



**INFLUÊNCIA DA FARMACOGENÓMICA  
NA TERAPÊUTICA DA TUBERCULOSE**

**ADÃO ELIANO COSTA AZEVEDO**

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

FARO 2013

Influência da farmacogenómica na terapêutica da  
tuberculose



**UAlg**

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

**UNIVERSIDADE DO ALGARVE**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**



**INFLUÊNCIA DA FARMACOGENÓMICA  
NA TERAPÊUTICA DA TUBERCULOSE**

**ADÃO ELIANO COSTA AZEVEDO**

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

FARO 2013

Dissertação orientada pela Professora Doutora Vera Ribeiro Marques

Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve

---

# Influência da farmacogenómica na terapêutica da tuberculose



**UAlg**

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

## INFLUÊNCIA DA FARMACOGENÓMICA NA TERAPÊUTICA DA TUBERCULOSE

### **Declaração de autoria de trabalho**

Declaro ser o(a) autor(a) deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

---

**(Adão Eliano Costa Azevedo)**

### **Copyright Adão Eliano Costa Azevedo**

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

---

# Influência da farmacogenómica na terapêutica da tuberculose

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à Professora Doutora Vera Ribeiro, pela sua preciosa orientação ao longo da realização deste trabalho e pelo seu empenho, apesar de estar sempre com uma carga de trabalho elevada, para ela vai o meu muito obrigado.

Queria também agradecer a todos os professores e à Universidade do Algarve por que contribuíram para a minha formação como farmacêutico e como pessoa. Por fim, um muito obrigado a todos os que me ajudaram nesta caminhada até uma meta, a meta de me tornar farmacêutico.

Termino dirigindo um muito obrigado à minha família, à minha namorada e aos meus amigos Afonso, Barbie, Ju, Vera, Sofia, e Liliana, com quem partilhei o peso das dificuldades e o sabor dos sucessos, não só ao longo da realização desta tese, mas sobretudo no decorrer de um percurso que já dura há 5 anos.

# Influência da farmacogenómica na terapêutica da tuberculose

## RESUMO

A tuberculose continua a ser um problema de saúde global, causando problemas de saúde a milhões de pessoas a cada ano e é classificada como a segunda principal causa de morte por doença infecciosa em todo o mundo, depois do VIH. As últimas estimativas são de que ocorreram quase 9 milhões de novos casos em 2011 e 1,4 milhões de mortes por tuberculose (990000 sem associação e 430000 associadas ao VIH). Esta é uma realidade, apesar da existência de tratamento que poderia curar a maioria dos casos de TB, e que, em cerca de 90% dos casos, está disponível desde os anos 80.

Portugal continua entre os países de incidência intermédia de tuberculose, o único na Europa Ocidental. Entre os casos de MDR-TB, tem sido muito elevada a proporção de casos XDR-TB, a forma mais grave, constituindo um problema de saúde pública.

Do esquema básico de tratamento, a rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol são todos potencialmente hepatotóxicos. Deste modo, é importante conhecer melhor o metabolismo dos fármacos já existentes, principalmente os de primeira linha, a fim de reduzir a toxicidade associada.

Um fármaco produz diferentes respostas em diferentes pessoas. O perfil genético é responsável por muitas dessas variações. Estima-se que a genética explique, até 30% dos casos, as diferenças individuais no metabolismo e resposta aos fármacos.

Neste trabalho serão abordados alguns estudos que demonstram a influência de polimorfismos na terapêutica da tuberculose, direcionada para a população caucasiana/portuguesa, e a genotipagem de determinados enzimas que poderão trazer benefícios não só na diminuição das complicações e dos efeitos colaterais, como na redução dos atendimentos e internamentos. Assim, além de potenciar o aumento da adesão terapêutica, este conhecimento possibilita a aplicação a outras patologias, uma vez que o perfil genético do indivíduo pode determinar a eficácia e toxicidade de vários medicamentos.

**Palavras-chave:** Tuberculose, MDR-TB, Farmacogenómica, NAT, GST, CYP2E1.

# Influência da farmacogenómica na terapêutica da tuberculose

## ABSTRACT

Tuberculosis remains a global health problem. This causes health problems to millions of people each year and is ranked as the second leading cause of death from infectious disease worldwide, after the HIV. The latest estimates are that there were almost 9 million new cases in 2011 and 1.4 million tuberculosis deaths (990 000 unassociated and 430 000 HIV-associated). This is true despite the existence of treatment strategies that could cure the majority of cases of TB, and that, in approximately 90 % of cases were available from the eighties.

Portugal remains among the countries with intermediate incidence of tuberculosis, the only one in Western Europe. Among the cases of MDR -TB a very high proportion of XDR -TB cases are observed, the most severe form of the diseases, which poses a major public health problem.

The componentes of the basic scheme of treatment rifampicin, isoniazid, pyrazinamide and ethambutol are all potentially hepatotoxic. Thus, it is important to better understand the existing drugs, especially the first line drugs, and the individual level of metabolism to reduce the associated toxicity.

A drug yields different response in different people. The genetic profile is responsible for many of these variations. It is estimated that genetic variability can explain up to 30% of cases of individual differences in drug metabolism and response.

In this analysis we will discuss some studies that demonstrate the influence of polymorphisms in the treatment of tuberculosis, directed to the Portuguese and other Caucasian population, and the genotyping of certain enzymes that may be beneficial in reducing not only the complications and other side effects, but also the reduction of hospital visits and admissions. This will allow increasing the adhesion to treatment, at the same time opening the possibility of application to other pathologies, since the genetic profile of the individual can determine the efficacy and toxicity of several drugs.

**Keywords:** Tuberculosis, MDR-TB, Pharmacogenomics, NAT, GST, CYP2E1

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABC - *ATP-binding cassette*

ADN – Ácido desoxirribonucleico

ARNm – Ácido Ribonucleico mensageiro

AMK - Amicacina

BAAR - Bacilos Álcool-Ácido Resistentes

BCG - Bacillus Calmette-Guérin

BK – Bacilo de Koch

CPM - Capreomicina

CFP-10 - culture filtrate protein (ESAT-6 Like)

CYP - Citocromos P450

DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

DGS – Direção Geral de Saúde

DosR - Antígenos de dormência regulados

E - Etambutol

ESAT-6 - *Early Secretory Antigenic Target*

GST - Glutathione S-Transferase

GSH – Glutathione

GSTT1 - Glutathione S-Transferase isoenzima T1

GSTM1 Glutathione S-Transferase isoenzima M1

H – Isoniazida

HMG-CoA - 3-Hidroxi- 3-MetilGlutaril-Coenzima A

IL1 - Interleucina 1

IFN- $\gamma$  – Interferão- $\gamma$

IL2 - Interleucina 2

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

IL6 - Interleucina 6

KAN - Canamicina

LAM - Lipoarabinomanana

MHC – *Major Histocompatibility Complex*

MDR-TB – Tuberculose Multirresistente

MDR - multidrug resistance protein

NAT -- N-acetyltransferase

OMS – Organização Mundial de Saúde

OATP - organic anion transporting polypeptide

OCT - organic cation transporter

PPD - Derivados de Proteína Purificado

PAS – Ácido para-Aminosalicílico

PCR - *Polimerase Chain Reaction*

R - Rifampicina

RE – Reticulo Endoplasmático

rPFS- fatores que promovem a reanimação

SIDA – síndrome de Imunodeficiência adquirida

SNP – Polimorfismos de base única

TAAN - Testes de Amplificação de Ácidos Nucleicos

TB – Tuberculose

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

VEGF - Fator de Crescimento Endotelial Vascular

XDR-TB – Tuberculose extensivamente resistente

Z - Pirazinamida

ZN - Ziehl-Neelsen

# Influência da farmacogenómica na terapêutica da tuberculose

## ÍNDICE

|  |        |
|--|--------|
| Agradecimentos .....   | - 3 -  |
| Resumo .....   | - 4 -  |
| Abstract .....   | - 5 -  |
| Lista de siglas e abreviaturas .....   | - 6 -  |
| Índice de figuras.....   | - 10 - |
| Índice de tabela .....   | - 11 - |
| Introdução .....   | - 12 - |
| Breve Introdução sobre a História da Tuberculose.....                              | - 12 - |
| Considerações gerais sobre a tuberculose.....                                      | - 12 - |
| Epidemiologia.....   | - 13 - |
| Situação mundial.....  | - 13 - |
| Situação da UE e Portugal.....   | - 14 - |
| Etiologia.....   | - 17 - |
| Transmissão .....  | - 19 - |
| Patogénese .....   | - 20 - |
| Diagnóstico .....  | - 25 - |
| Manifestações clínicas .....   | - 28 - |
| Tratamento .....   | - 28 - |
| Tratamento TB não resistente .....   | - 28 - |
| Tratamento TB resistente (MDR-TB e XDR-TB) .....                                   | - 30 - |
| Metabolização de compostos endogenos e xenobióticos.....                           | - 32 - |
| Farmacogenómica.....   | - 36 - |
| Principais enzimas responsáveis pelo metabolismo dos tuberculostáticos.....        | - 37 - |
| Polimorfismos relevantes na terapia da TB na população portuguesa/caucasiana ..... | - 39 - |
| Metabolização e interação dos principais fármacos tuberculostáticos .....          | - 40 - |

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

---

|                    |        |
|--------------------|--------|
| Conclusão.....     | - 49 - |
| Bibliografia ..... | - 51 - |
| Anexos .....       | - 57 - |

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |        |
|--|--------|
| FIG. 1 - INCIDÊNCIA ESTIMADA DE TB POR 100 MIL PESSOAS EM 2011 <sup>4</sup> .                | - 13 - |
| FIG. 2 - ESTIMATIVA DE NOVOS CASOS (EM PERCENTAGEM) DE TB COM RESISTÊNCIA A TB. <sup>4</sup> | - 14 - |
| FIG. 4 - TAXA DE INCIDÊNCIA: EVOLUÇÃO EM 20 ANOS (1992-2011)...                              | - 15 - |
| FIG. 3 - TAXA DE INCIDÊNCIA NOS PAÍSES DA UE 2010 <sup>8</sup> .                             | - 15 - |
| FIG. 5 - TAXA DE INCIDÊNCIA DE CASOS NOVOS DE TB NOTIFICADOS POR 100 MIL PESSOAS...          | - 16 - |
| FIG. 6 - MATRIZ ULTRAESTRUTURAL PROPOSTA PARA A PAREDE CELULAR DA M. TUBERCULOSIS...         | - 18 - |
| FIG. 7 - FASES DA INFEÇÃO PELO <i>M. TUBERCULOSIS</i> <sup>17</sup> .                        | - 20 - |
| FIG. 8 - OS PRIMEIROS EVENTOS APÓS A INFEÇÃO COM O MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS...             | - 23 - |
| FIG. 9 - ESQUEMA DA RESPOSTA PROVOCADA PELO <i>M. TUBERCULOSIS</i> ...                       | - 24 - |
| FIG. 10 - RADIOGRAFIA AO TÓRAX MOSTRANDO INFILTRAÇÃO SUPERIOR-DIREITA...                     | - 26 - |
| FIG. 11 - BACILO ÁCIDO-RESISTENTE ( <i>M. TUBERCULOSIS</i> ) <sup>15</sup> .                 | - 27 - |
| FIG. 12 - MEDINDO O ENDURECIMENTO E NÃO O ERITEMA <sup>28</sup> .                            | - 27 - |
| FIG. 13 - MECANISMOS DE AÇÃO DOS ANTIBIÓTICOS DE PRIMEIRA LINHA <sup>37</sup> .              | - 29 - |
| FIG. 14 - DEFINIÇÃO DE RESISTÊNCIA DA TB. ADAPTADO DE <sup>34</sup>                          | - 30 - |
| FIG. 15 - MECANISMOS DE AÇÃO DOS ANTIBIÓTICOS DE SEGUNDA LINHA <sup>37</sup>                 | - 31 - |
| FIG. 16 - GRUPOS DE 1ª, 2ª E 3ª LINHA DE TRATAMENTO <sup>71</sup> .                          | - 32 - |
| FIG. 17 - PERCENTAGEM ESTIMADA DE MEDICAMENTOS METABOLIZADOS PELOS ENZIMAS...                | - 33 - |
| FIG. 18 - INDUÇÃO OU INIBIÇÃO DOS CYPS. <sup>44</sup> .                                      | - 34 - |
| FIG. 19 - FLUXO TRANSEPITELIAL OU TRANSENDOTELIAL DE MEDICAMENTOS REQUER...                  | - 35 - |
| FIG. 20 - ISONIAZIDA   | - 40 - |
| FIG. 21 - METABOLISMO ISONIAZIDA E FORMAÇÃO DE INTERMEDIÁRIOS HEPATOTÓXICO <sup>45</sup> .   | - 42 - |
| FIG. 22 - RIFAMPICINA  | - 43 - |
| FIG. 23 - PIRAZINAMIDA   | - 44 - |
| FIG. 24 - ETAMBUTOL  | - 45 - |
| FIG. 25 – PRINCIPAIS EFEITOS ADVERSOS DOS FÁRMACOS DA 1ª LINHA DE TRATAMENTO. <sup>71</sup>  | - 45 - |

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

## ÍNDICE DE TABELA

QUADRO 1 - ALGUNS POLIMORFISMOS ASSOCIADOS FENOTIPICAMENTE ..... - 38 -

# Influência da farmacogenómica na terapêutica da tuberculose

## INTRODUÇÃO

### BREVE INTRODUÇÃO SOBRE A HISTÓRIA DA TUBERCULOSE

Em 1882, Dr. *Robert Koch* isolou, pela primeira vez, o agente etiológico da doença, o *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*), também chamado bacilo da tuberculose ou bacilo de Koch (BK). Foi o primeiro passo para a cura da doença. Contudo, passados 129 anos sobre a descoberta e cerca de 60 anos de uso de antibióticos altamente eficazes, o número de novos casos de tuberculose (TB) continua a aumentar em todo o mundo, atingindo mais de nove milhões em cada ano. E, apesar de poder ser curada por menos de 20 euros durante 6 meses, a doença ainda mata cerca de 4500 pessoas por dia <sup>1</sup>.

Apesar dos avanços tecnológicos e científicos na área da saúde na prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças, a TB continua a ser um grave problema de saúde pública em Portugal e todo o mundo e uma das doenças mais antigas que afetam o ser humano. Existem relatos de há 3300 anos atrás na Índia e 2300 na China. Na antiga Grécia Clássica, era conhecida como “Phthisis” (tísica) e Hipócrates já reconhecia e compreendia as manifestações clínicas apresentadas pela tuberculose <sup>2</sup>.

Nos finais do século XIX, uma em cada cinco pessoas desenvolvia a doença e 50 a 60% destas morria. A descoberta do BK, o tratamento sanatorial nos anos vinte, a descoberta da estreptomicina em 1947, do ácido para-aminosalicílico (PAS) e da isoniazida em 1952, associados à melhoria das condições socioeconómicas das populações, tornaram possível a esperança da eliminação da doença <sup>3</sup>.

A TB foi declarada uma emergência de saúde pública global em 1993 pela Organização Mundial de Saúde (OMS, WHO), melhorando e intensificando os cuidados prestados a nível nacional e internacional <sup>4</sup>.

### CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A TUBERCULOSE

As micobactérias pertencem à família *Mycobacteriaceae* e à ordem *Actinomycetales*. O membro mais importante do complexo de *Mycobacterium tuberculosis* é o organismo homónimo, o *Mycobacterium tuberculosis*. O complexo também inclui *M. bovis* (o bacilo da tuberculose bovina), *M. africanum* (isolado em

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

casos na África Ocidental, África Central e Oriental), *M. microti* (um bacilo raro e menos virulento), *M. pinnipedii* e *M. canettii* (isolados muito raros)<sup>5</sup>.

## EPIDEMIOLOGIA

### SITUAÇÃO MUNDIAL

A tuberculose continua a ser um problema de saúde global. Esta causa problemas de saúde a milhões de pessoas a cada ano e é classificada como a segunda principal causa de morte por uma doença infecciosa em todo o mundo, depois do vírus da imunodeficiência humana (VIH). As últimas estimativas são de que houve quase 9 milhões de novos casos em 2011 e 1,4 milhões de mortes por tuberculose (990 000 sem associação ao VIH e 430 000 associadas ao VIH). Esta é uma realidade, apesar da existência de tratamento que poderia curar a maioria dos casos de TB e que, em cerca de 90% dos casos, está disponível desde os anos 80<sup>4</sup>.

Geograficamente, a maior incidência encontra-se no continente Africano e Asiático (Fig.1). China e Índia têm cerca de 40% dos novos casos de todo o mundo. À região do Sudoeste Asiático e Ocidental do Pacífico, incluindo China e Índia, corresponde cerca de 60% dos novos casos. As taxas mais elevadas de incidência encontram-se nos países da África, correspondendo a cerca de ¼ de todos os casos, sendo também a taxa mais elevada de mortes provocada por TB<sup>4</sup>.

