiente. Estudos realizados com 60 pacientes com LMC em uso de MI no INCA em 2011, mostrou que 33% dos pacientes não tinham adesão ao tratamento com MI (PEDROSO et al., 2011).

Visando a otimização da terapia, a monitorização terapêutica é uma nova estratégia eficiente para obtenção de melhor e maior resposta clínica ao tratamento. As concentrações plasmáticas do fármaco detectadas no vale (intervalo entre duas dosagens) devem estar acima de 1000 ng/ml para apresentarem uma resposta terapêutica ótima

(RCC e RMM). Em vista disso, a monitorização do MI é de extrema importância para pacientes que não apresentam resposta clínica efetiva (MARTINS et al., 2011).

A investigação quanto a presença de polimorfismos adicionais que possam favorecer o aparecimento de cânceres ou até mesmo em enzimas ou transportadores que possam afetar as concentrações plasmáticas de antineoplásicos são informações importantes que podem ser incluídas na monitorização dos fármacos utilizados nestes tratamentos. O perfil polimórfico do CYP3A4 e a possibilidade de interações medicamentosas favorecendo a indução ou inibição destas enzimas faz com que a monitorização do MI seja necessária e com resultados positivos para o tratamento e sobrevivência do paciente, uma vez que a resistência ao tratamento pode estar associada também a alterações farmacocinéticas (AJIMURA, 2010).

2.6 Fatores que podem influenciar nas concentrações plasmáticas do fármaco

A resistência ao MI pode estar correlacionada principalmente a polimorfismos genéticos nas enzimas do citocromo P450 (CYP) e nos transportadores envolvidos na farmacocinética. A concentração plasmática pode ser alterada pela variabilidade genética dos pacientes com LMC em tratamento com MI (SEONG et al., 2013).

Alguns mecanismos de resistência foram propostos além dos já elucidados como mutações no domínio BCR-ABL e superexpressão da oncoproteína BCR-ABL, sendo estes relacionados à resistência secundária ou adquirida. A resistência intrínseca do fármaco pode estar relacionada ao efluxo rápido do MI de células hematopoiéticas, diminuindo sua ação (VILLUENDAS et al., 2006).

A resposta terapêutica hematológica, citogenética ou molecular pode ser influenciada por diversos fatores conferindo uma resposta sub-ótima. Polimorfismos genéticos acarretam aos indivíduos respostas distintas à abordagem terapêutica utilizada.

Essas variações interindividuais interferem diretamente no prognóstico do paciente, e dentre estas o polimorfismo no transportador BCRP codificado pelo gene ABCG2 parece ser o mais influente na exposição ao MI, pois este atua como substrato para BCRP (SEONG et al., 2013; TAKAHASHI; MIURA, 2011).

O transportador BCRP (*ABCG2*), ou proteína de resistência ao câncer de mama, pertence a superfamília ABC (*ATP binding cassette*) de transportadores de membrana. O BCRP e a glicoproteína-p (*ABCB1*) constituem os principais transportadores da superfamília ABC e são responsáveis pelo efluxo de grande quantidade de moléculas, cujo transporte é realizado através de sua atividade ATPase. Estas proteínas estão relacionadas a mecanismos de resistência a múltiplos fármacos, principalmente aos fármacos antineoplásicos. O BCRP é mediador de resistência à fármacos no tratamento de vários cânceres, como o de mama, cólon, estômago, pulmão, ovário e melanomas. Estudos demonstraram que variações na expressão do BCRP alteram os efeitos antitumorais do gefitinibe, um inibidor da tirosino quinase EGFR utilizado no tratamento de câncer de pulmão (GOMES, 2015).

Sabe-se que estes transportadores influenciam nos processos farmacocinéticos de alguns fármacos, e a identificação de polimorfismos nestes transportadores permitiu a compreensão dos mecanismos de algumas doenças, de respostas farmacológicas variadas, além de efeitos adversos antes não esclarecidos. A atividade da proteína transportadora pode ser afetada por polimorfismos genéticos, interações medicamentosas mediadas por transportadores e interação alimento-transportador, que podem alterar diversos parâmetros farmacocinéticos como o volume de distribuição, meia-vida, área sob a curva e depuração (MARTINS et al., 2011).

Além disso, não somente as mutações nos transportadores podem alterar a concentração plasmática dos fármacos. A variabilidade genética nas enzimas responsáveis pelo metabolismo de fármacos (citocromo P450) desempenham papel fundamental na respectiva resposta do paciente ao medicamento utilizado. Recentemente, demonstrou-se a influencia do polimorfismo na CYP2B6 em respostas clínicas e citogenéticas em pacientes com leucemia mieloide crônica resultado da incapacidade funcional da enzima, que altera a biotransformação de xenobióticos (KASSOGUE et al., 2014).

A desmetilação hepática do MI gera o principal metabólito menos potente denominado N-desmetil imatinibe (NMDI). A inativação do fármaco e biotransformação a NMDI é um processo importante e possivelmente está relacionado a variação da relação dose-concentração plasmática entre os pacientes. Estudos *in vitro* demonstraram que o MI é metabolizado pelo CYP3A4 e CYP2C8 com provável mecanismo baseado na inibição da CYP3A4, sendo a CYP2C8 principal enzima envolvida na N-desmetilação do fármaco. Portanto, a investigação de polimorfismos nas enzimas do citocromo consiste em um forte indício para predizer diferentes prognósticos na LMC (BARRATT et al., 2017).

Além das particularidades genéticas do paciente, fatores relacionados às propriedades farmacocinéticas (absorção, distribuição, metabolismo e excreção), idade, gênero, função hepática e renal, peso corporal, interações medicamentosas e adesão ao tratamento podem estar relacionadas aos níveis plasmáticos do MI e resistência no respectivo paciente (KOREN-MICHOWITZ et al., 2012; LANKHEET et al., 2014; MIURA, 2015).

Estudos correlacionam a concentração plasmática do IMI mensuradas no vale com a resposta terapêutica dos pacientes, alguns destes são demonstrados na Tabela 1 abaixo:

Referências	Pacientes (n)	Imatinibe C ₀ ng/ml	Correlação com Resposta Clínica
Picard et al. (2007)	50	1058 ± 557	Sim (RCC e RMM)
Larson et al. (2008)	351	979 ± 530	Sim (RCC)
Singh et al. (2009)	400	700 ± 2340	Sim (resposta clínica)
Koren-Michowitz et al. (2012)	191	1070 ± 686	Sim (RCC)
Faber et al. (2012)	131	960 ± 314	Não (RCC e RMM)

Tabela 1 – Estudos de correlação entre concentração plasmática e resposta terapêutica

A monitorização terapêutica na quimioterapia pode fornecer dados importantes para o tratamento do paciente. As concentrações plasmáticas devem ser adequadas para uma resposta ótima ao tratamento, e estas podem ser influenciadas por características individuais quanto a farmacocinética ou até mesmo variabilidade genética interindividual. A pesquisa de polimorfismos em enzimas e transportadores responsáveis pela ação do fármaco é de grande auxílio na monitorização e definição do tratamento adequado para cada paciente. Portanto, o objetivo desse trabalho foi determinar as concentrações plasmáticas dos pacientes e correlacionar os dados obtidos com informações relacionadas ao tratamento, adesão terapêutica e tipos de respostas na LMC.

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os níveis plasmáticos do mesilato de imatinibe em portadores de leucemia mieloide crônica atendidos em uma unidade de referência da cidade de Manaus e correlaciona-los às variáveis que possam interferir nestes níveis.

3.2 Objetivos Específicos

- a) Registrar os dados clínicos e sóciodemográficos dos pacientes que fazem uso de MI;
- b) Estimar a adesão dos pacientes ao tratamento com mesilato de imatinibe;
- c) Determinar as concentrações plasmáticas do fármaco;
- d) Investigar a ocorrência de polimorfismo do gene ABCG2 relacionado à disposição cinética do fármaco;
- e) Relacionar a associação dos fatores elencados com níveis plasmáticos e a resposta ao tratamento.

4. Metodologia

4.1 Tipo de Estudo

Tratou-se de um estudo analítico-observacional com corte transversal.

