

# FARMACOGENÉTICA DE DOENÇAS NEUROLÓGICAS

## PHARMACOGENETICS IN NEUROLOGICAL DISEASES

Bárbara F. Nogueira<sup>1</sup>, Carolina R. de Almeida<sup>2</sup>, Elida P. Benquique Ojopi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestranda. <sup>2</sup>Doutoranda. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia (Instituto de Pesquisas Tecnológicas, Instituto Butantan e USP). Laboratório de Neurociências. Instituto de Psiquiatria. Faculdade de Medicina – USP. <sup>3</sup>Pesquisadora. Coordenadora da Área de Genética. Laboratório de Neurociências. Instituto de Psiquiatria. Faculdade de Medicina - USP e Pesquisadora Sênior da Genoa Biotecnologia S.A. - São Paulo - SP.

**CORRESPONDÊNCIA:** Elida Benquique Ojopi. Laboratório de Neurociências. Instituto de Psiquiatria, Faculdade de Medicina - USP. Rua Dr Ovídio Pires de Campos, nº 785, 3º andar. Bairro Cerqueira César - CEP 05403-010 São Paulo/SP.  
e-mail: elida@usp.br

Nogueira BF, Almeida CR, Ojopi EPB. Farmacogenética de doenças neurológicas. Medicina (Ribeirão Preto) 2006; 39 (4): 562-9.

**RESUMO:** Uma vez que uma droga tenha acesso ao corpo de um organismo, o mesmo desempenha um papel na determinação do espectro de efeitos bem como em sua intensidade e duração. A extensão com que uma droga pode ser absorvida e transportada a vários órgãos-alvo influencia no seu perfil de potência e efeito. A variação genética pode potencialmente afetar a resposta individual à droga em vários passos. A absorção de uma droga e sua distribuição a vários órgãos são processos governados não apenas pelas propriedades físico-químicas da droga, mas também por moléculas endógenas. Muitos dos genes de suscetibilidade a doenças são também alvos de drogas e podem simultaneamente predispor os pacientes à doença bem como à resistência ao tratamento. A identificação de novas variantes para predisposição às doenças pode indicar novos alvos terapêuticos e novas vias no desenvolvimento de drogas e intervenções ambientais. Esta sistemática caracterização da natureza e da função do polimorfismo genético em enzimas metabolizadoras-chave e outros avanços na farmacogenética têm um amplo potencial para melhorar a escolha do medicamento apropriado e a correta dose para qualquer paciente em particular. Nesse artigo, revisamos os achados em farmacogenética na Epilepsia e na Doença de Alzheimer.

**Descritores:** Farmacogenética. Epilepsia. Doença de Alzheimer. Polimorfismo. Polimorfismo de Nucleotídeo Único. SNPs.

## 1- INTRODUÇÃO

O interesse pela farmacogenética, ciência definida como o estudo da variabilidade na resposta a drogas devido à variação genética existente entre os indivíduos e as populações<sup>1,2</sup>, teve início com a observação clínica de que a mesma dose medicamentosa possui considerável heterogeneidade nas vias de resposta na população humana, tanto em termos de eficiência quanto de toxicidade. Potenciais causas para a variabilidade interindividual na resposta a drogas como patogênese e severidade da doença, interações medicamentosas, idade do paciente, estado nutricional, fun-

ções hepática e renal, e doenças concomitantes não explicam de maneira satisfatória essas diferenças. Variações hereditárias no metabolismo de drogas e polimorfismos genéticos em alvos terapêuticos podem ter grande influência na eficácia e toxicidade dos medicamentos<sup>1</sup>. Sendo assim, fatores genéticos são determinantes importantes, e a identificação dos mesmos é a meta da farmacogenética<sup>1,2</sup>.

Embora os avanços nessa área possam oferecer muitos benefícios na prática clínica, a importância de fatores não-genéticos, como cultural e ambiental, também deve ser considerada na resposta aos medicamentos.<sup>3</sup>

As primeiras observações clínicas de que diferenças hereditárias influenciavam nos efeitos dos medicamentos datam de 1950, e são exemplificadas pela relação entre relaxamento muscular prolongado depois do uso de succinilcolina e uma deficiência hereditária na colinesterase plasmática<sup>4</sup>, entre a hemólise após terapia antimalária e o nível herdado de atividade eritrocítica da glicose-6-fosfato-desidrogenase<sup>5</sup>, e entre neuropatia periférica a isoniazida e diferenças hereditárias na acetilação deste medicamento<sup>6</sup>. As bases moleculares dessas características hereditárias começaram a ser elucidadas nos anos 80 com a caracterização de um polimorfismo encontrado no gene humano que codifica a enzima CYP2D6 (debrisoquin hydroxylase) que faz parte do grupo das isoenzimas (CYP) do citocromo P450<sup>7</sup>. As CYPs são responsáveis pelo metabolismo oxidativo de um grande número de drogas, dentre elas os antipsicóticos, os antidepressivos, os ansiolíticos e as drogas antiepilépticas. São encontradas nos diversos grupos étnicos, diferenças no funcionamento dessas enzimas levando a variabilidade na farmacocinética e na resposta terapêutica<sup>8</sup>.

