



CODIGO DA PROVA: MCO48 - ICB0008



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CONCURSO:

FOLHA DE RESPOSTA

Importante: O código da prova só será colocado na entrega da prova ao fiscal. As provas serão escaneadas e enviadas aos membros da banca avaliadora sem o nome do candidato.

Questão 1. Estudos pré-clínicos são um conjunto de ensaios que visa encontrar uma nova molécula, pequena molécula ou biotecnológica, para determinada patologia, finalidade diagnóstica ou preventiva. Na fase de ensaios pré-clínicos a segurança e a eficácia da molécula teste deve ser comprovada. Os candidatos a fármacos devem apresentar características como seletividade ao alvo terapêutico, boa resposta farmacológica, e menor toxicidade possível, entre outras.

O desenvolvimento de um candidato se dá:

- 1) conhecimento do alvo terapêutico, caso seja um alvo bem conhecido ou novos alvos.
- 2) seleção de bibliotecas para busca de possíveis candidatos para determinado alvo, seja bem conhecido (como no caso de novos medicamentos para doenças com fisiopatologia bem descrita) ou para alvos novos em que não há tantas informações:
 - 2.1) esta etapa costuma ser in silico, pois acelera a predição de possíveis ligantes.
 - 2.2) a busca pode ser realizada com técnicas HTS, que permitem a análise de milhões de moléculas ao mesmo tempo;
 - 2.3) mesmo que seja encontrado um candidato ou candidatos com ligações/interações fracas com o alvo terapêutico, eles podem servir de base para otimização de candidatos.
- 3) Avaliação in silico e in vitro dos hits encontrados
 - 3.1) as avaliações in silico permitem avaliar a



Comissão Organizadora do Concurso
Gabinete da Direção
ICB - UFRJ

Questão 1. Página 2

relação estrutura-atividade, previsão da farmacocinética e farmacodinâmica.

(3.2) as avaliações in vitro permitem a avaliação de interações entre os ligandos e os alvos isolados e em cultura de células já fornecendo dados preliminares de toxicidade e eficácia.

(4) Ensaios in vivo, costumam ser em modelos murinos. Porém há testes específicos que determinam o uso de outras espécies não roedoras.

(4.1) Será avaliado a farmacocinética do candidato;

(4.2) Será avaliado a farmacodinâmica deste

(4.3) Será avaliado a toxicidade do candidato.

Em suma temos:

Seleção do alvo terapêutico → triagem de candidatos → avaliação in silico e in vitro da atividade do candidato → ensaios in vivo para determinação de segurança, eficácia, parâmetros farmacológicos → composto selecionado para testes clínicos.

Dentro de cada etapa no desenvolvimento e descoberta de novos fármacos há grandes desafios. Primeiramente, doenças metabólicas costumam ser multifatoriais e encontrar um alvo específico que induza melhora significativa após a intervenção com os candidatos é dispendioso. Caso o alvo em questão seja um já bem estabelecido, com estrutura resolvida, mecanismo de sinalização bem definidos, torna a tarefa de encontrar novos "ligantes menos demorados" quando comparado a alvos que possuem poucas informações.

A busca por moléculas pode ser realizada de forma não dirigida, ou seja, testagem de diversas moléculas para o alvo sem direcionamento a partir de técnicas in silico ou HTS. Ou podem ser realizadas de forma dirigida, uma vez que é possível avaliar "blobs de interação"; isto é, avaliar as melhores moléculas que se apresentam promissoras na interação com o ligante e usá-las como base para ~~novas~~ criação de novas moléculas (muitas vezes mais potentes, seguras e com toxicidade reduzida).

As etapas citadas citadas são limitantes para o avanço



Questão 1. Pág. 3.

co de moléculas com potencial para continuar os ensaios. A medição in silico de farmacocinética e farmacodinâmica podem eliminar um ou mais candidatos, retornando a busca por candidatos ao passo inicial.

As avaliações in vitro, seja com receptores purificados, enzimas isoladas ou mesmo culturas de células apresentam um ambiente teste muito controlado e sem interferência metabólica no sentido amplo. As interações em meio de cultura não sofrem influência de variações hormonais, alimentação, estresse e entre outros. Por essa razão, muitos compostos podem ~~passar~~ passar para os ensaios in vivo e não apresentarem as respostas esperadas.

