

Neuza Margarida Nascimento Costa

Estudos Clínicos de Fase 0 no contexto dos Ensaio Clínicos: um novo paradigma a considerar?

Dissertação apresentada na Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra para obtenção do Grau de Mestre em Patologia Experimental sob a orientação científica do Professor Doutor Carlos Alberto Fontes Ribeiro

Julho de 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Por decisão pessoal da autora, a dissertação não segue o novo Acordo Ortográfico

Agradecimentos

Aos meus pais e restante família, pelo apoio incondicional e dedicação, por sempre acreditarem em mim e incentivarem as minhas escolhas.

Ao meu namorado Diogo, pela amizade demonstrada e pela motivação dada ao longo deste percurso.

Ao Professor Doutor Carlos Alberto Fontes Ribeiro, meu orientador, pela orientação disponibilizada para a realização da presente tese.

RESUMO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), os ensaios clínicos são estudos desenhados para serem desenvolvidos em humanos ou grupo de humanos com o intuito de avaliação dos efeitos e resultados de uma ou mais intervenções sobre a saúde dos mesmos. As exigências de pesquisa farmacêutica enfrentam novos desafios alicerçados a novas demandas terapêuticas e é um facto que, o desenvolvimento de novos fármacos pressupõe estudos que exigem processos morosos e dispendiosos.

No sentido de se alcançarem níveis de eficiência e efectividade mais promissores, a *Food and Drug Administration* (FDA), apresentou um novo conceito de estudos denominados Estudos Clínicos de Fase 0. Os estudos clínicos da Fase 0, com enfoque em estudos de microdosagem, surgem como uma resposta promissora à necessidade de mudança do modelo tradicional de ensaios clínicos de novos fármacos, sendo estes os primeiros estudos em seres humanos, procurando resultados sobre os critérios farmacológicos importantes ao processo de tomada de decisão acerca de potenciais novos fármacos.

A presente dissertação pretende realizar um estudo detalhado do estado da arte acerca desta nova abordagem de investigação científica de fármacos, enfatizando as suas principais aplicações, as suas potencialidades e especificidades, bem como, surge com o intuito de realização de uma reflexão aprofundada acerca dos seus principais pontos críticos. Também neste domínio, tem como finalidade um estudo mais detalhado sobre o enquadramento regulamentar, legal e ético inerente ao desenvolvimento de estudos clínicos de Fase 0. Dado o potencial promissor desta nova visão de investigação de novos fármacos em humanos, urge a necessidade de compilação de dados que possam garantir um maior aprofundamento da temática em causa e sua transposição para a realidade de investigação actual e futura, particularmente no contexto da investigação clínica em Portugal.

Palavras-Chave: Fase 0; Microdosagem; Ensaio Clínicos; Fármaco.

ABSTRACT

According to the *World Health Organization* (WHO), clinical trials are designed to be applied in to humans or human groups with the goal of evaluating the effects and results of one or more interventions on the subject's health. The demands of pharmaceutical research faces new challenges supported by a rising demand of new therapeutics, and it is a fact that the development of new pharmaceuticals presupposes long and costly processes.

By trying to achieve more promising levels of efficiency and effectiveness, the *Food and Drug Administration* (FDA), introduced an innovation on pharmaceutical research and development: Phase 0 trials. The Phase 0 trials, while focused on microdosing, come up as a promising answer to the need for change of the traditional drug development model, with these being the first human trials, trying to achieve new important criteria on the process of decision-making about potential future drugs.

This thesis intends to be a thorough focus on the *state of the art* surrounding this new approach on pharmaceuticals development and research, by emphasizing its primary applications, its potential and its specificities, as well as reflecting on their critical points. The legal and ethical framing of Phase 0 trials is also of the utmost importance. Given this type of trials' potential there's an urge to compile all the data, especially when it comes to its application on clinical investigation in Portugal.

Keywords: Phase 0 Trials; Microdosing; Clinical Trials; Pharmaceuticals;

ÍNDICE

	Página
Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos	i
Lista de Figuras	iii
Lista de Tabelas	iv
Introdução	1
Material e Métodos	5
Resultados e Discussão:	8
1. Desenho conceptual dos estudos clínicos de Fase 0	8
2. Objectivos dos estudos clínicos de Fase 0	10
3. Classificação dos estudos clínicos de Fase 0	11
4. Principais diferenças entre estudos de Fase 1 e estudos clínicos de Fase 0	14
5. Desenho metodológico dos estudos clínicos de fase 0	19
5.1. Selecção de agentes para realização de um estudo clínico de Fase 0	19
5.2. Configurações de um estudo clínico de Fase 0	21
5.3. Técnica analítica - Espectrometria Aceleradora de Massa (AMS) e Cromatografia Líquida- Espectrometria de Massa (LC-MS)	25
5.4. Técnica analítica - Tomografia por Emissão de Positrões (PET)	28
5.5. Modelo de decisão pós-estudo clínico de Fase 0	31
6. Principais benefícios e inconvenientes inerentes aos estudos clínicos de Fase 0	35
7. Aplicações emergentes dos estudos clínicos de Fase 0	40
8. Alguns exemplos de estudos clínicos de Fase 0	46
9. Aspectos éticos, legais e regulamentares dos estudos clínicos de Fase 0	54
9.1. Desafios éticos dos estudos clínicos de Fase 0	58
9.2. Aspectos legais e regulamentares da Investigação Clínica	66
10. Breve reflexão sobre contexto actual e futuro dos estudos de Fase 0	77
Conclusão	79
Referências Bibliográficas	

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos:

AMS - Espectrometria aceleradora de massa

AUC - Área sob a curva de concentração

B-on - Biblioteca do Conhecimento Online

CEIC - Comissão de Ética para a Investigação Clínica

CIOMS - *Council for International Organizations of Medical Sciences*

DHFR - Dihydrofolate reductase

DNA - Ácido desoxirribonucleico

EMA - Agência Europeia de Medicamentos

EUCTR - *European Union Clinical Trials Register*

FDA - *Food and Drug Administration*

FIH - *First-in- Human*

GBq - Gigabecquerel

HPLC - Cromatografia líquida de alta performance

ICH-GCP - *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use- Guidelines for Good Clinical Practice (ICH-GCP)*

IND - *Investigational New Drug*

INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P

LC-MS - Cromatografia líquida com espectrometria de massa

LC-MS/MS - Espectrometria de massa de cromatografia líquida/ espectrometria de massa

MoA - Mecanismo/modo de acção relacionado à eficácia

MS - Espectrometria de massa

NOAEL - Nível de efeito adverso não observado

OMS - Organização Mundial de Saúde

PARP - Poly (Adenosine diphosphate ribose) polymerase

PBMC's - *Peripheral blood mononuclear cells*

PD - Farmacodinâmica

PET - Tomografia por emissão de positrões

PK - Farmacocinética

RNA- Ácido ribonucleico

RNEC - Registo Nacional de Estudos Clínicos

RNECS - Rede Nacional das Comissões de Ética para a Saúde

SOP's - *Standard operating procedures*

µg - Micrograma

β⁺, β⁻ - Emissão beta positiva/negativa

mg/cm - Miligramas/centrímetro

mL/min - Mililitro/minuto

mg/mL- Miligramas/mililitro

IV - Via intravenosa

Lista de Figuras

Figura 1- Fluxograma de metodologia de pesquisa na B-on

Figura 2- Fluxograma de metodologia de pesquisa na Pubmed

Figura 3- Modelo de decisão para os estudos de Fase 0 e desenvolvimento clínico posterior, adaptado de Gupta *et al.* (2011)

Lista de Tabelas

Tabela 1- Diferenças entre o método convencional (estudos de Fase 1) e os estudos exploratórios de novos fármacos (Estudos de Fase 0)

Tabela 2- Candidatos-alvo de Fase 0 comparativamente com a Fase 1, adaptado de Gupta *et al.* (2011)

Tabela 3- Comparação entre as diferentes técnicas bioanalíticas, adaptado de Bauer, Wagner & Langer (2008)

Tabela 4- Factores de impacto dos estudos de Fase 0 nas etapas críticas de um ensaio clínico, adaptado de Fuloria, Fuloria & Vakilodin (2013)

INTRODUÇÃO:

Os ensaios clínicos de Fase 0 ou também denominados de "estudos exploratórios investigacionais de novos fármacos" surgiram como uma importante promessa no incremento da eficácia e eficiência do processo de desenvolvimento de novos fármacos.

De acordo com a *Food and Drug Administration* (2004) apesar dos enormes avanços constatados no âmbito da pesquisa biomédica no decurso das últimas décadas, o surgimento de novos fármacos e os avanços da indústria farmacêutica não acompanharam tal evolução, tornando o processo de desenvolvimento de novos fármacos cada vez mais desafiante, ineficiente, dispendioso e moroso.¹

Neste âmbito, o desenvolvimento de um novo fármaco caracteriza-se por ser um processo dinâmico mas complexo, desenvolvido entre a combinação dos mais recentes avanços farmacológicos e um entendimento preciso do perfil farmacocinético, farmacodinâmico e farmacogenómico do fármaco em questão.² A concretização de tal processo tem sido condicionada por uma série de factores que restringem a realização bem-sucedida de todas as etapas inerentes ao mesmo, desde o descobrimento até à comercialização do fármaco, destacando-se a baixa previsibilidade dos estudos pré-clínicos em modelos animais, bem como, a falta de biomarcadores validados com potencial para a validação precoce de um novo composto^{2,3}.

Tais condicionantes conduziram a um estado de estagnação na descoberta de novos fármacos que foi documentada ao longo da última década e que, não acompanhou o investimento realizado em actividades relacionadas à sua pesquisa e desenvolvimento⁴. Neste domínio, também o investimento em pesquisas centradas no desenvolvimento de medicamentos de alto risco e/ou medicamentos promissores no tratamento de doenças de menor prevalência, que acometem sobretudo populações minoritárias, tem sido cada vez mais limitado devido ao aumento exponencial dos custos e recursos envolvidos. A ineficiência do modelo tradicional de estudo instituído até então traduziu-se numa taxa de insucesso de cerca de 62% na Fase 2, de 45% na Fase 3 e, ainda, de 23% no momento de registo para comercialização².

Reconhecendo este problema, que foi denominado de "*problema de pipeline*", a FDA assinalou no seu relatório "*Innovation or stagnation: challenges and opportunity on the critical path to new medical products*"¹, em 2004, o substancial declínio de submissão de pedidos para

estudo e comercialização de novos medicamentos e de novas aplicações de licença biológica, identificando uma série de potenciais factores responsáveis pelas falhas no estudo de novos fármacos nas últimas décadas (sobretudo no que se refere ao estudo da farmacocinética) e que conseqüentemente, conduziram a um declínio nos avanços farmacêuticos para o tratamento de doenças.

O modelo tradicional de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos tornou-se tão caro e dispendioso e o processo tão prolongado que o custo médio de introdução de um novo fármaco no mercado, incluindo o custo das suas falhas, foi estimado na ordem dos 800 milhões a 2 bilhões de dólares, num período de tempo estimado de pelo menos 10-15 anos ⁵. A título de exemplo, em 2000, um novo composto que passaria para a Fase 1 após vários anos de avaliação pré-clínica apresentaria uma probabilidade de 8 % de ter a sua entrada aprovada no mercado em oposição à taxa de sucesso histórica de 14% datada no ano de 1985. Para além disso, apenas 2 de 10 fármacos comercializados retornariam o investimento realizado no seu desenvolvimento. ⁶

Com o intuito de resolução deste impasse, a FDA juntamente com a sua homóloga europeia, Agência Europeia de Medicamentos (EMA), partilharam da concepção de uma nova visão do modelo tradicional de desenvolvimento de medicamentos e encorajaram uma mudança de paradigma inovadora, capaz de agilizar o tempo e recursos despendidos no estudo de novos fármacos, permitindo mais precocemente a distinção entre os candidatos com um potencial benefício ou não. ⁵

Tal conceito de modernização ao modelo tradicional foi apresentado, em 2006, pela FDA, que emitiu uma orientação regulatória sobre a condução de estudos exploratórios de novos fármacos, *Guidance for Industry, Investigators, and Reviewers – Exploratory Investigational New Drugs (IND) Studies*.⁷ Estes estudos proporcionariam a oportunidade de realização de ensaios clínicos numa fase precoce em humanos, de novos agentes de investigação, administrados em doses subterapêuticas e que teriam como finalidade o estudo da relação fármaco-alvo e a avaliação das interações de farmacocinética-farmacodinâmica, numa fase anterior às fases que constituem o modelo tradicional de desenvolvimento clínico. Estes estudos seriam então denominados de estudos de Fase 0, primeiros estudos realizados em humanos, conduzidos antes da realização dos estudos tradicionais de escalada de dose,

segurança e de tolerância de Fase 1, não apresentando qualquer finalidade terapêutica ou diagnóstica em si mesmos.^{8,9}

Atendendo ao facto de que, as actuais estratégias de desenvolvimento de fármacos continuam a basear-se na assunção de que a eficácia das mesmas se encontra inerente a uma relação de dose-toxicidade estabelecida e tendo em consideração que, tal pressuposto pode não ser válido sobretudo no que diz respeito aos novos alvos moleculares que se encontram a ser estudados na actualidade, ambas as agências regulatórias sustentam a necessidade de estratégias alternativas à sequência tradicional de desenvolvimento de novos fármacos, abrindo caminho a novas metodologias como é o caso dos estudos de Fase 0. A expectativa depositada nestes estudos reside na possibilidade de alcance de uma extensa caracterização do agente e da avaliação da sua acção no alvo, utilizando para tal, métodos analíticos altamente sensíveis.⁸

Neste contexto, surge como uma promissora ferramenta para a compreensão das características de um medicamento experimental candidato, da sua farmacocinética e farmacodinâmica e, ainda, da relevância da sua acção no órgão-alvo para o tratamento da doença em questão avaliando, desde logo, todos estes aspectos cruciais num modelo *in vivo* humano e em tempo real.^{5,10}

Tais dados poderiam fornecer assim informações valiosas para a tomada de decisão acerca do avanço do fármaco, potencialmente reduzindo os custos de estudos pré-clínicos iniciais e estudos posteriores em seres humanos.¹¹ Assim, reformulando a estratégia de desenvolvimento de novos fármacos de um estadió translacional de modo não-clínico para um modo clínico, o ser humano surge como a principal ferramenta para o próprio estudo do fármaco.¹²

Os estudos de Fase 0 têm sido desenvolvidos ao longo dos últimos anos e, com o intuito de se conhecer aprofundadamente o estado da arte acerca de tal temática, realizou-se a presente revisão a fim de se desenvolver uma análise pormenorizada dos principais aspectos a ter em consideração acerca dos estudos clínicos de Fase 0 nomeadamente, os *insights* e perspectivas destes estudos e todos os aspectos inerentes à concepção, desenho, planeamento e execução deste novo modelo de estudo clínico de novos fármacos.

Para tal, o presente trabalho irá ser estruturado de forma a recolher e analisar os dados mais recentes sobre os estudos clínicos de Fase 0, designadamente no que toca à sua

aplicabilidade, benefícios e inconvenientes da sua realização bem como, dos aspectos regulamentares e éticos inerentes aos mesmos na actualidade. Importa ressaltar que, será dada particular relevância ao desenvolvimento dos estudos de microdosagem, nomeadamente no que toca aos estudos de farmacocinética e farmacodinâmica sobre o organismo humano. Para finalizar, será realizada uma reflexão crítica acerca das perspectivas e visão futura da integração destes estudos clínicos no estudo de desenvolvimento de novos fármacos em humanos.

MATERIAL E MÉTODOS:

Partindo do enquadramento teórico apresentado, foi definida como questão de investigação norteadora “Os estudos clínicos de Fase 0 no contexto dos ensaios clínicos de novos fármacos: um novo paradigma a considerar?”. Para responder à questão, foi conduzida uma abrangente revisão sistemática da literatura.

Importa ressaltar que, como linha orientadora para a formulação desta questão de investigação e definição dos critérios de inclusão e exclusão dos estudos na presente revisão foi considerado como uma prioridade, desde logo, o recurso à estratégia de PICOD. Este acrónimo representa um conjunto de elementos que são essenciais para a realização de uma pesquisa bibliográfica de evidências bem-sucedida e, conseqüentemente para a resolução eficaz da questão de investigação em enfoque.¹³

Neste contexto, para a selecção dos estudos a incluir na presente revisão sistemática da literatura foram seguidas as orientações inerentes à estratégia referenciada anteriormente: P: Participantes – estudos realizados a indivíduos com 18 anos ou mais e que tenham participado num estudo clínico de Fase 0; I: Intervenções – estudos centrados na avaliação da eficácia e efectividade dos estudos na fase 0 no desenvolvimento de novos fármacos, particularmente estudos de microdosagem; C: Comparações – comparações entre resultados das variáveis dos estudos; O: Resultados (“*Outcomes*”) – resultados de farmacocinética e farmacodinâmica, relação entre estes parâmetros; benefícios e complicações decorrentes de estudos de Fase 0; aspectos éticos relacionados com os estudos. D: *Design* – estudos de ensaios clínicos.¹³

O processo de selecção dos artigos a incluir na presente revisão da literatura teve início no mês de Outubro de 2017 tendo-se prolongado até ao mês de Janeiro de 2018. Como metodologia utilizada foram efectuadas pesquisas em diversos motores de busca e bases de dados electrónicas nomeadamente, na *B-On* e na base de dados *Pubmed*.