Entretanto, o efeito farmacológico completo dos medicamentos não pode ser tido como características monogênicas, mas sim como características determinadas pela interação entre diversos genes que codificam proteínas envolvidas em múltiplas vias de absorção, metabolismo, distribuição, excreção e efeito das drogas; o que indica a natureza poligênica desta resposta.

Desta maneira o Projeto Genoma Humano, publicado no ano de 2001<sup>9,10</sup>, e o Projeto HapMap<sup>11</sup>, que teve sua primeira fase publicada no segundo semestre de 2005, associados a diversos genomas funcionais são tidos como grandes e importantes ferramentas para desvendar os componentes multifacetados da farmacogenética.

## 2- OS TIPOS DE VARIAÇÕES GENÉTICAS

Os polimorfismos representam variações comuns na sequência de DNA, e em alguns casos, dependendo da posição onde se encontram e o tipo de alteração, podem levar a um aumento ou redução da atividade de produtos codificados por genes. Eles incluem polimorfismos de uma única base (*Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs*, lê-se ‘snipi’), inserções e deleções, microssatélites e minissatélites (Figura 1). Os SNPs, como o próprio nome diz, representam a troca de uma única base que pode ou não

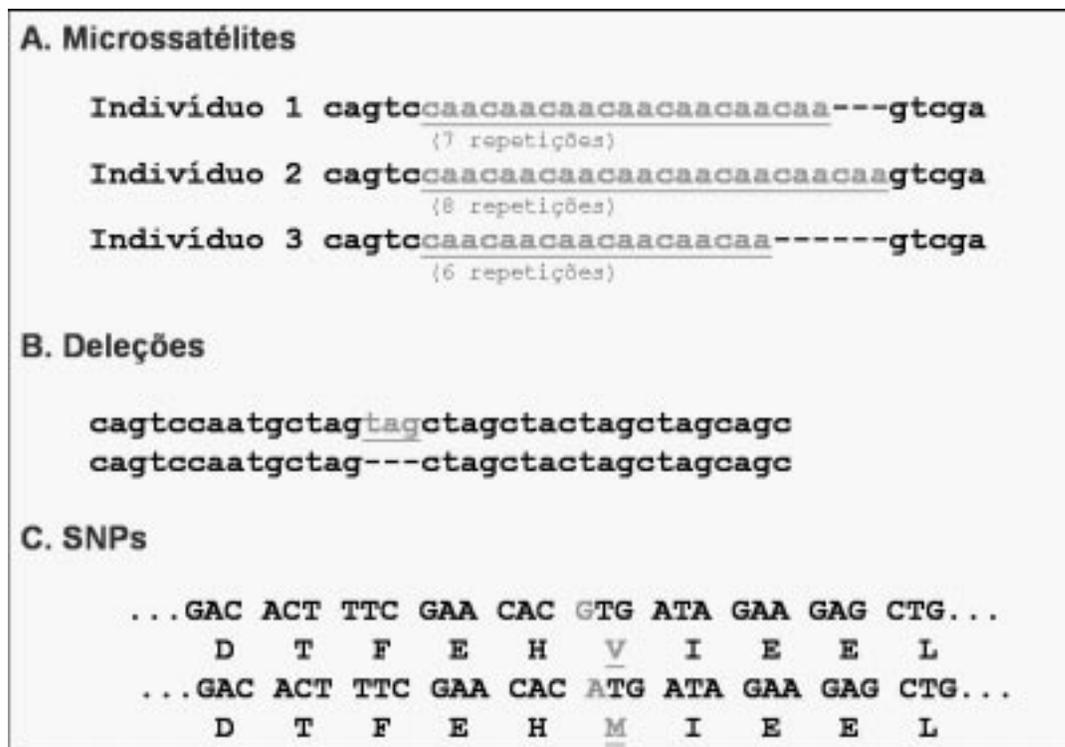
causar alteração de aminoácido na proteína. Sua frequência na população é maior que 1% e eles são responsáveis por mais de 90% da variação genética presente no genoma humano, estima-se que entre 50.000 e 250.000 SNPs estejam distribuídos em e ao redor de genes codificadores de proteínas<sup>12</sup>. Até o momento, foram identificados mais de 27 milhões de polimorfismos em humanos (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>; build 126, maio de 2006). Muitos SNPs não conferem alterações fenotípicas, mas estão ligados a certos haplótipos e podem servir como marcadores genéticos também. Microssatélites ou repetições em tandem são múltiplas cópias de uma sequência repetitiva de DNA com tamanho variando de 0.1 a 10kb<sup>13</sup>. Contrastando os polimorfismos, as mutações são alterações raras na sequência de DNA, ou seja, com frequências menores que 1% na população geral. Mutações podem ser de uma única base, deleções, inserções ou de rearranjo gênico.