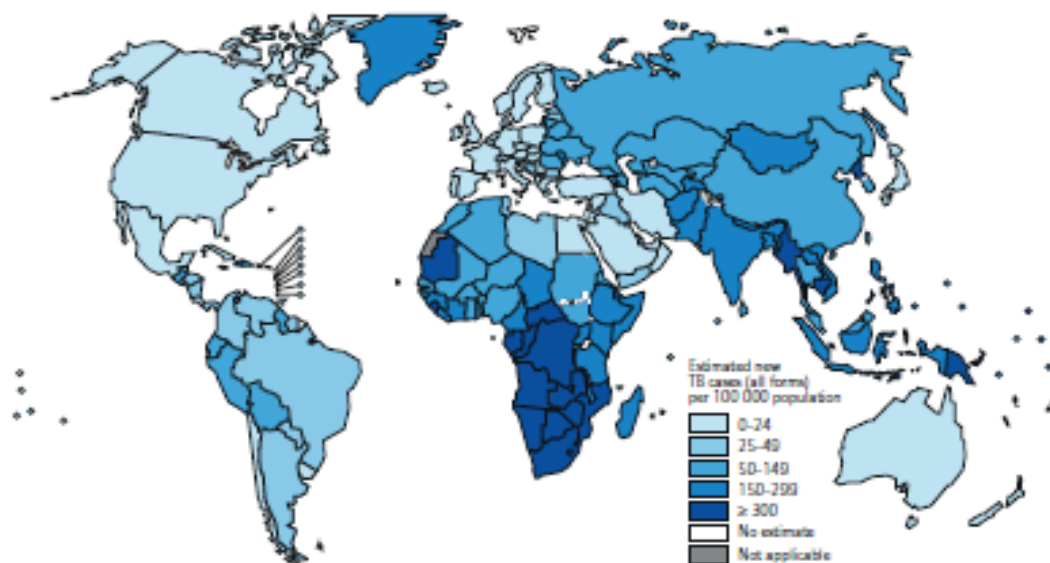


Fig. 1 - Incidência estimada de TB por 100 mil pessoas em 2011<sup>4</sup>.

## Influência da farmacogenómica na terapêutica da tuberculose

A multirresistência é uma ameaça global e sem controlo. Estima-se que 3,7% dos novos casos que surgem e 20% das reincidências são tuberculose multirresistente (MDR-TB) (Fig. 2). Dos casos relatados em 2011, estima-se que 310 000 eram MDR-TB. Destes casos de MDR-TB, 10% correspondem a tuberculose extensivamente resistente. (XDR-TB). Um número assustador, se tivermos em conta que apenas um número mínimo destes receberão cuidados mínimos de diagnóstico e tratamento, levando a mortes, principalmente na Índia e China <sup>4</sup>.

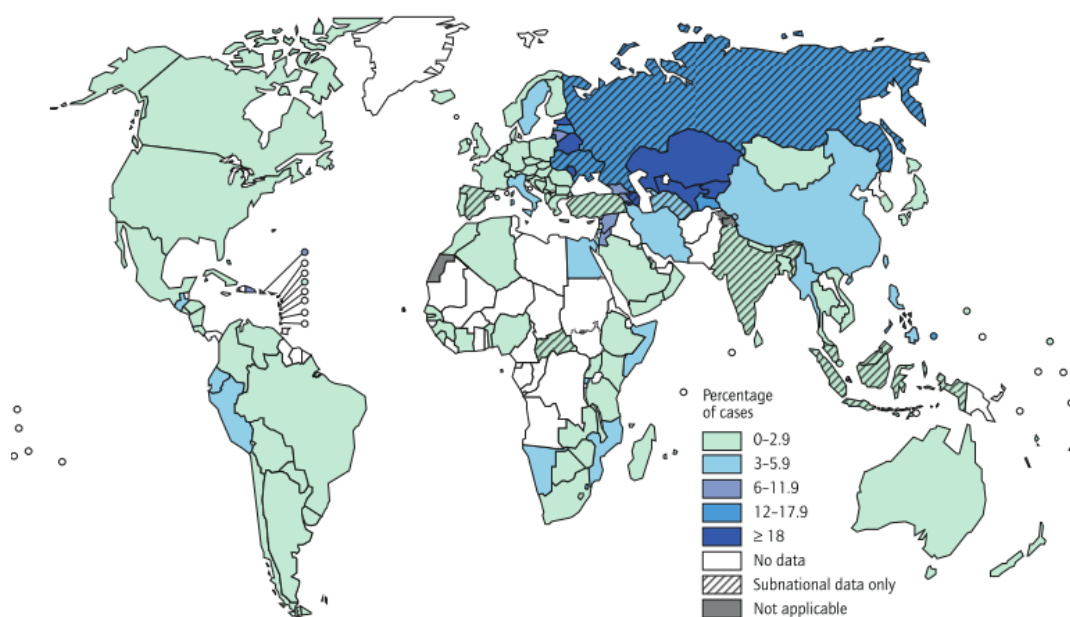


Fig. 2 - Estimativa de novos casos (em percentagem) de TB com resistência a TB. <sup>4</sup>

Um dos maiores obstáculos ao controlo da MDR-TB é a necessidade de capacidade laboratorial para a detetar, que é quase inexistente na maior parte dos países afetados: da totalidade dos casos registados em todo o mundo, 60 000 são notificados na Europa e na África do Sul, e mais de metade dos 27 países de mais alta prevalência não têm meios laboratoriais para diagnosticar a MDR-TB <sup>4</sup>.

### SITUAÇÃO DA UE E PORTUGAL

Na região europeia, os Estados-Membros de Leste apresentam taxas de notificação muito mais elevadas que os da Europa Ocidental, apesar de a região incluir apenas 4,7% dos novos casos detetados e recaídas de TB ao nível mundial <sup>6</sup>.

Portugal continua entre os países de incidência intermédia, o único na Europa Ocidental (Fig. 3).

# Influência da farmacogenómica na terapêutica da tuberculose



Fig. 4 - Taxa de incidência nos países da UE 2010 <sup>8</sup>.

Em Portugal, a TB faz parte das doenças de declaração obrigatória (Anexo I) <sup>7</sup>. No ano de 2011, foram diagnosticados 2388 casos de tuberculose, incluindo casos novos e re-tratamentos, dos quais 2016 são nacionais e 372 (16,6%) são estrangeiros. A incidência dos casos novos foi de 2231, ou seja,  $21/10^5$  habitantes. Isto representa uma redução de 9,6% relativamente à taxa de incidência definitiva em 2010, dando continuidade à evolução para uma diminuição consistente desde 2002 (Fig. 4). Assiste-se a um decréscimo médio anual de 6,4%. É uma tendência que coloca o país numa situação mediana, fazendo-o convergir para a média europeia e aproximando-o da fasquia dos 20 casos por 100 mil habitantes, limite que define os países de baixa incidência. <sup>8</sup>

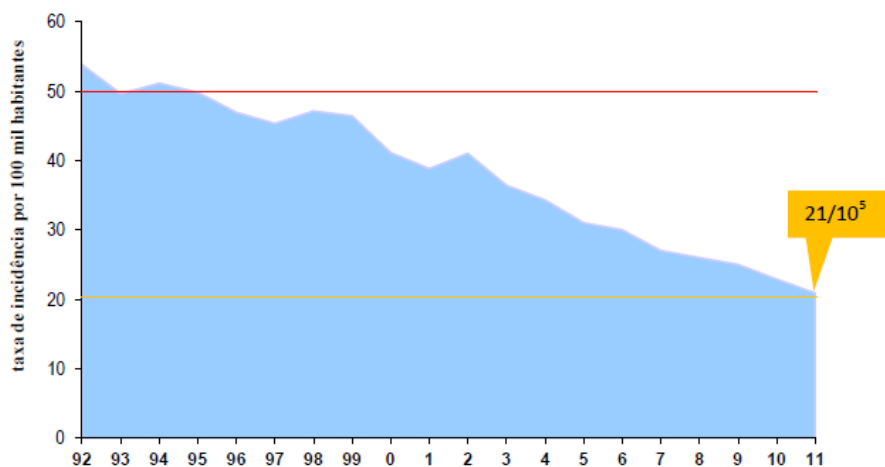


Fig. 3 - Taxa de Incidência: evolução em 20 anos (1992-2011); 2011 - 21 novos casos por 100 mil habitantes. Acima da linha encarnada considera-se alta incidência, abaixo da linha laranja situam-se os valores de baixa incidência. <sup>8</sup>

## Influência da farmacogenómica na terapêutica da tuberculose

As pessoas mais afectadas são os homens dos 35 aos 44 anos, sendo que os imigrantes têm quase 3,5 vezes mais probabilidade de contrair tuberculose que os nacionais. A infecção VIH/SIDA, o factor de risco mais importante, tem uma prevalência atual de 11% entre os casos de TB, o que significa um decréscimo do número de doentes para menos de metade nos últimos 10 anos. A toxicodependência, o alcoolismo, a reclusão e a situação de sem abrigo são, não só factores importantes de risco para a doença, mas também determinantes para o prognóstico. Contudo, em mais de 65 % dos casos de TB não há factores de risco identificados. Este facto traduz ainda a existência de elevado potencial de transmissão na comunidade.

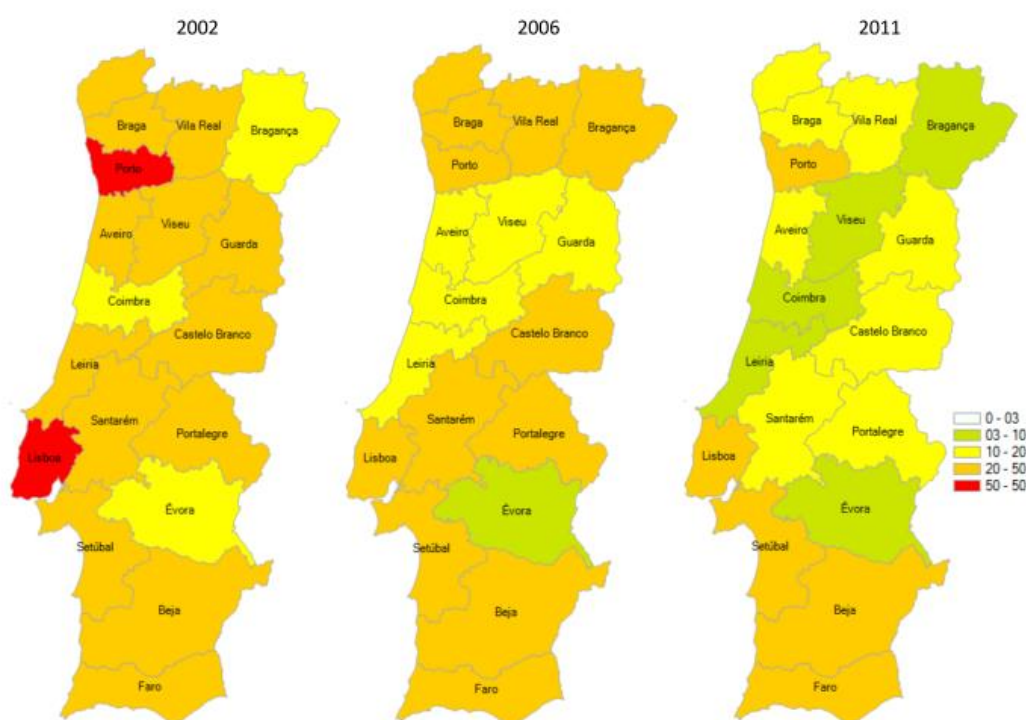


Fig. 5 - Taxa de Incidência de casos novos de TB notificados por 100 mil pessoas: distribuição geográfica e evolução desde há 10 anos (2002 à esquerda, 2006 ao centro e 2011 à direita). Distritos com alta incidência a encarnado, incidência intermédia a laranja e distritos com baixa incidência a verde <sup>8</sup>.

Há 10 anos havia dois distritos com alta incidência e apenas 3 com baixa incidência. Em 2011, não havia distritos com alta incidência e havia 13 distritos com baixa ou muito baixa incidência de TB (Fig.4).

A emergência de casos de TB multirresistente (MDR-TB) em Portugal, apresenta uma incidência que está abaixo da mediana dos países da Europa Ocidental (1,5% dos

## Influência da farmacogenómica na terapêutica da tuberculose

casos de TB notificados e testados em 2009), mas tem particular expressão na região de Lisboa e Vale do Tejo<sup>9</sup>.

Entre os casos de MDR-TB, tem sido muito elevada a proporção de casos extensivamente resistentes (XDR-TB), ou seja, a forma mais grave. Este facto teve um efeito cumulativo na prevalência de casos em tratamento por muitos anos, perpetuando-se as fontes de infecção. O carácter endémico, que assim adquiriu, motivou a declaração de área de alta prioridade no plano de ação e a criação do Centro de Referência Nacional para a MDR-TB, levando conseqüentemente, à implementação de um novo paradigma na abordagem do problema. Atualmente está operacional uma rede de referência ao nível das regiões, verificando-se já que a prevalência está a diminuir e a cura está a aumentar significativamente. Contudo, ainda não é claro se a incidência de novos casos está a melhorar, sendo que há um predomínio de casos sem tratamentos anteriores<sup>9</sup>.

### ETIOLOGIA

As micobactérias têm uma complexa parede celular rica em lípidos (Fig. 6). Esta parede celular é responsável por muitas das propriedades características da bactéria (p. ex.: ácido-resistência, crescimento lento, resistência a detergentes, resistência aos antibióticos e antibacterianos comuns, antigenicidade, aglutinação). A estrutura básica da parede celular é típica da parede das bactérias Gram positivas: uma membrana plasmática interna recoberta por uma camada espessa de peptidoglicano e ausência de membrana externa. No entanto, a estrutura da parede celular nas micobactérias é muito mais complexa do que em outras bactérias Gram positivas<sup>10</sup>. Embora classificadas como Gram-positivas, as micobactérias não são coradas pela coloração de Gram, mas pelos métodos de Ziehl-Neelsen e de Kinyoun<sup>5</sup>.

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

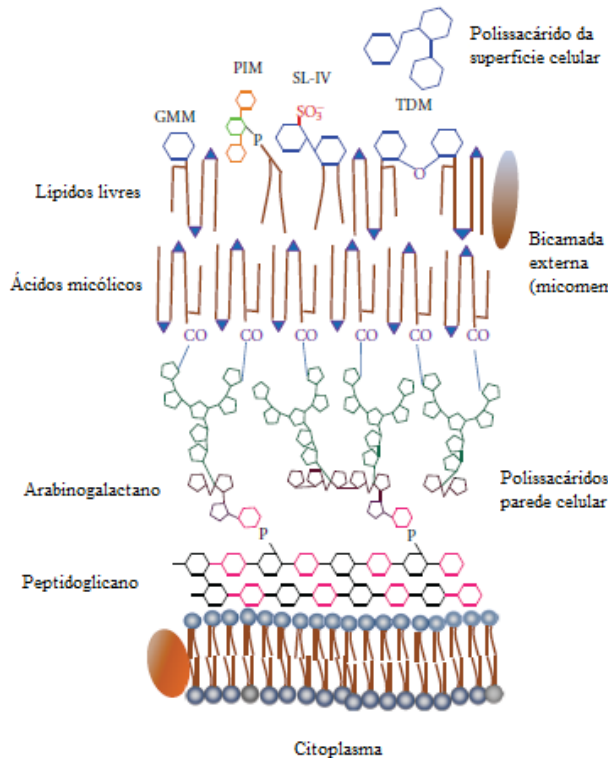


Fig. 6 - Matriz ultraestrutural proposta para a parede celular da *M. tuberculosis*. A parede celular inclui uma grande variedade de lipídios (representado na cor castanha, com grupos funcionais polares em azul) e glicídios (esquematizado por hexágonos e pentágonos em cores diferentes). Ao redor da membrana plasmática, parede celular de peptidoglicano está ligado a um outro polissacarídeo, o arabinogalactano. A cadeia longa de ácidos gordos, os ácidos micólicos, estão ligados a através de ligações éster arabinogalactano. Uma bicamada lipídica externa chamada micomembrana é formada por ácidos micólicos e lipídios anfipáticos livres. Finalmente, algumas estirpes exibem sacarídeos livres, tais como o glucano, a camada mais externa. GMM-glucose monomicolato; PIM-fosfatidilinositolmanósido; SL-sulfatídeo; TDM, trehalose dimicolato ou fator corda <sup>72</sup>.

*M. tuberculosis* é uma bactéria patogênica aeróbia obrigatória, de crescimento lento, imóvel, não formador de esporos, de aproximadamente 0.4  $\mu\text{m}$  de largura e 3-4  $\mu\text{m}$  de comprimento. Uma vez corados, os bacilos não podem ser decolorados com soluções ácidas; por isso é chamada de bactéria ácido-resistente. Pelo facto de a parede celular das micobactérias ser complexa e este grupo de microrganismos ser fastidioso, muitas micobactérias crescem lentamente dividindo-se a cada 12-24 horas e requerendo um período de 8 semanas para que o crescimento seja detetado em culturas de laboratório <sup>10,11,12</sup>.