Para a pesquisa foram utilizados como descritores-chave: "*clinical trial*" AND "*phase 0*" AND "*microdosing or microdose*" sendo que, em cada pesquisa foram definidos como filtros de restrição, a apresentação de artigos somente em inglês, português e espanhol e com disponibilização de resumo/*abstract* para consulta prévia. A revisão de literatura foi restrita a um período temporal de 10 anos (2007 a 2017), com a intenção de delimitar temporalmente o estudo.

Numa primeira etapa foram seleccionados os artigos atendendo à leitura dos seus resumos/*abstracts*, analisando a sua pertinência e relevância de acordo com os critérios de selecção definidos em seguida. Posteriormente, os resultados da pesquisa com potencial interesse foram lidos integralmente para confirmação da inclusão/exclusão do artigo na presente revisão. Assim, para cada estudo a qualidade metodológica seria avaliada segundo os itens: uso de critérios claros de inclusão e de exclusão, evidência do desenho de estudo, dimensão global e características da amostra.

Como critérios de inclusão foram definidos: estudos clínicos de Fase 0 em adultos; estudos clínicos de Fase 0 em indivíduos saudáveis ou doentes; estudos primários (estudos controlados e randomizados e ensaios clínicos de fármacos em Fase 0); estudos de microdosagem de fármacos em humanos e artigos de peritos ou entidades reguladoras, relacionados à temática. Complementarmente à informação prévia, foram também considerados legíveis consensos de peritos e/ou recomendações internacionais/nacionais relativamente à temática.

Como critérios de exclusão foram definidos: cartas ao editor ou artigos de revisão não incluindo novos dados observacionais sobre a temática.

Foram obtidas mais entradas potencialmente interessantes para o âmbito da revisão, que foram avaliadas e integradas à luz dos critérios de inclusão e exclusão.

Importa ressaltar que, foram realizadas algumas pesquisas adicionais com descritores-chave alternativos nos motores de busca e base de dados, com intuito de integrar mais bibliografia com potencial interesse para o estudo da temática em causa, tendo estes sido também submetidos à análise dos mesmos critérios de inclusão/exclusão.

Nesta busca bibliográfica importa ainda ressaltar as considerações éticas e legais envolventes sendo que, na selecção dos estudos primários foi tida em consideração a menção de aprovação por uma comissão de ética, bem como, do termo de consentimento livre e esclarecido dos participantes.

Para uma melhor compreensão de todas as etapas metodológicas realizadas neste processo de integração dos estudos na presente revisão, serão apresentadas de seguida as figuras 1 e 2, com representação esquemática do fluxograma de pesquisa.

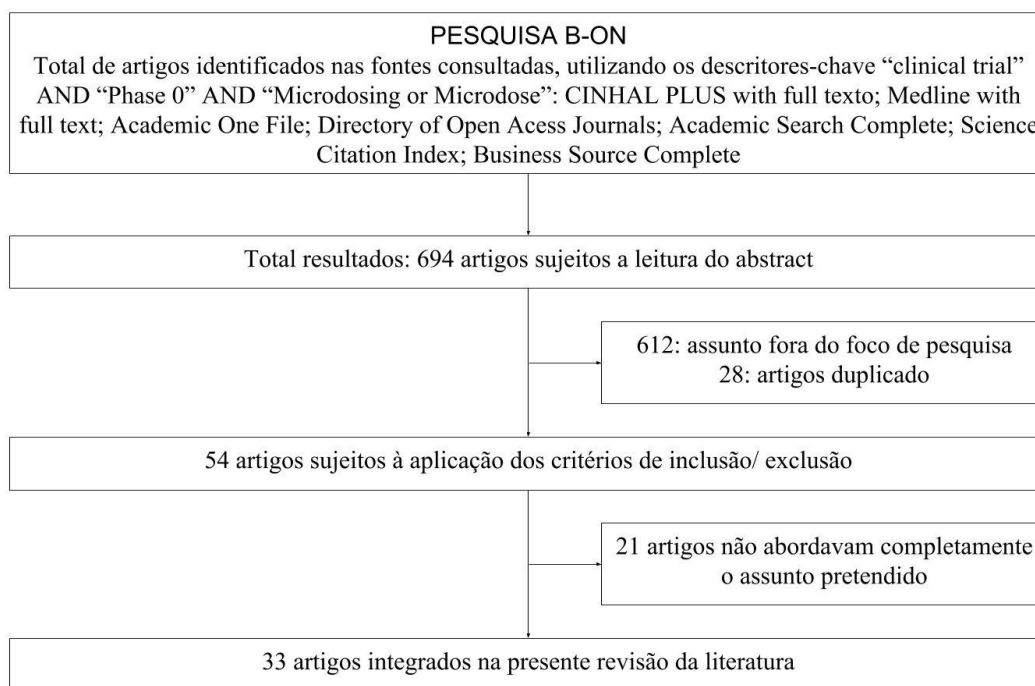


Figura 1 - Fluxograma de metodologia de pesquisa na B-on

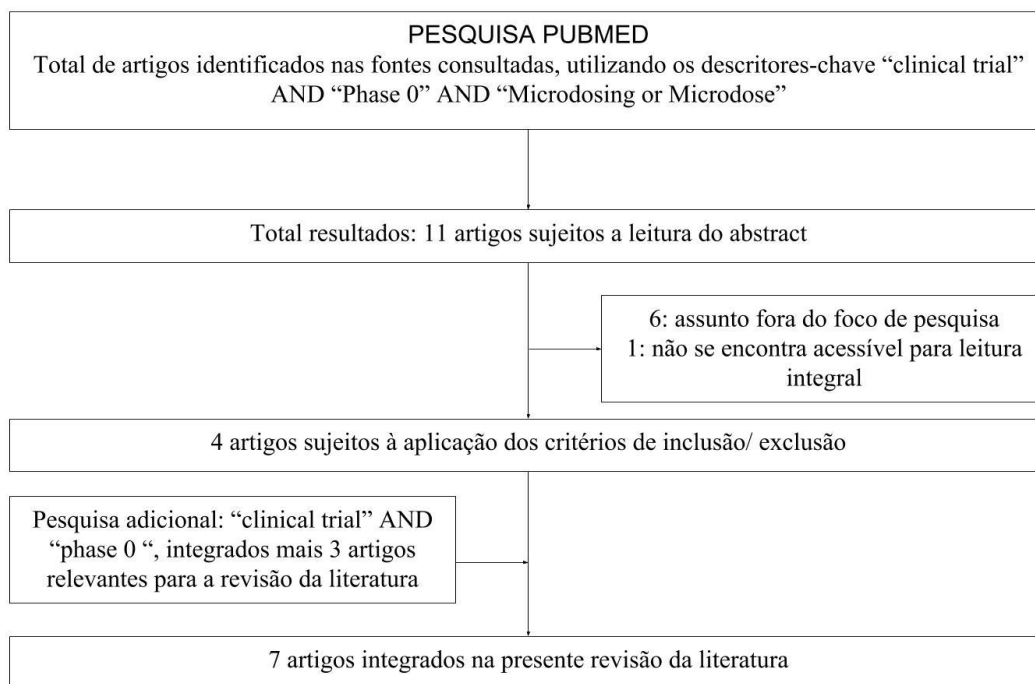


Figura 2 - Fluxograma de metodologia de pesquisa na Pubmed

Assim, por fim, para realização da presente revisão foram integrados 40 artigos considerados pertinentes para dar resposta aos objectivos propostos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

1. Desenho conceptual dos estudos clínicos de Fase 0

Os estudos clínicos de Fase 0 caracterizam-se por serem estudos exploratórios de um novo medicamento experimental, realizados em humanos antes do início da Fase 1. São estudos realizados antes dos estudos típicos de escalada de dose, segurança e de tolerância de um novo medicamento experimental, que tipicamente caracterizam o início dos estudos clínicos tradicionais.^{14, 3, 15, 16}

Estes estudos não apresentam qualquer finalidade terapêutica e/ou diagnóstica e são sobretudo desenvolvidos com o intuito de se conhecer o perfil farmacocinético e farmacodinâmico de um determinado composto nos seres humanos.¹⁴ Também de acordo com Fuloria, Fuloria & Vakiloddin (2013), estes estudos têm-se revelado uma promissora ferramenta analítica no reposicionamento e exploração do perfil farmacogenómico de novos fármacos.¹⁷

Importa ressaltar que, um dos atributos mais importantes de um medicamento consiste no seu perfil farmacocinético. Na literatura consultada, a farmacocinética sub-ótima é declarada como uma das principais razões para as falhas durante o desenvolvimento de novos fármacos na medida em que, concentrações muito baixas de fármaco no órgão-alvo por um curto período de tempo podem conduzir a falhas na eficácia do mesmo enquanto concentrações elevadas atingindo alvos errados por um período de tempo mais prolongado podem conduzir a um estado de toxicidade. Assim, uma nova abordagem exploratória experimental de novos medicamentos experimentais foi desenvolvida, no sentido de abordar questões relativas ao metabolismo do fármaco e à sua acção no ser humano, sendo esta conhecida como estudos clínicos de Fase 0.²

Estes estudos não têm intenção de substituição dos estudos até então requeridos no modelo tradicional de ensaios clínicos, assim como, não procuram determinar se um novo medicamento experimental terá ou não um impacto positivo no tratamento da doença alvo mas sim, surgem como uma metodologia promissora na garantia de um conhecimento mais aprofundado do "comportamento" do novo medicamento experimental e da sua interacção em tempo real no ser humano, permitindo averiguar se esta tem ou não potencial de sucesso nas fases subsequentes.¹⁷

Em teoria, de acordo com Marchetti & Schellens (2007), os estudos de Fase 0 permitiriam uma selecção precoce das moléculas mais promissoras, fundamental para o desenvolvimento posterior da investigação em Fase 1. ¹⁴ De acordo com Bhandari (2013), o raciocínio intrínseco aos estudos de Fase 0 permitiria assim acelerar o processo de tomada de decisão “*go versus no go*”.⁴ Neste contexto, estes estudos surgiriam como uma importante prova de conceito para facilitar o processo de decisão quer pela priorização dos compostos promissores quer por permitir a modificação e aprimoramento do projecto de estudo de fase 1, antes mesmo do seu início.^{8, 16}

Os dados recolhidos por meio dos estudos de Fase 0 centrar-se-iam assim na optimização de ensaios alvo, na exploração de dados farmacocinéticos de fármacos candidatos (únicos ou múltiplos) e sua biodisponibilidade, na validação do conceito de estudos de microdosagem e, conseqüentemente, na determinação da relação entre o perfil farmacocinético e farmacodinâmico do fármaco através da averiguação das suas propriedades de biodistribuição, perfil de selectividade do receptor e validação de biomarcadores para estudos de modulação.^{17, 14, 16}

Neste contexto, os estudos de fase 0 poderiam fornecer dados críticos de farmacocinética e farmacodinâmica numa fase precoce de estudo no ser humano, ultrapassando as limitações inerentes aos estudos em animais no que diz respeito ao apoio e suporte ao desenho e desenvolvimento de ensaios subsequentes, fornecendo uma maior aproximação a uma dose inicial segura. Com base nestes dados, de acordo com Kummar *et al.* (2007) poder-se-ia tomar decisões melhor fundamentadas, identificando-se quaisquer propriedades indesejáveis de farmacocinética ou de farmacodinâmica, como a baixa biodisponibilidade ou a falta de modulação do alvo, apoiando a decisão de eliminar um agente mais precocemente, economizando-se tempo e recursos envolvidos no processo. Assim, seria garantido o desenvolvimento somente de agentes ou combinações de agentes que pudessem vir a demonstrar eficácia na actividade clínica na medida em que, um “melhor” composto seria aquele que demonstraria o perfil farmacocinético, farmacodinâmico e metabólico necessário e adequado ao ser humano.⁹

Os estudos clínicos de fase 0 atendendo a tais *endpoints* permitiriam condensar o cronograma geral de desenvolvimento, melhorar a taxa de sucesso (definida como o número de

agentes aprovados para uso clínico padrão) e economizar recursos valiosos quer para o doente quer para a própria indústria farmacêutica.

No que concerne ao desenho conceptual dos ensaios clínicos de Fase 0 estes realizariam uma avaliação precoce dos perfis farmacocinéticos e farmacodinâmicos de compostos de teste através da administração de doses subfarmacológicas, por um curto período de tempo, num grupo pequeno de participantes voluntários.⁵

Tal conceito de estudos exploratórios de novos medicamentos experimentais numa fase precoce em humanos foi inicialmente abordado pela EMA em 2003 no documento denominado “*Position paper on non-clinical safety studies to support clinical trials with single microdose*”¹⁸ que posteriormente, no ano de 2006, foi também enunciado numa orientação emitida pela FDA, “*The guidance for Industry, Investigators, and Reviewers Exploratory IND Studies*”⁷.

Esta orientação enfatizava a realização de tais estudos para a avaliação de novos compostos, de moléculas pequenas e de produtos biológicos terapêuticos bem caracterizados tais como, de proteínas recombinantes e anticorpos monoclonais, com a finalidade de superar o fosso existente entre os testes pré-clínicos tradicionais e os estudos clínicos tradicionais.

Seriam portanto, estudos conduzidos em voluntários, saudáveis ou doentes, com uma exposição ao composto, muito limitada, quer em termos de dosagem quer em relação ao tempo de exposição.⁵

De acordo com Anthony, Kummar & Rubinstein (2008) como referido em Gawai *et al.* (2017), os principais critérios inerentes ao desenho conceptual dos estudos de Fase 0 seriam então: ser um estudo realizado antes do estudo da fase 1; ser um estudo integrado nos critérios apresentados pelas agências reguladoras inerentes aos estudos exploratórios de investigação de novos fármacos; ser um estudo desenvolvido em voluntários humanos e em número limitado; ser um estudo com duração prevista de cerca de 7 dias; estudo com recurso à administração de uma dosagem de um medicamento experimental na ordem dos 1/100 ou 100 µg ou 30 nanomoles e ser um estudo com apenas um ciclo de dosagem para estudo.¹⁶

2. Objectivos dos estudos clínicos de Fase 0:

De acordo com os autores Anthony (2010), Kummar & Rubinstein (2008) e James (2015) como referido em Gawai *et al.* (2017) e Fuloria, Fuloria & Vakiloddin (2013), as principais metas e objectivos inerentes aos estudos de Fase 0 podem ser enunciadas como^{16,17}:

-Definição do modo de acção relacionados à eficácia (MoA) de um determinado composto em modelos não clínicos realizados em humanos;

-Refinamento do ensaio de biomarcadores (usando tecido humano ou substituto);

-Desenvolvimento de um estudo de imagem para avaliação das características de ligação, biodistribuição e efeitos-alvo do composto;

-Avaliação de dados de farmacocinética (PK) e farmacodinâmica (PD) do medicamento experimental e/ou do seu análogo para seleccionar o candidato mais promissor;

-Fornecimento de dados de PK e PD para estudos adicionais e realização de estudos de fase 1 e estudos posteriores;

-Determinação da faixa de dose e sequência de administração de biomoduladores (para ser usado em combinação com a terapia já estabelecida).

3. Classificação dos estudos clínicos de Fase 0:

De acordo com a orientação apresentada pela FDA (2006), podem ser enunciados três tipos principais de Estudos de Fase 0 que demonstram a especificidade de cada aplicação clínica de um estudo exploratório de novos fármacos. Estes tipos de ensaios incluem:

- 1- Estudos clínicos de farmacocinética (também denominados como estudos de microdose ou de imagem);
- 2- Estudos clínicos para estudos de doses farmacologicamente relevantes;
- 3- Estudos clínicos de mecanismos de acção relacionados à eficácia (MoA).⁷

Assim tais estudos podem ser agrupados nos seguintes grupos:

1-Estudos de determinação da farmacocinética de fármacos (estudos de microdose ou de imagem):

Estes estudos destinam-se a avaliar a farmacocinética, bem como, os parâmetros relacionados com a distribuição, metabolismo e características de ligação alvo do medicamento experimental utilizando para tal, técnicas de imagiologia sensíveis ou de microdose. São geralmente denominados de estudos de microdosagem sendo que, na terminologia de um estudo

exploratório de um novo fármaco, uma microdose é estritamente concebida com menos de 1/100 da dose farmacologicamente ativa (cálculo baseado nos dados a partir dos estudos *in vitro* e/ou *in vivo animal*) para produzir um efeito de uma substância de ensaio, com um limite máximo de dose de 100 µg. A duração de exposição à microdose não se pode estender para além de 7 dias. Para estudos de imagem, este limite máximo de dose também se aplica no entanto, para produtos proteicos, o limite máximo é de 30 nanomoles.⁷

O conceito de microdose é assim análogo tanto para a FDA como para a EMA sendo consensual o conceito apresentado por ambas as agências reguladoras.