As avaliações in vivo, em modelos animais, é preconizada por órgãos de fomento para dar início aos testes em humanos. Estas avaliam o efeito farmacológico dentro do modelo para a patologia, por exemplo camundongos obesos induzidos por dieta rica em gordura e açúcar para busca de novos anorexígenos. Entretanto, apesar de fenotipicamente os modelos animais ~~representam~~ exibirem características das patologias humanas, a fisiopatologia e bioquímica podem não ser os mesmos. Isto leva ao encerramento de ensaios clínicos por limitação do modelo utilizado. Nesses modelos é mandatório avaliar a eficácia, segurança, potência e índice terapêutico, uma vez que, são esses parâmetros que irão determinar a dose inicial para os ensaios em humanos. Muitas vezes o escalonamento de dose entre modelos murinos e humanos não se dá de forma linear, o que leva ao aumento do tempo dos ensaios de fase 1. Como dito anteriormente, parâmetros farmacocinéticos serão avaliados. Nessa forma, o candidato será administrado pela via intravenosa e pela via de escolha - que costuma ser a oral, a fim de determinar a extensão da droga no organismo - Área sob a curva, concentração plasmática máxima, tempo de meia-vida, entre outros. Já a segurança avalia um conjunto de parâmetros necessários. Primeiramente são determinadas as doses com maior tolerabilidade sem efeitos graves, menor dose com algum efeito terapêutico, dose máxima com efeitos adversos graves e dose letal. Esses parâmetros ajudam a definir o Índice Terapêutico



Questão 1. Pág. 4

tipo, parâmetro que indica doses subterapêuticas sem efeito observado e doses tóxicas com efeitos ~~indesejados~~ indesejados, fornecendo a janela terapêutica do candidato. Normalmente, a intercambiabilidade e extrapolação dos dados obtidos em modelos animais podem e são delicados. Diversas moléculas testadas na fase pré-clínica não dão seguimento na fase clínica seja por ausência de efeito ou toxicidade. Além disso, é possível que moléculas descartadas nas fases pré-clínicas produziam efetivamente serem ativas em humanos, mas não serão testadas. Desse modo, tecnologias que mimetizem o metabolismo humano podem prever melhor a interação dos candidatos a fármacos, como por exemplo sistemas de chips acoplados com tecidos humanos.

As ~~avaliações~~ avaliações toxicológicas são obrigatórias e determinantes. Normalmente se avalia a toxicidade aguda, em que uma dose elevada é administrada uma vez, e a crônica, em que o animal fica exposto ao candidato durante um período de tempo. Em ambos são avaliadas características físicas como peso, pelagem, sinais de mudança de comportamento, entre outros. E também são avaliados parâmetros bioquímicos plasmáticos, peso dos órgãos, entre outros. A toxicocinética ajuda a fornecer mais informações que auxiliam e corroboram com os dados obtidos da ~~farm~~ farmacocinética, ampliando o conhecimento sobre a molécula em estudo. Outros testes também são realizados, teste de toxicidade em órgãos vitais, como cérebro, fígado, coração. Testes de carcinogênese, principalmente para moléculas que estejam sendo desenvolvidas para uso prolongado ou crônico. Avaliação da teratogênese, uma vez que a talidomida foi um marco na farmacologia de modo a aumentar o rigor dos testes pré-clínicos e clínicos. Testes de reprodução masculina e feminina, e avaliação de fertilidade/preservação dos ~~ovo~~ ovúlos em fêmeas. E testes transgeracionais para verificação de interferência epigenética na prole daquele grupo que recebeu a intervenção.

Por fim, mesmo com todo esse compilado de dados muitas moléculas falham em ensaios clínicos. Isso se justifica por diversos fatores como modelo murino/não rodar na dequado, toxicidade quando administradas em humanos



Página 5.

entre outros.

Questão 2. A farmacologia tradicional é baseada na ideia de resposta uniforme para determinado medicamento. Entretanto, não joga luz sobre as diferenças inerentes dos indivíduos, que incluem variabilidade genética, epigenética, metabólica, estilo de vida, entre outros. Nesse caso, a farmacologia personalizada possibilita a identificação de subpopulações dentro do grande grupo que antes era submetido ao mesmo protocolo terapêutico e agora passa a ser direcionado.