4.2 Local de Estudo

O recrutamento dos pacientes e a coleta de dados e das amostras de sangue foram realizados no ambulatório e farmácia da Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM). O material biológico foi processado e analisado no Laboratório do Núcleo de Estudos em Farmacocinética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas. As análises moleculares foram conduzidas no Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas.

4.3 População de Estudo

A população do estudo foi composta por pacientes com LMC em tratamento com MI cadastrados no HEMOAM.

4.4 Tamanho da Amostra

Setenta e quatro pacientes com idade igual ou superior a 18 anos com LMC em uso de MI cadastrados e em tratamento no HEMOAM foram convidados a participar do estudo, dos quais cinquenta e dois pacientes atendiam ao critério de inclusão e aceitaram a participar da pesquisa.

4.5 Critérios de Inclusão

- Pacientes diagnosticados com LMC cadastrados e em tratamento no HEMOAM;

- Pacientes em uso de MI no mínimo 3 meses;
- Ter idade igual ou superior a 18 anos.

4.6 Critérios de Exclusão

- Não ser capaz de compreender e responder as questões do questionário;
- Paciente gestante;
- Paciente indígena.

4.7 Plano de Recrutamento

Os pacientes com LMC são rotineiramente atendidos em consulta médica no HEMOAM a cada 3 meses. Essa consulta ocorria preferencialmente pelo período matutino.

O pesquisador deste estudo realizou parceria com os médicos assistentes que realizam o atendimento aos pacientes com LMC. Inicialmente, o pesquisador fez uma explanação da natureza da pesquisa para os médicos e estes durante a consulta com os pacientes, mostraram a importância desta pesquisa. Assim sendo, logo após a consulta do paciente, o médico informou o paciente da existência da pesquisa e perguntou do paciente se ele aceitava conversar com o pesquisador que, explicou-lhe os detalhes da pesquisa, logo em seguida sendo direcionado à uma sala reservada.

O paciente chegando a essa sala, o pesquisador se identificou-se com seu nome e instituição a qual a pesquisa está vinculada. O paciente foi convidado a participar do estudo e o pesquisador explicou-lhe o conteúdo da pesquisa, seus objetivos, a metodologia a ser aplicada, sua importância, que sua participação é voluntária e que o paciente poderia se retirar da pesquisa a qualquer momento e sem qualquer tipo de

prejuízo a sua pessoa, elucidou-se seus riscos e benefícios e garantia de sigilo dos participantes.

Após paciente compreendendo e aceitando participar do estudo, ele recebeu duas vias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, que continha todas as informações necessárias da pesquisa, que foi lido e ao concordar, o paciente o assinou, sendo uma via entregue ao paciente e outra via arquivada pelo pesquisador. Primeiramente o paciente foi convidado a responder um questionário com questões diversas. Em seguida, foi coletada amostra sanguínea. Para melhor elucidação, o plano de recrutamento pode ser visualizado no fluxograma contido na Figura 4.

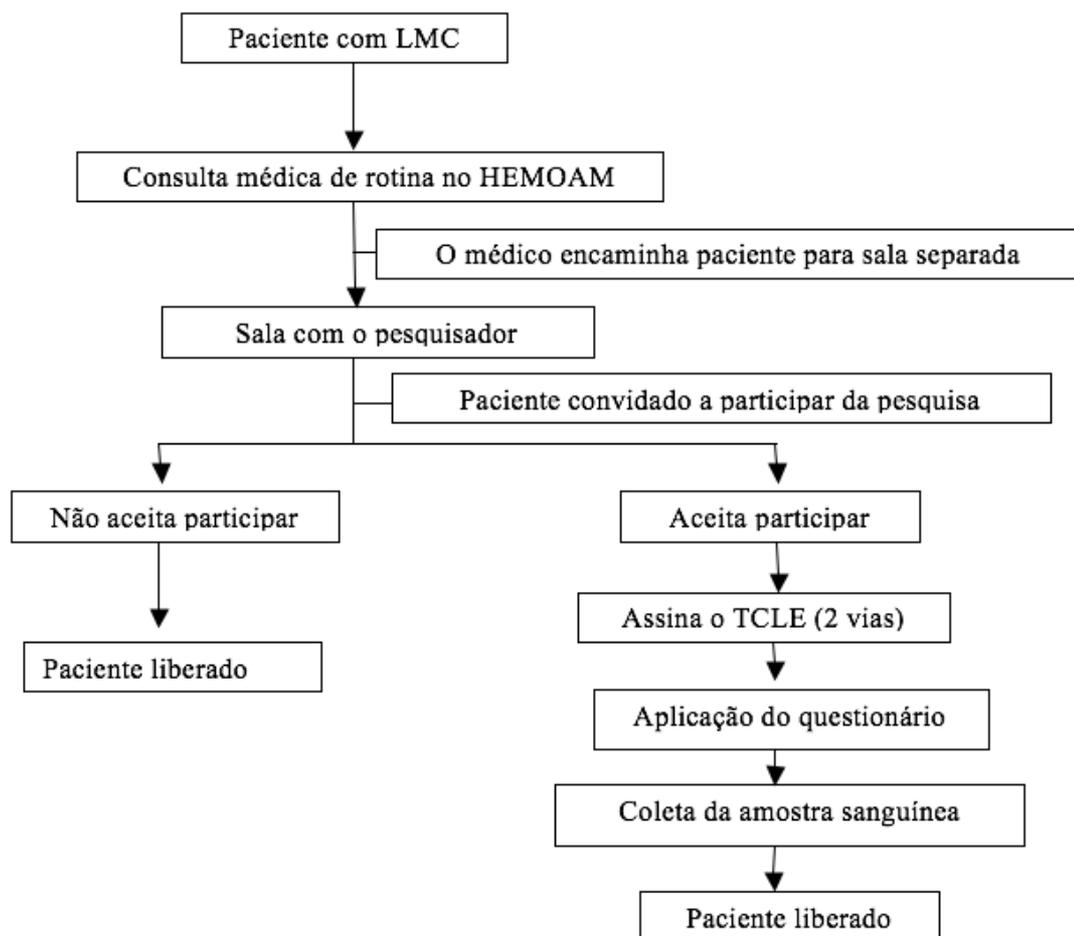


Figura 4 – Fluxograma do plano de recrutamento de pacientes empregado neste estudo

4.8 Instrumento de Coleta de Dados

O instrumento de coleta de dados realizado foi um questionário, conforme modelo adaptado de Barbosa (2015), constante no Anexo V. O questionário conteve cinco tópicos, sendo eles:

- Características do Paciente.
- Informações do Medicamento.
- Adesão Terapêutica.
- Característica da Doença.
- Retirada do Medicamento na Farmácia.

4.9 Coleta de Dados

Antes da aplicação do questionário, o pesquisador explicou os objetivos da pesquisa e o entrevistado teve livre arbítrio para decidir em participar do presente trabalho. Os que concordaram em participar, assinaram o TCLE (Anexo IV), em duas vias, ficando uma em seu poder.

A coleta de dados foi feita por meio da aplicação do questionário em uma sala separada, pelo próprio pesquisador deste trabalho aos pacientes com LMC em uso de MI. Neste questionário, os tópicos de características do paciente, informações do medicamento e adesão terapêutica foram obtidos por meio de informações autorreferidas pelo próprio paciente. Nesta primeira parte do questionário, contém dados sócio-demográficos, econômicos, comportamentais do paciente frente ao medicamento e dados obtidos pela aplicação do MMAS – *Morisk Medication Adherence Scale*, composto por

oito itens e aborda vários aspectos do comportamento aderente do paciente (MORISKY, 1986). Este é um método indireto da avaliação da adesão terapêutica e inclui 8 questões, avaliadas de acordo com uma escala de pontuação. As questões são:

- O Senhor (a), às vezes, esquece de tomar seus comprimidos?
- Pensando sobre as últimas duas semanas, houve algum dia em que o senhor (a) não tomou seu medicamento?
- Alguma vez o senhor (a) interrompeu ou parou de tomar seu medicamento sem informar ao médico, porque se sentiu pior quando tomava?
- Quando viaja ou sai de casa, às vezes o senhor (a) esquece de levar a medicamento?
- O senhor (a) tomou seu medicamento ontem?
- Quando o senhor (a) sente que seu problema de saúde está sob controle, às vezes para de tomar seu medicamento?
- O senhor (a) já sentiu incômodo ao tomar o medicamento todos os dias?
- Com que frequência o senhor (a) tem dificuldade em lembrar de tomar todos os seus medicamentos?