A posição reguladora da EMA sobre os estudos de microdosagem foi delineada através de um documento de posição no qual foram descritos os estudos de segurança não clínicos necessários para apoiar estes estudos, “*Position Paper on non-clinical safety studies to support clinical trials with a single microdose*”¹⁸. Considerando que, estas doses são tão baixas e não se prevendo um potencial tóxico clinicamente significativo, os estudos de segurança pré-clínicos requeridos do ponto de vista legal são também reduzidos. Nestes estudos, os critérios de Boas Práticas de Fabricação não são absolutamente necessários, uma vez que, o risco para os seres humanos é limitado. Assim, a EMA exige apenas que todos os estudos de segurança não clínicos sejam conduzidos sob os critérios de Boas Práticas Laboratoriais.

Também múltiplos compostos relacionados podem ser estudados clinicamente e em simultâneo sob um único estudo exploratório, economizando assim recursos pré-clínicos.

Para estudos de dose única de microdose, a FDA e a EMA aceitarão estudos alargados de toxicidade de dose única conduzidos num único espécime animal, se justificado pelo metabolismo e dados farmacodinâmicos *in vitro*.

Também no âmbito dos estudos de microdose inclui-se a administração de múltiplos agentes relacionados mas diferentes entre si, em doses extremamente baixas para a avaliação das suas características farmacocinéticas. Uma possibilidade consiste em se estudar uma cassette de microdoses de múltiplos agentes relacionados entre si, com monitorização da sua farmacocinética. Para tal, estes estudos exigem o uso de instrumentos e métodos analíticos altamente sensíveis tais como, AMS (espectrometria aceleradora de massa) e PET (tomografia por emissão de positrões).^{18, 7, 3, 19, 17}

2-Estudos de Fase 0 para estudar doses farmacologicamente relevantes do fármaco:

O segundo tipo de teste da Fase 0 descrito na orientação da FDA consiste em um estudo farmacológico de “*endpoint*”.¹⁷

Este estudo é concebido para examinar os efeitos farmacológicos do candidato, avaliando a PK e / ou PD humana (por exemplo, a biodisponibilidade) de dois ou mais análogos para seleccionar um agente promissor.³

Neste caso, as doses utilizadas serão mais elevadas do que num estudo de microdosagem pelo que, estudos pré-clínicos de segurança serão necessários. Apesar disso, a quantidade de informação pré-clínica continua a ser ainda menos extensa do que a necessária para suportar um ensaio tradicional da Fase 1. Para um ensaio farmacológico da Fase 0, os testes não clínicos necessários para apoiar uma avaliação clínica de sete dias, pode incluir uma dose repetida de 2 semanas de estudos de toxicologia animal. Estudos de toxicologia pré-clínica devem estabelecer assim o Nível de Efeito Adverso Não Observado (NOAEL), sendo a dose inicial clínica de geralmente 1/50 desta dose. Esta informação deve ser utilizada para determinar as doses seguras e dose máxima permitida. A duração da dose ainda é limitada a 7 dias, e mais uma vez, nenhuma intenção terapêutica ou diagnóstica é requerida.¹⁷

Surgem para determinar estritamente o regime de dose para compostos de alvo moleculares ou biomoduladores que são utilizados juntamente com outros medicamentos.¹⁷

Este tipo de estudo não pode ser utilizado para derivar a sequência de administração e o intervalo das doses para novas investigações combinadas.^{3,17,19}

3-Estudos de fase 0 de mecanismos de acção relacionados com a eficácia (MOA):

O terceiro estudo da fase 0 descrito na orientação da FDA é concebido para avaliar os mecanismos específicos de acção de um novo agente.⁷ Estes ensaios são semelhantes aos estudos farmacológicos de “*endpoints*” mas estes concentram-se no tecido alvo e no mecanismo de acção proposto pelo agente. Têm como principal finalidade avaliar se a nova entidade molecular modula o alvo pretendido.^{18, 7, 3, 19, 17}

São assim, estudos projectados para avaliar o efeito farmacodinâmico de um novo fármaco que se espera que esteja correlacionado com a sua actividade clínica. Estes estudos têm maior

relevância para a terapia direccionada molecular em desenvolvimento sobretudo, no campo da oncologia.¹⁷ Tal avaliação pode passar pelo estudo do grau de saturação do receptor no tecido alvo, pela inibição de uma enzima ou da via de sinalização em células tumorais, pela expressão alterada de um produto genético específico e ainda, pelas alterações em outros parâmetros associados a biomarcadores moleculares.

Os estudos de toxicologia pré-clínica de apoio são geralmente estudos de toxicidade ou de segurança modificados de curto prazo em duas espécies.¹⁹

A estratégia de dosagem deve ser projectada para atingir o máximo de efeito farmacodinâmico desejado relacionado ao mecanismo de acção.

Importa ainda ressaltar que, apesar do estudo de toxicidade não ser o objectivo principal, o seu estudo por meio de avaliações hematológicas ou histológicas deve ser mantido durante a realização do estudo.^{3,17}

4. Principais diferenças entre estudos de Fase 1 e estudos clínicos de Fase 0:

Tendo em consideração as especificidades inerentes aos estudos de Fase 0 referidas anteriormente, após leitura dos artigos em pesquisa, foi possível reflectir sobre os principais tópicos divergentes entre a fase inicial do modelo tradicional de desenvolvimento de um fármaco (estudos de Fase 1) e a proposta dos estudos de Fase 0.

Uma das principais diferenças apontadas entre os estudos de Fase 0 e estudos de Fase 1 reside, desde logo, no propósito da sua realização.

Os estudos de Fase 0 não se destinam a conferir provas de eficácia nem a averiguar a segurança e tolerabilidade do composto contrariamente aos estudos de fase 1.⁵ Assim, enquanto os estudos de fase 1 têm como finalidade estabelecer a dose máxima tolerada para um composto, os estudos de fase 0 surgem com o propósito principal de estudo do modo como ocorre a interacção com o composto e em, última instância, como decorre a modulação do alvo primário em foco.^{5,9} Neste âmbito, torna-se claro a ausência de intenção terapêutica dos estudos de Fase 0 e, apesar de, os estudos de Fase 1 não serem realizados também na expectativa de se alcançar um fim terapêutico, estes podem por sua vez, permitir uma avaliação continuada se existir evidência de resposta clínica.⁵

No que concerne à dosagem do composto em estudo, nos estudos de Fase 1, as directrizes recomendam uma dose inicial por exemplo em oncologia, de um décimo da dose que causa toxicidade severa ou morte em 10% dos animais (geralmente em roedores) desde que, esta dose não cause toxicidade severa irreversível num outro mamífero (não roedor). No caso dos estudos de Fase 0, a dose inicial para um estudo da farmacocinética/farmacodinâmica é geralmente 1/50 no rato de NOAEL “nenhum nível de efeito adverso observado”. Assim, neste domínio a principal diferença reside no facto de que, nos estudos de Fase 0 é administrada uma microdose em que se espera uma resposta de PK/PD ou a modulação-alvo enquanto nos estudos de Fase 1 é administrada uma dose farmacologicamente activa.^{9,5}

Relativamente ao risco de toxicidade, este é igualmente menor nos estudos de Fase 0 uma vez que, os participantes se encontram expostos a doses mais baixas do que as que são administradas nos ensaios clínicos de Fase 1. No caso dos estudos de Fase 0, como referido anteriormente, a dosagem é limitada e é administrada apenas com a intenção de se alcançar a exposição sistémica desejada ou atingir o alvo de modulação enquanto nos estudos de Fase 1, é utilizada uma dosagem múltipla com dose de escalonamento para que se alcancem dados sobre a segurança e toxicidade.^{9,5}

No que concerne ao número de participantes, este é menor nos estudos de Fase 0 comparativamente com os estudos de Fase 1, constatando-se serem necessários cerca de 10-15 participantes nos primeiros em detrimento de 20 a 80 participantes necessários à realização de estudos de Fase 1.⁵

Uma vez que, os ensaios de Fase 0 envolverão um número relativamente pequeno de participantes que serão expostos a uma dose limitada do agente em estudo (por exemplo, cerca de 7 dias), o risco de toxicidade será menor que nos ensaios tradicionais.⁹ Assim sendo, os testes toxicológicos necessários antes de se iniciar estudos clínicos de Fase 0 serão mais reduzidos, permitindo que esses ensaios sejam iniciados substancialmente mais cedo do que os estudos de Fase 1.

No que diz respeito à análise farmacocinética/farmacodinâmica, nos estudos de Fase 0 esta é alcançada em tempo real enquanto nos estudos de Fase 1, as amostras são geralmente agrupadas e os seus dados apenas serão analisados posteriormente.⁹

Outro aspecto diferenciador na realização dos estudos de Fase 0 e estudos de Fase 1 relaciona-se com os ensaios de biomarcadores. De acordo com Kummar *et al.* (2007), nos estudos de fase 0, a análise dos biomarcadores e/ou estudos de imagem são integrados para estabelecer o mecanismo de acção em amostras reais dos participantes enquanto nos estudos de Fase 1 estes não são realizados de forma consistente uma vez que, a grande maioria dos estudos de Fase 1 não tem como objectivo principal o estudo dos marcadores farmacodinâmicos.⁹

Também no que concerne à necessidade de realização de biópsias no decurso dos estudos, em estudos de Fase 0 em oncologia, as biópsias em série do tumor serão necessárias para que se possa avaliar o efeito do medicamento experimental no alvo pretendido enquanto a realização das mesmas nos estudos de Fase 1 são opcionais uma vez que, a modulação-alvo não é o seu objectivo prioritário.⁹

No sentido de sintetizar de um modo mais detalhado as principais diferenças entre o modelo tradicional (Fase 1) e o novo conceito de estudo de Fase 0 irá ser apresentada, de seguida, uma figura esquemática contrapondo os tópicos de maior relevância e as características específicas de cada uma de acordo com os autores consultados (Tabela 1).

	Estudos de Fase 0	Estudos de Modelo Tradicional-Estudos de Fase 1
Investigação Pré-Clínica	Investigações toxicológicas pré-clínicas limitadas. ^{17, 16} Ensaio analítico no alvo / biomarcadores são requeridos. É necessário que o fármaco a nível plasmático (farmacocinética) e o ensaio pré-clínico de biomarcadores (farmacodinâmica) sejam avaliados antes do início do ensaio clínico. ^{17,16, 9}	Investigações toxicológicas padronizadas. ^{17,16} Estudos de biomarcadores, apenas quando requerido. ^{17,9,16}
Objectivo principal de estudo	Modulação de alvo ou capacidade de criar imagens do alvo de interesse. ^{9,5}	Estabelecer a dose máxima tolerada. ^{9,5} Realizar investigações sobre toxicidade limitadora de dose. ¹⁷
Escalada de dose	Alcançar a exposição sistémica desejada ou a modulação do alvo, permitindo a selecção da dose para estudos futuros. ^{9, 17}	Determinar a segurança e toxicidade. ⁹
Avaliação de biomarcadores	Ensaio de biomarcadores e / ou estudos de imagem são integrados para estabelecer o mecanismo de acção nas amostras reais dos participantes. ^{9,5}	Não é realizada consistentemente, a maioria dos estudos de Fase 1 não enfatizam o estudo de marcadores farmacodinâmicos. ^{9,5}
Número de participantes	Geralmente entre 10 a 15. ^{9, 5, 17}	Geralmente acima de 20. ^{9,5}
Tempo	Período mínimo de “washout”-2 semanas ou menos. ¹⁷	Período mínimo de “washout”- 4 semanas. ¹⁷
Dosagem	Limitada. ⁹ Apenas para atingir a modulação, reduzindo assim o risco de toxicidade. ⁵ 1 a 7 dias, único ciclo. ¹⁶	Múltipla. ^{9,5} Repetida, múltiplos ciclos. ¹⁶

Benefício terapêutico	Não tem. ^{9,5,16}	Não é esperado, no entanto, a resposta é avaliada para permitir a continuação da dosagem no caso da evidência do benefício clínico ser constatada. ^{9,5,16}
Biópsias	A realização de biópsias, por exemplo, num estudo oncológico, do tumor são necessárias para avaliar o efeito do medicamento experimental no seu (s) alvo (s). ^{9,16}	Opcional. ^{9,16}
Análise farmacocinética / farmacodinâmica	Em tempo real. ^{9,16,17}	As amostras são geralmente agrupadas e analisadas posteriormente, geralmente no final do ensaio clínico. ^{9,16}

Tabela 1- Diferenças entre o método convencional (estudos de Fase 1) e os estudos exploratórios de novos fármacos (Estudos de Fase 0)

5. Desenho metodológico dos estudos clínicos de fase 0:

A condução e desenvolvimento dos estudos de Fase 0 requer uma série de requisitos para que a sua concretização seja plenamente bem-sucedida. Neste âmbito, de acordo com Kummar *et al.* (2007), para que esta possa ser desenvolvida será necessária uma infraestrutura bem integrada com a colaboração de uma equipa multidisciplinar de profissionais.⁹

Desde logo, para a realização do ensaio clínico em humanos é necessário que exista uma estreita colaboração entre profissionais, desde técnicos de laboratório até especialistas e consultores especializados em questões regulamentares e éticas em investigação clínica, no sentido de existir um profundo planeamento de todas as etapas necessárias ao desenvolvimento e validação do ensaio.⁹

Existem uma série de questões logísticas a planear com maior detalhe e, neste domínio, Kummar *et al.* (2007) enunciam como uma das componentes essenciais a desenvolver no estadio pré-clínico, o estabelecimento de procedimentos padrão operacionais (SOP's - *Standard operating procedures*) para que, desde a colheita da amostra até todo o desenvolvimento clínico sejam cumpridos de uma forma *standard* todos os critérios instituídos. Assim, tal visão pressupõe um novo paradigma de percurso de desenvolvimento de ensaios clínicos para o estudo de novos fármacos, devendo todo o planeamento ser realizado muito mais precocemente. A incorporação das medidas padrão desde uma etapa mais precoce do estudo do medicamento experimental possibilitará, uma base científica mais eficaz e rigorosa sobre a qual se tomarão decisões acerca das etapas posteriores.⁹

5.1. Selecção de agentes para realização de um estudo clínico de Fase 0:

Ao longo do processo tradicional de descoberta de novos fármacos, as decisões sobre a selecção de um determinado agente em detrimento de outro para integração em ensaios clínicos sempre tiveram por base os dados recolhidos nos estudos *in vitro* e estudos em modelo animal. Estes estudos possibilitaram o desenvolvimento de inúmeros fármacos estruturalmente análogos assim como, de fármacos nas mais variadas classes terapêuticas no entanto, nos últimos anos, o impasse alcançado por este processo e a perda substancial de confiança nas previsões realizadas de eficácia e de toxicidade em seres humanos dos fármacos estudados por estes meios tradicionais, evidenciaram a necessidade urgente de novas estratégias de estudo.¹⁷

Também devido aos recursos exaustivos e dispendiosos para a realização dos pacotes de toxicologia e de fabricação requeridos, a decisão de escolha de um agente para estudo em ensaio clínico de acordo com o método tradicional tem que ser muito bem ponderada, podendo esta abordagem estar a condicionar o estudo de compostos promissores que não estão sendo desenvolvidos.¹⁷

Neste contexto, a flexibilidade no caso dos estudos clínicos de Fase 0 possibilitará a avaliação dos agentes em humanos com um pacote limitado de toxicologia, permitindo o estudo de compostos análogos em simultâneo, capazes de fornecer dados sobre a farmacocinética e farmacodinâmica humana e que formarão uma base de conhecimentos muito importante para a selecção do agente principal alvo de estudo.¹⁷

No que concerne à selecção de agentes para estudo na Fase 0, de acordo com Murgo *et al.* 2008 como referido em Fuloria, Fuloria & Vakiloddin (2013), os requisitos ideais para a avaliação de um novo medicamento na investigação da Fase 0 podem ser categorizados da seguinte forma: a) pela actividade farmacodinâmica do fármaco; b) atendendo às credenciais do alvo ou do biomarcador; c) pela ampla janela terapêutica do fármaco candidato.¹⁷

Também o candidato a estudo selecionado não deve ser tóxico ao nível da dose e deve reunir condições para ser exposto por curta duração.¹⁷

Importa ressaltar ainda que também, os candidatos-alvo nesta etapa podem assumir algumas particularidades comparativamente com os estudos de Fase 1. Tais especificidades foram abordadas no estudo levado a cabo por Gupta *et al.* (2011) no qual foram enunciadas as diferenças entre os candidatos-alvo de estudo em estudos de Fase 0 e estudos de Fase 1 (Tabela 2).