A partir de técnicas de alta sensibilidade como as multi-ômicas / panômicas têm sido possível analisar, compilar e compreender uma quantidade de informações consideravelmente grande. O Big data é justamente esse acúmulo de dados, de diferentes abordagens, não só ômicas mas também GWAS, e a partir da inteligência artificial e do machine learning permitem a análise dessa gama de resultados. Futuramente, talvez seja possível a análise do indivíduo em estado patológico com seu mapeamento quando saudável. Isto abre portas para uma farmacoterapia extremamente direcionada aos indivíduos.

As doenças metabólicas são um grupo heterogêneo e de patogênese multifatorial. As mais incidentes são hipertensão, obesidade, diabetes mellitus tipo 2 e dislipidemias. A complexidade destas torna ainda mais interessante a busca por novos biomarcadores, fatores preditivos, e novos mecanismos fisiopatológicos, entre outros.

Estudos genômicos ou GWAS fornecem loci importantes implicados em doenças metabólicas, mutações identificadas em genes relacionados à CYP3A1 mostram risco aumentado para diabetes. Entretanto, não são necessárias mutações para induzir modificações no metabolismo. Desacetilases mitocondriais estão diretamente ligadas ao grau de metilação das histonas do DNA mitocondrial. A hipermetilação das histonas leva à disfunção na oxidação mitocondrial, aumentando a quantidade de espécies reativas de oxigênio, que por em última análise, interfere no meta



Questão 2. Pág. 6.

bolismo energético. Dependendo de qual órgão ~~est~~ este desequilíbrio esteja ocorrendo, ou até mesmo sistêmico, os riscos para doenças metabólicas aumentam consideravelmente.

A identificação de novos alvos por estudos de transcriptômica e proteômica ampliam o conhecimento de alvos. Por exemplo, através da ~~na~~ identificação da proteína PCSK9, responsável pela ~~regulação~~ degradação dos receptores de LDL da membrana celular, foram ~~des~~ desenvolvidas novas estratégias para o tratamento das dislipidemias. A farmacologia transcriptômica possibilitou o desenvolvimento do Inclisiran, este é o dinucleotídeo dupla fita que se liga ao complexo de transcrição e induz a degradação deste juntamente com o RNA m da PCSK9. Isso ~~leva~~ levou ao maior tempo dos receptores de LDL na superfície celular, reduzindo os níveis de colesterol circulantes. Além disso, a farmacologia proteômica permitiu o desenvolvimento de anticorpos monoclonais contra a proteína PCSK9 que resulta na redução dos níveis de colesterol circulantes.

Como dito anteriormente, a farmacologia personalizada visa a identificação de subpopulações para otimizar a intervenção farmacológica nesses grupos. Estudos de pacientes responsivos, não responsivos e naïve para metformina demonstram que ~~a~~ o perfil metabólico dos grupos era distinto. Além disso, também foram encontrados metabólitos produtores de diabetes tipo 2 com 10 anos de antecedência ao diagnóstico. Anúncios de cadeia ramificada foram ~~des~~ descritos como possíveis biomarcadores para doenças metabólicas.

O perfil do microbioma também é um ponto relevante na farmacoterapia personalizada. O microbioma apresenta relevantes funções sobre a permeabilidade intestinal, produção de ácidos graxos de cadeia curta, produção de vitamina K e metabolismo de fármacos. Estudos de metagenômica e metabolômica revelam que sinais de melhora à tolerância à insulina, melhora na hemoglobina glicada e ~~em~~ resposta ~~para~~ a medicamentos são favorecidos com a presença de *A. alkermis*, *E. coli*, *Bifidum* e lactobacilos. Ao ter essas informações é possível modular o microbioma com pró-bióticos, pré-bióticos e transplante fecal.



Pág. 7

Em suma, os diferentes desfechos e respostas a terapias convencionais demonstram heterogeneidade em pessoas com o mesmo diagnóstico. Dessa forma, avaliar o paciente de forma que suas características inerentes possam ser avaliadas, leva a um melhor plano terapêutico sem a exposição do paciente a fármacos ineficazes ou tóxicos para esta pessoa.