(A) Nunca/Raramente

(B) De vez em quando

(C) Às vezes

(D) Geralmente

(E) O tempo todo

(F) Não respondeu

Para cada resposta “Não”, o paciente pontuou 0 no respectivo item. Para cada resposta “Sim”, o paciente pontuou 1. O item 5, possui cotação reversa. Na questão 8, o paciente que respondeu o item “A” obterá pontuação 0, e o restante das alternativas, pontuação 1. Após a realização dos cálculos, a adesão do paciente aos medicamentos foi classificada em Grau de Adesão, conforme Tabela:

Grau de Adesão	Pontuação MMAS-8
Alta Adesão	0
Média Adesão	1 a 2
Baixa Adesão	3 a 8

Tabela 2 – Grau de adesão e pontuação no *Morisk Medication Adherence Scale-8*.

O tópico características da doença foi preenchido a partir de dados coletados do prontuário do paciente, pois contém informações referentes ao histórico de tratamento do mesmo. Esse prontuário foi disponibilizado para o pesquisador no dia da consulta e o próprio pesquisador que preencheu esses dados, como início do tratamento, tempo de tratamento, resposta terapêutica e efeitos adversos. O último tópico do questionário, retirada do medicamento na farmácia, o pesquisador dirigiu-se à farmácia do HEMOAM para verificar as datas de dispensação do medicamento no último ano de tratamento e preencheu os dados no questionário. Posteriormente, as informações coletadas foram tabuladas em uma planilha do programa Microsoft Excel, após o processo de dupla checagem para a garantia da confiabilidade dos resultados. Os valores para resposta terapêutica foram analisados conforme Tabela 1.

4.10 Obtenção e preparo das amostras

As amostras de sangue foram coletadas por meio de punção venosa, com auxílio de escalpe e seringa descartável, em seguida transferidas para um tubo de ensaio de 5 ml contendo EDTA e identificados por código numérico. A coleta foi realizada pelo pesquisador ou por um técnico capacitado do HEMOAM.

Para as análises moleculares, cinco mililitros de sangue venoso em EDTA, na concentração de $1,5\text{mg/ml} \pm 0,25$, foram coletados a vácuo. A amostra foi encaminhada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas para análises bioquímicas além de separação e congelamento para futura extração de DNA de acordo com o protocolo do fabricante do Kit (QIAGEN) e futuras análises moleculares.

A coleta de sangue, assim como a entrevista, foi realizada após a consulta do paciente, na sala reservada para o estudo. A recomendação consistia em que a coleta fosse feita no momento da concentração do fármaco no vale, antes da próxima administração do medicamento. O objetivo principal foi garantir um valor mínimo de concentração plasmática do MI (PICARD et al., 2007). Como a maioria dos pacientes utilizam o medicamento após o almoço, as coletas foram realizadas pela parte da manhã, para poder atingir a concentração no vale.

As amostras destinadas a dosagem plasmática do MI foram armazenadas, após a coleta, em caixa térmica. No final de cada dia de coleta, o pesquisador processou as amostras no laboratório do Núcleo de Estudos em Farmacocinética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas. No laboratório as amostras foram centrifugadas a 6000rpm por cinco minutos, separando o plasma. Em seguida, todas as amostras de plasma foram armazenadas a -70°C para análise da posterior de concentração plasmática do MI (TEOH, 2010). O material permaneceu sob

a guarda do pesquisador em biorrepositório transitório, para uso restrito ao projeto e depois de analisado, foi descartado.

4.11 Análises Moleculares

O DNA genômico foi isolado de leucócitos a partir de 200µL de sangue, utilizando-se o método direto QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN), conforme protocolo do fabricante. O DNA foi armazenado a -20 °C até o momento das análises.

O polimorfismo para ABCG2 (421C>A), foi analisado pela técnica de PCR em Tempo Real com respectiva sonda customizada junto a empresa Applied Biosystems (AU et al., 2014; ADEAGBO et al., 2016).

4.12 Determinação da Concentração Plasmática do MI

A técnica utilizada para a quantificação do imatinibe no plasma sanguíneo foi HPLC-UV (*High Performance Liquid Chromatography – UV*), realizado no laboratório da NePK-UFAM.

4.13 Análise das Amostras

Para a análise das amostras, foi utilizado um método descrito na literatura previamente validado (TEOH et al., 2010). Neste ensaio, foi empregado padrão analítico de MI para a construção das curvas analíticas. Uma solução mãe de MI foi preparada pesando-se uma massa de fármaco correspondente a 10mg, utilizando uma balança analítica de precisão, seguida de diluição em balão volumétrico de 10ml com metanol, obtendo uma solução de concentração 1mg/mL. A partir desta solução mãe, foi preparada a solução padrão de MI 100µg/mL, diluindo 100µl da solução mãe em 900µl de metanol e posteriormente foi diluído para as concentrações 1,0, 10, 50, 100, 250 ng/ml representando os cinco pontos da curva, respectivamente.

Adicionou-se 100 µL de metanol em 100 µL de amostra de plasma, agitou-se em vortex por 1 min e centrifugou-se na velocidade de 15.000 rpm por 5 min à 4°C. Coletou-se 100 µL do sobrenadante para análise.

O sistema cromatográfico foi composto de fase móvel água:metanol:triethylamina (64:35:1, v/v/v) com pH ajustado para 4,8 utilizando ácido orto-fosfórico (85%) e coluna CN (4,6 x 150 mm, 5 µm de tamanho de partícula). As análises foram realizadas na vazão 1 mL/min, na temperatura de 25°C com detecção UV em 268 nm. O volume de 50 µL de amostra foi injetado no sistema cromatográfico.

Todas as amostras e restos biológicos do plasma foram descartados no final das análises, seguindo as normas de biossegurança e de acordo com a RDC n° 306/2004 que dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

4.14 Análise de parâmetros hematológicos

Para análise de parâmetros hematológicos adotou-se os valores de referência para exames laboratoriais de hemograma da população adulta brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde (ROSENFELD et al., 2019).

4.15 Análise Estatística

As concentrações plasmáticas de MI foram avaliadas quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Aplicou-se análise univariada para descrição da amostra. Para variáveis contínuas foram avaliadas medidas de tendência central (média e/ou mediana) e as respectivas medidas de dispersão (desvio padrão); para variáveis categóricas foram apresentadas porcentagens.

Na análise bivariada, foram empregados teste T e ANOVA. O teste T de Student não pareado foi utilizado para comparar os valores de concentração plasmática entre as variáveis dicotômicas. Para fins de análise estatística, no caso da RMM e RHC, os pacientes foram agrupados em dois grupos (sim e não). Foi empregada análise de variância (ANOVA) para os testes estatísticos com mais de dois grupos. Na análise multivariada, foi utilizada a análise de regressão logística binária para identificar os preditores para RMM. O nível de significância adotado para todas as análises foi de 5% ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa STATA.

4.16 Aspectos éticos

O projeto foi submetido à análise e recebeu aprovação do Comitê de Ética Em Pesquisa da Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas de acordo com o parecer N° 2.540.371 anexo.

6. Conclusão

Neste estudo, os níveis plasmáticos obtidos apresentaram alta variação e embora a maioria dos pacientes apresentassem uma resposta hematológica completa, apenas um percentual apresentou resposta molecular maior. Pode-se comprovar que um fator importante que influencia esta concentração é a adesão à terapia pelo paciente. Ao realizar este trabalho, verificou-se que a alta adesão não foi encontrada em sua grande maioria, portanto a porcentagem de não respondedores possivelmente é associada à não adesão ao tratamento.

A eficácia do Mesilato de Imatinibe é demonstrada em diversos estudos, sendo comprovada pelo grande número de pacientes que utilizam este medicamento por longos anos e possuem um ótimo prognóstico, impedindo que ocorra o avanço LMC para a fase acelerada e crise blástica.