O estudo de genes individuais cuja variação exerce uma influência mensurável no efeito de uma dada droga constitui o campo da Farmacogenética. A sua associação a técnicas de análise do genoma em larga escala, compõe a Farmacogenômica. Essa última fornece uma avaliação sistemática de como as variações gênicas podem influenciar na resposta a drogas específicas. Usando técnicas genéticas avançadas, as quais envolvem uma “varredura” de 10.000, 100.000 ou até 500.000 SNPs, as variantes genéticas envolvidas no metabolismo e na resposta a drogas podem, agora, ser identificadas.

## 3- GENES ENVOLVIDOS

Uma vez que uma droga tenha acesso ao corpo de um organismo, o mesmo desempenha um papel na determinação do espectro de efeitos bem como em sua intensidade e duração. A extensão com que uma droga pode ser absorvida e transportada a vários órgãos-alvo influencia no seu perfil de potência e efeito. A capacidade do corpo de metabolismo e desintoxicação da droga, bem como a sua capacidade de eliminar a droga e seus metabólitos, influencia a magnitude e duração dos efeitos. A variação genética pode potencialmente afetar a resposta individual à droga em vários passos.

A absorção de uma droga e sua distribuição a vários órgãos são processos governados não apenas pelas propriedades físico-químicas da droga, mas também por moléculas endógenas que ‘encontram’ a dro-



**Figura 1.** Exemplos de polimorfismos encontrados na sequência de DNA. **(A) Microssatélites:** exemplo de uma repetição trinucleotídica que varia em número entre os indivíduos. **(B) Deleções:** exemplo de uma deleção de três nucleotídeos ('tag'). **(C) SNPs:** exemplo de uma alteração de um nucleotídeo guanina (G) para uma adenina (A) na região codificadora de um gene, levando a uma alteração de aminoácido (Valina ® Metionina) na proteína produzida pelo gene. Os SNPs que levam a uma alteração de aminoácidos são chamados de SNP não-sinônimo. Por outro lado, quando os SNPs ocorrem na região codificadora do gene, mas a alteração de nucleotídeo não leva a alteração de aminoácido, são chamados SNPs não-sinônimo.

ga após sua exposição. Os exemplos de tais moléculas incluem: proteínas de transporte, proteínas presentes no sangue e lipídeos. As proteínas associadas a membranas transportam as drogas ativamente conduzindo substâncias endógenas e exógenas através de superfícies celulares. Adicionalmente, as proteínas circulantes do plasma podem se ligar à droga e facilitar a sua distribuição a vários destinos no corpo<sup>14</sup>.

Genes candidatos para a variação na resposta a drogas são aqueles que codificam enzimas metabolizadoras de drogas (DMEs) ou de seus produtos, e que provavelmente possuem polimorfismos que têm uma maior influência nesse tipo de resposta quando comparados com outros genes dentro do genoma<sup>15</sup>. As DMEs estão relacionadas com a neutralização de compostos xenotóxicos e com o controle da concentração de moléculas de sinalização em vias endógenas<sup>16</sup>. O principal sítio metabolizador de drogas do organismo é o fígado, embora muitas DMEs estejam ativas em outros tecidos; como por exemplo formando a barreira hemato-encefálica<sup>17</sup>.

Entretanto os genes codificadores de DMEs não são os únicos grupos de genes que podem ter variações relevantes na resposta a drogas; o transporte de drogas também é um outro processo importante, e como as drogas devem se ligar fisicamente a seus alvos (receptores ou enzimas) para modular sua ação, os genes que codificam proteínas envolvidas nesse processo também podem estar envolvidos na variação da resposta<sup>15</sup>.

As variações genéticas em enzimas metabolizadoras de drogas resultam em quatro diferentes níveis de funcionamento metabólico, os quais são classificados dentro de quatro grupos metabólicos fenotípicos<sup>3</sup>:

- Metabolizadores extensivos ou normais (EMs): são aqueles que possuem atividade metabólica normal ou elevada.
- Metabolizadores pobres (PMs): referem-se aos indivíduos que apresentam baixa ou até mesmo nenhuma atividade metabólica.