Junto à parede celular estão proteínas, manosídios de fosfatidilinositol e lipoarabinomanana (LAM). O LAM é funcionalmente relacionado aos lipopolissacarídeos antigénicos O, presentes em outras bactérias que tem um papel crucial para a sobrevivência da micobactéria dentro dos macrófagos do hospedeiro.<sup>13</sup> A camada de peptidoglicano forma a base sobre a qual está ancorada o arabinogalactano, um polissacarídeo ramificado que consiste em D-arabinose e D-galactose. O resíduo terminal de D-arabinose é esterificado a ácidos micólicos hidrofóbicos de alto peso molecular, ligados a moléculas glicolípídicas de superfície, que lhe confere uma elevada resistência aos antibióticos, devido à baixa permeabilidade desta estrutura. Os

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

componentes lipídicos compreendem 60% do peso da parede celular.<sup>13</sup> Proteínas de transporte e porinas estão intercaladas por todas as camadas da parede celular e constituem 15% do peso da parede. As proteínas são antigénios biologicamente importantes, pois estimulam a resposta imunológica do paciente à infecção. Preparações extraídas e parcialmente purificadas destes derivados proteicos (derivados de proteína purificada ou PPDs) são utilizadas como reagentes de testes de pele para medir exposição a *M. tuberculosis*. Preparações semelhantes de outras micobactérias são usadas como reagentes de testes de pele espécie-específicos<sup>10</sup>.

### TRANSMISSÃO

*M. tuberculosis* é transmitida de um paciente com tuberculose pulmonar infecciosa através de gotículas, aerossol por tosse, espirro ou até mesmo ao falar. As pequenas gotículas secam rapidamente, mas as menores (inferiores a 10µm de diâmetro) podem permanecer suspensas na atmosfera durante várias horas. Quando os núcleos de gotículas inalados atingem os espaços aéreos terminais do pulmão, os bacilos, transportadas com as gotas, começam a crescer durante 2 -12 semanas antes de qualquer resposta imune do hospedeiro. Os fatores de risco para a transmissão incluem a proximidade de contacto, o tempo de contacto, o grau de infecciosidade do processo e para o ambiente partilhado de contacto. É preciso notar que os pacientes que têm baciloscopia negativa e cultura positiva são menos infecciosos que os pacientes com cultura negativa<sup>13,14</sup>.

Esta doença geralmente afeta os pulmões, apesar de outros órgãos estarem envolvidos em um terço dos casos. Se não for tratada, a doença pode ser fatal dentro de 5 anos em 50-65% dos casos. A transmissão geralmente ocorre através da disseminação de gotículas no ar produzido por pacientes com tuberculose pulmonar bacilífera<sup>15</sup>. A propagação da doença ocorre apenas na forma pulmonar, as extrapulmonares não são transmissíveis<sup>16</sup>.

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

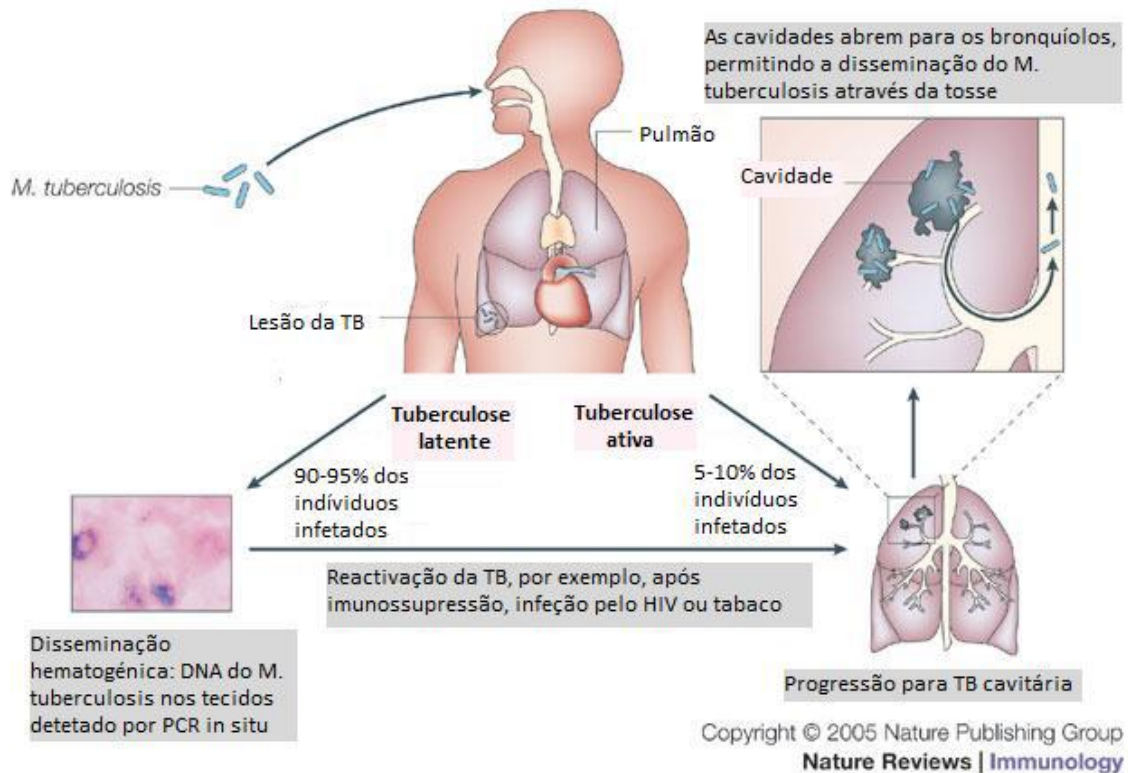


Fig. 7 - Fases da infecção pelo *M. tuberculosis* <sup>17</sup>.

## PATOGÊNESE

Núcleos de gotículas no ar contendo bacilos podem alcançar os espaços aéreos terminais onde a multiplicação começa. O foco inicial é geralmente subpleural e na zona média do pulmão (as partes inferiores dos lobos superiores e as partes superiores e médias dos lobos inferiores), onde um maior fluxo de ar favorece a deposição de bacilos. O foco pulmonar inicial é normalmente único, apesar de vários focos estarem presentes em cerca de um quarto dos casos.

As bactérias são ingeridas pelos macrófagos alveolares, que podem ser capazes de eliminar um pequeno número de bacilos. No entanto, a multiplicação bacteriana tende a ser facilitada, destruindo o macrófago. Linfócitos transmitidos pelo sangue e monócitos são atraídos para este foco. Os monócitos diferenciam-se em macrófagos, que ingerem os bacilos libertados a partir de células degeneradas, e a pneumonia desenvolve-se lentamente. Macrófagos infectados são transportados por vasos linfáticos para os nódulos linfáticos regionais (hilares, mediastínicos, e, por vezes, supraclaviculares ou retroperitoneais), mas num hospedeiro não imune podem espalhar-se por todo o corpo por via hematológica. Durante esta oculta disseminação linfo-hematológica, alguns

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

tecidos favorecem a retenção e multiplicação bacilar. Estes incluem os nódulos linfáticos, os rins, epífises dos ossos longos, áreas adjacentes ao espaço subaracnoide e, o mais importante, os domínios apicais posteriores dos pulmões. Antes do desenvolvimento da hipersensibilidade (reatividade à tuberculina), é inibido o crescimento microbiano, tanto no foco inicial como em focos metastáticos, proporcionando um ninho para a doença progressiva subsequente nos ápices do pulmão e em sítios extrapulmonares, imediatamente ou após um período de latência variável <sup>18</sup>.

Os fagócitos têm duas formas de lidar com a fusão das micobactérias. Uma delas é através dos fagossomas que, contendo as micobactérias e lisossomas, criam fagolisossomas. A via de sinalização de  $Ca^{2+}$  e o recrutamento de ATPase transportadoras de prótons vacuolares, levam a uma diminuição do pH do fagolisossoma, que por sua vez permite que as hidrolases ácidas funcionem de forma eficiente exercendo o efeito microbicida. A outra forma de os fagócitos interagirem com as micobactérias é através de ubiquitinação da parede celular da micobactéria e dos componentes da membrana, o que por sua vez leva a um aumento da suscetibilidade para o óxido nítrico produzido pelos fagócitos. Este processo leva à apoptose fagocitária <sup>10,19</sup>.

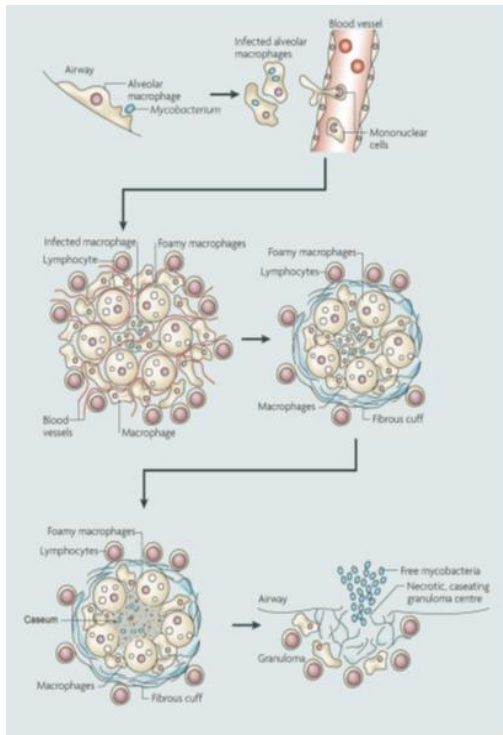
Esta forma de defesa, no entanto, mostra-se ineficiente com os bacilos, pois estes têm a capacidade de sobreviver dentro de macrófagos ao modular o comportamento do seu fagossoma, impedindo a sua fusão com ácido <sup>13</sup>. As proteínas ESAT-6 associam-se com lipossomas contendo dimiristoilfosfatidilcolina e colesterol, provocando a desestabilização e a lise de lipossomas. Também podem infiltrar-se na membrana do fagossoma provocando a sua lise e assim permitir que as micobactérias escapem <sup>13</sup>. Nesta etapa inicial de interação, ou os macrófagos conseguem conter a reprodução bacilar através da fixação da produção de citocinas e enzimas proteolíticas ou, os bacilos conseguem sobreviver e multiplicar-se, conduzindo a lise dos macrófagos. Através de quimiotaxia, os monócitos chegam ao local de infecção para ingerir os bacilos após a lise dos macrófagos. Através da lise ou apoptose, os antígenos de micobactérias são expostos e apresentados a linfócitos T, que irão orquestrar a resposta imunitária. Na sequência destes acontecimentos, o sistema imunitário do hospedeiro ativa mais dois mecanismos para combater as bactérias invasoras: uma resposta do tecido prejudicial e uma resposta de ativação de macrófagos. A resposta do tecido prejudicial é uma reação

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

de hipersensibilidade do tipo retardado aos antígenos bacilares que conduzem à destruição de macrófagos "infetados". A ativação de macrófagos é focada na ativação de macrófagos específicos para ingerir e destruir as bactérias. Macrófagos locais são ativados quando os macrófagos não específicos apresentam antígenos bacilares aos linfócitos T, estimulando-os a libertar linfocinas. Dependendo de que um dos dois mecanismos é predominante, a forma posterior da tuberculose é determinada. Se predominar a ativação de macrófagos, um grande número de macrófagos ativados chegam ao local de infecção e começam a formar-se lesões granulomatosas. Durante esta fase inicial, e sob o efeito de um fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), o granuloma torna-se altamente vascularizado, proporcionando o caminho para os linfócitos e os macrófagos chegarem ao local <sup>15</sup>. Uma vez no local, os macrófagos irão diferenciar-se em células gigantes multinucleadas, células epitelióides e macrófagos espumosos <sup>19</sup>. Estas células irão, por sua vez, formar a parede exterior do granuloma. Os linfócitos afastam-se do centro e agregam-se fora desta camada fibrosa. A resposta do tecido nocivo, por outro lado leva a destruição dos macrófagos que não conseguem conter os bacilos e, por sua vez cria uma área de necrose no centro do tubérculo com macrófagos mortos. Devido a baixa de oxigênio, presença de óxido nítrico, deficiência de nutrientes e pH muito ácido, a micobactéria não pode continuar a multiplicar-se no interior dos centros de tubérculos, mas pode sobreviver e permanecer dormente <sup>20</sup>. A região central necrosada assemelha-se à textura de um queijo. O que lhe concedeu o nome de necrose cavitária. Neste ponto, alguns dos tubérculos calcificam e curam enquanto outros evoluem. Dois tipos distintos por granulomas foram identificados. Os granulomas cavitários clássicos são compostos de macrófagos, neutrófilos, epiteliais e outras células do sistema imunológico rodeados por fibroblastos. O segundo tipo de granulomas (lesões fibróticas) é composto principalmente por fibroblastos e contém poucos macrófagos. É preciso notar que mesmo os cicatrizados (tuberculose fibrótica) podem conter micobactérias num estado dormente. Tem sido sugerido que o centro cavitário do granuloma não é o local onde a resposta imune do hospedeiro é organizada e mantida, mas sim o local onde os macrófagos podem apresentar os seus antígenos. Se a resposta do tecido prejudicial predomina, devido a uma semana de resposta dos macrófagos, a lesão inicial não pode ser controlada e continua a crescer às custas dos tecidos circundantes. Paredes brônquicas e vasos sanguíneos são destruídos neste

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

processo (daí que hemoptise seja um sintoma da tuberculose galopante) e cavidades são gradualmente formadas<sup>13,19</sup>.



**Fig. 8** - Os primeiros eventos após a infecção com o *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) parecem relativamente consistente. A infecção é iniciada após a inalação de bacilos viáveis encontrados na atmosfera lançados por indivíduos com infecção ativa. Estes bacilos podem persistir no ambiente durante várias horas e, porque a dose infecciosa é na gama de 1-10 bacilos, isso faz com que a transmissão de um processo extremamente eficiente. Uma vez no pulmão os bacilos são fagocitados pelos macrófagos alveolares. Internalização dos bacilos desencadeia uma resposta pró-inflamatória que induz os macrófagos para invadir o epitélio subjacente. Esta resposta também leva ao recrutamento de células mononucleares a partir de vasos sanguíneos adjacentes. Estes monócitos formam a matriz celular do granuloma no início, que é a principal característica da doença. Na sua fase inicial, o granuloma tem um núcleo de macrófagos infectados delimitados por macrófagos espumosos e outros fagócitos mononucleados, rodeada por linfócitos. Esta resposta do tecido contém a infecção e significa o fim do período de replicação rápida para Mtb. Como o granuloma amadurece desenvolve uma grande cápsula fibrosa

que envolve o núcleo do macrófago e exclui a maioria dos linfócitos a partir do centro da estrutura. Concomitante com esta transição há uma acentuada redução no número de vasos sanguíneos que penetram o granuloma. Nesta fase, há um aumento notável no número de macrófagos espumosos dentro da cápsula fibrosa<sup>21</sup>.

Imunidade mediada por células, mais especificamente, os macrófagos e os linfócitos T CD 4+, desempenha um papel muito importante. Os macrófagos infectados produzem uma variedade de citocinas: a interleucina 1 (IL1), que conduz ao aparecimento de febre; a interleucina 6 (IL6), que leva a hiperglobulinemia; e o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), que contribui para a morte das micobactérias, para a formação de granulomas caseosos, para a febre e perda de peso. Linfócitos T ativados tipo helper 1 participar na destruição de células infetadas através de um processo de MHC de classe II restrito. Também produzem interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e interleucina 2 (IL2) e promovem a imunidade mediada por células. Uma vez que o crescimento bacilar é estabilizado, a presença de células T CD 8+ ganha importância, tanto para a produção de IFN- $\gamma$  como para o aumento da atividade citotóxica. Este é um período de impasse em que a carga bacilar permanece relativamente constante e que a infecção está no estado de latência<sup>21</sup>. Mais recentemente, foi demonstrado que a IL-1- $\beta$ , um subtipo de interleucina-1, que desempenha um papel importante como mediador na resposta imune

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

do hospedeiro, é induzida quando ESAT-6 é segregada a partir do bacilo. IL1- $\beta$  é ativado através do inflamassoma, um complexo proteico ativado de caspase (Fig. 9). As caspases são proteases de cisteína-aspartato que desempenham um papel na resposta a inflamação e apoptose. Micobactérias têm desenvolvido a capacidade de parar a formação do inflamassoma, segregando uma metaloprotease Zn<sup>2+</sup>. A micobactéria secreta enzimas (Rv3654c e Rv3655c) dentro do citoplasma de macrófagos com capacidade para clivar a caspase. Deste modo, os bacilos previnem a apoptose de macrófagos, impedindo a formação da inflamassoma<sup>13</sup>. Demonstrou-se que é mais vantajoso para o crescimento bacteriano que os macrófagos sejam dirigidos para a lise em oposição à apoptose<sup>19,22</sup>.