Questão 3. Diabetes mellitus tipo 1 é uma doença resultante da ~~destruição~~ redução da massa de células β pancreáticas. A DM1A é a mais comum, que apresenta autoanticorpos contra as ilhotas, receptores de zinco ZNT8, ~~proteína~~ insulina, tirosina quinase IA e IIA. A DM1B é de etiologia desconhecida, porém ~~há~~ redução na massa de células sem a detecção de autoanticorpos porém com hiperglicemia, cetoacidose diabética e etc.

Um dos grandes desafios é diagnosticar precocemente o DM1, pois ainda há células- β funcionais e os efeitos permanentes (memória metabólica) da hiperglicemia persistente ainda são mínimos. A DM1 é majoritariamente resultante de uma insulite induzida por células T e também uma resposta humoral - células B.

A terapia de DM1 é centrada na reposição farmacêutica de insulina. Sendo possível acessar análogos de ação rápida, regular e longa duração, no mercado, também já estão disponíveis pré-mix com insulinas de ação rápida/regular e análogos de longa duração. Entretanto, a fisiopatologia do DM1 é mais complexa e envolve outros hormônios que também são relevantes no controle glicêmico.

A amilina é um hormônio produzido e co-secretado com a insulina, apresenta efeitos a nível do sistema nervoso central sobre o esvaziamento gástrico, saciedade, inibição da secreção de glucagon, entre outros. A reposição farmacêutica de amilina só foi possível em 2005, pois a variante humana apresenta grande propensão a formação de fibras amiloides, o que dificulta bastante o seu uso. Porém com o desenvolvimento do



Questão 3. Pág 9.

Atualmente, as terapias disponíveis focam nos desfechos glicêmicos e não há terapia para ~~restaurar~~ restaurar a homeostase β -pancreática ou desacelerar a progressão do DIT1. Algumas novas abordagens estão sendo realizadas, como o transplante de pâncreas em pacientes que já irão realizar o transplante de rins. Esta abordagem demanda o uso de imunossupressores mas não há garantias de que a resposta imune do indivíduo não induza novamente o ~~quadro~~ quadro. O transplante de ilhotas é visto como transplante de órgãos, exceto pelos EUA que considera terapia celular. De qualquer forma, este entra no mesmo ponto que o transplante de pâncreas, a não garantia da restauração do processo imune inflamatório.

Por se tratar de uma patologia autoimune, alguns autores sugeriram a ablação da medula de células hematopoiéticas. Nesses estudos, não houve resposta imune contra as ilhotas até 3 anos após o procedimento. Além disso, todos os pacientes conseguiram ~~aboli~~ abolir o uso da insulina nesse período de 3 a 5 anos após procedimento.

Um ponto alto na abordagem de DIT1 é o foco nas células T diabetogênicas. A resposta imune induzida pelas células T induzem a liberação de citocinas pró-inflamatórias e ~~de~~ moléculas quimioatraentes, o que modifica o fenótipo de células T efetoras para células T diabetogênicas. Nesse sentido, duas abordagens foram avaliadas uma utilizando anticorpo monoclonal anti-CD3, o que retardou bastante a perda de massa de células β -pancreáticas. E outra utilizando células T efetoras diferenciadas e direcionadas para as células T diabetogênicas.

Mesmo sendo uma doença com resposta de células T bem pronunciada, estudos com células B também foram conduzidos e a terapia com anti-CD20 parece promissora.

Foi demonstrado também que terapia unidirecionada para uma das respostas imune é capaz de suprimir também as outras. Por exemplo, a neutralização de autoanticorpos contra insulina ajudam de algum modo na depleção da resposta imune.



Questão 3. Pág 10.

Uma abordagem inovadora seria a utilização de vacinas tanto contra os auto anticorpos como uma vacina de plasmídeo contendo o gene da insulina. Ambos estão em fase preliminar de estudos.

~~Em outras abordagens sobre as células T e existe na artéria de um auto~~

Em estudos de imageamento, foi observado que há redução significativa no tamanho do pâncreas após 100 dias do diagnóstico. Demonstrando que a disfunção do pâncreas endócrino, também afeta o pâncreas exócrino. Sendo esta uma possível nova abordagem diagnóstica não invasiva.

O diagnóstico precoce ajuda na preservação das células β pancreáticas, após o diagnóstico instalado as novas terapias deveriam buscar esforços para o retardar do progresso da doença até a perda total de função β pancreática.