- Metabolizadores intermediários (IMs): possuem baixa ou função metabólica incompleta (não-pareada). É maior do que a que está presente na PMs, porém, menor do que a encontrada na EMs.
- Metabolizadores ultrarápidos (UMs): Possuem atividade metabólica de máxima condução para o metabolismo rápido e para a excreção de drogas.

No caso dos PMs, como tais indivíduos possuem uma baixa taxa metabólica de substratos, há um alto risco de toxicidade, o qual pode ser resultado do tratamento com medicamentos que normalmente são metabolizados por izoenzimas que estão com sua expressão alterada nestes pacientes especificamente<sup>3</sup>.

Assim os genes que codificam DMEs e transportadores de drogas estão relacionados com as propriedades farmacocinéticas, que incluem absorção, distribuição, disposição, metabolização e eliminação das drogas. Já aqueles genes que codificam para alvos das drogas possuem influência na farmacodinâmica, que seria o efeito biológico da droga<sup>15</sup>.

#### 4- FARMACOGENÉTICA NA EPILEPSIA

O conceito de epilepsia não se aplica a uma doença específica ou a uma única síndrome, mas sim a um grupo de diferentes condições neurológicas que tem uma característica em comum: a presença de crises epiléticas recorrentes, usualmente não provocadas. As crises epiléticas, por sua vez, são decorrentes de descargas neuronais síncronas, excessivas e anormais que estão localizados predominantemente no córtex cerebral.

Em um terço dos pacientes com epilepsia as drogas antiepilépticas são ineficientes<sup>18</sup>, porém, as causas e mecanismos responsáveis por essa multirresistência não são totalmente compreendidos, podendo ocorrer devido a alterações nos alvos das drogas ou devido a um decréscimo na penetração das drogas antiepilépticas no cérebro. Algumas alterações estruturais, tais como esclerose hipocampal, parecem estar particularmente associadas com a farmacoresistência<sup>19</sup>.

Dentre as proteínas envolvidas na cinética de drogas antiepilépticas estão várias classes de proteínas transportadoras de drogas com relevante farmacogenética. Uma dessas classes compreende as proteínas transportadoras de solutos (*solute carrier* 'SLC' *proteins*) e compreende os transportadores de ânion, transportadores de cátions, transportadores de peptí-

deos, transportadores de nucleosídeos, transportadores de monocarboxilatos e membros da família ATP-binding<sup>20</sup>. Tais proteínas são expressas em muitos tecidos, incluindo o plexo coróide<sup>21</sup> e têm, portanto, potencial de afetar a distribuição de drogas no sistema nervoso central. Os genes codificadores de proteínas SLCs são altamente polimórficos e esta variação tem significado funcional<sup>22,23</sup>.

Uma droga antiepiléptica comumente utilizada, o ácido valpróico, é sabidamente um substrato do transportador de monocarboxilato, *SLC16A2*<sup>24</sup>, um candidato lógico a avaliação de diferenças individuais nos efeitos do ácido valpróico<sup>25</sup>.

Entre os vários tipos de proteínas transportadoras de drogas, a família ATP-binding (ABC) tem sido estudada intensivamente em relação aos efeitos das drogas antiepilépticas. As proteínas ABC são produtos de genes de resistência a multidrogas (*multidrug resistance* 'MDR' *genes*), os quais estão expressos amplamente, incluindo as células endoteliais dos capilares que constituem a barreira hemato-encefálica<sup>22,26</sup>. O gene *ABCB1* (*MDR1*) codifica uma p-glicoproteína (p-GP) reconhecida por um elemento-chave na regulação do acesso de diversos agentes terapêuticos ao cérebro e outros tecidos<sup>27,28</sup>. Os estudos de farmacogenética investigando os genótipos de *ABCB1* e a epilepsia refratária têm apresentado resultados conflitantes, mostrando associação positiva em alguns<sup>29,30,31</sup> e negativa em outros<sup>32,33,34</sup>.

Pertencente a uma outra classe de moléculas transportadoras de drogas, o gene *MVP* (*Major Vault Protein*)<sup>35</sup>, parece ser relevante na resposta a drogas antiepilépticas e mostrou ter expressão aumentada em várias formas de epilepsia resistente ao tratamento<sup>36</sup>. Até o momento, não foram relatados estudos associando SNPs em *MVP* e a resposta a drogas antiepilépticas.