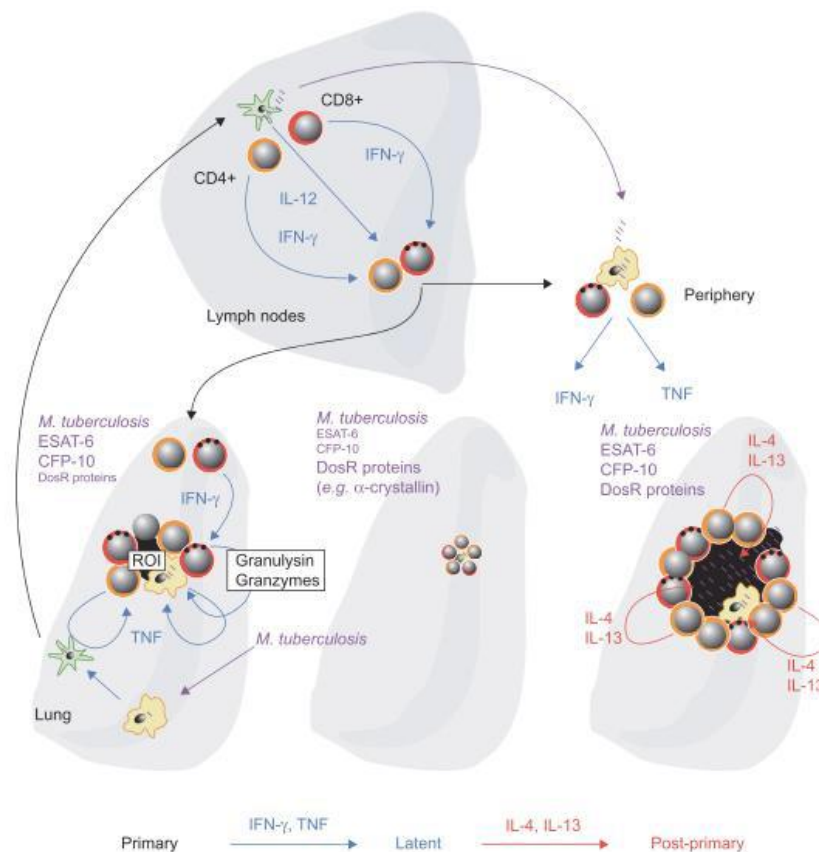


Fig. 9 - Esquema da resposta provocada pelo *M. tuberculosis* (primário, latente e ativo)

As micobactérias são completamente erradicadas apenas em cerca de 10 % dos casos, enquanto nos restantes, os bacilos sobrevivem nos próximos anos. Este estado tem sido chamado de infecção tuberculosa latente. Quando a resposta imunitária do hospedeiro diminui, existe um risco de a micobactéria se reativar e levar a uma infecção de tuberculose ativa. A maioria dos novos casos de tuberculose em países com baixa

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

incidência resulta da reativação de infecções de tuberculose latente. É interessante notar que a expressão de antígenos de dormência DosR regulados continua, mesmo nesta fase latente da infecção, proporcionando um alvo novo e promissor para as vacinas que ajudam infecções TB latentes de batalha no futuro <sup>23</sup>. Também é provável que o *M. tuberculosis*, durante a fase latente de infecção pode formar estruturas semelhantes a esporos, tipicamente observados em outras micobactérias, em resposta à fase estacionária prolongada ou fome de nutrientes, para a sua sobrevivência<sup>24</sup>. Isto é conseguido principalmente através dos efeitos de uma família de cinco proteínas, apelidado de fatores que promovem reanimação (rPFS), que têm o efeito de uma transglicosilase lítica. Estas moléculas foram encontradas para serem capazes de provocar a degradação dos componentes da parede celular de micobactérias. Não se sabe exatamente como esta atividade está relacionada com o processo de recuperação, no entanto teorizou-se que o resultado final desta atividade enzimática leva a mudanças na parede celular da micobactéria, superando as restrições ambientais levando à sua multiplicação. Outra teoria indica que as alterações introduzidas na parede bacteriana levam à produção e secreção de peptidoglicanos com a capacidade de modular o ambiente e a resposta imunitária do hospedeiro <sup>19</sup>.

Após a exposição à bactéria, o paciente tem uma probabilidade de 5-10% de desenvolver tuberculose ativa. Os factores de risco que determinam esta progressão incluem a idade, a susceptibilidade inata do indivíduo à doença e o nível de função de imunidade mediada por células. Várias doenças predispõem o paciente a desenvolver tuberculose ativa, entre elas a coinfeção VIH. Pacientes com diabetes têm 2-5 vezes maior risco para desenvolver a doença ativa, enquanto que o risco relativo de pacientes com insuficiência renal crônica sobe para 10-25 vezes mais <sup>14,22</sup>.

### DIAGNÓSTICO

O diagnóstico rápido e preciso da TB e o início precoce do tratamento são factores de grande importância para reduzir a morbidade, mortalidade e minimizar o risco de contágio <sup>25</sup>.

Segundo a OMS, estima-se que 2 bilhões de pessoas alberguem a infecção latente do *M. tuberculosis* sem quaisquer manifestações clínicas <sup>26</sup>.

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

Clinicamente, a tuberculose tem duas formas: uma forma ativa e uma forma latente (que é assintomática e não contagiosa). Se não for diagnosticado e tratado, um paciente com tuberculose pulmonar ativa irá transmitir a infecção para 10-15 pessoas a cada ano<sup>27</sup>.

O diagnóstico tradicional da TB geralmente requer alta apresentação clínica, materiais de laboratório, e métodos para baciloscopia, radiografia de tórax e teste da tuberculina. Amostras de tecido são normalmente necessárias para confirmar os resultados preliminares em casos de TB extra pulmonar. Todos estes testes têm as suas respectivas deficiências.



**Fig. 10 - Radiografia ao tórax mostrando infiltração superior-direita num paciente com tuberculose ativa<sup>15</sup>.**

Na TB pulmonar verificam-se, quase sempre, alterações na radiografia ao tórax (Fig. 10) que pode apresentar os infiltrados com cavitação característicos, nos lobos superiores e médios dos pulmões<sup>18</sup>. Contudo, em doentes idosos e doentes com formas avançadas de infecção pelo VIH ocorrem frequentemente as formas não cavitárias e podem ter infiltrados nos lobos inferiores<sup>15</sup>.

A suspeita de TB pode ser baseada na clínica e nas alterações

radiológicas, no entanto, o diagnóstico definitivo requer o isolamento do agente etiológico, efectuado em amostras respiratórias ou extra-respiratórias ou, no caso de amostra respiratória detecção de TAAN e baciloscopia positiva. No entanto, o exame gold-standard para o diagnóstico de TB continua a ser o isolamento do agente etiológico numa cultura microbiológica<sup>25,28,27</sup>. Apesar de o exame se manter como gold-standard no diagnóstico, é um processo muito demorado. No entanto, desempenha um importante papel no diagnóstico presuntivo da TB. Baseia-se nas características da parede celular das micobactérias, com elevado teor em lípidos, o que lhes confere resistência à descoloração por álcool-ácido. A técnica de Ziehl-Neelsen (ZN) (Fig. 11) é uma das

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

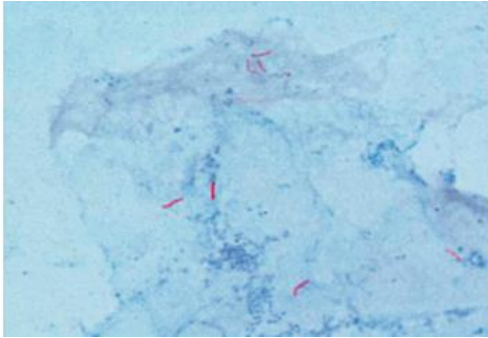


Fig. 11 - Bacilo ácido-resistente (*M. tuberculosis*)<sup>15</sup>.

mais utilizadas, apesar de não diferenciar o tipo de BAAR, nem permitir distinguir bacilos vivos de bacilos mortos. Mesmo nos casos assintomáticos, ou com radiografia de tórax normal, um resultado cultural positivo define um caso ativo, com necessidade de tratamento<sup>25,28,27</sup>.

Os testes de amplificação de ácidos nucleicos (TAAN) surgiram com o intuito de fornecer ao clínico um resultado mais rápido e preciso. Os TAAN, dos quais o mais vulgarmente usado é o PCR, são testes de detecção rápida, que permitem uma resposta em 24 a 48 horas e são específicos para o *M.Tuberculosis*-complex<sup>25</sup>.

Uma vez recuperados de uma infecção primária de tuberculose, a infecção torna-se latente, as amostras de cultura são negativas e as radiografias são geralmente normais.<sup>28</sup> Estes doentes também não possuem sinais ou sintomas de infecção, e não são



Fig. 12 - Medindo o endurecimento e não o eritema<sup>28</sup>.

infecciosos para os outros. O teste da tuberculina é o método mais comum usado para triagem de tuberculose latente<sup>15,27,28</sup>.

O teste da tuberculina é realizado por injeção intradérmica de derivado de proteína purificada (PPD) que contém cinco unidades de tuberculina. Após 48 a 72 horas, o local da injeção é examinado na área de endurecimento, e não na área de eritema. O teste da tuberculina é positivo consoante o tamanho do endurecimento e o grupo de risco ao qual o doente pertence (Fig. 12).

O teste é limitado no diagnóstico de TB ativa por causa da sua baixa sensibilidade, especificidade e incapacidade de distinguir entre a infecção latente e ativa. Falsos-negativos são comuns em pacientes imunossuprimidos. Falsos-positivos podem ser causados por infecções por micobactérias não tuberculosas e pela vacinação BCG<sup>15</sup>.

Mais testes foram desenvolvidos para detetar a infecção latente da TB, o primeiro teste foi QuantiFERON, baseado na estimulação dos linfócitos T com PPD e medição

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

da produção de IFN- $\gamma$ . Este teste foi melhorado posteriormente utilizando proteínas ESAT-6 e CFP-10 como estimulantes dos antígenos. A versão mais recente do teste usa ESAT-6 e CFP-10 e TB7.7 peptídeos como antígenos. Este teste, tal como o teste da tuberculina é incapaz de distinguir entre a infecção latente e ativa mas tem como vantagem não reagir à vacina BCG <sup>15,27,28</sup>.

As biopsias podem ter implicações diagnósticas, particularmente nas formas extrapulmonares, dado que o valor diagnóstico de amostra histológica da serosa envolvida é superior ao estudo citológico do líquido associado <sup>25</sup>.

## MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Alguns pacientes com TB pulmonar não demonstram nenhum indício da doença, outros apresentam sintomas aparentemente simples que são ignorados durante alguns meses ou anos. Na maioria dos casos, os sinais e sintomas mais frequentes são tosse seca e contínua no início e, em seguida, presença de secreção por mais de três semanas, a qual se transforma, na maioria das vezes, numa tosse produtiva purulenta ou hemoptise; astenia; febre baixa, geralmente vespertina; sudorese noturna; inapetência; palidez; emagrecimento acentuado; rouquidão e prostração. Nos casos graves, os pacientes podem apresentar dispneia; hemoptise maciça; colapso do pulmão e empiema pleural, se houver comprometimento dessa membrana <sup>28,5</sup>.

## TRATAMENTO

### TRATAMENTO TB NÃO RESISENTE

Quanto ao tratamento, os medicamentos considerados agentes de primeira linha para o tratamento da tuberculose são: isoniazida (H), rifampicina (R), pirazinamida (Z) e etambutol (E). Estes medicamentos são bem absorvidos após administração por via oral, com níveis de pico no soro de 2-4 horas e eliminação quase completa em 24 horas. Estes agentes são recomendados em função da sua atividade bactericida (capacidade para reduzir rapidamente o número de organismos viáveis tornando os pacientes não infecciosos), a sua atividade de esterilização (capacidade para matar todos os bacilos, esterilizando os tecidos afectados, prevenindo recidivas), e a sua baixa taxa de indução de resistência aos fármacos <sup>15</sup>.

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

Para o tratamento da tuberculose existem guidelines elaboradas pela OMS que devem ser seguidas por profissionais de saúde e pelos próprios doentes. Os novos casos de tuberculose pulmonar, sem coinfeção por VIH, devem receber a primeira fase do tratamento diariamente, sempre que possível. Após esta fase de tratamento diário intensivo deverão realizar o tratamento de HRZE durante 2 meses, para evitar o desenvolvimento de resistência à R e H, e depois 4 meses de HR (fase de manutenção). Estas duas fases de tratamento devem ser divididas em doses de três vezes por semana, sendo todas as doses monitorizadas e o doente não deverá estar próximo de focos de infeção por TB. A R irá matar os bacilos dormentes residuais e a H destrói os mutantes

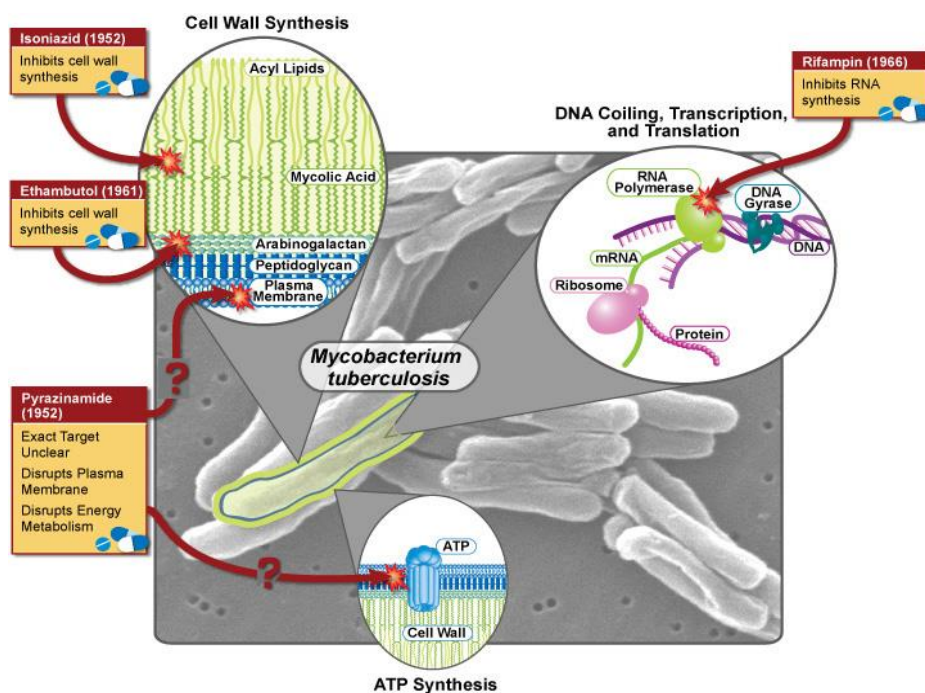


Fig. 13 - Mecanismos de ação dos antibióticos de primeira linha <sup>37</sup>.

resistentes à R que iniciem a replicação (Fig. 13). A introdução da R, o mais potente dos fármacos contra a TB, revolucionou a terapia, permitindo reduzir a sua duração para 6 meses <sup>29,26</sup>.

A terapia com tuberculostáticos irá, provavelmente, envolver sempre um *cocktail* de fármacos, devido à natureza singular da bactéria, pois é difícil desenhar uma molécula única que possa, simultaneamente destruir as populações bacterianas que se replicam ativamente, as semi-latentes e as latentes <sup>30</sup>. Além disso, após a fase inicial intensiva da terapêutica, quando os sintomas diminuem, muitos pacientes interrompem a medicação, sobretudo pelo preço elevado e efeitos tóxicos associados. As reações

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

adversas mais frequentes são as reações de hipersensibilidade dérmica, toxicidade hepática e complicações neurológicas <sup>29</sup>. A R provoca uma condição semelhante à gripe, designada por síndrome gripal. As reações de hipersensibilidade dérmica são habitualmente, ligeiras, mas podem ocorrer formas mais graves e potencialmente fatais (incluindo o síndrome de síndrome Stevens-Johnson), especialmente em portadores do VIH <sup>29</sup>. Relativamente à toxicidade hepática, esta é induzida por todos os agentes de primeira linha, principalmente pela H e é habitualmente ligeira, mas em casos raros, pode ocorrer hepatite fatal. As complicações neurológicas estão principalmente associadas à H e podem ser evitadas pela toma de vitamina B6 (piridoxina) <sup>29</sup>. Além disso, alguns agentes antituberculosos inibem ou aumentam os efeitos de outros fármacos, o que tem sérias implicações clínicas, principalmente para doentes coinfectados pelo VIH. A maioria das interações reportadas envolve a R e outras rifamicinas, pois induzem os citocromos, enzimas envolvidas no metabolismo de muitos fármacos, reduzindo os níveis destes agentes <sup>31,32</sup>.

Outros problemas prendem-se com erros na prescrição, que podem levar à recaída e disseminação da doença e também contribuem para a emergência de estirpes bacterianas resistentes <sup>4</sup>.