Antes de substituir o medicamento para o de segunda ou terceira geração é necessário monitorar o paciente para fornecer dados reais da resposta clínica, sendo assim, a utilização da monitorização terapêutica traz grandes benefícios para a sobrevivência do paciente. Portanto, concluiu-se que a monitorização terapêutica é uma ferramenta primordial para o sucesso de qualquer terapia correlacionando os níveis plasmáticos e seus possíveis interferentes.

Referências bibliográficas

AJIMURA, T. O. Análise do mesilato de imatinibe em plasma empregando a eletroforese capilar Análise do mesilato de imatinibe em plasma empregando a eletroforese capilar.

Tese de Mestrado, 2010.

ALMEIDA, A. et al. Recomendacao para o diagnóstico, tratamento e monitorização da leucemia melóide crónica. **Acta Médica Portuguesa**, v. 22, p. 537–544, 2009.

ALVES, R. DE C. S. Análise de pacientes com leucemia mieloide crônica com resistência primária ou secundária ao mesilato de imatinibe. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 3, p. 166–177, 2009.

ANTHONY, A. et al. Influence of ABCB1 C3435T and ABCG2 C421A Gene Polymorphisms in Response to Imatinib Mesylate in Chronic Myeloid Leukemia Patients. **International Journal of Environmental Science and Development**, v. 3, n. 3, p. 1–6, 2012.

AQUINO, S. S.; GONÇALVES, R. P.; SILVA, L. B. Acompanhamento farmacoterapêutico dos pacientes com leucemia mieloide crônica em uso de mesilato de imatinibe na Universidade Federal do Ceará. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 3, p. 137–142, 2009.

ARANHA, F. J. P. Leucemia Mielóide Crônica – Transplante de medula óssea. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, p. 41–46, 2008.

BACCARANI, M. et al. Chronic myeloid leukemia: An update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. **Journal of Clinical Oncology**, v. 27, n. 35, p. 6041–6051, 2009.

BACCARANI, M. et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. **Blood**, v. 122, n. 6, p. 872–884, 2013.

BARBOZA, L. P. et al. Análise dos transcritos da translocação t(9;22) em Leucemia Mielóide Crônica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 22, n. 2, p. 89–98, 2000.

BARRATT, D. T. et al. CYP2C8 Genotype Significantly Alters Imatinib Metabolism in Chronic Myeloid Leukaemia Patients. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 56, n. 8, p. 977–985, 2017.

BEN, A.; NEUMANN, C.; MENGUE, S. Teste de Morisky-Green e Brief Medication Questionnaire para avaliar adesão a medicamentos The Brief Medication Questionnaire and Morisky-Green Test to evaluate. v. 46, n. 2, p. 279–289, 2012.

BERGANTINI, A. P. F. et al. Leucemia mielóide crônica e o sistema Fas-FasL. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 27, n. 2, p. 120–125, 2005.

BOLLMANN, P. W.; GIGLIO, A. DEL. Chronic myeloid leukemia : past , present , future. **Einstein**, v. 9, n. 11, p. 236–243, 2011.

BORTOLHEIRO, T. C.; CHIATTONE, C. S. Leucemia Mielóide Crônica : história natural e classificação. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, n. Supl. 1, p. 3–7, 2008.

CARVALHO, G. S. L. polimorfismos nos genes MTHFR, GST, HP e leucemia. **Dissertação Mestrado, Brasília**, p. 86, 2011.

CHAUFFAILLE, M. D. L. L. F. Análise citogenética e FISH no monitoramento da LMC em tratamento com inibidores da tirosino quinase. **Revista Brasileira de Hematologia e**

Hemoterapia, v. 30, n. Supl. 1, p. 13–19, 2008.

CHAUFFAILLE, M. DE L. L. F. Leucemia mieloide crônica: tratamento baseado em evidências. **Diagn Tratamento**, v. 14, n. 2, p. 62–5, 2009.

DA SILVA, A. E. B. Aspectos Moleculares Da Transformação Celular Induzida Por Bcr -Abl. **Tese de Doutorado, São Paulo**, p. 208, 2008.

DE AZEVEDO, L. D. et al. Sínteses E Propriedades De Fármacos Inibidores Da Tirosina Quinase Bcr-Abl, Utilizados No Tratamento Da Leucemia Mieloide Crônica. **Quimica Nova**, v. 40, n. 7, p. 791–809, 2017.

DOBBIN, J. DE A.; GADELHA, M. I. P. Mesilato de Imatinibe para tratamento da Leucemia Mieloide Crônica. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 48, n. 3, p. 428–438, 2002.

FABER, E. et al. Imatinib trough plasma levels do not correlate with the response to therapy in patients with chronic myeloid leukemia in routine clinical setting. **Annals of Hematology**, v. 91, n. 6, p. 923–929, 2012.

FACCHINI, L. A.; MENGUE, S. S. Fatores associados à baixa adesão ao tratamento medicamentoso em idosos Factors associated with low adherence to medication in older adults. v. 47, n. 6, p. 1092–1101, 2013.

FERNÁNDEZ, E. L. et al. State of the art in therapeutic drug monitoring. **Clinical Chemistry**, v. 44, n. 5, p. 1129–1140, 2009.

GABE, C.; ALMEIDA, D. R.; SIQUEIRA, L. O. Avaliação de eventos infecciosos oportunistas em crianças portadoras de leucemias. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 2, p. 74–79, 2009.

GODOY, F. S. DE P. Crise blástica na leucemia mielóide crônica. **Tese de especialização**, Curitiba, p. 17, 2016.

GOMES, G. W. Expressão gênica dos transportadores de membrana ABCB1, ABCG2, SLC22A1 e SLCO1A2 em linhagens celulares tratadas com inibidor comercial da via JAK-STAT. **Dissertação Mestrado**, 2015.

GUSMÃO, J. L. DE; MION-JR, D. Adesão ao tratamento – conceitos. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 13, n. 1, p. 23–25, 2006.

HAMERSCHLAK, N. Leukemia: genetics and prognostic factors. **Jornal de Pediatria**, v. 0, n. 0, 2008.

HANLON, K.; COPLAND, M. Chronic myeloid leukaemia. **Medicine (United Kingdom)**, v. 45, n. 5, p. 287–291, 2017.

HOCHHAUS, A. et al. Long-Term Outcomes of Imatinib Treatment for Chronic Myeloid Leukemia. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 10, p. 917–927, 2017.

JOSEPHS, D. H. et al. Clinical pharmacokinetics of tyrosine kinase inhibitors: Implications for therapeutic drug monitoring. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 35, n. 5, p. 562–587, 2013.

KASSOGUE, Y. et al. Functional polymorphism of CYP2B6 G15631T is associated with hematologic and cytogenetic response in chronic myeloid leukemia patients treated with imatinib. **Medical Oncology**, v. 31, n. 1, 2014.

KOREN-MICHOWITZ, M. et al. Imatinib plasma trough levels in chronic myeloid leukaemia: results of a multicentre study. **Hematological oncology**, v. 25, n. 3, p. 127–131, 2012.

LAGO, C. DO; PETRONI, T. F. Fisiopatologia E Diagnóstico Da Leucemia Mieloide Crônica. **Revista Saúde UniToledo**, v. 1, p. 121–133, 2017.

LANKHEET, N. A. G. et al. Plasma concentrations of tyrosine kinase inhibitors imatinib, erlotinib, and sunitinib in routine clinical outpatient cancer care. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 36, n. 3, p. 326–334, 2014.

LARSON, R. A. et al. Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: A subanalysis of the IRIS study. **Blood**, v. 111, n. 8, p. 4022–4028, 2008.

LARSON, R. A. et al. Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia : a subanalysis of the IRIS study
Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leuk. **Blood Journal**, p. 4022–4028, 2014.

LUSKIN, M. R.; DEANGELO, D. J. How to treat chronic myeloid leukemia (CML) in older adults. **Journal of Geriatric Oncology**, v. 9, n. 4, p. 291–295, 2018.

MALHOTRA, H. et al. Correlation of plasma trough levels of imatinib with molecular response in patients with chronic myeloid leukemia. **Leukemia & Lymphoma**, v. 55, n. January, p. 2614–2619, 2014.