A biotransformação ou metabolismo de drogas antiepilépticas é diversa e envolve diversas enzimas do hospedeiro<sup>37</sup>, além de sofrer influências ambientais<sup>38</sup>, tais como dieta ou fumo. Os efeitos são diversos principalmente pelo fato de que as enzimas metabolizadoras de drogas são produtos de genes polimórficos<sup>39</sup>. O metabolismo de drogas envolve duas fases principais: na fase 1, ocorrem reações envolvendo a família do citocromo P450 (CYP), com várias funções de oxidases. Em geral, as reações da fase 1 envolvem a adição de um grupo funcional, o qual será usado como sítio de conjugação nas reações da fase 2. Na fase 2,

as reações de conjugação aumentam a hidrofiliabilidade e facilitam a excreção renal da droga. As enzimas envolvidas na conjugação de compostos endógenos às drogas exógenas representam outro nível potencial de influência genética, já que foram identificados polimorfismos em todas as principais enzimas de fase 2 conhecidas, incluindo N-acetiltransferases, sulfatases, glucuronidases e glutatona sintetase<sup>14</sup>.

O metabolismo pode influenciar a resposta a drogas de várias maneiras, mas sob condições típicas, quando a droga é o principal composto ativo terapêutico, as variantes enzimáticas com atividade relativamente baixa, podem estar associadas com níveis plasmáticos mais elevados da droga do que o predito utilizando dosagens-padrão. Isso pode resultar na ocorrência de efeitos tóxicos ou adversos. Por outro lado, as variantes com atividade enzimática elevada podem estar associadas com a necessidade de se utilizar dosagens maiores que padrão prescrito. No caso das drogas antiepilépticas que são ativadas metabolicamente<sup>40</sup>, uma capacidade de biotransformação baixa ou ausente pode resultar em falha no tratamento devido à quantidade inadequada da droga. Assim, há uma variedade de mecanismos potenciais pelos quais o metabolismo polimórfico de drogas pode afetar a resposta a drogas antiepilépticas.

## 5- FARMACOGENÉTICA NA DOENÇA DE ALZHEIMER

A doença de Alzheimer (DA) é uma patologia neurodegenerativa progressiva, usualmente de longa evolução, caracterizada por uma disfunção cognitiva global (especialmente – perda de memória), alterações de comportamento ou personalidade e debilitações na performance de atividades diárias. Do ponto de vista anatomopatológico, caracteriza-se por atrofia do córtex cerebral, em graus variáveis, resultante de perda neuronal e degeneração sináptica, sobretudo nas porções mediais dos lobos temporais e no córtex parietal. O exame histológico revela a ocorrência de placas senis e de emaranhados neurofibrilares nos tecidos acometidos, particularmente na formação hipocámpal e no neocórtex associativo<sup>41</sup>.

A DA é a principal causa de demência em idosos, representando mais da metade dos casos. Sua prevalência em ambos os sexos eleva-se exponencialmente com a idade, a partir dos 60 anos, passando de 0,7% aos 60-64 anos de idade para 6-8% aos 75 anos, superando os 20% aos 85 anos e atingindo cerca de

40-50% nos grupos etários de 90 a 95 anos. Isso revela a magnitude do problema no Brasil, onde já existe um expressivo número de indivíduos com mais de sessenta anos. Nos países em desenvolvimento, este é o grupo etário que mais cresce em termos percentuais, graças ao aumento da expectativa de vida. No Brasil, o aumento da população idosa entre 1950 e 2025 será da ordem de 15 vezes: isso fará com que o Brasil, hoje com cerca de 15 milhões de idosos, tenha, no ano 2025, a sexta população de idosos do mundo em termos absolutos, com mais de 35 milhões de indivíduos<sup>42</sup>.

Dado à variabilidade patológica da DA, com vários genes possivelmente associados, é bastante provável que, molecularmente, a DA represente um grupo heterogêneo de doenças. Como resultado, nem todos os pacientes vão responder a um dado agente terapêutico. Um tratamento eficaz para uma sub-população de pacientes com DA pode não ser adequada para todos os demais pacientes e, da mesma forma, um tratamento desenvolvido para uma mutação gênica específica (como nos casos familiares que apresentam mutação *PSEN1* e *PSEN2*), podem não ter efeito sobre outros pacientes com DA. Essa hipótese é fortalecida pela observação de que apenas 50% dos pacientes com DA tem uma resposta significativa com inibidores da acetilcolinesterase<sup>43</sup>. Posteriormente, foram relatados os efeitos moduladores da APOE na resposta da DA a agentes terapêuticos<sup>44, 45</sup>. Poirier et al. (1995) encontraram que, enquanto mais de 80% dos pacientes APOE-E4 negativos mostravam uma melhora significativa após 30 semanas de tratamento com um inibidor de acetilcolinesterase, 60% dos pacientes APOE-E4 positivos apresentaram um declínio considerável. Estudos posteriores com drogas similares confirmaram o pior desempenho dos pacientes com DA APOE-E4 positivos<sup>46, 47, 48</sup>.