### TRATAMENTO TB RESISTENTE (MDR-TB E XDR-TB)

A TB resistente a fármacos compreende duas categorias de resistência (Fig.14): a MDR-TB e XDR-TB. A MDR-TB é a resistência na qual o *M. tuberculosis* é resistente aos dois melhores antibióticos de 1ª linha, H e R, e como consequência o tratamento leva mais de 2 anos. A XDR-TB é a resistência aos fármacos anteriormente

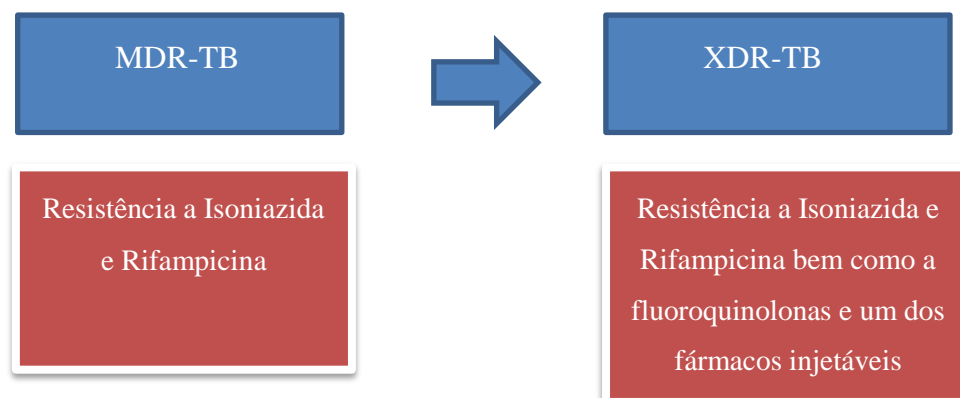


Fig. 14 - Definição de resistência da TB. Adaptado de <sup>34</sup>

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

mencionados bem como aos fármacos de 2ª linha de tratamento (fluoroquinolonas e um dos fármacos injetáveis: capreomicina, canamicina/amicacina) <sup>33,15</sup>.

Os regimes recomendados para o tratamento de MDR-TB requerem, pelo menos, 20 meses de tratamento com fármacos de segunda linha que são mais tóxicos, pouco tolerados e menos potentes, com taxas de cura entre 60-70% <sup>26,15,34,35</sup>. É necessário, para este tipo de tratamento, um elevado grau de cooperação do paciente, pois a taxa de abandono prematuro da terapêutica é maior do que na TB não resistente. Este abandono prematuro deve-se ao facto de que os medicamentos são menos potentes e mais tóxicos. A nível económico, os fármacos de segunda linha são mais caros, sendo que no passado o tratamento em países mais pobres era impossível <sup>36</sup>.

A segunda linha de medicamentos anti-TB são membros do grupo fluoroquinolona, agentes injetáveis, como aminoglicosídeos (canamicina, amicacina), ácido para-aminosalicílico (capreomicina), cicloserina, protionamida e tiacetazona. <sup>34</sup> As fluoroquinolonas, aminoglicósídeos e a capreomicina atuam na replicação do ADN e na síntese proteica e são os fármacos de segunda linha mais eficazes. <sup>36</sup> Os restantes antibióticos têm atividade bacteriostática (Fig. 15). O aumento do uso destes agentes deu origem a estirpes XDR, definidas como micobactérias MDR que são também resistentes a pelo menos uma fluoroquinolona e a um dos agentes injetáveis (AMK, KAN, CPM) <sup>35</sup>.

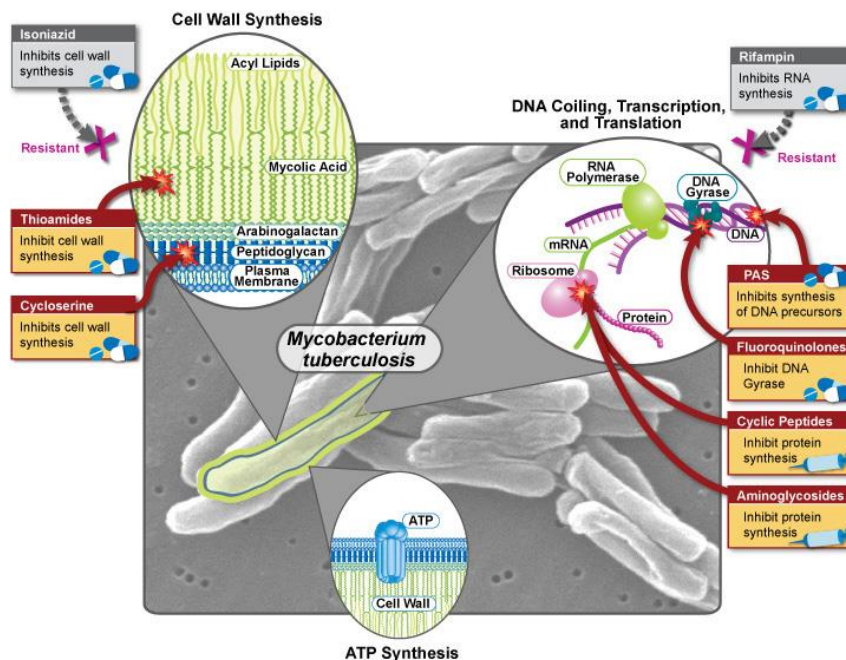


Fig. 15 - Mecanismos de ação dos antibióticos de segunda linha <sup>37</sup>

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

Nos casos de extrema resistência, que não permita o uso de cinco dos medicamentos a escolher, entre os de primeira e segunda linha, podem ser selecionados, a partir da lista não aprovada pela OMS, agentes de terceira linha (Fig. 16) como: Claritromicina, Amoxicilina + Ácido Clavulânico, Imipeném, Clofazimina, Linezolida, Tioridazina <sup>35</sup>.

| Classificação               | Nome                | mg/kg      | Dose média [máxima] (mg) |
|-----------------------------|---------------------|------------|--------------------------|
| Grupo 1                     | Isoniazida (H)      | 5          | 300 [300]                |
| Orais de 1.ª linha          | Rifampicina (R)     | 10         | 600 [600]                |
|                             | Pirazinamida (Z)    | 25 (20-30) | 1500 [2000]              |
|                             | Etambutol (E)       | 20 (15-25) | 1200 [2000]              |
|                             | Rifabutina (RIF)    | 5          | 300 [300]                |
| Grupo 2<br>Injectáveis      | Estreptomicina (S)  | 15         | 1000 [1000]              |
|                             | Canamicina (km)     | 15 – 20    | 750 – 1000 [1000]        |
|                             | Amicacina (Am)      | 15 – 20    | 750 – 1000 [1000]        |
|                             | Capreomicina (Cm)   | 15 – 20    | 750 – 1000 [1000]        |
| Grupo 3<br>Fluoroquinolonas | Ofloxacina (Ofx)    | 7,5 – 15   | 600 – 1000               |
|                             | Levofloxacina (Lfx) | -          | 500 – 1000               |
|                             | Moxifloxacina (Mfx) | -          | 400                      |

Fig. 16 - Grupos de 1ª, 2ª e 3ª linha de tratamento <sup>71</sup>.

Recentemente descobriu-se a sensibilidade da TB, resistente e não resistente, à vitamina C, que envolve a geração de radicais hidroxilo extremamente reativos através da reação de Fenton, o que nos dá conta de possíveis benefícios da adição de vitamina C no regime de tratamento, e sugere que o desenvolvimento de fármacos que geram stress oxidativo pode ser de grande utilidade no tratamento da tuberculose, diminuindo a sua duração <sup>38</sup>.

A estratégia Stop TB, que foi criada em parceria com a OMS, pretende, em 2015, reduzir o peso global da tuberculose em 50% em comparação com os níveis de 1990, reduzir a incidência da tuberculose de um caso por milhão de população por ano até 2050, ajudar a fortalecer os programas nacionais de tuberculose dos países afetados, melhorar condições de diagnóstico e reduzir os custos dos medicamentos de segunda linha de tratamento, que são muito caros <sup>34</sup>.

### METABOLIZAÇÃO DE COMPOSTOS ENDOGENOS E XENOBIÓTICOS

Na metabolização de compostos xenobióticos, intervêm três tipos de enzimas: enzimas de fase I, fase II e transportadores ABC. Estes têm como função diminuir a funcionalidade e a polaridade do composto, facilitando a sua solubilização em água e

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

posterior excreção. Os enzimas de fase I têm como função introduzir um grupo no composto xenobiótico ou endógeno tornando-o mais polar (através de oxidases, redutases e hidrolases) e, portanto, mais facilmente eliminável. Os enzimas fase II são também conhecidos como enzimas de conjugação pois podem adicionar um grupo funcional (grupo derivado de uma molécula endógena hidrossolúvel como a glutatona, ácido glucurônico, etc.) ao composto endógeno ou xenobiótico, aumentando ainda mais a sua polaridade. Por fim, as de fase III (ou transportadores ABC) são transportadores de efluxo, onde ocorre a saída do xenobiótico metabolizado do hepatócito para as vias biliares ou corrente sanguínea. Alguns transportadores também reconhecem moléculas endógenas que são conjugadas com o xenobiótico, facilitando assim a sua eliminação. Existem também enzimas de fase 0 (zero) que são transportadores com afinidade para compostos não metabolizados, mais hidrofóbicos, e são os responsáveis pela resistência a fármacos.

Os citocromos P450 (CYP) são um importante sistema bioquímico de enzimas envolvidos no metabolismo de compostos xenobióticos e endógenos<sup>39,40</sup>. Entre os vários enzimas de fase I e fase II da metabolização de compostos, o CYP (de fase I) desempenha um “papel central”. Estima-se que cerca de dois terços de todos os medicamentos comercializados hoje em dia sejam metabolizados por estes enzimas. No seu conjunto, as reações mediadas pelo P450 respondem por mais de 70% das biotransformações oxidativas de compostos xenobióticos, que incluem os fármacos e

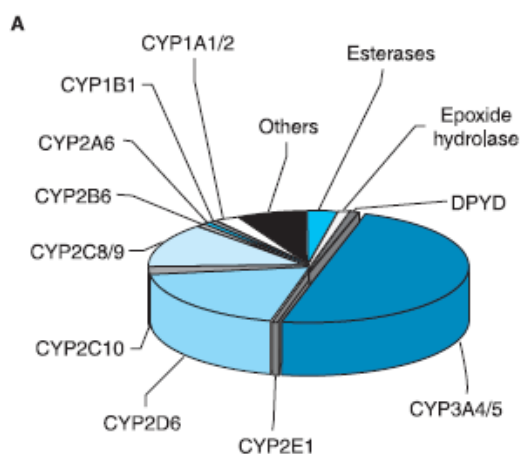


Fig. 17 - Percentagem estimada de medicamentos metabolizados pelos enzimas de fase I<sup>43</sup>.

poluentes ambientais (Fig. 17).<sup>41</sup> As reações de oxidação envolvem enzimas associadas a membranas, que são expressas no retículo endoplasmático (RE) dos hepatócitos e, em menor grau, nas células de outros tecidos. As enzimas que catalisam essas reações de fase I são tipicamente oxidases; essas enzimas são, na sua maioria, hemoproteínas monooxigenases da classe dos citocromos P450<sup>42</sup>.

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

Quando vários medicamentos são metabolizados pela mesma isoenzima, podem surgir interações clínicas importantes. Os substratos (substâncias metabolizadas pelo CYP) podem ser distinguidos dos inibidores (interferem com a decomposição de substratos, e são eles próprios metabolizados lentamente). A quantidade dos enzimas CYP hepático é um dos principais determinantes da capacidade metabólica. Um aumento da concentração do enzima conduz geralmente a uma metabolização acelerada. Muitas substâncias, tais como medicamentos, podem aumentar a expressão destes enzimas e, assim, atuar como indutores. Muitos destes indutores (Fig. 18) ativam fatores de transcrição específicos no núcleo dos hepatócitos, conduzindo à ativação da síntese

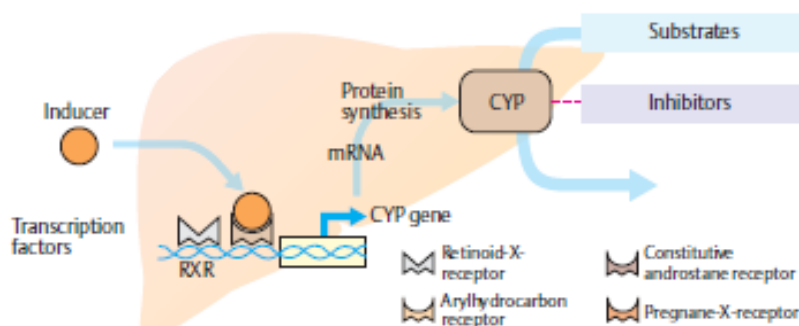


Fig. 18 - Indução ou inibição dos CYPs.<sup>44</sup>

de ARNm e, conseqüentemente, ao aumento da produção destas proteínas<sup>43,44</sup>.

Os enzimas de fase II são enzimas de conjugação. Duas das reações, sulfatação e glucuronidação, resultam na formação de metabolitos com maior hidrofília. A glucuronidação também aumenta significativamente o peso molecular do composto, o que favorece a excreção biliar. Com a exceção da glucuronidação, que está localizada no lado luminal do ER, todas as reações de fase II são realizadas no citosol. As taxas catalíticas de reações de fase II são significativamente mais rápidas do que as taxas de CYP. Assim, se um fármaco é um alvo para a fase de oxidação através dos CYPs seguido por uma reação de conjugação de fase II, a taxa de eliminação dependerá geralmente de uma reação de fase I<sup>43</sup>.

Embora muitos fármacos sejam lipofílicos o suficiente para atravessar passivamente as membranas celulares, sabe-se, hoje em dia, que muitos fármacos também precisam de ser transportados ativamente para o interior das células. Esse facto possui conseqüências significativas para a biodisponibilidade oral, para o metabolismo hepático e para a depuração renal. Esses processos são mediados por diversas moléculas

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

importantes. A proteína de resistência a múltiplos fármacos 1 (MDR1, *multidrug resistance protein 1*) ou a P-glicoproteína, que é um membro da família ABC de transportadores de efluxo (Fig. 19), transporta ativamente compostos de volta aos intestinos. Esse processo limita a biodisponibilidade oral de vários fármacos importantes; com frequência, o metabolismo dos fármacos na circulação porta (isto é, efeito de primeira passagem) exige o transporte de compostos nos hepatócitos através da família de proteínas do polipeptídeo transportador de aniões orgânicos (OATP, *organic anion transporting polypeptide*) e transportador de cátions orgânicos (OCT, *organic cation transporter*). Esses transportadores exibem importância particular no metabolismo de vários inibidores da 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) (estatinas), que são utilizados no tratamento da hipercolesterolemia. A família de transportadores do transportador de aniões orgânicos (OAT, *organic anion transporter*) é responsável pela excreção renal de numerosos fármacos aniônicos de importância clínica, como antibióticos  $\beta$ -lactâmicos e anti-inflamatórios não-esteroides (AINE) <sup>43,45,46</sup>.

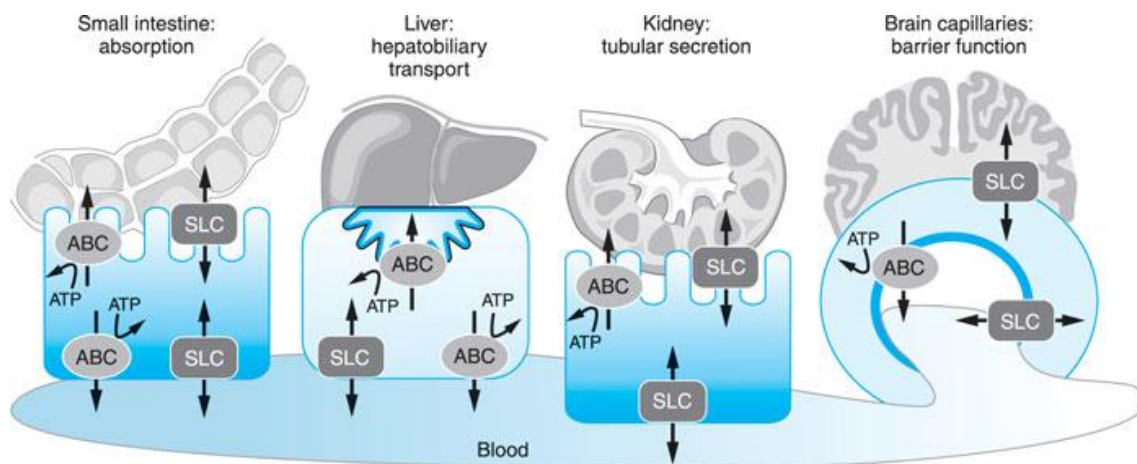


Fig. 19 - Fluxo transepitelial ou transendotelial de medicamentos requer transportadores distintos nas duas superfícies das barreiras epiteliais ou endoteliais. Aqui estão representados, esquematicamente, para o transporte através do intestino delgado (absorção), o rim e fígado (eliminação), e os capilares do cérebro (barreira hematoencefálica) <sup>43</sup>.