Estudos de Fase 0	Estudos de Fase 1
Alta variação amostral no “ <i>endpoint</i> ” de farmacodinâmica na linha de base	Se for detectada uma diferença significativa na actividade do alvo, esta pode ser alcançada apenas em níveis de dose potencialmente tóxicos, seja devido à acção do fármaco ao longo de uma semana de estudo ou pela alta variação de amostragem no “ <i>endpoint</i> ” de farmacodinâmica ou ambos
Agente que demonstra grande/moderada magnitude do efeito do fármaco (modulação) e que pode alcançar / cruzar significância estatística em níveis de dose não tóxica + Baixa variação amostral no “ <i>endpoint</i> ” de farmacodinâmica na linha de base	Se a modulação do alvo pelo fármaco nunca é significativamente diferente da linha de base, seja devido à acção do fármaco ao longo de uma semana de estudo ou pela alta variação de amostragem no “ <i>endpoint</i> ” de farmacodinâmica ou ambos

Tabela 2- Candidatos-alvo de Fase 0 comparativamente com a Fase 1, adaptado de Gupta *et al.* (2011) ³

5.2. Configurações de um estudo clínico de Fase 0:

Atendendo às especificidades dos estudos de Fase 0, de acordo com Kummar *et al.* (2011) e Fuloria, Fuloria & Vakiloddin (2013), estes estudos podem ser desenvolvidos em ensaios com actuação de um único agente ou em ensaios combinados de múltiplos agentes. ^{9,17}

- Ensaio com um único agente: Estes ensaios serão os primeiros estudos realizados em humanos de um agente em estudo e têm como finalidade principal a avaliação dos efeitos biológicos do agente num determinado alvo.^{9,17} No caso do estudo em oncologia, requererá a realização de biópsias tumorais pré e pós-administração do fármaco para determinação da farmacocinética do agente no corpo humano e a sua modulação no alvo. Na realização do estudo poderão ser administradas diferentes doses dentro de um intervalo pré-clínico estabelecido entre os participantes, dando uma dose única para cada voluntário, com o objectivo de avaliar a modulação do alvo e não a sua eficácia clínica ou toxicidade.^{9,17} Tais ensaios possibilitam ainda, a oportunidade de usar e refinar um ensaio de um biomarcador. O ensaio poderá ser usado para estudar se os efeitos do fármaco em questão em amostras tumorais, de sangue periférico ou de outros tecidos substitutos, fornecendo dados iniciais sobre a possível associação entre os efeitos do fármaco nas células-alvo ou em populações de células substitutas.^{9,17}

Os dados farmacocinéticos obtidos a partir deste ensaio poderão também fornecer dados importantes para o estabelecimento seguro e eficaz da dose inicial do medicamento experimental possibilitando um doseamento mais seguro em fases posteriores do estudo. Com base nas conclusões deste tipo de ensaio, uma dose múltipla (com um número limitado de doses) num estudo de Fase 0 pode também ser conduzida para fornecer dados preliminares adicionais orientando as decisões sobre o caminho a seguir em investigações futuras.^{9,17}

- Ensaio de combinação: Uma das questões cruciais para terapia combinada, seja através do recurso a dois agentes direccionados, seja com um agente direccionado e um agente citotóxico convencional, consiste na determinação do “*timing*” e na sequência a usar na combinação dos agentes para otimizar a sua eficácia, após avaliar os efeitos moduladores de um fármaco ou de outro.^{9,17} Neste âmbito, um teste de Fase 0 poderia ser realizado com uma dose única ou com um número limitado de doses de cada agente, que seriam administradas com avaliações esquemáticas de farmacocinética e farmacodinâmica. Deste modo, muitos cronogramas poderiam ser avaliados, envolvendo um número limitado de participantes, durante um período relativamente curto de tempo, informando sobre o seu desenvolvimento clínico futuro dos medicamentos experimentais em questão.^{9,17}

Importa ressaltar que, no desenho do estudo de Fase 0, como no contexto dos estudos de microdosagem, após a selecção dos compostos para estudo será necessário o estudo da toxicidade do composto também numa espécie animal para atender aos requisitos regulamentares da microdosagem humana.

No que concerne aos requisitos de toxicologia, para se iniciar um estudo de microdosagem, a FDA como referido em Arnum (2008) requer um estudo de 14 dias de uma dose única em ambos os sexos de uma espécie de mamífero. A via pretendida de administração humana deve ser usada e deve ser tida em consideração a escala alométrica para a espécie. No caso dos estudos de Fase 0, a FDA não exige nenhuma toxicologia genética a ser realizada.

No enunciado da EMA como referido em Arnum (2008), esta requer um estudo de 14 dias de dose única em ambos os sexos de uma espécie de mamífero. Neste estudo recomenda-se o estudo da via intravenosa bem como, o estudo da via clínica pretendida da administração (se a via pretendida for a via intravenosa, então esta via por si só será suficiente). A escala

alométrica de espécies animais para o ser humano juntamente com um factor de segurança de 1000 deve ser usado para definir o limite da dose.²⁰

Para a FDA e EMA, o composto não precisa ser analisado à luz das boas práticas de fabricação, mas deve vir com um certificado de análise. Idealmente, o mesmo lote usado para microdosagem humana também deve ser o mesmo utilizado para os estudos de toxicologia.

De acordo com Gupta *et al.* (2011), a FDA em 2006 apresentou e discutiu os diferentes documentos necessário para a submissão da fase de ensaios clínicos de Fase 0. Alguns dos documentos importantes referenciados relacionam-se com a informação clínica a apresentar, a informação referente ao processo químico, informação de fabricação, de controlo, de segurança e, ainda, informação sobre os critérios de boas práticas de laboratório.

Após serem salvaguardadas todas estas condições então torna-se possível preparar toda a metodologia inerente ao estudo. Neste domínio, os estudos de microdosagem são geralmente estudos que apresentam uma metodologia cruzada com recurso a duas vias de administração, administração de uma microdose oral e intravenosa, seguida por um período de lavagem apropriado.²⁰

Para a sua concretização o número de voluntários humanos requeridos é de cerca de quatro a seis indivíduos por estudo sendo que, é mais comum testar moléculas múltiplas, em grupos paralelos de indivíduos no decurso de um único estudo clínico de Fase 0.²⁰

Os dados recolhidos pelo estudo de microdosagem seriam sempre usados em complemento com todas as outras informações recolhidas sobre a molécula em questão, seja através de modelos *in vitro* seja através de modelos animais. Do ponto de vista da avaliação dos dados, de acordo com Tarrant como referido em Arnum (2008), a sua análise não difere da do processo usado num estudo típico da Fase 1. A aplicação de dados dependerá, sobretudo das especificidades que envolvem o desenvolvimento do fármaco. Por exemplo, se for desenvolvido um estudo de microdose sobre um fármaco dirigido a uma acção pulmonar, o estudo deve ser desenhado para avaliar se o fármaco pode ser administrado oralmente ou parentericamente ou através de uma via de inalação. Na comparação entre os dados da microdose intravenosa e oral, se se constatar que o fármaco apresentava muito pouca biodisponibilidade devido à absorção limitada e ao metabolismo de primeira passagem, seria então necessário o desenvolvimento de uma via de inalação.²⁰

Também a dosagem posteriormente administrada e os métodos bioanalíticos utilizados deveriam ser então, padronizados e validados.²¹

A sensibilidade necessária para detectar o medicamento experimental em estudo na circulação sanguínea só poderia ser obtida por métodos analíticos ultrasensíveis. Estes são necessários para a avaliação de uma quantidade muito pequena de substância medicamentosa no corpo humano tais como, concentrações na ordem de 10^{-12} a 10^{-15} miligramas, que é a faixa de método que deve ser empregue para avaliação de uma microdose.¹⁶

Como a microdosagem envolve o uso de quantidades muito pequenas do medicamento experimental, é necessário utilizarem-se métodos analíticos específicos e ultrasensíveis que devem ser capazes de avaliar as concentrações de metabolitos e do fármaco mesmo em doses muito baixas traduzido no picograma e fentograma.^{17,19}

De acordo com Burt *et al.* (2016), a exposição limitada dos estudos de Fase 0 exigem que estas ferramentas sejam assim mais sensíveis que as ferramentas analíticas convencionais, capazes de permitir a extrapolação de dado.²²

De acordo com Bertino, Greenberg e Reed (2007), qualquer método bioanalítico com sensibilidade suficiente pode ser usado para suportar os estudos de microdosagem tais como, a espectrometria aceleradora de massa (AMS), a tomografia por emissão de positrões (PET) e outras técnicas analíticas altamente sensíveis, como a cromatografia líquida com espectrometria de massa em série (LC-MS / MS).²³

Actualmente os dois métodos analíticos mais comumente utilizados para estudos de microdose humana são: a LC-MS/MS (espectrometria de massa de cromatografia líquida/espectrometria de massa) e a AMS (espectrometria aceleradora de massa).⁴

Cada técnica tem os seus benefícios e desvantagens e a decisão de uma em detrimento de outra estará intrinsecamente relacionada ao (s) principal (ais) objectivo (s) do estudo em questão.

De acordo com o autor, se for necessário tomar uma decisão rápida sobre o perfil farmacocinético de um determinado composto ou se for necessário tomar uma decisão de entre um grupo de compostos promissores, especificamente antes do material radiomarcado estar disponível, a técnica de LC-MS/MS surge como a mais promissora no entanto, se a sensibilidade rigorosa da mesma for absolutamente imprescindível, serão necessários dados em

todos os materiais e metabolitos relacionados ao fármaco e portanto, para determinar a biodisponibilidade absoluta, a técnica de AMS tornar-se-ia no método analítico de eleição.⁴

5.3. Técnica analítica- Espectrometria Aceleradora de Massa (AMS) e Cromatografia Líquida- Espectrometria de Massa (LC-MS):

A Espectrometria Aceleradora de Massa (AMS) caracteriza-se por ser uma técnica de física nuclear ultrasensível. É usada sobretudo para a medição de isótopos raros, como o carbono-14 (C14). Difere de outras formas de espectrometria de massa na medida em que, permite a aceleração de iões até um nível extremamente elevado de cinética antes da análise de massa.²⁴

Esta técnica tem sido estabelecida como uma tecnologia central em estudos clínicos exploratórios nos quais, os dados de farmacocinética são obtidos por meio da administração de um novo medicamento candidato numa etapa pré-clínica de desenvolvimento de um novo fármaco.²⁴

A sua aplicação na prática tem sido comprovada em inúmeras áreas científicas como é o caso dos estudos ambientais e pesquisa de recursos naturais.¹¹

Esta técnica analítica ultrasensível permite quantificar inúmeros isótopos tais como, ¹⁰Be, ¹⁴C, ²⁶Al, ³⁶Cl, ⁴¹Ca e ¹²⁹I.¹¹

Atendendo ao facto de, o Carbono 14 ser um radiomarcador presente em vários processos metabólicos nos organismos vivos, a tecnologia de AMS pode ser assim aplicada extensivamente à área das ciências médicas no que concerne principalmente a estudos no campo da biologia celular, imunologia e farmacologia pelo que, no estudo de novos fármacos, esta poderá fornecer dados criteriosos acerca da interacção dos compostos com os vários alvos, bem como, com o próprio sistema tecidual e celular.¹¹

Assim, a AMS separa os isótopos elementares com base nas diferenças de massa, carga e energia potencial, medindo individualmente os átomos de carbono 14 em vez de determinar a radioactividade de decaimento dos eventos.²⁰ Tal facto, torna a AMS 1 milhão de vezes mais sensível que a cintilação líquida e mais de 100 000 vezes mais sensitiva que cromatografia líquida com espectrometria de massa (LC-MS).^{20,24}

A AMS difere da espectrometria de massa convencional (MS) uma vez que a AMS mede átomos individuais. A MS convencional quantifica diferentes estruturas químicas enquanto na

técnica de AMS os átomos individuais podem ser diretamente quantificados para estudo da concentração de fármaco na amostra, conhecendo a quantidade exacta de radioactividade administrada.²⁴

Num estudo clínico de microdosagem baseado na técnica de AMS, a dose de um novo medicamento candidato é marcada com Carbono 14 que é administrada por via oral ou intravascular. Posteriormente, são colhidas amostras de sangue, urina ou fezes que serão submetidas a um pré-tratamento antes da sua análise e serão submetidas a um estudo com recurso à técnica de AMS usando-se ensaios de microquantificação. De acordo com o autor, devido à longa semivida do carbono 14, as concentrações podem ser monitorizadas por um período de tempo superior a meses.²⁴

Importa ressaltar que, o uso de compostos marcados com Carbono-14 requer a consideração de alguns factores críticos. É necessário garantir a precisão da dose mínima na qual um medicamento de teste é administrado e é necessário ter em consideração a especificidade dos isótopos utilizados, no entanto, analisando os níveis de Carbono-14 no medicamento experimental em estudo, a técnica de AMS permite que a dose radioactiva humana seja reduzida a um nível em que a aprovação regulatória para o uso de radiação ionizante não é mais necessária.²⁴

Neste domínio, um estudo clínico radioactivo humano tradicional pode ser convertido num estudo não radioactivo sob uma perspectiva regulatória, reduzindo a exposição radioactiva em até 1000 vezes. Esta redução permite uma absorção, distribuição, metabolismo e excreção humana mais segura, o que poderá ser benéfico para o estudo em diferentes grupos de populações humanas, como é caso de grupos vulneráveis de doentes, crianças e mulheres em idade fértil.²⁴

Para estudos de microdosagem, a técnica de AMS é acoplada ainda à técnica de cromatografia líquida de alta *performance* (HPLC) como uma técnica de separação. O total de Carbono-14 é medido em primeiro lugar, o que representa tanto o composto parental como os metabolitos. Posteriormente, utilizando-se o método de HPLC-AMS, a concentração parental vai ser medida. A diferença entre os dois valores mede a extensão do metabolismo e pode fornecer informações valiosas sobre se o composto é significativamente metabolizado à medida que é absorvido, seja no trato gastrointestinal ou pelo efeito de primeira passagem do fígado.²⁴

O uso de AMS com cromatografia líquida prévia separa o fármaco dos diferentes metabólitos, permitindo assim a detecção individual de fármaco ou metabólitos.²⁵

De acordo com Tarrant como referido em Arnum (2008) há certas circunstâncias em que a LC – MS /MS pode ser usada em microdose atendendo às características da farmacocinética do medicamento experimental no entanto, fármacos mais potentes podem limitar a aplicação de LC-MS /MS devido a problemas de sensibilidade. Além disso, se uma leitura inicial sobre a extensão do metabolismo for importante, a LC-MS /MS não será capaz de fornecer essa informação.²⁰

Apesar destas limitações, a LC-MS /MS fornece um método para a análise de medicamentos não marcados com radioisótopos que é menos dispendioso e mais disponível que as técnicas de AMS e de PET.²⁵

De acordo com os autores a LC-MS / MS permite a detecção simultânea de vários fármacos e metabólitos e é suficientemente sensível para quantificar concentrações plasmáticas da maioria dos fármacos em estudos de microdose.²⁵

Apesar de, a AMS continuar a ser a técnica com maior sensibilidade, esta pode ser uma alternativa útil, viável e menos dispendiosa, sem comprometer a especificidade do estudo.²⁴

Como maior desvantagem enunciada é ressaltado o facto de que, apesar de ser menos dispendiosa que a AMS, esta continua a requerer condições específicas no que diz respeito às próprias instalações e equipamento para a sua realização bem como, é necessário que seja realizado um pré-tratamento da amostra para estudo por AMS, que se traduz numa série de procedimentos a realizar de secagem, combustão e de redução das amostras alvo.¹¹ As limitações técnicas também afectam o desempenho dos estudos através da técnica de AMS, sendo necessária uma equipa de profissionais qualificados.¹¹

Apesar das limitações referidas anteriormente, o recurso à AMS tem sido largamente disseminado em vários campos terapêuticos e de pesquisa e com este, tem-se constatado o avanço no número de isótopos disponíveis como substâncias alvo para estudo.¹¹

Esta fornece vantagens da perspectiva da produtividade porque os resultados do estudo de microdosagem baseados nos resultados da AMS podem ser aplicados aos estádios posteriores de desenvolvimento do fármaco.

Tendo em consideração todos os dados anteriores, o estudo de microdosagem por AMS deve ser bem ponderado, devendo ser analisados todos os benefícios e custos inerentes ao seu recurso.¹¹

Assim, para além da PET e da AMS convencional, a LC-MS/MS tem obtido respostas favoráveis no estudo de microdosagem, apresentando um aprimoramento na resposta analítica.^{26,11}

5.4. Técnica analítica- Tomografia por Emissão de Positrões (PET):

Trata-se de um método de imagem nuclear que permite a avaliação não invasiva da farmacocinética do fármaco, praticamente em todos os órgãos do corpo humano. Permite determinar se, e em que medida, o composto atinge o tecido alvo, tratando-se de uma técnica muito promissora para os estudos da farmacocinética.¹¹

De acordo com Bae & Shon (2011) esta informação não pode ser obtida em humanos por outra técnica analítica actualmente disponível contudo, a PET exige uma infraestrutura considerável.¹¹ Para realizar avaliações através da PET, os fármacos precisam de ser radiomarcados com radioisótopos emissores de positrões de vida curta, sem modificação da estrutura química do fármaco. Para tal, é frequentemente feita a substituição do carbono 12 da molécula do fármaco por um positrão emissor de carbono 11. De acordo com os autores, a radiomarkação na técnica de PET é geralmente alcançada numa elevada atividade específica (> 37 GBq/ μ mol), o que significa que, a quantidade de fármaco não radioactivo contida numa preparação do fármaco radiomarcado encontra-se na faixa de apenas de poucas microgramas.