MARTINS, D. H. et al. Monitoring imatinib plasma concentrations in chronic myeloid leukemia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 33, n. 4, p. 302–306, 2011.

METZGER, I. F.; SOUZA-COSTA, D. C.; TANUS-SANTOS, J. E. Farmacogenética: Princípios, aplicações e perspectivas. **Medicina**, v. 39, n. 4, p. 515–521, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BRASIL). INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). Ministério da Saúde Ministério da Saúde. p. 45–46, 2015.

MIURA, M. Therapeutic Drug Monitoring of Imatinib, Nilotinib, and Dasatinib for Patients with Chronic Myeloid Leukemia. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, n. 5, p. 645–654, 2015.

MLEJNEK, P. et al. Interactions of N-desmethyl imatinib, an active metabolite of imatinib, with P-glycoprotein in human leukemia cells. **Annals of Hematology**, v. 90, n. 7, p. 837–842, 2011.

MORALES, C. et al. Leucemia mieloide crónica: diagnóstico y tratamiento. **Revista CES Medicina**, v. 2424, n. 1, p. 97–108, 2010.

NOENS, L. et al. Prevalence, determinants, and outcomes of nonadherence to imatinib therapy in patients with chronic myeloid leukemia: the ADAGIO study. **Blood**, v. 113, n. 22, p. 5401–5411, 2009.

PAGNANO, K. B. B. Leucemia Mielóide Crônica – Causas de falha do tratamento com mesilato de imatinibe. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, n. Supl. 1, p. 22–26, 2008.

PEREIRA, J. S. et al. Funções executivas , características comportamentais e frequência à classe hospitalar em crianças hospitalizadas com Leucemias. **Revista Neuropsicologia Latinoamericana**, v. 10, n. 1, p. 1–15, 2018.

PICARD, S. et al. Trough imatinib plasma levels are associated with both cytogenetic and molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. **Blood**, v. 109, n. 8, p. 3496–3499, 2007.

QUINTÁS-CARDAMA, A.; CORTES, J. E. Chronic myeloid leukemia: Diagnosis and treatment. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 81, n. 7, p. 973–988, 2006.

RÊGO, M. F. N. Leucemia mieloide crônica – aspectos clínicos e fatores que influenciaram a resposta citogenética em pacientes tratados com imatinibe no estado do Piauí. **Tese de Doutorado, Campinas**, 2014.

REZENDE, V. M. Monitoramento terapêutico de mesilato de imatinibe: relação entre níveis séricos e alcance de resposta molecular maior na leucemia mielóide crônica Tese. 2017.

RICO, J. C. et al. Imatinib: farmacocinética. **Revista del Hospital Juárez de México**, v. 80, n. 1, p. 67–72, 2013.

ROSENFELD, L. G. et al. Valores de referência para exames laboratoriais de hemograma da população adulta brasileira : Pesquisa Nacional de Saúde. **Revista Brasileira de Epidemiologia** v. 22, n. Suppl 2, p. 1–13, 2019.

SANTOS, I. L.; FERREIRA, R. J. Aspectos biológicos, genéticos e moleculares do gene BCR-ABL e sua relação com a Leucemogênese; Biological, genetic and molecular aspects of the BCR-ABL gene and its relationship with Leukemogenesis. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 10, n. 1, p. 55–59, 2006.

SEONG, S. J. et al. Influence of enzyme and transporter polymorphisms on trough imatinib concentration and clinical response in chronic myeloid leukemia patients. **Annals of Oncology**, v. 24, n. 3, p. 756–760, 2013.

SERA, A. et al. **Journal of Clinical Oncology** Chronic Myeloid Leukemia : An Update of Concepts and Management Recommendations of European LeukemiaNet. v. 27, n. 35, p. 6041–6051, 2012.

SINGH, N. et al. Drug monitoring of imatinib levels in patients undergoing therapy for chronic myeloid leukaemia: Comparing plasma levels of responders and non-responders.

European Journal of Clinical Pharmacology, v. 65, n. 6, p. 545–549, 2009.

SOHN, S. K. Trough plasma imatinib levels are correlated with optimal cytogenetic responses at 6 months after treatment with standard ... Trough plasma imatinib levels are correlated with optimal cytogenetic responses at 6 months after treatment with standard dose of. **Leukemia & Lymphoma**, n. April, 2011.

SOUZA, C. A. DE et al. Leucemia mieloide crônica. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 59, n. 3, p. 220–232, 2013.

SOUZA, I. L. C. A. DE. Adherence to Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy for Chronic Myeloid Leukemia : A Brazilian Single-Center Cohort. **Acta Hematologica** p. 16–22, 2013.

STORPITIS, S. et al. **Farmacocinética Básica e Aplicada**. Guanabara ed. Rio de Janeiro: [s.n.].

TAKAHASHI, N. et al. Influence of CYP3A5 and drug transporter polymorphisms on imatinib trough concentration and clinical response among patients with chronic phase chronic myeloid leukemia. **Journal of Human Genetics**, v. 55, n. 11, p. 731–737, 2010.

TAKAHASHI, N.; MIURA, M. Therapeutic drug monitoring of imatinib for chronic myeloid leukemia patients in the chronic phase. **Pharmacology**, v. 87, n. 5–6, p. 241–248, 2011.

TEOH, M. et al. Hplc determination of imatinib in plasma and tissues after multiple oral dose administration to mice. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences** v. 23, n. 126, p. 35–41, 2010.

TORRIANI, M. S. Avaliação da tolerância ao mesilato de imatinibe nos pacientes em tratamento oral da leucemia mieloide crônica no ambulatório do hospital de clínicas de Porto Alegre. **Dissertação Mestrado, Porto Alegre**, 2008.

VILLUENDAS, R. et al. Identification of genes involved in imatinib resistance in CML: A gene-expression profiling approach. **Leukemia**, v. 20, n. 6, p. 1047–1054, 2006.

VIVONA, D. Estudo da expressão dos genes ABCB1 e SLC22A1 e sua relação com marcadores de resposta ao mesilato de imatinibe em pacientes com leucemia mieloide crônica. **Tese de doutorado** p. 1–167, 2011.

YOSHIDA, C. et al. Adherence to the standard dose of imatinib , rather than dose adjustment based on its plasma concentration , is critical to achieve a deep molecular response in patients with chronic myeloid leukemia. **International Journal of Hematology** p. 618–623, 2011.

ZENI, A. et al. Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau , Santa Catarina , Brasil Use of medicinal plants as home remedies in Primary Health Care in Blumenau – State of Santa Catarina , Brazil. **Ciência & Saúde Coletiva**, p. 2703–2712, 2015.



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o (a) Sr (a) para participar da pesquisa intitulada "Fatores associados às concentrações plasmáticas do mesilato de imatinibe em pacientes com leucemia mieloide crônica em Manaus", sob a responsabilidade do pesquisador Igor Rafael dos Santos Magalhães. Muitos pacientes não apresentam uma resposta terapêutica esperada com o uso do medicamento mesilato de imatinibe. A pesquisa é pioneira nesta área no Estado do Amazonas e pretende avaliar os fatores relacionados aos níveis plasmáticos de imatinibe em portadores de leucemia mieloide crônica atendidos no HEMOAM.

Sua participação é voluntária e se dará por meio da aplicação de questionário que levará cerca de 5 minutos e coleta sanguínea realizadas após a consulta médica de rotina em uma sala separada, garantindo sua privacidade. O questionário contém cinco campos, sendo que o campo referente ao paciente, campo de adesão terapêutica e campo referente ao medicamento será respondido pelo Sr(a). Se o Sr(a) concordar em participar estará autorizando também o pesquisador a ter acesso ao seu prontuário médico para buscar dados referentes à doença e também detectar as datas de retirada do medicamento que o Sr.(a) usa na farmácia. Após o preenchimento do questionário, o Sr(a). será convidado a fazer a coleta de sangue, para verificar a dosagem sérica do mesilato de imatinibe. As amostras serão analisadas no Laboratório do Núcleo de Estudos em Farmacocinética – UFAM, guardadas por um curto período de tempo sendo utilizadas exclusivamente para realização desta pesquisa e no final descartadas, seguindo normas de biossegurança.