Alguns indutores também aumentam a expressão dos transportadores de P-glicoproteína, e como resultado, o metabolismo aumentado pelo CYP e transporte de membrana aumentada pela P-glicoproteína podem atuar em conjunto para processar um fármaco ineficaz.

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

## FARMACOGENÔMICA

Um fármaco produz diferentes respostas em diferentes pessoas. O perfil genético é responsável por muitas dessas variações. Estima-se que a genética explique, até 30% dos casos, as diferenças individuais no metabolismo e resposta aos fármacos. Entretanto, para certos fármacos ou classes destes, a genética tem uma importância muito maior, sendo responsável por 95% da variabilidade da disposição e efeitos dos fármacos.<sup>47</sup> Mesmo com muitas causas de origem fisiológica e ambiental, a absorção, distribuição e metabolismo de um fármaco, podem ser determinados por fatores genéticos. O estudo das variações genéticas que afetam a resposta a um fármaco é chamado de farmacogenética<sup>48</sup>.

A variação genética humana apresenta-se mais frequentemente como polimorfismos de base única (SNPs). Os SNPs estão distribuídos de forma não aleatória ao longo do genoma humano e podem estar completamente ausentes em regiões altamente conservadas ou abundantes em regiões nas quais a diversidade genética é biologicamente importante<sup>49</sup>. A ocorrência de SNPs pode estar relacionada com o aparecimento de uma reação adversa, e o perfil de SNPs de um indivíduo pode ser usado para calcular o seu risco de sofrer reação adversa a um fármaco.

Durante os últimos anos de pesquisas em farmacogenética, ficamos a conhecer que as variações genéticas entre os indivíduos e fatores ambientais influenciam a eficácia de todos os medicamentos. Aprendemos também que a frequência de polimorfismos em alelos, genótipos e haplótipos em “farmacogenes” (genes de relevância farmacológica) podem variar significativamente entre populações classificadas por raça ou continente de origem.<sup>50</sup> Sabemos agora que enzimas de metabolismo são afetadas não somente por SNPs, mas também por outros tipos de variações, como duplicação e deleção de genes, mutações em genes envolvidos na regulação e variações no número de cópias. Definindo as frequências e distribuição desses polimorfismos, além de observar a grande variação entre populações, poderemos apontar traços predominantes expressos em populações específicas. Muitas dessas particularidades e diferenças entre os grupos ou populações devem ter importantes implicações na medicina e saúde pública. Num futuro próximo, devemos concentrar-nos, não numa medicina “personalizada”, mas numa medicina cuidadosa com as

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

diferenças definidas entre as populações e os modos éticos da utilização de conhecimento emergente da farmacogenômica para melhorar o tratamento e a saúde <sup>51</sup>.

## PRINCIPAIS ENZIMAS RESPONSÁVEIS PELO METABOLISMO DOS TUBERCULOSTÁTICOS

Os estudos atuais de predisposição genética para hepatotoxicidade causada por medicamentos contra a TB concentraram-se em algumas enzimas metabólicas: N-acetiltransferase 2 (NAT2), o citocromo P450 (CYP) 2E1, glutathione S-transferase (GST) M1 e T1. No entanto, tem havido inconsistência considerável entre estes estudos, sendo necessários estudos adicionais <sup>52</sup>.

Além das enzimas acima referidas, outras enzimas podem contribuir para o desenvolvimento de hepatotoxicidade causada por medicamentos contra a TB, incluindo o CYP3A4, CYP2C9 e CYP2C19. O enzima CYP3A4 é a mais abundante isoforma CYP hepática humana que catalisa o metabolismo de cerca de metade de agentes terapêuticos. Foram então estudados polimorfismos destes enzimas e não houve qualquer associação significativa <sup>52</sup>.

O CYP2E1 é uma enzima das enzimas do citocromo P450. É expressa no fígado, em maiores concentrações na região centrolobular. É um enzima conservada, muito provavelmente devido às funções importantes que exerce endogenamente. A regulação endógena é similar à das outras enzimas envolvidas na gluconeogênese: é reprimida durante a dieta e aumentada em situações de jejum e diabetes.

Polimorfismos têm sido estudados em relação a alcoolismo, DPOC, diversos tipos de cancro e hepatotoxicidade induzida por xenobióticos. O CYP2E1 parece ser a única proteína regulada, principalmente, a nível pós-transcricional por xenobióticos, como o álcool e a isoniazida que aumentam significativamente o tempo de meia-vida do CYP2E1, num processo em que parece estar envolvida a inibição da via de degradação proteossomal <sup>53</sup>.

Os polimorfismos genéticos melhor estudados são o CYP2E1\*5B e CYP2E1\*6, pois foi encontrada uma relação com o aumento da transcrição e da atividade do CYP2E1 com o polimorfismo CYP2E1\*5B (c2), enquanto que o CYP2E1\*6 não altera estruturalmente em relação ao *wild type* (c1/c1) <sup>54</sup>.

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

Os N-acetiltransferases (NAT) são enzimas de fase II, responsáveis pelo metabolismo de medicamentos e agentes ambientais, contendo uma amina aromática ou grupo hidrazina. A adição do grupo acetilo, a partir do cofactor acetil-coenzima, leva a um metabolito que é menos solúvel em água, porque a amina ionizável é neutralizada por adição covalente de um grupo acetilo. Os NAT estão entre os enzimas mais polimórficos. Existem dois genes NAT funcionais em humanos, NAT1 e NAT2. Mais de 25 variantes alélicas de NAT1 e NAT2 foram caracterizadas. Padrões de acetilação lenta são atribuídos principalmente para polimorfismos NAT2. Na sequência da introdução de isoniazida no tratamento de tuberculose, foram observadas toxicidades em 5-15% dos pacientes, que sofreram os efeitos tóxicos da excreção de grandes quantidades de isoniazida inalterada, a par da excreção de baixas quantidades de isoniazida acetilada. A farmacogenética levou à classificação de acetiladores "rápidos" e "lentos", reconhecendo-se que o fenótipo "lento" é mais predisposto a toxicidade. A análise molecular do gene NAT2 revelou polimorfismos que correspondem aos fenótipos de acetilação "lento" e "rápido" (Quadro 1). Polimorfismos no gene NAT2 e a sua associação com a acetilação lenta da isoniazida foram constatados desde a primeira ligação entre farmacogenética, fenótipo e um polimorfismo genético<sup>43,45,46</sup>.

|                                    | <b>Genótipo /Fenótipo</b>  |
|------------------------------------|--|
| <b>Acetiladores rápidos</b>        | NAT2*4/4 NAT2*12A/12 <sup>a</sup>  |
| <b>Acetiladores intermediários</b> | NAT2*6A/4, NAT2*4/5A, NAT2*4/5B NAT2*12A/5B, NAT2*4/14B, NAT2*7B/4, NAT2*6A/13A, NAT2*6A/12A, NAT2*13A/5B, NAT2*13A/5 <sup>a</sup>   |
| <b>Acetiladores lentos</b>         | NAT2*5B/5B, NAT2*6A/6A, NAT2*6A/5A, NAT2*6A/5B, NAT2*7B/5A, NAT2*5C/5B, NAT2*6A/7B, NAT2*7B/5B, NAT2*5C/5C, NAT2*5A/5B, NAT2*5A/14B, NAT2*6A/14B, NAT2*7B/14B, NAT2*5B/14B |

Quadro 1 - Alguns polimorfismos associados fenotipicamente

As glutathione S-transferases (GSTs) constituem outra classe de enzimas com importantes funções na detoxificação de diversos carcinogêneos, compostos tóxicos e fármacos<sup>46</sup>. Têm uma importante ação protetora contra radicais livres atuando através

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

da conjugação com os metabolitos reativos tóxicos gerados pela biotransformação de fármacos e xenobióticos. Dessa forma, os enzimas GSTM1 e GSTT1, presentes na metabolização da isoniazida, parecem desempenhar um papel essencial na prevenção da hepatotoxicidade <sup>55</sup>. Esses genes estão ausentes numa representativa parcela da população, resultando na perda total da atividade enzimática. Indivíduos homocigóticos para a deleção nos genes das GSTs possuem deficiência na atividade de destoxificação das enzimas, estando mais propensos a desenvolver hepatotoxicidade. Porém, indivíduos que possuem ao menos um alelo funcional apresentam atividade enzimática <sup>55,48</sup>.

O GSTT1 foi altamente conservado durante a evolução e tem um importante papel na biotransformação de fase II de muitos fármacos e produtos químicos industriais. Muitas evidências sugerem que GSTT1 e GSTM1 humanos participam da inativação de espécies reativas de oxigênio que estariam envolvidas nos processos celulares de inflamação, envelhecimento e doenças degenerativas <sup>55,48</sup>.

Os genes de ambas as transferases, GSTM1 e GSTT1, exibem um polimorfismo de deleção comum, o que no caso de homocigotia para a deleção do alelo, leva à completa ausência de atividade enzimática.

### POLIMORFISMOS RELEVANTES NA TERAPIA DA TB NA POPULAÇÃO PORTUGUESA/CAUCASIANA

A atividade do CYP2E1 é modulada por polimorfismos em vários sítios do gene e o aumento da atividade desta enzima pode aumentar a síntese de hepatotoxinas e levar a hepatotoxicidade <sup>56</sup>.

Relativamente aos principais polimorfismos do CYP2E1, c1/c1, c1/c2 e c2/c2, as suas prevalências na população caucasiana europeia são, respetivamente, de 94.9% 4.4% e 0.7% <sup>54</sup>.

Fenótipos de acetiladores rápidos e lentos diferem nas suas respetivas frequências entre diferentes populações. A reação de PCR foi usada para detetar polimorfismos mais importantes do NAT2 num grupo de 128 indivíduos portugueses. Os resultados mostraram que acetiladores lentos representaram 64,1% do grupo de estudo, e as frequências alélicas de NAT2 \*4, \*5A, 5B\*, 5C\*, 6A\* e 7\* foram 0,211, 0,031, 0,379,

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

0,023, 0,328 e 0,027, respectivamente. Estes valores são semelhantes aos apresentados noutros estudos em caucasianos <sup>57</sup>.

Existe ausência de atividade da GST devido a mutações homozigóticas nulas nos *loci* GSTM1 e GSTT1 <sup>46</sup>. As frequências genótípicas nulas de GSTM1 e de GSTT1 em caucasianos foram de 51% e 22%, respectivamente <sup>55,57</sup>.

### METABOLIZAÇÃO E INTERAÇÃO DOS PRINCIPAIS FARMACOS TUBERCULOSTÁTICOS



Fig. 20 - Isoniazida

A isoniazida (Fig. 20) é bacteriostático para bacilos latente e bactericida para microrganismos em divisão. Esta é um pró-fármaco que é convertido pelas catálases-peroxidase das micobactérias no metabolito ativo, produzindo radicais reativos de oxigênio (superóxido e peróxido de hidrogênio) e radicais orgânicos que inibem a biossíntese de ácidos micólicos da parede celular. Os ácidos micólicos são exclusivos das micobactérias. O alvo do derivado da isoniazida é enoil-ACP redutase dos ácidos gordos da sintetase II, que converte ácidos gordos insaturados em saturados na biossíntese de ácidos micólicos.

Embora o seu exato mecanismo de ação seja desconhecido <sup>43</sup>, há alguns mecanismos propostos, entre eles o que propõe que a H converte-se em isocotinato, que funciona como antimetabolito do ácido isonicotínico. O isocotinato liga-se ao NAD<sup>+</sup> no lugar do ácido nicotínico. O falso NAD<sup>+</sup> não é capaz de catalisar a reação de oxidação/redução normal <sup>58,44</sup>.

A resistência à isoniazida mais geralmente resulta de mutações no catálase-peroxidase, que diminuem a sua atividade, prevenindo a conversão da pró-droga isoniazida no seu metabolito ativo. Mutações em genes envolvidos na biossíntese de ácidos micólicos também podem causar resistência. A monoterapia leva à resistência à isoniazida. Essa resistência geralmente desenvolve-se depois de algumas semanas de tratamento, mas pode variar <sup>43</sup>.

A isoniazida é rapidamente absorvida após a administração oral ou parentérica. Difunde-se facilmente em todos os fluidos corporais e células. O fármaco atinge quantidades significativas nos fluidos pleurais e ascítico; concentrações no fluido

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

cefalorraquidiano com meninges inflamadas são semelhantes às do plasma. A isoniazida penetra bem no material cavitário e persiste em concentrações terapêuticas <sup>43,59</sup>.

A isoniazida é excretada, uma pequena parte nas fezes e outra, por via renal (70-96%), gerando, na sua maior parte, metabolitos inativos; 7% da isoniazida excretada na urina pode aparecer de forma livre nos pacientes com acetilação rápida, e 37% dessa pode aparecer de forma conjugada nos pacientes com acetilação lenta. A meia-vida fica em torno de 1 h nos pacientes com fenótipo de acetilação rápida (variação: 0,5-1,6 h) e de 2-5 h naqueles com fenótipo de acetilação lenta, elevando-se ainda mais na presença de hepatopatias e de insuficiência renal <sup>59,32</sup>.

É importante ressaltar que o metabolismo da isoniazida é fundamentalmente dependente das reações de acetilação e hidrólise e que a população humana pode ser dividida em fenótipo acetilador rápido e lento, existindo diferenças raciais marcantes na distribuição desses fenótipos acetiladores <sup>32</sup>.

Acetiladores lento e rápido de isoniazida diferem no polimorfismo da NAT2. Devido à isoniazida ser relativamente não-tóxica, pode ser administrada uma dose suficiente a acetiladores rápidos para atingir o efeito terapêutico. Insuficiência hepática também aumenta as concentrações de H e redução da dose é recomendada para acetiladores lentos neste caso <sup>32</sup>. Vários estudos sugerem que NAT2 é um dos factores genéticos responsáveis pela predisposição para hepatotoxicidade induzida pela H, principalmente NAT2\*5B/5B e NAT2\*6A/6A <sup>56,60</sup>.

**Os principais produtos de excreção em seres humanos resultam da acetilação (acetilisoniazida). No fígado, a isoniazida é primeiramente metabolizada em acetilisoniazida via N-acetiltransferase (NAT), e depois é sujeita a hidrólise, originando acetilhidrazina (Fig. 2Quadro 1 - Alguns polimorfismos associados fenotipicamente**

1). A acetilhidrazina é então oxidada em intermediários hepatotóxicos pelo citocromo P450 2E1 (CYP2E1) <sup>60</sup>. Outros estudos indicam que a própria hidrazina é já uma substância hepatotóxica.

Acetiladores lentos excretam significativamente mais isoniazida, acetilhidrazina e hidrazina em 24h do que acetiladores rápidos, enquanto que a excreção de acetilisoniazida e diacetilhidrazina é significativamente menor neste grupo.

A isoniazida é inibidora das famílias CYP2C9, CYP2C19 e CYP2E1 do sistema citocromo P450 (CYP450), mas tem um efeito mínimo na família CYP3A, alterando, da

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

mesma forma, os parâmetros cinéticos de fármacos metabolizados por esses sistemas enzimáticos.

Os metabolitos da H formados pelo CYP2E1 podem resultar em *stress* oxidativo por meio da produção de tóxicos ou radicais livres, conduzindo a hepatotoxicidade induzida pela medicação.<sup>61</sup>

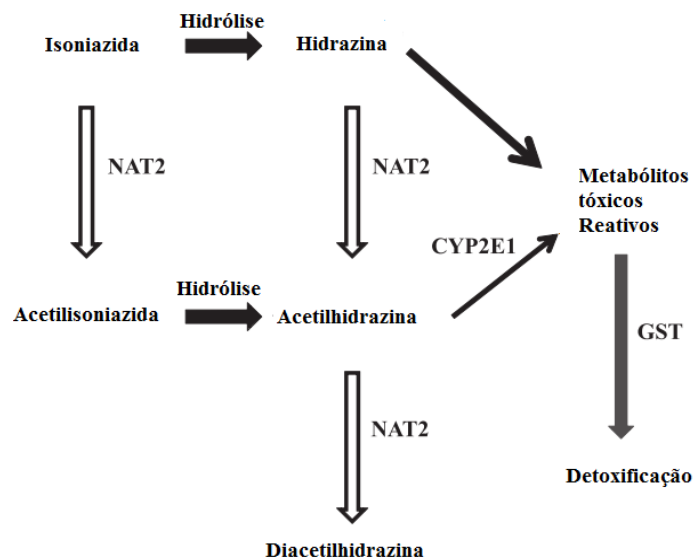


Fig. 21 - Metabolismo isoniazida e formação de intermediários hepatotóxico

45.

Outra classe de enzimas cuja participação na biotransformação da isoniazida que tem vindo a ser estudada é a glutatona S-transferase (GST), que realiza uma reação de conjugação da glutatona (GSH) com compostos eletrofílicos, levando à formação de produtos menos reativos e prontos para excreção pelo organismo (Fig. 21).