Uma desvantagem do uso de carbono 11 em estudos de microdose é que, este apresenta uma semivida muito curta (cerca de 20 minutos), o que limita o tempo para a análise com este carbono a cerca de 2 horas apenas.²⁴ Assim, fármacos cuja semivida terminal no plasma é maior do que o tempo de duração máximo possível da amostragem, não são adequadas para o estudo da farmacocinética plasmática através dos estudos de PET.²⁴

Também para estudos de microdosagem, os autores enunciam como um dos principais radionuclídeos utilizados o Fluor-18 pois este apresenta uma semivida mais conveniente, na ordem dos 110 minutos e, deste modo, é possível garantir um período de tempo de amostragem até cerca de 8 horas no entanto, apresenta-se como desvantagem do seu uso o facto de ser

necessário o recurso a apenas a fármacos que apresentem moléculas de fluorina na sua estrutura-mãe.²⁴

De acordo com Bauer, Wagner & Langer (2008), existem outros radioisótopos que poderiam igualmente ser utilizados para estudos de microdosagem através da PET como é o caso, do nitrogénio-13 (semivida de cerca de 9,96 minutos) e oxigénio-15 (semivida de cerca de 2,07 minutos) contudo, a sua semivida é muito curta para permitir o alcance de uma análise significativa dos dados de farmacocinética e farmacodinâmica plasmática ou tecidual.²⁴

Uma limitação geral da imagiologia PET para avaliação das propriedades de PK/PD relaciona-se com o facto de, o composto progenitor radiomarcado não poder ser distinguido dos seus metabolitos radiomarcados a não ser em casos excepcionais em que a modelização cinética do marcador possa permitir essa distinção.²⁴ Por estas limitações referidas anteriormente, a dosimetria de um estudo de PET é bastante mais inferior comparativamente com outros procedimentos nucleares.

A segunda e mais comumente abordagem utilizada envolvendo a PET avalia questões relacionadas com a farmacodinâmica de um fármaco tendo-se como exemplo, a determinação da eficácia do fármaco por meio de PET através de biomarcadores de imagem, sobretudo empregues no estudo de novos fármacos em oncologia.²⁴

Os estudos de Fase 0 com recurso à PET estão ganhar cada vez mais importância principalmente no campo da oncologia. Neste âmbito, a técnica de PET pode auxiliar num estudo mais detalhado sobre o modo como o medicamento experimental é distribuído podendo assim, ajudar a ampliar índice terapêutico estreito comum à terapia citotóxica.²⁴

O estudo de microdosagem por PET num incremento de personalização da medicina tem-se revelado um método viável para a obtenção de parâmetros farmacocinéticos em humanos de um modo não invasivo antes de se iniciar o estudo da dose terapêutica.²⁴

Deste modo, além de avaliar o perfil farmacocinético, a realização dos estudos com auxílio de PET permite também a exploração de uma prova conceito da interacção entre o medicamento e o seu alvo quando o fármaco é testado pela primeira vez em seres humanos.²⁴

De acordo com os autores, o recurso a PET em estudos de microdosagem surge assim como uma poderosa e inovadora ferramenta no que diz respeito ao estudo da farmacocinética em seres humanos, permitindo um estudo rigoroso da distribuição do fármaco pelo corpo humano. Neste

âmbito, em estudos de Fase 0 será uma ferramenta extremamente útil para a selecção ou rejeição de potenciais compostos promissores, baseando tal decisão na análise do próprio desempenho do fármaco *in vivo*. Quer esta seja utilizada isoladamente ou em combinação com outras técnicas analíticas, a PET surge assim como uma das técnicas mais promissoras em ensaios clínicos de novos fármacos. ²⁴

Concluindo a discussão acerca das ferramentas analíticas a seleccionar para a elaboração de um estudo de Fase 0, será de seguida apresentada uma tabela de resumo das mesmas (Tabela 3).

PET	AMS	LC-MS/MS
Técnica altamente sensível (10^{-12} a 10^{-14} g)	Técnica altamente sensível	Técnica sensível
Estudo de PK do plasma e tecidos	Somente estudo de PK no plasma (amostra de pele, urina, fluido cérebroespinal, fezes, biópsia quando acessível)	Somente estudo de PK no plasma (amostra de pele, urina, fluido cérebroespinal, fezes, biópsia quando acessível)
Carga de radiação relativamente baixa	Carga de radiação muito baixa	Sem radiação
Necessário fármaco radiomarcado Emissão β^+ , radioisótopos com vida curta	Necessário fármaco radiomarcado Emissão β^- , radioisótopos com vida longa	Não é necessário fármaco radiomarcado
Nenhuma separação química do sinal de tecido	Separação química do material relacionado ao fármaco no plasma. Metabolitos quantificáveis sem padrões analíticos	Separação química do material relacionado ao fármaco no plasma. Elucidação estrutural dos metabólitos do fármaco mas quantificação muito difícil sem padrões analíticos
Principalmente administração intravenosa ^{a)}	Via de administração oral e intravenosa	Via de administração oral e intravenosa
Períodos de amostragem limitados devido à semivida curta do composto radioactivo	O período de amostragem é essencialmente ilimitado e depende apenas da depuração plasmática do fármaco.	O período de amostragem é essencialmente ilimitado e depende apenas da depuração plasmática do fármaco.

Custos relativamente altos, disponibilidade limitada	Custos relativamente altos, disponibilidade limitada	Custos baixos, maior disponibilidade
A análise precisa ser feita no local	A análise pode ser “outsourced”	A análise pode ser “outsourced”
a) Existem alguns exemplos de estudos de PET em que foi utilizada a via de administração oral e por inalação em estudos em humanos		

Tabela 3- Comparação entre as diferentes técnicas bioanalíticas, adaptado de Bauer, Wagner & Langer (2008) ²⁴

5.5. Modelo de decisão pós-estudo clínico de Fase 0:

No que concerne à decisão pós-estudo de Fase 0, é necessário ter em consideração quer a quantidade e a variabilidade da actividade do agente no alvo quer o índice terapêutico do próprio agente pelo que, a tomada de decisão deverá basear-se tanto nos dados recolhidos acerca do fármaco em questão quer pela própria classificação do alvo aquando de tal interacção. ¹⁹

As decisões de pós-fase 0 “go/ no go” dependerão dos resultados do estudo sendo que, no caso de estudos de farmacocinética e de farmacodinâmica, por exemplo, se o estudo realizado teve por objectivo principal estudar a acção de um determinado agente inibidor de enzimas, é importante analisar o que foi avaliado no ensaio ou seja se se constatou a inibição ou actividade enzimática directa ou se ocorreu um evento a jusante de inibição como por exemplo, a apoptose. ^{19,3}

Assim, de acordo com os autores, se o agente em estudo não demonstrar uma alteração significativa no “*endpoint*” em níveis de doses não tóxicos devido a uma fraca acção do fármaco ou a uma alta variabilidade na amostragem no “*endpoint*” de farmacodinâmica, este não é um candidato promissor à realização dos restantes ensaios do modelo tradicional (Figura 3).

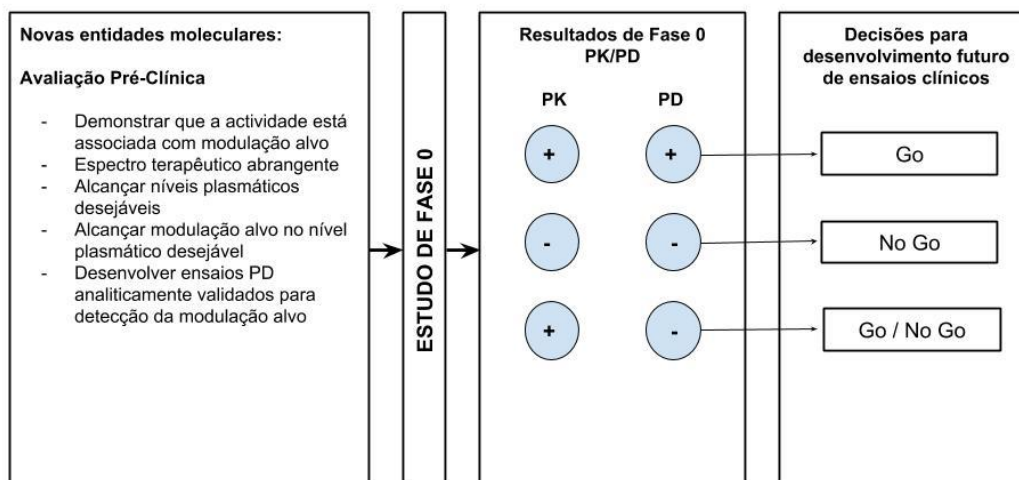


Figura 3- Modelo de decisão para os estudos de Fase 0 e desenvolvimento clínico posterior, adaptado de Gupta *et al.* (2011) ³

Assim, o conceito de estudos de Fase 0 surge como uma nova abordagem para determinação do potencial de um novo fármaco. Esta nova estratégia de estudo de novos fármacos apesar de ser encarada como uma técnica versátil ainda apresenta alguns aspectos relacionados com a sua metodologia que carecem de um estudo mais aprofundado tais como, a adequação do medicamento para estudo, a selecção da dose inicial e a extensão da toxicologia pré-clínica. Neste contexto, é importante analisar o impacto da Fase 0 no processo de desenvolvimento de novos fármacos promissores.

Tal impacto deve ser analisado desde logo, à luz de aspectos cruciais para a bem-sucedida concretização do estudo, aspectos estes que foram enunciados sucintamente por Fuloria, Fuloria & Vakilodin (2013) no seu estudo dado ênfase a parâmetros tais como, padrões de qualidade e requisitos regulatórios, selecção prévia dos medicamentos a estudo, quantidade a analisar, modo de administração do medicamento experimental, posicionamento do sujeito de estudo e risco de toxicidade.¹⁷ Ainda, como aspectos críticos a ter em consideração os autores enunciaram os requisitos especiais para a sua realização, a determinação da dose inicial e sua aplicação temporal, e por fim, o impacto financeiro destes mesmos estudos na indústria farmacêutica (Tabela 4).

Etapas críticas	Impacto da Fase 0
Padrões de qualidade / requisitos regulatórios	Os medicamentos são preparados de acordo com as directrizes das Boas Práticas de Laboratório, que são diferentes dos estudos de fase 1 executados de acordo com as Boas Práticas de Fabricação. A fase 0 requer muito poucos e limitados requisitos regulamentares.
Seleção prévia de medicamentos	Auxilia na selecção de novos medicamentos com potencial pré-determinado e assegurado antes do estudo de fase 1.
Quantidade	Exigência de novo fármaco para o estudo de fase 0 é muito menor, é 1% da quantidade normal.
Administração do fármaco	Não há restrições quanto à via de administração pretendida nos estudos de fase 0.
Posicionamento do sujeito	Vários participantes, como doentes oncológicos, mulheres em estágio reprodutivo e ainda doentes com insuficiência renal podem ser participantes no estudo.
Risco de toxicidade	Em ensaios de fase 0, a selecção do número de participantes, a duração da exposição e também a dose para um composto mais novo com atividade farmacológica promissora é geralmente muito reduzida. Assim, a possibilidade de toxicidade em humanos será muito menor pelo que, a fase 0 apresenta menor risco e, conseqüentemente, menor exigência de um pacote de segurança pré-clínica comparativamente com estudos de fase 1.
Requisitos especiais	Atendendo à técnica analítica utilizada para estudo pode ser necessário a utilização de compostos radiomarcados.
Determinação da dose inicial e linha do tempo	Os ensaios da fase 0 auxiliam no estabelecimento e determinação da dose farmacológica e da primeira dose do novo fármaco para o estudo de fase 1. Geralmente demora cerca de seis meses para determinar o perfil farmacocinético do novo medicamento para a selecção inicial da dose. No caso dos estudos de Fase 1 este período é de cerca de um ano e meio.
Duração (fase 1 de teste)	Reduz o consumo de tempo na realização posterior de estudos de Fase 1 pois, fornece dados farmacológicos e informações importantes para consecução da etapa de estudo posterior.

Duração (processo de desenvolvimento de medicamentos)	A Fase 0 evita o consumo de tempo, concentrando-se especialmente em investigações de compostos promissores. Assim, o processo geral de desenvolvimento de medicamentos é acelerado.
Prazo de entrega para o mercado	Como a fase 0 auxilia na seleção antecipada das novas entidades potenciais, eficazes e promissoras de medicamentos, o tempo de espera para os medicamentos entrarem no mercado é reduzido.
Economia	Como os testes de fase 0 eliminam as moléculas não promissoras, do ponto de vista económico possibilita a redução de gastos. O estudo da fase 0 ajuda a reduzir o custo total do processo de desenvolvimento de medicamentos.

Tabela 4- Factores de impacto dos estudos de Fase 0 nas etapas críticas de um ensaio clínico, adaptado de Fuloria, Fuloria & Vakilodin (2013) ¹⁷

6. Principais benefícios e inconvenientes inerentes aos estudos clínicos de Fase 0:

No decurso da presente revisão da literatura foi possível constatar os prós e contras apresentados pelos diversos autores e investigadores no sentido de ponderar se a integração dos estudos clínicos de Fase 0 traria benefícios e, sobretudo, inovação ao processo de desenvolvimento de novos fármacos.

Muitos dos argumentos apresentados como benefícios, são em si mesmos argumentos inerentes à génese dos próprios estudos e são descritos como promissoras vantagens a alcançar numa perspectiva de futuro, caso estes sejam aceites e sejam integrados no modelo tradicional de desenvolvimento.

Após a reflexão crítica dos artigos recolhidos foi possível constatar-se que, uma das grandes vantagens e benefícios associados aos estudos de Fase 0 consiste na redução do período de tempo necessário à realização destes primeiros estudos em humanos.^{3,14,16,17,19}

Inerente a este benefício, a grande maioria dos autores consultados em concordância com o posicionamento das agências reguladoras, ressaltam a grande ajuda que estes podem trazer no processo de tomada de decisão face aos compostos promissores, apresentando suporte científico para a continuidade de um estudo mais extenso e com potencial de sucesso nas fases posteriores dos ensaios convencionais.^{16,27} Neste âmbito, a principal grande vantagem enunciada na literatura relaciona-se com a possibilidade de se alcançar uma resposta mais fundamentada na decisão de “*go-no go*” acerca de um determinado composto.²²

Neste domínio, permitem o estudo das propriedades denominadas de pilares da farmacologia que incluem os seguintes domínios: PK de plasma, PK alvo (para alvos de eficácia e toxicidade) e ligação do receptor. Estes três domínios podem ser estudados dependendo da exposição, amostragem (por exemplo, biópsias), ferramentas analíticas (por exemplo, PET) e da abordagem seleccionada (por exemplo, *microdosing intra-target*), garantindo uma melhor decisão acerca do potencial do composto.²²

Neste âmbito, se esse composto for considerado “*no go*” - pode ser interrompido o estudo em qualquer ponto, não se perdendo tempo no desenvolvimento de estudos de fase 1. Se o composto for aceite como “*go*” - os resultados de fase 0 (por exemplo, os parâmetros PK e de exposição alvo) podem informar com maior detalhe o que é expectável de acontecer na

interacção humana, bem como, de que modo o projecto do programa de Fase 1 e fases posteriores podem ser planeadas de forma a se concretizar todas as etapas com sucesso.^{3,4,22}

Assim, evitam a exposição desnecessária dos participantes no ensaio aos compostos que não são promissores sendo estes eliminados mais precocemente, minimizando-se os custos envolvidos.^{3,4,16,21}

No que concerne à questão logística, a necessidade de um menor número de participantes e a necessidade de menor tempo para a sua concretização é enunciado por Gupta *et al.* (2011) como um importante benefício. Deste modo, ajudam na aceleração global do processo de desenvolvimento de medicamentos e, conseqüentemente, na chegada mais rápida de medicamentos ao mercado.^{16,27}

Importa ainda ressaltar que, uma das vantagens enunciadas na literatura em relação aos participantes do estudo é que, se a avaliação farmacocinética for segura, estes estudos podem ser realizados em indivíduos saudáveis.¹⁶ Também o estudo do composto pode ser realizado em populações vulneráveis como é o caso de crianças, doentes com insuficiência renal, mulheres em idade reprodutiva e doentes oncológicos.^{4,16, 27} A predição da resposta ao medicamento a partir de dados farmacológicos de adultos nessas populações é frequentemente prejudicada devido à sua fisiopatologia única e, na população pediátrica, foi estimada de que seja confiável em menos de 20 % dos casos. A segurança inerente às abordagens de Fase 0 é assim um complemento atraente para a extrapolação de dados nestas populações. Outra vantagem é que, quando as populações vulneráveis são estudadas, dados sobre linearidade ou não linearidade ficam disponíveis podendo melhorar a possibilidade de extrapolação para a dose terapêutica no entanto, até à data, as abordagens de Fase 0 apenas ainda foram aplicadas à população pediátrica.²²

Também importa referir que, nos estudos de Fase 0, o composto em estudo pode ser administrado por qualquer via de administração pretendida.^{4,16}

No que concerne ao risco de toxicidade, nos artigos consultados, a grande vantagem dos estudos de Fase 0 reside no facto destes recorrerem à administração de uma baixa dose do composto e num período de tempo limitado. Assim, a exposição à substância será menor e conseqüentemente, o risco de toxicidade é também menor comparativamente com os demais estudos clínicos.^{2,4,5,16,27}

Considerando o risco reduzido de toxicidade humana, os pacotes de segurança pré-clínica, a experimentação animal, a quantidade da substância-teste e o tempo de desenvolvimento do estudo será menor.¹⁶ Os requisitos de testes pré-clínicos são mais reduzidos comparativamente aos requeridos no modelo tradicional.^{2, 3,4,16,23,27}

No que concerne aos estudos pré-clínicos, os modelos animais são notoriamente pobres preditores da fisiopatologia humana e da resposta ao tratamento sobretudo quando ocorrem interações com múltiplos alvos (por exemplo, transportadores, enzimas e proteínas transportadoras) ou quando os alvos humanos são particulares ou os sistemas se encontram comprometidos (por exemplo, no caso de distúrbios neurodegenerativos e psiquiátricos).²² Neste âmbito, as abordagens de Fase 0 não só podem ultrapassar estas condicionantes como também, são em si mesmas uma promessa à redução da necessidade de realização de testes em animais sendo consistentes com os 3 R's, redução, refinamento e substituição dos animais na prática de investigação clínica.^{2,4,21,22,27}

Importa ainda ressaltar que, no contexto metodológico, no caso dos estudos de Fase 0, todos os medicamentos de teste são preparadas de acordo com os princípios e procedimentos de Boas Práticas de Laboratório contrariamente aos critérios de Boas Práticas de Fabricação necessários para os ensaios clínicos de Fase 1 convencionais.^{4,16,27}

Os dados de PK podem ser obtidos em apenas cerca de seis meses, em comparação com quase 18 meses, no caso de estudos convencionais de Fase 1.^{2,16,27}

Ainda como benefícios que podem ser alcançados, estes estudos apresentam ainda como “*endpoints*”: a detecção de biomarcadores endógenos para estimar os efeitos quantitativos do medicamento teste^{2,3,4}; a modulação no alvo do tumor em estudos oncológicos⁴; o estabelecimento provável da dose farmacológica (activa e segura) e, ainda, a determinação da primeira dose para o estudo subsequente da fase^{3,4,16}.