Os possíveis riscos decorrentes de sua participação na pesquisa envolvem o anonimato, risco de constrangimento ao responder as perguntas do questionário, o risco biológico na coleta do sangue e desconforto da agulha, medo, edema, hematoma e dor. Para minimizar estes riscos, a identificação do paciente será codificada, mantendo sua confidencialidade e privacidade. Normas de biossegurança serão adotadas e a coleta será realizada por uma pessoa experiente. Salienta-se que estão assegurados o direito a indenização e cobertura material para reparação e dano causado pela pesquisa ao participante da pesquisa. Se o Sr(a) aceitar em participar, estará contribuindo para seu próprio benefício, podendo auxiliar no seu tratamento, com ajuste da dose do medicamento e assim obter uma resposta terapêutica desejável. Os benefícios da adesão ao tratamento se estendem aos pacientes, às famílias, aos sistemas de saúde e à economia do país.

O (a) Sr (a) tem a garantia de plena liberdade de recusar-se a participar ou retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma ou falta de tratamento. O Sr(a). tem direito a pedir indenização por danos imediato ou posterior, direto ou indireto da pesquisa. O (a) Sr (a) terá acompanhamento e assistência imediata e integral para atender complicações e danos decorrentes dos procedimentos da pesquisa. Além disso, há total garantia do ressarcimento das despesas do participante da pesquisa e do seu acompanhante, quando necessárias ao estudo, o qual será providenciado em



dinheiro pelo pesquisador responsável. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas será mantida a privacidade e o sigilo dos participantes durante todas as fases da pesquisa. Os dados obtidos a partir dos participantes da pesquisa não poderão ser usados para outros fins além dos previstos nesta pesquisa.

Para qualquer outra informação, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com o pesquisador no endereço: Laboratório do Núcleo de Estudos em Farmacocinética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UFAM – Av. General Rodrigo Otávio, Campus Universitário, Manaus-AM, pelo telefone (92) 3305-1181 Ramal 2007 ou poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos – CEP/UFAM, na Rua Teresina, 495, Adrianópolis, Manaus-AM, telefone (92) 3305-1181 Ramal 2004, que é um órgão responsável pela análise e acompanhamento ético de pesquisas com seres humano.

Consentimento Pós-Informação

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

Data: ___/___/___

Assinatura do Participante



Impressão datiloscópica

Assinatura do Pesquisador Responsável

Questionário para Coleta de Dados – Modelo Adaptado de Barbosa (2015)

Código do Paciente: _____

Data da entrevista: ___/___/___

1. Características do Paciente:

Paciente: _____ Sexo: _____

Data de nascimento: ___/___/___ Idade: _____

Raça: 1.Branca () 2.Preta () 3.Parda () 4.Indígena () 5.Outros ()

Estado Civil: 1.Casado () 2.Solteiro () 3.União estável () 4.Viúvo ()

5.Separado ()

Classificação econômica segundo CCEB – ABEP:

ITENS DE CONFORTO	NÃO POSSUI	QUANTIDADE QUE POSSUI			
		1	2	3	4+
Quantidade de automóveis de passeio exclusivamente para uso particular					
Quantidade de empregados mensalistas, considerando apenas os que trabalham pelo menos cinco dias por semana					
Quantidade de máquinas de lavar roupa, excluindo tanquinho					
Quantidade de banheiros					
DVD, incluindo qualquer dispositivo que leia DVD e desconsiderando DVD de automóvel					
Quantidade de geladeiras					
Quantidade de <i>freezers</i> independentes ou parte da geladeira duplex					
Quantidade de microcomputadores, considerando computadores de mesa, laptops, notebooks e netbooks e desconsiderando tablets, palms ou smartphones					
Quantidade de lavadora de louças					
Quantidade de fornos de micro-ondas					
Quantidade de motocicletas, desconsiderando as usadas exclusivamente para uso profissional					
Quantidade de máquinas secadoras de roupas, considerando lava e seca					

A água utilizada neste domicílio é proveniente de?	
1	Rede geral de distribuição
2	Poço ou nascente
3	Outro meio

Considerando o trecho da rua do seu domicílio, você diria que a rua é:	
1	Asfaltada/Pavimentada
2	Terra/Cascalho

Qual o grau de instrução do chefe da família?

Nomenclatura atual	Nomenclatura anterior
Analfabeto / Fundamental I incompleto	Analfabeto/Primário Incompleto
Fundamental I completo / Fundamental II incompleto	Primário Completo/Ginásio Incompleto
Fundamental completo/Médio incompleto	Ginásio Completo/Colegial Incompleto
Médio completo/Superior incompleto	Colegial Completo/Superior Incompleto
Superior completo	Superior Completo

Classe econômica segundo a CCEB _____

Quantas pessoas vivem com a renda familiar? _____

Possui filhos: 1.Sim () 2.Não ()

Possui religião: 1.Sim () 2.Não ()

Escolaridade: 1.Analfabeto () 2.Alfabetizado () 3.Nível fundamental incompleto () 4.Nível fundamental completo () 5.Nível médio incompleto ()

6.Nível médio completo () 7.Superior () 8. Pós graduação () .

Ocupação profissional: 1.Estudante () 2.Do lar () 3.Aposentado ()

4.Emprego fixo () 5. Autônomo ()

Faz uso de bebida alcoólica? 1.Sim () 2.Não () Se sim, quantas vezes por semana? _____

Fuma? 1.Sim () 2.Não () Se sim, quantos cigarros por dia? _____

Faz alguma atividade física? 1.Sim () 2.Não() Se sim, quantas vezes por semana? _____

2. Informações do Medicamento:

A que horas o Senhor (a) toma o medicamento? _____

Quantas vezes o Senhor (a) toma o medicamento ao dia? _____

O Senhor (a) toma o medicamento: 1.Antes das refeições () 2.Durante as refeições () 3.Após as refeições ()

O Senhor (a) toma o seu medicamento com água? 1.Sim () 2.Não () Se não, qual? _____

Qual a quantidade de líquido o Senhor (a) ingere junto com medicamento?

1.Meio copo de 200ml () 2.Um copo de 200ml () 3.Mais de um copo de 200ml ()

Faz uso de algum remédio caseiro? 1.Sim () 2.Não () Se sim, qual?

Faz uso de outros medicamentos? 1.Sim () 2.Não () Se sim, quais?

Sente alguma reação adversa? 1.Sim () 2.Não () Se sim, quais?

3. Adesão Terapêutica (Morisky e Green): Sim/Não

1. O Senhor (a), às vezes, esquece de tomar seus comprimidos? _____

2. Pensando sobre as últimas duas semanas, houve algum dia em que o senhor (a) não tomou seu medicamento? _____
3. Alguma vez o senhor (a) interrompeu ou parou de tomar seu medicamento sem informar ao médico, porque se sentiu pior quando tomava? _____
4. Quando viaja ou sai de casa, às vezes o senhor (a) esquece de levar seu medicamento? _____
5. O senhor (a) tomou seu medicamento ontem? _____
6. Quando o senhor (a) sente que seu problema de saúde está sob controle, às vezes para de tomar seu medicamento? _____
7. O senhor (a) já sentiu incômodo ao tomar o medicamento todos os dias? _____
8. Com que frequência o senhor (a) tem dificuldade em lembrar de tomar todos os seus medicamentos?
 - (A) Nunca/Raramente
 - (B) De vez em quando
 - (C) Às vezes
 - (D) Geralmente
 - (E) O tempo todo
 - (F) Não respondeu

4. Características da Doença (Prontuário do Paciente):

Data do diagnóstico: ___/___/___

Fase da doença ao diagnóstico: 1.Crônica () 2.Acelerada () 3.Blástica ()

4.Desconhecida ()

Data do início do 1º Tratamento: ___/___/___

Apresentou tratamento anterior ao MI? 1.Sim () 2.Não () Se sim, qual medicação? _____

Data do início do tratamento com MI: ___/___/___

Intervalo entre o diagnóstico de LMC e o início do tratamento com

MI: _____ meses

Posologia do MI prescrita: _____ Tempo de tratamento com

MI: _____

Resposta ao tratamento: 1.Ótima () 2.Subótima () 3.Falha terapêutica ()