Por outro lado algumas drogas como a citicolina (cytidine 5'-diphosphocholina), um intermediário na biosíntese de acetilcolina e fosfolípídeos, parece ter um efeito considerável em pacientes APOE-E4 positivos<sup>49</sup>.

## 6- CONCLUSÕES

Muito entusiasmo envolve os recentes avanços da Genômica e suas aplicações no entendimento das doenças mais comuns. Isto se justifica porque a identificação de novas variantes para predisposição a doenças pode indicar novos alvos terapêuticos e novas vias com numerosos genes candidatos que podem

apontar para novas direções no desenvolvimento de drogas e intervenções ambientais. Esta sistemática caracterização da natureza e função do polimorfismo genético em enzimas metabolizadoras-chave e outros avanços na farmacogenética têm um amplo potencial para melhorar a escolha do medicamento apropriado e a correta dose para qualquer paciente em particular.

Entretanto, para que a farmacogenética possa trazer benefícios será necessária uma intensa colaboração entre clínicos e pesquisadores, já que se as associações por si não podem guiar a terapia sem uma explícita avaliação clínica, similarmente a avaliação clínica deve conhecer informações sobre as variantes genéticas em estudo e como elas influenciam a resposta a drogas.

Muitos dos genes de suscetibilidade a doenças são também alvos de drogas e podem simultaneamente predispor os pacientes à doença bem como à refratariedade ao tratamento, podendo muitas vezes confundir os achados de resposta ao tratamento, remissão e/ou suscetibilidade. Além disso, as limitações dos estudos de associação devem ser levadas em consideração, tais como estratificação da população e tamanho amostral reduzido.

As análises de genotipagem são práticas porque requerem uma única amostra de DNA, já que as variações genéticas de resposta às drogas permanecem constantes durante toda a vida do indivíduo. Além disso, apenas uma pequena amostra de tecido do indivíduo é necessária, como por exemplo, sangue periférico ou uma amostra de esfregaço bucal, procedimentos estes que são considerados relativamente não invasivos. Com os avanços da tecnologia, esta metodologia está disponível de uma forma simples e rápida e que tende a se tornar cada vez mais eficiente e economicamente acessível.

Acredita-se que o potencial desta ciência na prática clínica se encontra no seu uso para predizer o manejo e a aplicação da droga específica para um indivíduo de acordo com o seu genótipo, oferecendo tratamentos mais eficazes e predizendo a vulnerabilidade a reações adversas.

## AGRADECIMENTOS

Fapesp (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), Abadhs (Associação Beneficente Alzira Denise Hertzog da Silva).

Nogueira BF, Almeida CR, Ojopi EPB. Pharmacogenetics in neurological diseases. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2006; 39 (4) 562-9.

**ABSTRACT:** Once a drug has access to the body of an organism, it plays a role in the determination of the specter of effect as well as in its intensity and duration. The extension with the drugs can be absorbed and carried to some target organ influences in its profile of strength and effect. The genetic variation can potentially affect the way an individual reply to the drug in some steps. The absorption of one drugs and its distribution to some organs are processed not only for the physicochemical properties of the drug, but also for endogenous molecules. Many of the susceptibility genes to the illnesses are also target of drugs and can simultaneously predispose the patients to the illness as well as the resistance to the treatment. The identification of new variants for illnesses predisposition can indicate new therapeutical targets and new pathways in the development of drugs and interventions. This systematic characterization of the nature and function of the genetic polymorphisms in enzymes and other advances in the pharmacogenetics has an extensive potential to improve the choice of the appropriate medicine and the correct dose for any patient in particular. In this article, we review the findings in pharmacogenetics of Epilepsy and Alzheimer's disease.