Assim, todas as vantagens mencionadas anteriormente espelham a flexibilidade e inovação no estudo e processo de desenvolvimento do fármaco, particularmente para medicamentos e produtos biológicos destinados a tratar uma doença grave ou com potencial de risco para a vida humana.⁵

Um elemento importante na decisão de se utilizar as abordagens de desenvolvimento exploratório passa pela reflexão de todos estes potenciais benefícios evidenciados desde a

agilização dos testes pré-clínicos necessários, a segurança dos participantes e a pertinência dos resultados alcançados, benefícios esses que poderão garantir um saldo positivo do investimento em recurso *versus* economias de tempo e dinheiro comparativamente com os programas completos das etapas tradicionais.

Ressalta-se deste modo, a poupança de tempo para decisões de desenvolvimento significativas bem como, o valor adicional na introdução mais precoce de novas terapêuticas que poderiam reduzir o peso da doença.^{2,3,4,16,21, 22}

Por outro lado, existem alguns inconvenientes relacionados com os estudos de Fase 0 que importa ter em consideração. Desde logo, pelos autores estudados, a falta de qualquer intenção terapêutica e diagnóstica é mencionada como um forte inconveniente uma vez que, para os participantes não existirá qualquer benefício directo associado à sua participação nos estudos.^{4,16,27,28}

Também, mesmo que sejam desenvolvidos os estudos de Fase 0 estes por si só, não substituirão a realização dos testes clínicos de Fase 1 e todas as restantes fases pelo que, a participação em estudos de Fase 0 é enunciado por alguns autores como um potencial constrangimento de participação dos voluntários em ensaios convencionais de Fase 1, com intenção terapêutica, podendo ocorrer um possível atraso ou exclusão do doente na participação em outros ensaios clínicos.^{4,14,16,17,27,28}

Também como inconveniente é referido o potencial de toxicidade apesar do risco inerente à dosagem ser menor comparativamente com a Fase 1. Existe sempre o risco inerente à realização do estudo uma vez que, mesmo em estudos iniciais foi detectada uma taxa de resposta na Fase 1 de cerca de 5 % de toxicidade¹⁴ pelo que, tal risco poderá desmotivar voluntários para a realização do estudo clínico.^{4,16,17,28} Neste contexto, o risco de reacções adversas não pode ser completamente descartado.²⁹

Também no que concerne aos estudos de microdosagem, como é administrada uma pequena dose, o perfil farmacocinético pode não ser idêntico ao perfil da dose terapêutica. Tal facto é sustentado no caso de, na dose terapêutica, algumas das enzimas metabólicas e transportadores do fármaco se encontrarem saturados. Em alguns casos, o perfil farmacocinético de um fármaco pode não mostrar linearidade com a dose e os resultados podem não garantir a tradução de uma

"boa *performance*" do composto numa microdose comparativamente com a dose terapêutica.^{27,29}

Também a informação alcançada poderá ser limitada devido à baixa biodisponibilidade oral, tempo-distribuição da concentração sanguínea e perfis metabólicos.²⁹ A dosagem oral com compostos parcialmente lábeis ao ácido podem resultar numa proporção de microdose que atinge a circulação sistémica diferente da que atinge com uma dose completa, conduzindo a um grau de absorção muito inferior ao que seria realmente expectável no caso de uma dose terapêutica eficaz. O mesmo efeito pode resultar do efeito de primeira passagem parcial pelo que, a farmacocinética pode não ser totalmente confiável na faixa das microgramas.²¹

Assim, permanece o risco de existirem erros de interpretação dos perfis farmacocinéticos dos compostos- teste, podendo conduzir a falsos positivos ou a falsos negativos de candidatos promissores.^{3,29}

O estudo de microdosagem poderá não ser predictivo para moléculas com farmacocinética não linear e/ou com ligação de alta afinidade aos seus alvos e assim se, PK não for linear então pode causar problemas aquando das extrapolações para a dose terapêutica.^{3,4,14,16,27,28}

Neste âmbito, em alguns casos, a Fase 0 pode incorrer em mais gastos no processo de desenvolvimento uma vez que, existem alguns fármacos que demonstraram uma aceitável solubilidade em baixas doses e muito pouca solubilidade em altas doses, podendo ser difícil prever as características de absorção na microdose e portanto, torna-se mais difícil prever as características de absorção na fase 0 e posteriormente, o que acontecerá na Fase 1.^{4,17,24,28}

Importa ainda referir que, pode ser necessária a realização de biópsias em série e /ou outros tratamentos invasivos quando estamos perante estudos de Fase 0 em oncologia. A realização das mesmas pode ser justificada pela necessidade de realização de ensaios farmacodinâmicos decisivos no entanto, não existindo um ganho terapêutico, a decisão voluntária de participação pode estar condicionada e poderá constituir um risco para o próprio participante.¹⁴

Ainda outra preocupação no contexto dos estudos de Fase 0 em oncologia associa-se ao facto de existirem poucos biomarcadores validados para o estudo da actividade anticancerígena, o que restringe a realização dos estudos de Fase 0.^{4,16,17,27, 28}

Por fim, relativamente à metodologia inerente aos estudos de Fase 0, um dos inconvenientes à realização de estudos de microdose relaciona-se com a necessidade de recurso a técnicas analíticas ultrasensíveis que não se encontram rotineiramente disponíveis.^{4,16,17,24,27,28}

7. Aplicações emergentes dos estudos clínicos de Fase 0:

De seguida serão apresentadas algumas das principais áreas nas quais, a realização dos estudos clínicos de Fase 0 podem contribuir para promissores resultados que, até as demais estratégias de estudo ficaram aquém da concretização de respostas bem-sucedidas.

- **Modelagem e simulações:**

De acordo com Burt *et al.* (2016), os estudos de microdosagem para estudo de farmacocinética e farmacodinâmica podem ser complementares e podem sofrer um processo de aprimoramento contínuo.²²

Os modelos de farmacocinética e de farmacodinâmica compreendem frequentemente o estudo de dados fisiológicos e bioquímicos que são independentes do fármaco e que são característicos do sistema em estudo mas que na interação com o composto, permitem a recolha de dados físicoquímicos capazes de garantir a previsão do seu potencial de farmacocinética *in vivo*.²²

Estes modelos tornaram-se uma parte estabelecida do desenvolvimento de fármacos no início e no final de cada fase e, cada vez mais fazem parte da informação do rótulo fornecida após a aprovação do medicamento pelas agências reguladoras.²²

Neste âmbito, os dados recolhidos por meio de estudos de Fase 0 acerca da farmacocinética e farmacodinâmica são particularmente importantes para situações de modelação e simulação em que os métodos estabelecidos como a alometria e a extrapolação *in vitro-in vivo* são problemáticos devido às grandes diferenças de farmacocinética interespaiais inesperadas ou quando a extrapolação *in vitro-in vivo* para um ou mais processos que controlam a farmacocinética do composto não se encontrem bem estabelecidos.²²

Assim, a abordagem de Fase 0 surge como uma etapa promissora na medida em que permite a realização de uma simulação de administração com base em dados *in vitro* importantes tais como a solubilidade, distribuição, perfil de dissolução e estabilidade das

enzimas/transportadores intestinais e hepáticos, tendo em consideração a possível não linearidade.²² Tal estudo, auxilia não só a prever com mais precisão a dose oral provável necessária para garantir uma exposição sistêmica adequada do composto mas também, permite conhecer os melhores tempos de amostragem e probabilidade de variabilidade.

Neste âmbito, de acordo com os autores esta metodologia baseada em modelos permitirá uma melhor extrapolação dos achados farmacodinâmicos e farmacocinéticos para a predição de resultados terapêuticos.

- **Compostos Biológicos:**

Uma das principais áreas emergentes na qual os estudos de Fase 0 poderão ter um contributo importante consiste no estudo de compostos biológicos. Dado que, estes compostos apresentam uma elevada especificidade, o seu estudo por meio de modelos animais tem-se demonstrado pouco preditivo da resposta humana principalmente no que concerne à sua farmacocinética.²²

Também a própria especificidade de localização dos produtos biológicos torna o estudo de microdosagem por meio de PET uma ferramenta útil para estudar o acesso e a exposição dinâmica no alvo e assim, estudar a farmacocinética compartimental, a ligação e o deslocamento do receptor, usando rotulagem com radioisótopos.²²

O primeiro estudo de um composto biológico data de 2013, num estudo de microdosagem em que foi estudada a farmacocinética, a biodistribuição e a segmentação tumoral de um mini anticorpo denominado 124I-F16SIP, um fármaco antiangiogénese para cancro da cabeça e pescoço, com recurso a imagens de PET. O estudo foi capaz de demonstrar o alvo do tumor perto da biodisponibilidade total e baixa variabilidade interindividual da farmacocinética nos doentes estudados suportando assim, um maior desenvolvimento de estes estudos na área.³⁰

Também em 2015, foi levado a cabo um novo estudo da proteína humana recombinante marcada com carbono-14, a fosfatase alcalina placentária recombinante humana hRESCARP, uma proteína anti-inflamatória endógena, cujos resultados demonstraram uma linearidade de farmacocinética entre a microdose e a dose terapêutica.²²

Assim, os estudos de Fase 0 poderão fornecer importantes respostas relativamente à interação dos compostos biológicos, no entanto, apesar dos resultados bem-sucedidos alcançados, há que ter em consideração que o estudo de produtos biológicos especialmente daqueles que produzem uma ligação potente a tecidos não-alvo, podem produzir observações

não lineares no alvo que induzem a resultados pouco credíveis pelo que, é importante considerar o benefício ou não da realização dos estudos de Fase 0 para estudo dos mesmos.²²

- **Ambientes extremos:**

Esta é uma das novas áreas em expansão na qual os estudos de Fase 0 podem fornecer importantes dados. Os ambientes extremos caracterizam-se por ser ambientes com variações extremas dos parâmetros relacionados à altura, temperatura e pressão como é o caso da microgravidade, pólos como baixas temperaturas, altitudes elevadas e contexto hipo/hiperbárico.²²

Esta é uma importante área de estudo na medida em que, as propriedades físicas alteradas do ambiente apresentam um potencial de modificação da própria fisiologia humana (traduzida por exemplo em alterações da densidade óssea, força muscular e fluxo sanguíneo), da manifestação de patologia, da farmacologia e até mesmo, do próprio armazenamento e manuseio dos produtos farmacêuticos, o que potencialmente leva a uma resposta alterada da farmacoterapia. Neste contexto, os estudos de Fase 0 possibilitam a realização de testes dedicados e controlados de substâncias xenobióticas perante um ambiente extremo, produzindo resultados de farmacocinética e de farmacodinâmica em tempo real, acompanhando o reajuste consecutivo da interacção humana com o composto em ambientes extremos.²²

- **Fenotipagem de terapia individualizada:**

Existe uma considerável variabilidade interindividual nos mecanismos que afectam a disposição do fármaco e especificamente o metabolismo do fármaco.²²

De entre as múltiplas variáveis existentes pode-se enunciar a acção de enzimas e a actividade de transportadores, que podem conduzir a ocorrências indesejáveis tais como, a subdosagem, a sobredosagem e as interacções medicamentosas.²²

Neste âmbito, de acordo com Burt *et al.* (2016), a capacidade de prever essa variabilidade antes do início da farmacoterapia de um modo seguro, em estudos de Fase 0 e com recurso à microdosagem, é especialmente importante para medicamentos que exibem um índice terapêutico estreito numa população conhecida por exibirem variabilidade em fenótipos metabólicos e em populações vulneráveis.²²

- **Toxinas ambientais:**

De acordo com Kensler & Groopman, 2009, Madeen *et al.*, 2014 como referido em Burt *et al.* (2016), as abordagens da Fase 0 oferecem ainda um potencial de estudo das toxinas ambientais e antropogénicas de um modo controlado e seguro.

A exposição à maioria das toxinas ambientais está normalmente na faixa da microdose e esse facto foi usado pela FDA (2006) como referido em Burt *et al.* (2016) como argumento importante para incentivo dos estudos de microdose em detrimento da realização de testes rotineiros de toxicologia genética. Neste contexto, ainda existem ainda poucos dados relativamente à exposição humana, uma vez, que a exposição “natural” é geralmente a pequenas doses de misturas complexas pelo que, os estudos de Fase 0 podem dar uma contribuição importante no alcance de novos dados através da microdosagem.²²

- **Microdosagem intra-alvo:**

De acordo com Burt *et al.* (2017), a microdosagem intra-alvo surge como uma nova abordagem exploratória de desenvolvimento de novos fármacos que consiste na administração directa do composto no alvo de modo a que, apenas uma pequena fracção de tecido fique exposta ao medicamento experimental, por um período de tempo limitado.²²

Esta nova abordagem de estudo de microdosagem surgiu como uma resposta às preocupações enunciadas acerca da limitação dos estudos de microdose na extrapolação dos dados obtidos de farmacocinética/farmacodinâmica para níveis de dose terapêutica.³¹ Neste contexto, a microdosagem intra-alvo garantia a associação de uma exposição total no local de acção mas com um nível de microdose sistémico minimizando assim, os riscos inerentes à toxicidade e providenciando, em simultâneo, dados de farmacocinética sistémica e de farmacodinâmica local.³¹ Neste contexto, permitiria uma comparação simultânea da exposição à microdose e exposição a nível terapêutico nos mesmos indivíduos, ou seja, uma exposição farmacológica completa no órgão/tecido alvo e uma microdose no restante corpo, ultrapassando as limitações inerentes às abordagens tradicionais de microdosagem.³¹

A microdosagem intra-alvo combina, deste modo, duas técnicas metodológicas para o estudo de novos fármacos: a microdosagem e a técnica de administração intra-alvo.^{31,32}

Para a sua concretização, a via de administração directa mais prontamente disponível é a via intra-arterial mas a sua administração poderá ser realizada por outras vias tais como, a via intramuscular, intratecal ou até mesmo a via tópica/subcutânea.³² Neste domínio, as suas abordagens podem envolver o recurso à punção/cateterização de uma artéria periférica ou de uma artéria de um órgão interno.³²

Nesta técnica, o composto em estudo é administrado segundo o protocolo de um estudo FIH (*First-in-Human*, Primeiros Ensaios Clínicos em Humanos) localmente, conduzindo a uma exposição a nível terapêutico numa pequena proporção (cerca de 1/100) da massa corporal total.³¹ Quando o composto entra na circulação sistémica, este sofre um processo de diluição de cerca de 100 vezes pelo que, a concentração sistémica resultante acaba por ser subfarmacológica, mantendo-se dentro dos parâmetros de microdosagem, com um perfil de segurança implícito à mesma e respeitando os critérios regulamentares associados.³¹

A duração de exposição apesar de curta poderá ser aumentada pelo uso de um garrote bem como, os compostos em estudo podem ser administrados em taxas de infusão constantes ou variadas, espelhando os perfis desejados de exposição ao tecido e tempo de resposta esperado.³²

No que concerne à questão da toxicidade atendendo ao alcance de doses subfarmacológicas é expectável que esta seja igualmente mínima, como anteriormente discutido para estudos de Fase 0. A nível local, é sugerido pelo autor, a administração gradual do composto averiguando-se a resposta tecidual à mesma.³²