Resposta \ Tempo tto	Ótima	Subótima	Falha terapêutica
3 meses	RHC; BCR-ABL $\leq 10\%$ e/ou Ph + $\leq 35\%$ (RCP).	BCR-ABL $> 10\%$ e/ou Ph + 36-95%, sem RHC.	Sem RHC e/ou Ph + $> 95\%$.
6 meses	RCC e/ou BCR-ABL $< 1\%$.	BCR-ABL 1-10% e/ou Ph+ 1-35% (RCP).	BCR-ABL $> 10\%$ e/ou Ph + $> 35\%$.
12 meses	RMM	BCR-ABL $> 0,1-1\%$; sem RCC.	BCR-ABL $> 1\%$ e/ou Ph + > 0 .
Acima de 12 meses	RMM	Sem RMM	Perda RHC; RCC; RMM, mutações, anormalidades

			cromossômicas clonais em células Ph+.
--	--	--	---

Durante o tratamento com MI foi relatado alguma reação adversa ao medicamento? 1.Sim () 2.Não () Se sim, qual? _____

Houve suspensão do MI devido a reações adversas? 1.Sim () 2.Não ()

Houve redução da dose do MI devido à reação adversa? 1.Sim () 2.Não ()

Apresenta outra doença ou comorbidade associada? _____

Medicamentos associados:

5. Retirada do Medicamento na Farmácia:

Datas de retiradas do medicamento nos últimos 12 meses na farmácia:

Retirada: 1.Regular () 2.Irregular ()

Anexo III– Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa da Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas

FUNDAÇÃO DE
HEMATOLOGIA E
HEMOTERAPIA DO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Fatores associados às concentrações plasmáticas do mesilato de Imatinibe em pacientes com leucemia mieloide crônica em Manaus

Pesquisador: IGOR RAFAEL DOS SANTOS MAGALHÃES

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 70099317.6.3001.0009

Instituição Proponente: Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas - HEMOAM

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.540.371

Apresentação do Projeto:

O projeto de pesquisa propõe avaliar os fatores relacionados aos níveis plasmáticos do do mesilato de Imatinibe (MI) em portadores de LMC atendidos em uma unidade de referência da cidade de Manaus. A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é um tipo de câncer caracterizado por um distúrbio mieloproliferativo das células hematopoiéticas, de caráter não hereditário, apresentando leucocitose, esplenomegalia e a presença do cromossomo Philadelphia. Dentre as opções disponíveis, o mesilato de Imatinibe (MI) constitui o tratamento padrão para LMC. No entanto, pacientes em uso deste fármaco podem não apresentar uma resposta terapêutica ótima. Portanto, o objetivo deste estudo é avaliar os fatores relacionados aos níveis plasmáticos de MI em portadores de LMC atendidos em uma unidade de referência da cidade de Manaus – Amazonas. A coleta de dados será composta por um questionário padronizado, acerca de informações clínicas, sócio-demográficas, hábitos de vida e uso de medicamentos.

Conjuntamente, será feita a coleta da amostra sanguínea, para quantificação dos níveis plasmáticos de MI, através de um método previamente validado utilizando a técnica de HPLC-UV. Adicionalmente, estudos moleculares serão realizados para investigar a presença de polimorfismos de genes implicados na disposição cinética de MI. Os dados serão tabulados e analisados pelo programa estatístico STATA®. O monitoramento terapêutico é fundamental, pois auxiliará no tratamento dos pacientes, com possível ajuste de dose e assim obter uma resposta terapêutica]

Endereço: Av. Constantino Nery 4907 BLD Dir Ens Pesq
Bairro: Chapada **CEP:** 69.050-002
UF: AM **Município:** MANAUS
Telefone: (92)3655-0114 **Fax:** (92)3655-0112 **E-mail:** osp@hemoam.am.gov.br

Continuação do Parecer: 2.540.371

desejável. Os benefícios do controle terapêutico se estendem aos pacientes, às famílias, aos sistemas de saúde e à economia do país. Portanto, o objetivo deste estudo é avaliar os fatores relacionados aos níveis plasmáticos de MI em portadores de LMC atendidos em uma unidade de referência da cidade de Manaus – Amazonas.

A coleta de dados será composta por um questionário padronizado, acerca de informações clínicas, sócio-demográficas, hábitos de vida e uso de medicamentos. Conjuntamente, será feita a coleta da amostra sanguínea, para quantificação dos níveis plasmáticos de MI, através de um método previamente validado utilizando a técnica de HPLC-UV. Adicionalmente, estudos moleculares serão realizados para investigar a presença de polimorfismos de genes implicados na disposição cinética de MI. Os dados serão tabulados e analisados pelo programa estatístico STATA®. O monitoramento terapêutico é fundamental, pois auxiliará no tratamento dos pacientes, com possível ajuste de dose e assim obter uma resposta terapêutica desejável. Os benefícios do controle terapêutico se estendem aos pacientes, às famílias, aos sistemas de saúde e à economia do país.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar os fatores relacionados aos níveis plasmáticos do MI em portadores de LMC atendidos em uma unidade de referência da cidade de Manaus.

Objetivo Secundário: a) Registrar os dados clínicos, sócio-demográficos e relacionados ao uso de medicamentos; b) Estimar a adesão dos pacientes ao tratamento com MI; c) Determinar as concentrações plasmáticas do fármaco; d) Investigar a ocorrência de polimorfismos de genes relacionados à disposição cinética do fármaco; e) Verificar a associação dos fatores elencados com níveis plasmáticos e a resposta ao tratamento.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Sobre os riscos, os pesquisadores relatam que: Toda pesquisa com seres humanos envolve riscos. Neste caso em particular, os possíveis riscos e as respectivas medidas para minimização dos mesmos envolvem:

1. Quebra do sigilo: os dados coletados do prontuário do paciente e obtidos na aplicação de questionários podem eventualmente vazar, ainda que de forma involuntária e não intencional, ocasionando a quebra do sigilo. No entanto, para minimizar este risco serão adotadas as seguintes condutas: - codificar os dados de cada paciente para manter a sua confidencialidade e a privacidade, manter o banco de dados em local seguro e restringir o acesso ao banco de dados somente para pessoas treinadas e diretamente envolvidas na pesquisa.
2. Constrangimento ao responder o questionário: o ato de responder o questionário desenvolvido para a pesquisa pode evocar aspectos desagradáveis e, desta forma, gerar constrangimentos. Entretanto, as seguintes

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 BLD Dir Ens Pesq
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)3655-0114 Fax: (92)3655-0112 E-mail: osp@hemoam.am.gov.br

Continuação do Parecer: 2.540.371

estratégias serão implantadas para reduzir este risco: prestar esclarecimentos acerca do conteúdo do questionário e, além disso, reforçar o caráter voluntário da atividade para que o indivíduo possa desistir da participação com total liberdade e sem nenhum prejuízo, caso surja qualquer constrangimento. 3. Desconforto da agulha, medo, dor, edema e hematoma: a coleta de amostra de sangue pode resultar em riscos de origem emocional e/ou física. No entanto, para minimizar estes riscos, as seguintes medidas serão seguidas: orientar o indivíduo acerca da realização do procedimento e, ao mesmo tempo, tranquilizá-lo, e realizar a coleta com uma pessoa capacitada e experiente em punção venosa. Caso seja necessário, o atendimento médico adequado em caso de acidente ou mal-estar será providenciado para o participante. Os participantes terão assistência imediata e integral para atender as complicações e danos decorrentes da pesquisa. Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante terá direito assegurado à indenização e cobertura material para reparação do dano, causado pela pesquisa ao participante da pesquisa. Caso alguma despesa extraordinária associada à pesquisa ocorra, o participante da pesquisa e de seu acompanhante serão ressarcidos em dinheiro nos termos da lei pelo próprio pesquisador.

Em relação aos Benefícios, descrevem que: Os benefícios primários da pesquisa estão voltados para os participantes. Após as análises dos dados, os resultados da pesquisa no monitoramento terapêutico poderão auxiliar o tratamento dos pacientes, com possível ajuste de dose e assim obter uma resposta terapêutica desejável. Adicionalmente, os benefícios do estudo também podem ser estendidos à unidade de saúde em questão, pois a proposta pode resultar na racionalização dos investimentos aplicados no tratamento.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Metodologia Proposta:

Tipo de Estudo - Trata-se de um estudo analítico-observacional com corte transversal.