**Keywords:** Pharmacogenetics. Epilepsy. Alzheimer Disease. Polymorphism. Single Nucleotide Polymorphism. SNPs.

## REFERÊNCIAS

- 1 - Evans WE, Relling MV. Pharmacogenetics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999; 286:487-91.
- 2 - Efferth T, Volm M. Pharmacogenetics for individualized cancer chemotherapy. *Pharmacol Ther* 2005; 107:155-76.
- 3 - Ng CH, Easteal S, Tan S, Schweitzer I, Ho BK, Aziz S. The emerging role of pharmacogenetics: implications for clinical psychiatry. *Aust New Z J Psychiatry* 2004; 38:483-9.
- 4 - Kalow W. Familial incidence of low pseudocholinesterase level. *The Lancet* 1956; 268:576-7.
- 5 - Alving AS, Carson PE, Flanagan CL, Ickes CE. Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. *Science* 1956; 124:484-5.
- 6 - Hughes HB, Biehl JP, Jones AP, Schmidt LH. Metabolism of isoniazid in man as related to the occurrence of peripheral neuritis. *Am Rev Tuberc* 1954; 70:266-73.
- 7 - Gonzalez FJ, Skoda RC, Kimura S, Umeno M, Zanger UM, Nebert DW, et al. Characterization of the common genetic defect in humans deficient in debrisoquine metabolism. *Nature* 1988; 331:442-6.
- 8 - Lin KM, Poland RE, Wan YJ, Smith MW, Lesser IM. The evolving science of pharmacogenetics: clinical and ethnic perspectives. *Psychopharmac Bull* 1996; 32:205-17.
- 9 - Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409:860-921.
- 10 - Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001; 291:1304-51.
- 11 - International Hap Map Consortium. A haplotype map of the human genome. *Nature* 2005; 437:1299-320.
- 12 - Risch N. The genetic epidemiology of cancer: interpreting family and twin studies and their implications for molecular genetic approaches. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10:733-41.
- 13 - Danesi R, De Braud F, Fogli S, Di Paolo A, Del Tacca M. Pharmacogenetic determinants of anti-cancer drug activity and toxicity. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22:420-6.
- 14 - Ferraro TN, Buono RJ. The relationship between the pharmacology of antiepileptic drugs and human gene variation: an overview. *Epilepsy Behav* 2005; 7:18-36.
- 15 - Goldstein DB, Tate SK, Sisodiya SM. Pharmacogenetics goes to genomic. *Nature Rev Genet* 2003; 4:937-47.
- 16 - Nebert DW, Dieter MZ. The evolution of drug metabolism. *Pharmacology* 2000; 61:124-35.
- 17 - El-Bacha RS, Minn A. Drug metabolizing enzymes in cerebrovascular endothelial cells afford a metabolic protection to the brain. *Cell Mol Biol* 1999; 45:15-23.
- 18 - Loscher W, Schmidt D. New horizons in the development of antiepileptic drugs: the search for new targets. *Epilepsy Res* 2004; 60(2/3):77-159.
- 19 - Semah F, Picot MC, Adam C, Broglin D, Arzimanoglou A, Bazin B, Cavalcanti D, Baulac M. Is the underlying cause of epilepsy a major prognostic factor for recurrence? *Neurology* 1998; 51:1256-62.
- 20 - Gerloff T. Impact of genetic polymorphisms in transmembrane carrier-systems on drug and xenobiotic distribution. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004; 369:69-77.
- 21 - Ghersi-Egea JF, Strazielle N. Choroid plexus transporters for drugs and other xenobiotics. *J Drug Target* 2002;10:353-7.
- 22 - Ishikawa T, Tsuji A, Inui K, Sai Y, Anzai N, Wada M, Endou H, Sumino Y. The genetic polymorphism of drug transporters: functional analysis approaches. *Pharmacogenomics* 2004;5:67-99.
- 23 - Ishikawa T, Hirano H, Onishi Y, Sakurai A, Tarui S. Functional evaluation of ABCB1 (P-glycoprotein) polymorphisms: high-speed screening and structure-activity relationship analyses. *Drug Metab Pharmacokinets* 2004;19:1-14.
- 24 - Tamai I, Takanaga H, Maeda H, Sai Y, Ogihara T, Higashida H, Tsuji A. Participation of a proton-cotransporter, MCT1, in the intestinal transport of monocarboxylic acids. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;214:482-9.
- 25 - Dlugos DJ, Buono RJ, Ferraro TN. Defining the clinical role of pharmacogenetics in antiepileptic drug therapy. *Pharmacogenomics J* 2006; Feb 28 [Epub ahead of print]
- 26 - Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Casals D, Rittman-Grauer L, Biedler JL, Melamed MR, Bertino JR. Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86(2):695-8.
- 27 - Kwan P, Brodie MJ. Potential role of drug transporters in the pathogenesis of medically intractable epilepsy. *Epilepsia* 2005;46:224-35.
- 28 - Loscher W, Potschka H. Blood-brain barrier active efflux transporters: ATP-binding cassette gene family. *NeuroRx*. 2005; 2:86-98.
- 29 - Seo T, Ishitsu T, Ueda N, Nakada N, Yurube K, Ueda K, Nakagawa K. ABCB1 polymorphisms influence the response to antiepileptic drugs in Japanese epilepsy patients. *Pharmacogenomics* 2006;7:551-61.
- 30 - Soranzo N, Cavalleri GL, Weale ME, Wood NW, Depondt C, Marguerie R, Sisodiya SM, Goldstein DB. Identifying candidate causal variants responsible for altered activity of the ABCB1 multidrug resistance gene. *Genome Res* 2004;14:1333-44.
- 31 - Siddiqui A, Kerb R, Weale ME, Brinkmann U, Smith A, Goldstein DB, Wood NW, Sisodiya SM. Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1. *N Engl J Med* 2003; 348: 1442-8.
- 32 - Kim DW, Kim M, Lee SK, Kang R, Lee SY. Lack of association between C3435T nucleotide MDR1 genetic polymorphism and multidrug-resistant epilepsy. *Seizure* 2006; 15:344-7.
- 33 - Sills GJ, Mohanraj R, Butler E, McCrindle S, Collier L, Wilson EA, Brodie MJ. Lack of association between the C3435T polymorphism in the human multidrug resistance (MDR1) gene and response to antiepileptic drug treatment. *Epilepsia* 2005;46:643-7.