De acordo com Burt *et al.* (2017), a exposição inicial do órgão-alvo à concentração farmacológica embora ocorra durante um curto período de tempo, seria suficiente para que se pudesse fazer uma análise das respostas/alterações constatadas ao nível dos biomarcadores, indicativos da eficácia e/ou toxicidade local do fármaco, permitindo a colheita de dados relevantes sobre a acção do composto.³¹

Para que se possa fazer inferência de tais resultados, seriam recolhidos os dados farmacodinâmicos locais por meio intravenoso e/ou através de técnicas de imagem ou de outros testes fisiológicos do alvo, que podem ser relevantes para o estudo dos efeitos sistémicos e acções em outros órgãos/tecidos.^{31,32}

Assim apesar de, este estudo não ter também qualquer finalidade terapêutica, a microdosagem intra-alvo potenciaria o benefício do estudo de microdosagem com o estudo

terapêutico, permitindo o estudo de características farmacológicas essenciais sendo estas: a farmacocinética plasmática e alvo/tecidual, a ligação e interacção no receptor alvo e a farmacodinâmica ao nível dos biomarcadores.^{31,32}

Neste domínio como grande vantagem alcançada através desta nova abordagem pode enunciar-se, desde logo, o alcance de dados em humanos que permitem uma triagem eficiência e rápida dos candidatos, surgindo como uma estratégia promissora na complementarização dos métodos já existentes. Também como grande vantagem é ressaltada por Burt *et al.* (2017) o facto de, a microdosagem intra-alvo permitir o estudo das alterações ocorridas em biomarcadores indicativos da eficácia e toxicidade do fármaco verificando-se, por exemplo, o deslocamento de ligandos através da PET em concentrações farmacologicamente activas o que é uma mais-valia face os estudos pré-clínicos e estudos de microdosagem tradicional.^{31,32}

Também como benefício desta abordagem é enunciado o controlo total em tempo real do estudo. Como exemplo Burt *et al.* (2017) enunciam que se, se é administrado um composto na artéria radial de modo que a mão ipsilateral receba um limiar de exposição farmacológica, então a mão contralateral receberá uma microdose garantindo assim, não só que se mantenha o controlo do foco de estudo mas também garantindo uma redução considerável na variabilidade dos dados e dos requisitos de tamanho da amostra.³¹

Atendendo às especificidades da técnica e, conseqüentemente dos benefícios pela mesma, a sua aplicabilidade surge como muito promissora para o estudo de novos fármacos tais como, fármacos bloqueadores neuromusculares (possibilitando o estudo da força muscular de uma determinada área anatómica sem interferência a nível sistémico), fármacos inibidores de SGLT-2 e da excreção de glicose ao nível do rim (estudo da excreção e vasodilatação somente a nível renal) e quimioterapia (estudo da acção do fármaco no órgão/tecido alvo e sua ligação tumoral).³¹

Também a microdosagem intra-arterial seria particularmente útil em contextos em que se verifica existir ainda uma grande preocupação no que diz respeito à extrapolação de resultados, quer dos modelos animais quer dos estudos de microdosagem tradicionais e nos quais, o conhecimento dos dados de actuação do composto urgem com a maior brevidade. Como exemplo tem-se o estudo de anticorpos monoclonais para tratamento do carcinoma de mama, o estudo de fármacos antiepiléticos no contexto da epilepsia do lobo temporal, estudo de fármacos

vasodilatadores para o tratamento de Síndrome de Raynaud e ainda, o estudo de fármacos antiarrítmicos para o tratamento da fibrilhação ventricular.³¹

Neste âmbito, a microdosagem intra-alvo oferece toda uma nova abordagem de estudo, complementando e expandindo as possibilidades do estudo de novos fármacos e procurando uma maior segurança e eficácia de todo este processo. A combinação que lhe está inerente de duas abordagens contemporâneas, a exposição farmacológica local com a exposição sistémica, em tempo real, surge como uma promissora técnica na redução da variabilidade e incremento da validade de extrapolação dos dados alcançados em estudos de Fase 0.^{31,32}

A microdosagem intra-alvo poderia de acordo com o descrito, ser uma estratégia de estudo primordial em múltiplos contextos clínicos, demonstrando uma grande versatilidade estratégica para o desenvolvimento de novos projectos de investigação de novos fármacos.

Neste contexto, de acordo com Burt *et al.* (2017), poderá acelerar a tradução de novas descobertas biomédicas em aplicações terapêuticas bem como, surge como uma abordagem futura capaz de permitir o estudo seguro de fármacos já conhecidas mas que ainda não possuem um estudo aprofundado em populações vulneráveis como por exemplo, em crianças, mulheres grávidas, doentes com insuficiência hepática, insuficiência renal e idosos.³¹

Importa ressaltar que, apesar de existirem alguns condicionalismos associados à aplicação de tal abordagem, relacionados sobretudo com a curta duração de exposição ao composto em teste e também à natureza potencialmente invasiva dos procedimentos necessários à sua realização, esta surge como uma abordagem muito promissora no futuro principalmente quando se alcançar um maior conhecimento e validação dos biomarcadores e um maior conhecimento dos riscos/benefícios inerentes aos estudos de Fase 0 de microdosagem.³²

8. Alguns exemplos de estudos clínicos de Fase 0:

No decurso da pesquisa realizada para a presente revisão foi possível contactar que, nos últimos anos, a comunidade científica tem demonstrado um interesse crescente na aplicabilidade dos estudos de Fase 0 para estudo de novos compostos farmacêuticos.

Neste âmbito, de seguida, serão apresentados alguns exemplos dos estudos que foram desenvolvidos com referência às especificidades de cada um, assim como, aos resultados alcançados pelos mesmos.

- **Estudo Clínico de Fase 0 do composto ABT-888:**

Em Maio de 2007, a *US National Cancer Institute Experimental Therapeutics* apresentou os resultados preliminares de um estudo pioneiro de Fase 0 em oncologia. O ensaio clínico apresentado por Kummar *et al.* (2009) visava o estudo de um candidato a fármaco subterapêutico e terapêutico sob a orientação de investigação exploratória de novos fármacos da FDA.³³

Este primeiro estudo realizado em humanos consistia no estudo do mecanismo de acção do ABT-888, inibidor poli (adenosinediphosphate-ribose) polimerase (PARP). Esta enzima PARP é conhecida por detectar danos no DNA e catalisar a ligação covalente de poli (ADP-ribose) (PAR) para enzimas de reparo do DNA e de histonas para facilitar o reparo do DNA. A presença de tumor seria assim indicada pelo elevado nível de PARP o que se traduzia na prática clínica numa resistência à radioterapia e quimioterapia.³³ Neste contexto, os inibidores de PARP seriam importantes compostos promissores quimioterapêuticos e sensibilizadores de radiação.^{28,33}

Este estudo surgiu como o primeiro relato de um ensaio clínico de Fase 0 de um agente terapêutico em oncologia com modulação de alvo como o desfecho primário e teve como principais objectivos determinar a dose não tóxica na qual, o ABT-888 inibe PARP em tecidos tumorais e em células mononucleares do sangue periférico (PBMc's- *Peripheral blood mononuclear cells*) bem como, determinar um intervalo de dose e de tempo ao longo do qual, o ABT-888 inibe a actividade da PARP (medida usando um teste de PD validado para PAR (poli [ADP-ribose], um produto de PARP) em PBMc's e células.³³ Como objectivo secundário enunciou-se o de garantir a segurança de uma dose única de ABT-888.^{28,33}

O estudo foi levado a cabo em doentes com diagnóstico oncológico de leucemia linfocítica crónica ou linfoma não-*Hodgkin*.^{28,33}

O candidato promissor ABT-888 foi administrado a 13 doentes com patologia oncológica, como uma dose oral única de 10, 25 ou 50 mg para identificar e determinar o regime de dosagem com duração de tempo para o qual o candidato a fármaco ABT-888 inibe a actividade de PARP em amostras tumorais e células do sangue periférico, bem como, para determinar o perfil farmacocinético do candidato.^{28,33}

Os participantes seriam submetidos a um extenso pré-tratamento de amostragem de sangue para análise de PARP em PBMC's. De entre outros testes, integrava-se a monitorização farmacocinética de ABT-888, níveis sanguíneos após administração de dose única e, num subgrupo de doentes, biópsias tumorais realizadas antes do tratamento e 3-6 horas pós-tratamento.²⁸

As análises de farmacocinética e farmacodinâmica foram realizadas em tempo real com dados disponíveis num período de 72 horas após colheita da amostra.³³

Durante o período temporal de Julho de 2006 a Maio de 2007, 10 doentes foram inscritos e foram tratados em três níveis de dose. Constatou-se na primeira dose, através de biópsias tumorais seriadas, que todos tiveram uma redução superior a 95% na expressão de PAR após a administração de ABT888.²⁸

O ABT-888 demonstrou ter tido boa biodisponibilidade oral e foi bem tolerado. A inibição estatisticamente significativa dos níveis de poli (ADP-ribose) foi observada nas biópsias tumorais e células mononucleares do sangue periférico nos níveis de dose de 25 mg e 50 mg.³³

Assim, o estudo demonstrou a inibição do alvo molecular em doses clinicamente atingíveis e demonstrou a viabilidade e validação de ensaios complexos realizados em tecidos. A nível metodológico demonstrou ainda, a instituição bem-sucedida de procedimentos operacionais-padrão (SOP's) rigorosos numa fase inicial de estudos em humanos.^{28,33}

O estudo de fase 0 ABT-888 foi um dos principais estudos relatados na literatura e forneceu informações importantes sobre as características do ABT-888, bem antes do início dos ensaios de Fase 1. Com a realização de tal estudo foi possível obter-se informações sobre a biodisponibilidade oral de ABT-888 e a viabilidade de direccionar a inibição de PARP em tumores humanos. Com tais informações, a tomada de decisão sobre o desenvolvimento clínico subsequente foi facilitado, assim como, permitiu um refinamento bastante significativo do projecto de ensaio de Fase 1, até então já planeado.^{28,33}

No estudo de ABT-888, a pesquisa pré-clínica com inibição de PARP avaliou o único marcador farmacodinâmico / farmacológico da inibição da PARP do tumor. Assim, a relevância deste único alvo foi suportada por dados pré-clínicos de eficácia que indicaram que, o grau de inibição da PARP no tumor estava correlacionado com a eficácia antitumoral observada.^{28,33} Neste domínio, caso o efeito esperado no alvo humano não tivesse sido observado no ensaio de

fase 0 do ABT-888, seria necessária uma avaliação pré-clínica adicional de causas potenciais para a falta de modulação do alvo.^{28,33}

Neste âmbito, os resultados do estudo da fase 0 forneceram importantes informações sobre o ABT-888. A viabilidade de dosagem oral duas vezes por dia, bem como, a inibição de direcionamento de PBMC's e tumor PARP foram demonstrados.³³

Também atendendo a Kummar *et al.* (2009), a condução bem-sucedida e rápida deste estudo e o impacto que este teve na cronologia de desenvolvimento do ABT-888, tornou-se um exemplo inicial de um novo paradigma para o desenvolvimento terapêutico precoce em oncologia.³³

- **Estudo Clínico de Fase 0 de Três Bloqueadores dos Canais de Cálcio (Nifedipina, Nicardipina e Diltiazem)**

Foi realizado um estudo clínico de microdosagem em cassete com a finalidade de se demonstrar a aplicabilidade do mesmo, na identificação do composto mais promissor para administração oral. Como objecto de estudo foram seleccionados 3 bloqueadores de canais de cálcio (Nifedipina, Nicardipina e Diltiazem).³⁴

Neste ensaio clínico, empregou-se um método de dosagem em cassete, na qual os 3 fármacos seleccionados foram administrados simultaneamente. Foi também realizada uma administração intravenosa em conformidade com a dose oral, para se calcular a biodisponibilidade oral e foi igualmente realizado um estudo comparativo entre os níveis de microdose oral e da dose terapêutica, respectivamente.³⁴

No decurso de todos estes estudos, as concentrações sanguíneas de cada medicamento experimental foram determinadas com sucesso através da técnica de espectrometria de massa com cromatografia líquida.³⁴

Como resultados alcançados, a biodisponibilidade oral no estudo de microdose da nifedipina foi de aproximadamente 50 enquanto a Nicardipina e Diltiazem mostraram uma biodisponibilidade oral significativamente menor no estudo de microdose indicando assim, uma absorção dependente da dose. Também pelo estudo constatou-se que, a absorção de Nicardipina foi mais retardada no estudo de microdose enquanto a de Nifedipina foi mais rapidamente absorvida pelo que esta foi considerada como a mais promissora para uso oral.³⁴

Em conclusão neste estudo, os autores enunciaram que, um estudo clínico com cassete de microdosagem é vantajoso para a selecção do candidato mais promissor, permitindo averiguar os compostos promissores em simultâneo e averiguando qual deles demonstrou uma melhor *performance* tendo em consideração, a avaliação das propriedades desejadas para a sua administração tendo em consideração a intenção clínica exigida.³⁴

- **Estudo Clínico de Fase 0 do antibiótico AR-709 como fármaco promissor para o tratamento da infecção respiratória:**

De acordo com Lappin *et al.* (2013), foi realizado um estudo de microdose para averiguar a farmacocinética, a biodisponibilidade e as concentrações a nível pulmonar de um novo antibiótico AR-709, um novo antibiótico de diaminopirimidina promissor para o tratamento de infecção respiratória.³⁵ O AR-709 consistia num novo antibiótico de diaminopirimidina que se encontrava em estudo para o tratamento de infecções do trato respiratório superior e inferior, particularmente as infecções provocadas por *Streptococcus pneumoniae*.³⁵ Os antibióticos de diaminopirimidina inibem a diidrofolato redutase microbiana (DHFR- *Dihydrofolate reductase*), bloqueando assim a síntese de DNA, RNA e das proteínas. O AR-709 surgiu assim como um inibidor potente e altamente selectivo da DHFR bacteriana.³⁵

Neste âmbito, foi desenvolvido um estudo no qual 4 voluntários saudáveis do sexo masculino receberam, cada um, duas microdoses únicas de 100 µg de 14C-AR-709, com um intervalo de 7 dias entre cada administração. A primeira dosagem foi administrada por via intravenosa (IV) e a segunda dosagem por via oral e, posteriormente, foi analisada a farmacocinética plasmática pela HPLC e pela AMS através de amostras de plasma, líquido de lavagem broncoalveolar e de amostras de biópsia da mucosa brônquica. Posteriormente, 15 voluntários saudáveis do sexo masculino receberam uma única microdose de 100 µg de 14C-AR-709 IV.³⁵

Após a administração intravenosa do composto, de acordo com Lappin *et al.* (2013), o valor da depuração de AR-709 foi de 496 mL / min, o volume de distribuição foi de 1.700 litros e a biodisponibilidade oral absoluta foi de 2,5%. A excreção na urina foi insignificante. Às 8-12 horas após a administração intravenosa, as concentrações de Carbono-14 nas amostras de pulmão apresentaram um rácio de concentração de 15 (expresso em equivalentes de µg de AR-709/plasma) na mucosa brônquica a 200µg/plasma ao nível dos macrófagos alveolares, com

valores superiores aos do plasma. Nos macrófagos alveolares, o carbono-14 ainda estava maioritariamente associado ao AR-709, às 12 horas após a dosagem.³⁵

Assim os resultados alcançados por este ensaio demonstraram que, o AR-709 atingiu concentrações consideravelmente mais elevadas no pulmão do que no plasma sendo que, a baixa biodisponibilidade oral apresentada impede a sua administração oral.³⁵ Embora a administração intravenosa pareça ser uma via eficaz de administração de acordo com Lappin *et al.* (2013), esta condicionaria a administração do AR-709 a determinados contextos clínicos e, portanto, seria economicamente insustentável. Deste modo, os autores sugerem estudos futuros de Fase 0 para estudo de vias de administração alternativas.³⁵

No presente estudo, os dados alcançados pela microdosagem demonstraram resultados benéficos importantes ao desenvolvimento de estudos subsequentes para reflexão do potencial terapêutico do composto.