Local de Estudo - O recrutamento dos pacientes e a coleta de dados e das amostras de sangue serão realizados no ambulatório e farmácia da Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM). O material biológico será processado e analisado no Laboratório do Núcleo de Estudos em Farmacocinética da FCF-UFAM. As análises moleculares serão conduzidas no Laboratório de Biologia Molecular da FCF-UFAM.

População de Estudo - A população do estudo será composta por pacientes com LMC em tratamento com MI cadastrados no HEMOAM.

Tamanho da Amostra - Todos os pacientes com idade igual ou superior a 18 anos com LMC em uso de MI cadastrados e em tratamento no HEMOAM serão convidados a participar do estudo.

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 BLD Dir Ens Pesq
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)3655-0114 Fax: (92)3655-0112 E-mail: cep@hemoam.am.gov.br

Continuação do Parecer: 2.540.371

Desta forma, não haverá processo de amostragem. Atualmente, aproximadamente 80 pacientes estão nesta condição, conforme consulta realizada ao estabelecimento de saúde.

Plano de Recrutamento- Os pacientes com LMC são rotineiramente atendidos em consulta médica no HEMOAM a cada 3 meses. Essa consulta ocorre preferencialmente pelo período matutino. O pesquisador deste estudo fará uma parceria com os médicos assistentes que realizam o atendimento aos pacientes com LMC. Inicialmente, o pesquisador fará uma explicação da natureza da pesquisa para os médicos e estes durante a consulta com os pacientes, mostrarão a importância desta pesquisa. Assim sendo, logo após a consulta do paciente, o médico informará o paciente da existência da pesquisa e perguntará do paciente se ele aceita conversar com o pesquisador que vai explicar os detalhes da pesquisa. Se o paciente aceitar o médico irá encaminhá-lo para uma sala separada, onde o pesquisador irá abordá-lo. O paciente chegando a essa sala, o pesquisador irá se identificar com seu nome e instituição a qual a pesquisa está vinculada. O paciente será convidado a participar do estudo e o pesquisador irá explicar o conteúdo da pesquisa, seus objetivos, a metodologia a ser aplicada, sua importância, que sua participação é voluntária e que o paciente pode se retirar da pesquisa a qualquer momento e sem qualquer tipo de prejuízo a sua pessoa, elucidar seus riscos e benefícios e garantia de sigilo dos participantes. O paciente compreendendo e aceitando participar do estudo, ele receberá duas vias do TCLE, que contém todas as informações necessárias da pesquisa, que deverá ser lido e se concordar, o paciente assina, sendo uma via entregue ao paciente e outra via arquivada pelo pesquisador. Primeiramente o paciente será convidado a responder um questionário com questões diversas. Em seguida, será coletada amostra sanguínea a ser realizada no mesmo local. Terminada a fase de coleta sanguínea, o pesquisador irá agradecer os participantes pela colaboração na pesquisa e todas as dúvidas por parte dos participantes serão sanadas.

Instrumento de Coleta de Dados - O instrumento de coleta de dados a ser realizado será um questionário, conforme modelo adaptado de Barbosa (2015), constante no Anexo I. O questionário contém cinco tópicos, sendo eles (características do paciente, informações do medicamento, adesão terapêutica, características da doença e retirada do medicamento na farmácia.

Coleta de e análise das amostras biológicas - As amostras de sangue serão coletadas por meio de punção venosa. A técnica a ser utilizada para a quantificação do Imatinibe no plasma sanguíneo será por HPLC-UV, a ser realizado no NePK-UFAM. A análise do polimorfismo genético GSTT1/GSTM1 será determinada através da reação da polimerase em cadeia multiplex (PCR Multiplex) (MULLIS FALOONA, 1987; SAIKI et al., 1988). Além disso, os polimorfismos para ABCB1 C3435T, ABCG2 C421A E CYP3A5*3 serão realizados pela técnica de PCR em Tempo Real com

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 BLD Dir Ens Pesq
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)3655-0114 Fax: (92)3655-0112 E-mail: cep@hemoam.am.gov.br

Continuação do Parecer: 2.540.371

sondas específicas para cada polimorfismo customizados (AU et al., 2014; ADEAGBO et al., 2016). Informações detalhadas acerca da metodologia podem ser encontradas na versão digital desta proposta em anexo.

Critério de Inclusão: Pacientes diagnosticadas com LMC cadastrados e em tratamento no HEMOAM; Pacientes em uso de MI; Ter idade igual ou superior a 18 anos.

Critério de Exclusão: Pacientes em tratamento com MI inferior a 3 meses; Não concordar em participar do estudo, expresso mediante a não assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; Não ser capaz de compreender e responder as questões do questionário; Paciente gestante; Paciente indígena.

Metodologia de Análise de Dados: Os resultados serão apresentados de maneira descritiva através da utilização de tabelas e gráficos. Será aplicada análise univariada para descrição da amostra. Para variáveis contínuas serão avaliadas medidas de tendência central e as respectivas medidas de dispersão; para variáveis categóricas serão apresentadas porcentagens. Os resultados serão testados quanto à normalidade e, dependendo do resultado, testes paramétricos ou não paramétricos serão aplicados para comparação. O nível de significância adotado para todas as análises será de 5% (p 0,05). As análises estatísticas serão realizadas utilizando o programa STATA.

Cronograma de Execução:

Envio do relatório final ao CEP - 01/08/2018 a 31/08/2018

Análise estatística - 01/05/2018 a 31/07/2018

Coleta dos dados e das amostras - 01/09/2017 a 30/04/2018

Envio do relatório parcial ao CEP - 01/02/2018 a 28/02/2018

Revisão bibliográfica- 01/09/2017 a 31/08/2018

Análise das amostras - 01/09/2017 a 30/04/2018

Orçamento Financeiro Total em R\$ R\$ 5.816,00

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

1. Folha de Rosto: Anexado na PB;
2. Carta de Anuência da Instituição: Adequado e presente na PB;
3. TCLE: Anexado na PB (Adequado);
4. Instrumento da pesquisa: Anexado na PB;
5. Riscos: Adequado;
6. Benefícios: Adequado;
7. Currículo Lattes: Link do pesquisador responsável na PB (Presente);

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 BLD Dir Ens Pesq
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)3655-0114 Fax: (92)3655-0112 E-mail: cep@hemoam.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE
HEMATOLOGIA E
HEMOTERAPIA DO



Continuação do Parecer: 2.540.371

8. Critérios de Inclusão e Exclusão: Adequado;
9. Número de participantes a serem incluídos: Adequado;
10. Carta de Anuência dos Pesquisadores: Presente na PB.

Recomendações:

Sem recomendações, visto que as principais modificações foram solicitadas pelo CEP da UFAM.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto é executável e importante para avaliar os fatores relacionados aos níveis plasmáticos do do mesilato de Imatinibe (MI) em portadores de LMC atendidos em uma unidade de referência da cidade de Manaus.

As alterações solicitadas pelo CEP da UFAM e realizadas, tomando o projeto viável do ponto de vista ético e de acordo com a Res. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	Instrumento_de_coleta_de_dados_Revisto.pdf	12/07/2017 16:56:51	IGOR RAFAEL DOS SANTOS MAGALHÃES	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Imatinibe_Revisto.pdf	12/07/2017 16:55:42	IGOR RAFAEL DOS SANTOS MAGALHÃES	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Revisto.pdf	12/07/2017 16:54:53	IGOR RAFAEL DOS SANTOS MAGALHÃES	Acelto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 BLD Dir Ens Pesq
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)3655-0114 Fax: (92)3655-0112 E-mail: osp@hemoam.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE
HEMATOLOGIA E
HEMOTERAPIA DO



Continuação do Parecer: 2.540.371

MANAUS, 13 de Março de 2018

Assinado por:
Sérgio Roberto Lopes Albuquerque
(Coordenador)

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 BLD Dir Ens Pesq
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)3655-0114 Fax: (92)3655-0112 E-mail: cep@hemoam.am.gov.br