A ausência de atividade GST, GSTM1 e GSTT1, também pode modelar suscetibilidade à hepatite induzida por tuberculostáticos<sup>46</sup>. Na população espanhola, a associação destes polimorfismos a hepatites induzidas pelos tuberculostáticos é bastante elevada. Num outro estudo de busca de influência de fatores genéticos em danos hepáticos induzidos por fármacos concluiu-se que indivíduos homozigóticos para as deleções em *GSTM1* e *GSTT1* têm maior risco de sofrer hepatopatias devido à toxicidade gerada pela isoniazida<sup>62,63</sup>.

A rifampicina (Fig. 22) é um fármaco bactericida que atua tanto no bacilo em crescimento e metabolicamente ativo quanto na fase de latência, com metabolismo

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

reduzido. Essa característica e a sua associação com a pirazinamida permitem o encurtamento no tratamento da tuberculose para seis meses <sup>59</sup>.

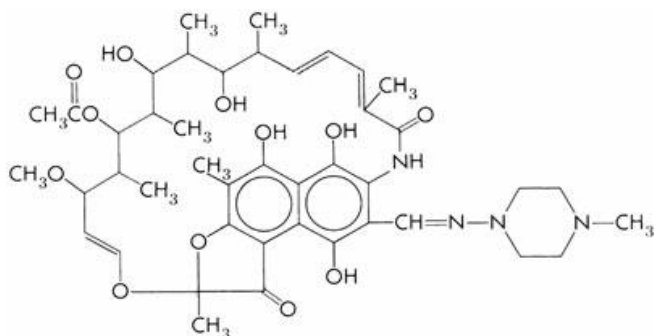


Fig. 22 - Rifampicina

A biodisponibilidade após administração oral é próxima de 100%, mantendo concentrações séricas terapeuticamente ativas por até 12 a 16 horas, sendo o estômago o seu principal local de absorção <sup>64,59</sup>. Foi encontrada uma diminuição da biodisponibilidade

da R e do seu metabolito quando esta é administrada ao mesmo tempo que a H, o que sugere instabilidade da R na presença de H no meio ácido estomacal. Sabe-se que a R sofre hidrólise em meio ácido e que esse processo é acelerado na presença de H, tendo como consequência uma menor biodisponibilidade do fármaco, aumentando o risco de desenvolvimento de resistência bacteriana durante o tratamento da tuberculose <sup>65</sup>.

A rifampicina inibe a transcrição gênica da micobactéria por bloqueio do ARN polimerase ADN dependente, o que impede a síntese de ARN mensageiro (ARNm) e de proteína pelo bacilo, produzindo morte celular. A resistência à rifampicina ocorre devido à mutação do gene *rpoB*, que codifica a cadeia beta do ARN polimerase <sup>59</sup>.

Após absorção, a rifampicina é eliminada rapidamente na bÍlis, seguindo-se uma circulação entero-hepática. Durante este tempo, é progressivamente desacetilada por CYPs hepáticas; após 6 horas, a quase totalidade do fármaco na bÍlis já circula sob a forma desacetilada que retém a atividade antibacteriana. A reabsorção intestinal é reduzida por desacetilação, facilitando assim a sua eliminação. O tempo médio de vida é aumentado pela disfunção hepática e pode ser diminuído em acetiladores lentos. A rifampicina pode conferir uma cor laranja-vermelho aos fluidos corporais <sup>43,64,59</sup>.

A rifampicina sofre desacetilação hepática originando o metabolito desacetilrifampicina, o qual retém praticamente toda a atividade antibacteriana; há também formação de formilrifampicina que é resultante da hidrólise da R <sup>43</sup>.

Este fármaco é um potente indutor das isoformas do citocromo P450, incluindo as subfamÍlias CYP3A, CYP2C e CYP2E1, e de uma série de enzimas envolvidas na

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

biotransformação de fármacos,<sup>59</sup> requerendo uma anamnese terapêutica rigorosa em relação aos medicamentos em uso.

Verificou-se que a administração concomitante de R e H pode levar ao aumento da toxicidade causada pela H devido a indução dessas isoformas do citocromo P450, mais especificamente o CYP2E1, que estão relacionadas com a conversão da acetilhidrazina, metabolito da H, em compostos reativos e hepatotóxicos<sup>66,61</sup>.

A pirazinamida (Fig. 23) é um derivado do ácido nicotínico, com estrutura molecular similar à da isoniazida, mas sem resistência cruzada com a mesma. Foi sintetizada em 1936 e é utilizada como tuberculostático desde 1952<sup>59,43</sup>.

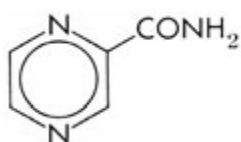


Fig. 23 - Pirazinamida

É um pró-fármaco que necessita de ser convertido por enzimas bacterianas (nicotinamidase/ pirazinamidase) na sua forma ativa, o ácido pirazinóico. O mecanismo de ação da pirazinamida ainda é pouco conhecido. Supõe-se que a pirazinamida penetre no bacilo de forma passiva, seja convertida em ácido pirazinóico pela pirazinamidase e atinja altas concentrações no citoplasma bacteriano, em virtude de um ineficiente sistema de efluxo. O acumular de ácido pirazinóico diminui o pH intracelular a níveis que causam a inativação de enzimas, como a sintase de ácidos gordos I, fundamental para a síntese dos ácidos gordos e, conseqüentemente, afeta a biossíntese do ácido micólico. A resistência à pirazinamida decorre de mutações no gene *pncA*, que codifica a enzima nicotinamidase/pirazinamidase, impedindo a conversão da pirazinamida na forma ativa. Desenvolve resistência rapidamente quando é usada sozinha<sup>59,43</sup>.

É bem absorvida após a administração oral e distribui-se amplamente por todo o organismo. É bactericida e tem uma potente ação esterilizante, principalmente em meio ácido no interior dos macrófagos e em áreas de inflamação aguda. Na lesão pulmonar por tuberculose, os bacilos fagocitados pelos macrófagos apresentam o seu crescimento inibido pelo ambiente ácido do interior dos fagolisossomas. O crescimento também se encontra inibido nas zonas inflamatórias da parede cavitária pelo pH ácido. Esses bacilos, denominados persistentes e em fase de multiplicação esporádica, são os responsáveis pela recaída bacteriológica da tuberculose. A pirazinamida é o medicamento mais eficaz para eliminar essa população. Essa atividade da pirazinamida,

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

denominada esterilizante, permitiu a redução do esquema de tratamento HRZ para seis meses<sup>59,43</sup>.

O etambutol (Fig. 24) foi sintetizado em 1961 e é utilizado no tratamento da tuberculose desde 1966. Atua sobre os bacilos intra e extracelulares, mormente os de multiplicação rápida. A sua ação é bacteriostática.

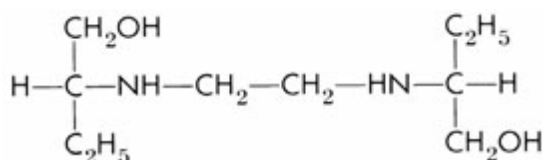


Fig. 24 - Etambutol

O etambutol interfere na biossíntese de arabinogalactano, principal polissacarídeo da parede celular da micobactéria. Atua inibindo a enzima arabinosil transferase codificada pelo

gene *embB*, que medeia a polimerização de arabinose em arabinogalactano. A resistência ao etambutol desenvolve-se de maneira lenta e provavelmente acontece por mutação do gene *embB*.

A metabolização é hepática, e o mecanismo principal é a oxidação num aldeído intermediário, seguido de conversão em ácido dicarboxílico. Grande parte (50-80%) é excretada na urina (a maior parte de forma inalterada e 8-15% como metabolito) e 20% nas fezes.

| Antibacilar | Efeitos adversos principais   | Efeitos adversos raros  |
|-------------|---|---|
| H           | Neuropatia periférica<br><i>Rash</i> cutâneo<br>Hepatite<br>Sonolência e letargia   | Convulsões<br>Psicose<br>Artralgia<br>Anemia  |
| R           | Gastrintestinais (dor abdominal, náusea, vômitos)<br>Hepatite<br>Reacção cutânea generalizada<br>Púrpura trombocitopénica | Osteomalacia<br>Colite pseudomembranosa<br>Insuficiência renal aguda<br>Anemia hemolítica |
| Z           | Artralgia<br>Hepatite<br>Gastrintestinais   | Reacções cutâneas<br>Anemia sideroblástica  |
| E           | Nevrite retrobulbar   | Reacção cutânea generalizada<br>Artralgia<br>Neuropatia periférica                        |

Fig. 25 – Principais efeitos adversos dos fármacos da 1ª linha de tratamento.<sup>71</sup>

Do esquema básico proposto pela Direção Geral de Saúde (rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol) todos os fármacos são potencialmente hepatotóxicos (Fig. 25). Estes são metabolizados pelo fígado, apresentando interações

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

entre si e com outros medicamentos, o que eventualmente possibilita o aumento do risco de hepatotoxicidade.

Os fatores que predisõem à hepatotoxicidade incluem causas genéticas, idade avançada, extensão da doença, gênero feminino, estado nutricional, doses excessivas da medicação, associação com outros medicamentos hepatotóxicos, alcoolismo, hepatite crônica tipos B e C e infecção por VIH. Cerca de 5% dos pacientes com tuberculose em uso do esquema HRZE apresentam aumento das enzimas hepáticas entre três e cinco vezes, assim como aumento de bilirrubinas, sem que apresentem manifestações clínicas; essas alterações vão diminuindo com o decorrer do tratamento. O risco médio de ocorrência de hepatite medicamentosa com tuberculostáticos, segundo a literatura internacional, é de 1-10%, dependendo de fatores como a raça. As hepatites medicamentosas, incluindo aquelas causadas por tuberculostáticos, podem ter como origem mecanismos de hipersensibilidade por medicamentos que são intrinsecamente hepatotóxicos ou por medicamentos com a capacidade de dar origem a um metabolito tóxico que o tecido hepático pode ou não ter a capacidade de depurar. A maioria dos casos de hepatotoxicidade induzida por medicamentos ocorre em até dois meses após o início do tratamento, podendo ser considerada leve (enzimas hepáticas entre três e cinco vezes o valor normal), moderada (enzimas aumentadas em até dez vezes) ou grave (enzimas aumentadas acima de dez vezes) <sup>59</sup>.

A isoniazida associada a rifampicina, pode levar a uma hepatite medicamentosa aguda e fulminante. Se após a interrupção do tratamento houver redução dos níveis séricos das enzimas hepáticas e resolução dos sintomas, indica-se a reintrodução dos fármacos do esquema básico um a um, com intervalos semanais. As diretrizes da CDC recomendam o reinício do esquema com a rifampicina, por ser o medicamento mais potente e menos hepatotóxico (com ou sem o etambutol), seguido pela isoniazida e, por último, a pirazinamida <sup>59</sup>.

Num estudo concluiu-se que os indivíduos homocigóticos de genótipo CYP2E1 c1/c1 podem estar em maior risco de hepatite induzida pela medicação anti-TB. Monitorização regular dos testes bioquímicos do fígado pode ser considerada em pacientes com o genótipo CYP2E1 c1/c1 (\*1A/\*1A) que são submetidos a tratamento anti-TB.<sup>60</sup> Num outro estudo, pela primeira vez, conseguiu-se demonstrar que o CYP2E1 c1/c1 confere um grande risco de hepatotoxicidade induzida pela H no cenário

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

de uma população étnica heterogênea. Os resultados sugerem que a genotipagem do CYP2E1 poderá ter resultados mais importantes de risco de desenvolvimento de hepatotoxicidade do que a NAT2, quando a população é mais heterogênea. Mais estudos são necessários.<sup>67</sup> É de voltar a salientar que na população caucasiana, a presença deste fenótipo (CYP2E1 c1/c1) é de 95%, o que requer mais estudos devido à elevada probabilidade de desenvolvimento de complicações hepatotóxicas.

Num outro estudo, dos 270 indivíduos incluídos no estudo, 18 (6,7%) desenvolveram hepatotoxicidade relacionada com H. Foi encontrada uma elevada associação entre acetiladores lentos e hepatotoxicidade. O risco ajustado de desenvolver hepatotoxicidade foi significativo em indivíduos portadores de dois alelos de acetilação lenta. Em todos os marcadores analisados do CYP2E1, os genótipos homocigóticos selvagens foram mais prevalentes em pacientes com hepatotoxicidade do que nos controles. No entanto, a diferença não foi estatisticamente significativa. A avaliação conjunta dos genes revelou um alto risco de desenvolvimento de hepatotoxicidade em acetiladores lentos com CYP2E1 (c1/c1). A triagem em larga escala para NAT2 e genótipos CYP2E1 pode ser útil para prever o risco de efeitos adversos<sup>68</sup>.

Num estudo relacionado com o CYP2E1, constatou-se que o campoferol inibiu a atividade deste em cerca de 60-88%. O campoferol diminuía, ou até mesmo erradicava, a hepatotoxicidade induzida pela H/R nos ratos. Os estudos farmacocinéticos com H/R mostraram que o co-tratamento com campoferol inibiu a atividade CYP2E1, mas não afetou a absorção de H e R nos ratinhos. Além disso, o tratamento com campoferol não afetou a eficácia destes tuberculostáticos. Assim, o campoferol tem um elevado potencial para o desenvolvimento de uma formulação com H/R que não cause hepatotoxicidade e, conseqüentemente,<sup>61</sup> melhore a adesão à terapêutica em pacientes com TB a tomar a medicação, diminuindo a probabilidade de haver aumento de resistência.

Num outro estudo, os resultados sugeriram que devem ser tomados cuidados para evitar o desenvolvimento de doença hepática induzida por H em pacientes que têm o fenótipo de acetilação lenta, uma alta concentração de R e/ou com fenótipo GSTM1 nulo porque a hidrazina, possivelmente, acumula-se nestes pacientes<sup>45</sup>.

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

Um estudo recente estudou a hipótese de polimorfismos no citocromo P450 contribuírem para a resistência ou aparecimento da TB. O P450 contribui para a indução de apoptose pela produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) por auto-oxidação. Em conclusão, os resultados corroboram a hipótese de que os polimorfismos do gene citocromo P450 podem contribuir para a susceptibilidade genética humana ou resistência à doença TB. Variantes do CYP2C19 \*3 e CYP3A5 \*3 contribuem para a proteção relativamente à TB infantil na China <sup>69</sup>.

Genotipagem interindividual da variabilidade do NAT2 é uma ferramenta adicional para prever hepatite induzida por tuberculostáticos e outros efeitos colaterais. É uma realidade emergente e ajudará, não só na determinação da dosagem mais apropriada para cada paciente, mas, também na redução dos atendimentos ambulatoriais e internamentos necessárias <sup>46,70</sup>. Na Universidade de Coimbra está a ser desenvolvido um estudo pioneiro, desde 2012, de estudo do gene NAT2 e das suas variantes, para permitir a definição da dose adequada a cada doente, evitando o aparecimento de complicações hepáticas, por vezes fatais. Considerando que Portugal tem a maior taxa de incidência de tuberculose na Comunidade Europeia e que mais de metade da sua população tem um perfil genético propenso à acumulação excessiva do medicamento, a aplicação do método pode melhorar o sucesso terapêutico e minimizar as complicações hepáticas, e os custos muito elevados para o doente e para as instituições de saúde. Porém, a investigação pode ter benefícios adicionais dada a possibilidade de aplicar a outras patologias, uma vez que o perfil genético do indivíduo pode determinar a eficácia e toxicidade de vários medicamentos.

Pode-se então dizer que o diagnóstico correto dessas situações e o conhecimento das particularidades farmacológicas dos medicamentos envolvidas permitem a adoção da conduta mais adequada em cada caso e para cada paciente. Um grande contributo também será o conhecimento do genótipo dos principais enzimas metabolizadores destes medicamentos, pois irá permitir uma terapêutica mais direcionada e com menos reações adversas, podendo este conhecimento ser aplicado a outras doenças.

# Influência da farmacogenómica na terapêutica da tuberculose

## CONCLUSÃO

De acordo com os relatórios da OMS, a tuberculose é atualmente uma grave ameaça à saúde global, principalmente nos países subdesenvolvidos, estimando-se que a nível mundial, cerca de 1.4 milhões de pessoas tenham sucumbido à doença no ano de 2010 e que 1/3 da população esteja infetada pelo *Mycobacterium tuberculosis* latente. As últimas estimativas são de que houve quase 9 milhões de novos casos em 2011.

O tratamento convencional da tuberculose não resistente aos fármacos é altamente eficaz e consiste em 2 meses de terapia intensiva com HRZE, seguidos de um período mínimo de 4 meses, com HR. Contudo, por vários fatores como o longo período de terapia, com frequência de administração diária e doses elevadas que podem conduzir a vários efeitos adversos e também pelo custo, a adesão dos pacientes a este regime é baixa. Consequentemente, a doença poderá tornar-se difícil de tratar no caso de haver desenvolvimento de estirpes multirresistentes e extensivamente resistentes aos fármacos.