- 34 - Tan NC, Heron SE, Scheffer IE, Pelekanos JT, McMahon JM, Vears DF, Mulley JC, Berkovic SF. Failure to confirm association of a polymorphism in ABCB1 with multidrug-resistant epilepsy. *Neurology* 2004;63:1090-2.
- 35 - Scheffer GL, Wijngaard PL, Flens MJ, Izquierdo MA, Slovak ML, Pinedo HM, Meijer CJ, Clevers HC, Scheper RJ. The drug resistance-related protein LRP is the human major vault protein. *Nat Med* 1995;1:578-82.
- 36 - Sisodiya SM, Martinian L, Scheffer GL, van der Valk P, Cross JH, Scheper RJ, Brodie MJ. Major vault protein, a marker of drug resistance, is upregulated in refractory epilepsy. *Epilepsia* 2003;44(11):1388-96.
- 37 - Browne TR. Pharmacokinetics of antiepileptic drugs. *Neurology* 1998;51(5 Suppl 4):S2-7.
- 38 - McLean AE, Driver HE, McDanell R, Tacchi-Bedford AM. The influence of diet on activation and inactivation of chemicals - evidence from animals and man. *Dev Toxicol Environ Sci* 1986;12:79-89.
- 39 - Meyer UA, Zanger UM. Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997;37:269-96.
- 40 - Eadie MJ. Formation of active metabolites of anticonvulsant drugs. A review of their pharmacokinetic and therapeutic significance. *Clin Pharmacokinet* 1991;21:27-41.
- 41 - Petersen RC. Aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease. *Neurol Clin* 2000; 18:789-806.
- 42 - Instituto Brasileiro de Geografia Estatística – IBGE. Censo Demográfico. Rio de Janeiro: Ministério de Planejamento, Orçamento e Gestão, 2000
- 43 - Schneider LS, Farlow MR. Predicting response to cholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease: possible approaches. *CNS Drugs* 1995; 4:114-24.
- 44 - Poirier J, Delisle MC, Quirion R, Aubert I, Farlow M, Lahiri D, Hui S, Bertrand P, Nalbantoglu J, Gilfix BM, Gauthier S. Apolipoprotein E4 allele as a predictor of cholinergic deficits and treatment outcome in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(26):12260-4.
- 45 - Richard F, Helbecque N, Neuman E, Guez D, Levy R, Amouyel P. APOE genotyping and response to drug treatment in Alzheimer's disease. *Lancet* 1997; 22; 349(9051):539.
- 46 - Borroni B, Colciaghi F, Pastorino L, Archetti S, Corsini P, Cattabeni F, Di Luca M, Padovani A. ApoE genotype influences the biological effect of donepezil on APP metabolism in Alzheimer disease: evidence from a peripheral model. *Eur Neuropsychopharmacol* 2002 ;12:195-200.
- 47 - Poirier J. Apolipoprotein E4, cholinergic integrity and the pharmacogenetics of Alzheimer's disease. *J Psychiatry Neurosci* 1999;24:147-53.
- 48 - Poirier J, Sevigny P. Apolipoprotein E4, cholinergic integrity and the pharmacogenetics of Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 1998;53 (Suppl.):199-207.
- 49 - Alvarez XA, Mouzo R, Pichel V, Perez P, Laredo M, Fernandez-Novoa L, Corzo L, Zas R, Alcaraz M, Secades JJ, Lozano R, Cacabelos R. Double-blind placebo-controlled study with citicoline in APOE genotyped Alzheimer's disease patients. Effects on cognitive performance, brain bioelectrical activity and cerebral perfusion. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1999; 21:633-44.