Do esquema básico de tratamento, todos os fármacos são potencialmente hepatotóxicos. Estes são metabolizados pelo fígado, apresentando interações entre si e com outros medicamentos, o que eventualmente possibilita o aumento do risco de hepatotoxicidade.

A influência da farmacogenómica na terapêutica da tuberculose é um assunto em expansão e cada vez existem mais artigos a corroborar esta hipótese. A informação atualmente disponível sugere um papel central para os polimorfismos nos genes CYP2E1, GSTM1 e GSTT1 na resposta ao tratamento.

A Universidade de Coimbra está a desenvolver um estudo em que as variantes do NAT2 são sujeitas a genotipagem para permitir a definição da dose adequada a cada doente, evitando o aparecimento de complicações hepáticas, por vezes fatais. Considerando que Portugal tem a maior taxa de incidência de tuberculose na Comunidade Europeia e que mais de metade da sua população tem um perfil genético propenso à acumulação excessiva do medicamento, a aplicação do método pode melhorar o sucesso terapêutico e minimizar as complicações hepáticas, de custos muito elevados para o doente e para as instituições de saúde. Este método é mais rápido e mais barato do que os métodos tradicionais.

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

---

A genotipagem pode ter benefícios adicionais dada a possibilidade de aplicar a outras patologias, uma vez que o perfil genético do indivíduo pode determinar a eficácia e toxicidade de vários medicamentos, diminuindo não só as complicações e outros efeitos colaterais, como também a redução dos atendimentos e internações necessárias.

# Influência da farmacogenómica na terapêutica da tuberculose

## BIBLIOGRAFIA

1. Antunes, A. F. *Programa nacional de luta contra a tuberculose*. (2011). at <[http://www.aidsportugal.com/Modules/WebC\\_Docs/GetDocument.aspx?DocumentId=2775](http://www.aidsportugal.com/Modules/WebC_Docs/GetDocument.aspx?DocumentId=2775)>
2. Daniel, T. M. The History of Tuberculosis. *Respiratory medicine* **100**, 1862–70 (2006).
3. Domingos, A; Barbado, A. *Tratamento da Tuberculose Multirresistente, Tratado de Pneumologia*. (Permanyer Portugal, 2003).
4. WHO. *Global Tuberculosis Report, World Health Organization*. 100 (2012). at <[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75938/1/9789241564502\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75938/1/9789241564502_eng.pdf)>
5. Wildner, L. M., Nogueira, C. L. & Souza, Silva Beatriz da Silva; Senna, Simone Gonçalves; Bazzo, M. L. Micobacterias : Epidemiologia e Diagnóstico. **40**, 207–229 (2011).
6. Europeu, C., Regional, G., Estados-membros, O. & Ocidental, E. Vigilância e monitorização da tuberculose na Europa. (2012).
7. Saúde, M. da & Portugal, G. de. Direção Geral de Saúde. (2013). at <[www.dgs.pt](http://www.dgs.pt)>
8. DGS. *Programa Nacional de Luta Contra a Tuberculose - Ponto da Situação Epidemiológica e de Desempenho*. (2012). at <[http://www.portaldasaude.pt/NR/rdoonlyres/8E0DFF04-F030-43B4-80EB-A71AD96F3718/0/relatorio\\_tuberculose\\_2012.pdf](http://www.portaldasaude.pt/NR/rdoonlyres/8E0DFF04-F030-43B4-80EB-A71AD96F3718/0/relatorio_tuberculose_2012.pdf)>
9. Antunes, A. F. *PROGRAMA NACIONAL DE LUTA CONTRA A TUBERCULOSE Ponto da Situação Epidemiológica e de desempenho 2010*. 20 (2010). at <<http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i012626.pdf>>
10. Murray, Patrick R.; Rosenthal, Ken S.; Pfaller, M. A. *Microbiologia Médica*. 4125 (MOSBY, 2010).
11. Kayser, Fritz H.; Bienz, Kurt A.; Eckert, Johannes; Zinkernagel, R. M. *Medical Microbiology*. (Georg Thieme Verlag, 2005).
12. Madkour, M. M. *Tuberculosis*. 952 (Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2004).
13. Dimitrios Basoulis, Georgia Vrioni, Violetta Kapsimali, A. V. and A. T. *Pulmonary Infection*. 136 (In Tech, 2012).
14. Basoulis, D., Vrioni, G. & Kapsimali, V. Latent Tuberculosis : Advances in Diagnosis and Treatment. 1–23 (2012).

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

15. Longo, Dan L.; Kasper, Dennis L.; Jameson, J. Larry; Fauci, Anthony S.; Hauser, Stephen L.; Loscalzo, J. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 4012 (The McGraw-Hill, 2011).
16. H.S., C. Etiopatogenia da tuberculose e formas clínicas. **15**, 29–35 (2006).
17. Wani, R. Tuberculosis 2: Pathophysiology and microbiology of pulmonary tuberculosis. *South Sudan Medical Journal* **6**, 10–12 (2013).
18. MANDELL, DOUGLAS, B. *PRINCIPLES AND PRACTICE OF INFECTIOUS DISEASES*. (2010).
19. Ahmad, S. Pathogenesis, immunology, and diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection. *Clinical & developmental immunology* **2011**, 814943 (2011).
20. Kolyva, A. & Karakousis, P. Old and new TB drugs: Mechanisms of action and resistance. ... *tuberculosis-new approaches to fighting ...* (2009). at <[http://cdn.intechopen.com/pdfs/28840/InTech-Old\\_and\\_new\\_tb\\_drugs\\_mechanisms\\_of\\_action\\_and\\_resistance.pdf](http://cdn.intechopen.com/pdfs/28840/InTech-Old_and_new_tb_drugs_mechanisms_of_action_and_resistance.pdf)>
21. Russell, D., Cardona, P. & Kim, M. Foamy macrophages and the progression of the human tuberculosis granuloma. *Nature immunology* **10**, 943–948 (2009).
22. Rocha, A. L. da C. *et al. Controle da Tuberculose*. 348 (2008).
23. Ottenhoff, T. H. M. & Kaufmann, S. H. E. Vaccines against tuberculosis: where are we and where do we need to go? *PLoS pathogens* **8**, e1002607 (2012).
24. Ghosh, J. *et al.* Sporulation in mycobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**, 10781–6 (2009).
25. Bento, J. & Silva, A. Métodos diagnósticos em tuberculose. *Acta Médica ...* (2011). at <<http://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/view/333>>
26. *Treatment of Tuberculosis*. 59 (2010).
27. Al-Zamel, F. Diagnosis of Mycobacterium tuberculosis. *intechopen.com* (2008). at <[http://www.intechopen.com/source/pdfs/28535/InTech-Diagnosis\\_of\\_mycobacterium\\_tuberculosis.pdf](http://www.intechopen.com/source/pdfs/28535/InTech-Diagnosis_of_mycobacterium_tuberculosis.pdf)>
28. Knechel, N. a. Tuberculosis: pathophysiology, clinical features, and diagnosis. *Critical care nurse* **29**, 34–43; quiz 44 (2009).
29. Onyebujoh, P. & Zumla, A. Treatment of tuberculosis: present status and future prospects. *Bulletin of the World ...* **021246**, 857–865 (2005).

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

30. Sarkar, S. & Suresh, M. R. An overview of tuberculosis chemotherapy - a literature review. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Société canadienne des sciences pharmaceutiques* **14**, 148–61 (2011).
31. Wells, B. & DiPiro, J. *Pharmacotherapy handbook*. (2006). at <<http://media.matthewsbooks.com.s3.amazonaws.com/documents/tocwork/007/9780071748346.pdf>>
32. Goodman, L. *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. (2010). at <<http://oem.bmj.com/content/64/8/e2.short>>
33. NIAID Working Group. Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis (MDR/XDR TB). (2007).
34. Chakroborty, A. Drug-resistant tuberculosis: an insurmountable epidemic? *Inflammopharmacology* **19**, 131–7 (2011).
35. Marriner, G., Nayyar, A. & Uh, E. The medicinal chemistry of tuberculosis chemotherapy. *Third World ...* 47–124 (2011). doi:10.1007/7355
36. Mukherjee, J. S. *et al.* Programmes and principles in treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *Lancet* **363**, 474–81 (2004).
37. US Department of Health. National Institutes of Health. (2013). at <<http://www.niaid.nih.gov/topics/tuberculosis/understanding/whatistb/pages/tbdefinitions.aspx>>
38. Vilchãze, C., Hartman, T., Weinrick, B. & Jacobs, W. R. Mycobacterium tuberculosis is extraordinarily sensitive to killing by a vitamin C-induced Fenton reaction. *Nature Publishing Group, a division of Macmillan Publishers Limited. All Rights Reserved* (2013). at <<http://dx.doi.org/10.1038/ncomms2898>>
39. Gilbert, L. I. Halloween genes encode P450 enzymes that mediate steroid hormone biosynthesis in *Drosophila melanogaster*. *Molecular and cellular endocrinology* **215**, 1–10 (2004).
40. Hardstone, M. C., Leichter, C. a & Scott, J. G. Multiplicative interaction between the two major mechanisms of permethrin resistance, *kdr* and cytochrome P450-monooxygenase detoxification, in mosquitoes. *Journal of evolutionary biology* **22**, 416–23 (2009).
41. Ingelman-Sundberg, M. Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* **369**, 89–104 (2004).
42. Taniguchi, C. & Peter, F. Metabolismo dos Fármacos.

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

43. Brunton, L., Parker, K., Blumenthal, D. & Buxton, I. *The goodman and gilman's manual of pharmacological therapeutics*. (2007). at <<http://www.lavoisier.fr/livre/notice.asp?ouvrage=1028690>>
44. Lüllmann, H. *Color atlas of pharmacology*. (2005). at <[http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=-9xY8hJ29soC&oi=fnd&pg=PA2&dq=Color+Atlas+of+Pharmacology&ots=OJ2NYQEcrRt&sig=M5mZdC6tqJcHJ0c\\_N483WzB1BxM](http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=-9xY8hJ29soC&oi=fnd&pg=PA2&dq=Color+Atlas+of+Pharmacology&ots=OJ2NYQEcrRt&sig=M5mZdC6tqJcHJ0c_N483WzB1BxM)>
45. Fukino, K. *et al.* Effects of N-acetyltransferase 2 (NAT2), CYP2E1 and Glutathione-S-transferase (GST) genotypes on the serum concentrations of isoniazid and metabolites in tuberculosis patients. *The Journal of toxicological sciences* **33**, 187–95 (2008).
46. Teixeira, R. L. D. F. *et al.* Genetic polymorphisms of NAT2, CYP2E1 and GST enzymes and the occurrence of antituberculosis drug-induced hepatitis in Brazilian TB patients. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **106**, 716–24 (2011).
47. Eichelbaum, M., Ingelman-Sundberg, M. & Evans, W. E. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. *Annual review of medicine* **57**, 119–37 (2006).
48. Brito, T. Polimorfismos em CYP2E1, GSTM1 e GSTT1 e hepatotoxicidade no tratamento da tuberculose. (2010). at <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/33263>>
49. Bergen, W. & Burnett, D. Topics in Transcriptional Control of Lipid Metabolism: from Transcription Factors to Gene-Promoter Polymorphisms. *Journal of Genomics* (2012). doi:10.7150/jgen.3741
50. Suarez-Kurtz, G. Pharmacogenomics in admixed populations. *Trends in pharmacological sciences* **26**, 196–201 (2005).
51. Daar AS, S. P. Pharmacogenetics and geographical ancestry: implications for drug development and global health. *Nature* (2005). at <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15738965>>
52. Tang, S., Lv, X. & Chen, R. Lack of association between genetic polymorphisms of CYP3A4, CYP2C9 and CYP2C19 and antituberculosis drug-induced liver injury in a community-based Chinese. *Clinical and ...* 326–332 (2013). doi:10.1111/1440-1681.12074
53. Qiu, L. O., Linder, M. W., Antonino-green, D. M. & Valdes, R. Suppression of Cytochrome P450 2E1 Promoter Activity by Interferon and Loss of Response Due to the -71G > T Nucleotide Polymorphism of the CYP2E1 \* 7B Allele. **308**, 284–288 (2004).

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

54. Kunak, S. C. *et al.* Drug/xenobiotic metabolizing enzyme polymorphisms in a Turkish population. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* **6**, 2068–2074 (2012).
55. Fischer, K., Da Costa, L. a, García-Bailo, B., Borchers, C. H. & El-Soheymy, A. Glutathione S-transferase (GST) M1, but not GSTT1, genotype influences plasma proteomic profiles in Caucasian and East Asian young adults. *Journal of proteome research* **11**, 5022–33 (2012).
56. Ben Mahmoud, L. *et al.* Polymorphism of the N-acetyltransferase 2 gene as a susceptibility risk factor for antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Tunisian patients with tuberculosis. *Pathologie-biologie* **60**, 324–30 (2012).
57. Lemos MC, R. F. N-acetyltransferase genotypes in the Portuguese population. (1998). at <[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=n-acetyltransferase polymorphism portuguese population](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=n-acetyltransferase+polymorphism+portuguese+population)>
58. Rosa, H. J. De. Efeitos da rifampicina na farmacocinética e hepatotoxicidade da isoniazida Efeitos da rifampicina na farmacocinética e hepatotoxicidade da isoniazida. (2006).
59. Marcos Abdo Arbex, Marília de Castro Lima Varella, Hélio Ribeiro de Siqueira, F. A. F. de M. Drogas antituberculose: Interações medicamentosas, efeitos adversos e utilização em situações especiais. **36**, 626–640 (2010).
60. Huang, Y.-S. *et al.* Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis drug-induced hepatitis. *Hepatology (Baltimore, Md.)* **37**, 924–30 (2003).
61. Shih, T.-Y., Young, T.-H., Lee, H.-S., Hsieh, C.-B. & Hu, O. Y.-P. Protective effects of kaempferol on isoniazid- and rifampicin-induced hepatotoxicity. *The AAPS journal* **15**, 753–62 (2013).
62. Daly, A. K. Drug-induced liver injury: past, present and future. (2010).
63. Huang, Y.-S. *et al.* Genetic polymorphisms of manganese superoxide dismutase, NAD(P)H:quinone oxidoreductase, glutathione S-transferase M1 and T1, and the susceptibility to drug-induced liver injury. *Journal of hepatology* **47**, 128–34 (2007).
64. Bisaglia, J. & Santussi, W. Atualização terapêutica em tuberculose: principais efeitos adversos dos fármacos. *Boletim de ...* **11**, 53–59 (2003).
65. Shishoo, C. J., Shah, S. a, Rathod, I. S., Savale, S. S. & Vora, M. J. Impaired bioavailability of rifampicin in presence of isoniazid from fixed dose combination (FDC) formulation. *International journal of pharmaceutics* **228**, 53–67 (2001).

## Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

66. Shen, C., Meng, Q., Zhang, G. & Hu, W. Rifampicin exacerbates isoniazid-induced toxicity in human but not in rat hepatocytes in tissue-like cultures. *British journal of pharmacology* **153**, 784–91 (2008).
67. Nicolas Vuilleumier, Michel F. Rossier, Alberto Chiappe, Florence Degoumois, Pierre Dayer, Bernadette Mermillod, Laurent Nicod, Jules Desmeules, D. H. CYP2E1 genotype and isoniazid-induced hepatotoxicity in patients treated for latent tuberculosis. *European Journal of Clinical Pharmacology* (2006). at <<http://link.springer.com/article/10.1007/s00228-006-0111-5>>
68. Santos, N. P. C.1; Callegari-Jacques, S. M.2; Ribeiro dos Santos, A. K. C.1; Silva, C. A.3; Vallinoto, A. C. R.4; Fernandes, D. C. R. O.1; de Carvalho, D. C.1; Santos, S. E. B.1; Hutz, M. H. . N-acetyl transferase 2 and cytochrome P450 2E1 genes and isoniazid-induced hepatotoxicity in Brazilian patients. (2013). at <<http://www.ingentaconnect.com/content/iuatld/ijtld/2013/00000017/00000004/art00013>>
69. Feng, W.-X. *et al.* Functional polymorphisms in CYP2C19 & CYP3A5 genes associated with decreased susceptibility for paediatric tuberculosis. *The Indian journal of medical research* **135**, 642–9 (2012).
70. Gupta, V. H. *et al.* Association of N-acetyltransferase 2 and cytochrome P450 2E1 gene polymorphisms with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Western India. *Journal of gastroenterology and hepatology* **28**, 1368–74 (2013).
71. Duarte, R., Carvalho, A. & Ferreira, D. Abordagem terapêutica da tuberculose e resolução de alguns problemas associados à medicação. *Revista Portuguesa de ...* **XVI**, 559–572 (2010).
72. Lopez-Marin, L. M. Nonprotein structures from mycobacteria: emerging actors for tuberculosis control. *Clinical & developmental immunology* **2012**, 917860 (2012).

# Influência da farmacogenômica na terapêutica da tuberculose

---

## ANEXOS