- **Estudo clínico de Fase 0 (microdose) para estudo da Claritromicina, Sumatriptano, Propafenona, Paracetamol (acetaminofeno) e Fenobarbital:**

Este ensaio clínico foi realizado com a principal finalidade de avaliação da capacidade de uma microdose em prever a farmacocinética humana após administração de uma dose terapêutica de Claritromicina, Sumatriptano, Propafenona, Paracetamol (acetaminofeno) e Fenobarbital.³⁶

Neste âmbito, no estudo de Fase 0 realizado, foi administrada uma microdose radiomarcada de cada fármaco a 6 voluntários saudáveis. No caso da Claritromicina, Sumatriptano e Propafenona, esta dose foi administrada oralmente e intravenosamente, concomitantemente com uma dose terapêutica não marcada oral, num desenho cruzado de 3 vias. As doses terapêuticas orais foram de 250, 50 e 150 mg, respectivamente.³⁶ O Paracetamol foi administrado com uma microdose oral e intravenosa marcada usando um desenho cruzado de 2 vias enquanto o Fenobarbital foi apenas administrado em microdose oral. As concentrações no plasma foram avaliadas por meio da AMS e/ou HPLC.³⁶

Atendendo à análise dos resultados apresentados pelos autores, para todos os 5 fármacos, a microdose administrada conseguiu prever razoavelmente bem a farmacocinética de cada um.³⁶ No caso da Claritromicina, Sumatriptano e Propafenona, a biodisponibilidade oral encontrava-se ligeiramente fora do intervalo de predição de 2 vezes do normalmente aceitável para o valor

médio da dose terapêutica.³⁶ Quando as doses de 100 µg IV foram administradas isoladamente e com uma dose terapêutica oral não marcada, observou-se uma excelente concordância entre os parâmetros de farmacocinética, o que possibilitou a inferência de que a cinética de disposição dos fármacos testados não foi afetada pela presença de concentrações terapêuticas.³⁶

- **Estudo Clínico de Fase 0 do inibidor SR13668:**

De acordo com Reid *et al.* (2011), o SR13668 é um inibidor da via Akt activa que demonstrou o potencial quimiopreventivo do cancro em estudos pré-clínicos. Para acelerar o desenvolvimento clínico deste agente promissor, Reid *et al.* (2011) propuseram o desenvolvimento do primeiro estudo de quimioprevenção de fase 0 para avaliar e comparar os efeitos dos alimentos e da formulação apresentada sobre a biodisponibilidade do SR13668.³⁷

Para tal, projectou-se um estudo em que voluntários adultos saudáveis foram distribuídos aleatoriamente para receber uma dose oral única de 38 mg de SR13668 em uma das cinco formulações diferentes, acompanhadas ou não de alimentos. Com base nos dados existentes em animais, o SR13668 numa solução oral PEG400 / Labrasol foi definido como a formulação de referência.³⁷

Foram recolhidas amostras de sangue antes e após a administração do agente para análise farmacocinética. A área sob a curva de concentração plasmática-tempo (AUC (0-∞)) foi definida como o *endpoint* primário. Os dados foram analisados e comparados utilizando métodos estatísticos estabelecidos para ensaios de fase 0 com um tamanho de amostra limitado.³⁷

Como resultados do estudo constatou-se que, os valores de AUC (0-∞) foram mais elevados no estado “com alimentos” (intervalo = 122-439 mg/mL × horas) e foram estatisticamente significativamente diferentes entre as formulações (P = 0,007), com o Solutol HS15 a apresentar uma maior biodisponibilidade. O tempo de SR13668 para atingir a concentração plasmática máxima (3 horas; variação de 2 a 6 horas) e a meia-vida (11,2 ± 3,1 horas) não foram dependentes da formulação.³⁷

Neste contexto, o estudo conduziu permitiu alcançar uma série de respostas quanto à actuação do composto SR13668 bem como, sobre qual a apresentação do composto que apresentava uma resposta mais promissora.

Assim, pelo estudo foi reforçada a aplicabilidade dos estudos de fase 0 para se alcançarem dados cruciais para se acelerar o desenvolvimento deste novo agente de quimioprevenção.³⁷

- **Estudo clínico de Fase 0 de Formulações de Capecitabina:**

Jacobs *et al.* (2016) desenvolveram um estudo de Fase 0 para examinar o perfil farmacocinético de várias formulações candidatas de libertação prolongada de Capecitabina em doentes.³⁸ A Capecitabina consiste num citotóxico oralmente disponível do 5-fluorouracilo (5-FU) que é utilizado no tratamento do carcinoma colo-rectal, gástrico e da mama. De acordo com Jacobs *et al.* (2016), as formulações de Capecitabina actualmente disponíveis comercialmente têm uma apresentação em comprimidos de libertação imediata.³⁸

Após a administração oral destes comprimidos, a Capecitabina é rápida e quase completamente absorvida. Ela é subsequentemente convertida em 5-FU através de uma cascata enzimática de três passos.³⁸ O tempo até à concentração plasmática máxima de Capecitabina e 5-FU é de aproximadamente 1 a 1,5 horas com concentrações máximas variáveis. A meia-vida média de eliminação de ambos os compostos é menor que 1 hora.

Aproximadamente 80% do 5-FU formado é catabolizado para metabólitos inactivos pela enzima diidropirimidina desidrogenase enquanto apenas uma pequena fração de 5-FU é anabolizada para metabólitos activos que inibem a proliferação celular através da inibição da timidilato sintase em DNA e RNA. A Capecitabina e 5-FU são indetectáveis no plasma aproximadamente 6 h após ingestão oral.³⁸ Como consequência, espera-se uma lacuna na exposição à Capecitabina e ao 5-FU de aproximadamente 6 h em cada intervalo de dosagem de acordo com o esquema de administração duas vezes ao dia da Capecitabina de libertação imediata actualmente disponível.³⁸

Um estudo clínico de fase 0 surgiria assim como uma etapa promissora para a avaliação precoce de farmacocinética de novas formulações de Capecitabina. Neste contexto, o estudo apresentado por Jacobs *et al.* (2016) foi realizado para investigar as formulações candidatas de libertação prolongada de Capecitabina para permitir a selecção rápida da formulação mais promissora para desenvolvimento clínico futuro.³⁸

Neste domínio, o principal objectivo deste estudo foi examinar a PK dessas formulações candidatas de Capecitabina de libertação prolongada em comparação com a formulação original de Capecitabina de libertação imediata.³⁸

Para tal, foi desenvolvido um estudo dos perfis farmacocinéticos de várias formulações orais em que, as várias formulações candidatas foram comparadas com o perfil farmacocinético de Capecitabina após a administração do comprimido de libertação imediata comercialmente disponível. Uma dose única de 1000 mg de formulação de libertação imediata (dois comprimidos de 500 mg) foi administrada no dia 1 e uma dose única de 1000 mg da candidata formulação de Capecitabina de libertação prolongada (dois comprimidos de 500 mg) foi administrada no dia 2.³⁸

Foram examinados 9 perfis de PK de diferentes formulações de Capecitabina de libertação prolongada. A média (\pm desvio padrão) da AUC 0-2 horas, relativa à AUC 0-2 horas após a administração oral do comprimido de libertação imediata, foi de 43,3% (\pm 34,9%) e 1,2% (\pm 1,2%) para as formulações candidatas de libertação prolongada revestidas com 3 e 6 mg/cm, respectivamente.³⁸

Como conclusão alcançada pelos autores neste estudo, a apresentação de Capecitabina em comprimidos de libertação prolongada poderá ser realizada sem alteração do seu potencial terapêutico, variando o conteúdo do revestimento do comprimido. A prova de princípio foi demonstrada para formulações candidatas de libertação prolongada com conteúdo de revestimento de 3 mg/cm no presente estudo.³⁸ Assim, este estudo surge como mais um exemplo de aplicabilidade dos estudos de fase 0 no sentido de garantir uma maior agilização no processo de estudo de novas abordagens terapêuticas, disponibilizando em tempo real, dados que servem de prova de conceito da eficácia potencial do composto em estudo, sem menosprezar o rigor metodológico e rigor científico da investigação em estudo.

9. Aspectos éticos, legais e regulamentares dos estudos clínicos de Fase 0:

Durante as últimas décadas, o incremento e progresso dos cuidados médicos deveu-se sobretudo a uma maior compreensão dos mecanismos fisiológicos e patológicos alcançados pela investigação na população humana. A colheita, análise e interpretação da informação obtida pelas investigações clínicas possibilitaram uma melhoria dos cuidados prestados e consequentemente, uma melhoria substancial na saúde humana.

No difícil trajecto de desenvolvimento de novas terapias e novos fármacos, a investigação envolvendo seres humanos tornou-se a principal fonte de saber e de progresso no entanto, devido à sua complexidade, tal trajecto foi pautado por sinuosos acontecimentos que

geraram significativas preocupações éticas principalmente no que diz respeito à preservação da segurança e saúde dos participantes face aos potenciais riscos e benefícios decorrentes da investigação clínica.³⁹

A confrontação com acontecimentos atroces inerentes à investigação clínica conduziram a uma necessidade de reformulação do conceito ético como um todo e conseqüentemente, às questões legais e regulamentares inerentes à sua concretização.³⁹

Até meados da década 70, o investigador clínico surgia como a única autoridade que poderia adjudicar a legitimidade de um protocolo de investigação encontrando-se a protecção dos participantes dos estudos, garantida pelo compromisso inerente à prática médica, segundo o Juramento de Hipocrates, de “não causar dano” ao doente.³⁹

A necessidade de diferenciação do conceito de ética de investigação *versus* ética de cuidado médico apenas se tornou evidente com a dualidade subjacente ao simultâneo desempenho de médico assistente e médico investigador. Neste âmbito, constatou-se uma necessidade crescente de desenvolvimento de uma estrutura ética conceptual que permitisse ultrapassar o dilema entre as obrigações profissionais e o interesse científico.⁴⁰

Neste domínio, a ética na investigação clínica passou a ser analisada à luz de dois pressupostos fulcrais: a moralidade e o materialismo.

No que diz respeito à moralidade no contexto dos ensaios clínicos esta pode ser expressa como algo relacionado aos valores morais humanos que impedem os investigadores de agirem ou terem acções nocivas para com os participantes, acções que possam incrementar o risco e colocar em causa a segurança dos mesmos. Deste modo, como valor inerente à moralidade surge o "respeito pela vida".⁴⁰ Por outro lado, o conceito de materialismo poderia ser expresso como algo relacionado ao significado dos resultados obtidos no estudo ou às respostas obtidas em termos de benefícios presentes ou futuros para a sociedade e comunidade científica.⁴⁰ Deste modo, podemos entender a ética na investigação clínica como um produto do equilíbrio entre a moral e o materialismo.⁴⁰

Neste contexto de acordo com Pereira do Vale (s/d), a reflexão ética no decurso da investigação clínica deveria ter em consideração os seguintes aspectos: “ *a prossecução do conhecimento; a presunção de que a investigação vai gerar conhecimento; a relação favorável*

*benefícios-riscos para o sujeito da investigação; a selecção imparcial dos sujeitos e a imprescindibilidade da utilização de sujeitos humanos”.*⁴¹

Tais acções centrar-se-iam assim nos princípios universais de respeito pela dignidade humana, pautados pelo princípio da autonomia (consentimento informado e protecção das pessoas), princípio da beneficência e não maleficência (equidade na distribuição dos riscos e benefícios), princípio da justiça (carga económica associada) e ainda, pelo princípio da responsabilidade (responsabilidade dos procedimentos realizados).⁴¹

Inerente ao conceito ético moderno da investigação humana surgem três importantes documentos que pautam a actuação humana na concretização da investigação clínica sendo estes: o Código de Nuremberga, a Declaração de Helsínquia e o Relatório de Belmont.⁴²

O Código de Nuremberga foi um código ético e legal promulgado pelos juízes americanos nos julgamentos de médicos nazis após a segunda guerra mundial publicado em 1947.⁴¹ É considerado por muitos a referência de autoridade legal da experimentação humana. É baseado nos princípios universais da lei natural e direitos humanos e nele, é estabelecido como o princípio básico que, a participação na investigação requiere a livre, informada e consentida participação dos sujeitos sendo esta sustentada sempre por uma justificação de valor científico.⁴¹

A Declaração de Helsínquia é argumentativamente a mais conhecida *guideline* da investigação médica. Consiste numa directiva oficial da Associação Médica Mundial e foi elaborada numa tentativa de equilíbrio entre a necessidade de gerar sólidos conhecimentos médicos com a necessidade de proteger a saúde e interesses dos participantes. A declaração engloba um conjunto de regras de conduta que pautam a investigação em seres humanos enunciando que

a investigação humana deve ser precedida e baseada em resultados da experimentação laboratorial e animal; antes de se iniciar a investigação, os protocolos da mesma devem ser revistos por uma comissão ética independente; é necessária a obtenção do consentimento informado do sujeito da investigação; a investigação deve ser liderada por indivíduos médicos e cientificamente qualificados e os riscos não devem exceder os benefícios

(Declaração de Helsínquia como referido em Pereira do Vale, s.d⁴¹).

Embora esta declaração não tenha reconhecido estatuto legal, até à atualidade, continua a ser tratada e reconhecida como um código de conducta à escala global da investigação médica, tendo sido nomeadamente aceite pela CIOMS (*Council for International Organizations of Medical Sciences* ligada à OMS) e sendo referida praticamente em todos os protocolos de pesquisa ou de ensaios clínicos apresentados a comissões de ética.⁴¹

O Relatório de Belmont caracteriza-se por ser um documento de princípios morais publicado pela *National Commission for The Protection of Human Subjects of Biomedical and Behavioral Research* acerca de questões inerentes ao respeito pela dignidade humana, pelo princípio de beneficência e de justiça, que deveria guiar a conducta de pesquisa.⁴³

Para além destes três documentos importa ainda salientar que, toda a experimentação humana realizada deverá ter em consideração os princípios instituídos pela Declaração Universal dos Direitos do Homem, ao abrigo do artigo 7, de 1966 como referido em Pereira do Vale, s.d “...ninguém será submetido, sem seu livre consentimento, a experiências médicas ou científicas”.⁴¹

A nível europeu, todas as orientações de carácter ético são providenciadas pelas directivas apresentadas pela Comissão Europeia, bem como, pelas comissões de bioética de cada país-membro.

Importa ainda salientar que, em 1982, a CIOMS apresentou um manual de "Orientações Éticas Internacionais para a Investigação Biomédica envolvendo seres humanos", definindo políticas com base na ética de investigação. Inerente à mesma foram posteriormente apresentados os seguintes documentos: *International Guidelines for Ethical Review of Epidemiological Studies (1991)*; *International Ethical Guidelines for Biomedical Research Involving Human Subjects (1993)*; *Biomedical Research Ethics: Updating International Guidelines (2000)*; *International Ethical Guidelines for Biomedical Research Involving Human Subjects (2002)*.⁴¹

Também neste âmbito, a *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use- Guidelines for Good Clinical Practice (ICH-GCP)* publicou um conjunto de normas aplicáveis aos EUA, Japão e União Europeia, de orientações clínicas referentes à qualidade, eficácia, segurança e aspectos multidisciplinares em ensaios clínicos. Tal documento enfatiza a necessidade dos ensaios clínicos serem conduzidos

de acordo com os princípios da Declaração de Helsínquia, devendo existir uma relação de risco/benefício bem ponderada no desenvolvimento do projecto tendo em consideração os direitos, a segurança e o bem-estar dos sujeitos de investigação, atendendo à máxima informação disponível sobre o produto de ensaio que deverá ser cientificamente justificado e descrito num protocolo detalhado.⁴¹

Assim, do ponto de vista ético, todos os protocolos de investigação devem estar sujeitos à aprovação por parte de uma comissão de ética institucional e regional/nacional. Todo o seu desenvolvimento deve ser levado a cabo por um médico qualificado e investigador principal. Todos os produtos devem ser manufacturados, manuseados e armazenados de acordo com as boas práticas, assim como, todas as acções devem ser desenvolvidas com o consentimento dos sujeitos e, posteriormente, toda a informação relacionada ao mesmo deve ser registada e salvaguardada para futura análise.

Importa salientar que, os resultados e benefícios que podem advir da investigação (principalmente dos estudos de Fase 0) terão benefícios principalmente para doentes futuros e sociedade em geral e não para os participantes directos da investigação pelo que, a investigação clínica baseada na experimentação humana invoca um conflito constante entre indivíduo-sociedade, traduzindo-se numa relação de tensão entre o bem individual (interesse e benefício particular) e o bem público (interesse para a sociedade, ciência e progresso) que deve ser acautelada.

9.1. Desafios éticos dos estudos clínicos de Fase 0:

No que concerne aos estudos clínicos de Fase 0, as considerações éticas inerentes aos mesmos têm conduzido a inúmeras críticas e discussões no seio da comunidade científica.

A interpretação ética da génese dos estudos clínicos exploratórios de novos fármacos, tem requerido uma necessidade crescente de reflexão crítica acerca destes aspectos. Neste âmbito, as principais preocupações éticas inerentes aos estudos de Fase 0 relacionam-se sobretudo com o recrutamento de voluntários para a realização do estudo sem qualquer intenção terapêutica, o possível atraso na participação de outros ensaios clínicos, possíveis equívocos terapêuticos e ainda, os potenciais riscos inerentes às intervenções e procedimentos relacionados à pesquisa.⁴⁴ Neste âmbito serão abordados em maior detalhe as considerações éticas inerentes aos riscos e benefícios, consentimento informado, finalidade e validade científica destes mesmos estudos.

- Riscos e benefícios para os sujeitos intervenientes dos estudos clínicos de Fase 0:

No que concerne aos riscos e benefícios inerentes aos estudos de Fase 0, o conceito de microdosagem inerente aos mesmos, foi entendido pelos seus proponentes como do ponto de vista ético uma importante mais-valia uma vez que, se tratando de um estudo baseado na administração de uma microdose, o risco de toxicidade seria consideravelmente menor e, portanto, seria possível alcançar-se importantes dados de tolerabilidade, antes mesmo da concretização da Fase 1 ao mesmo tempo que se garantia uma maior segurança dos participantes em estudo.^{12,44}

Por outro lado, esta visão foi contrariada por alguns críticos que afirmaram que, mesmo se tratando da administração de um fármaco em doses muito reduzidas, nunca poderá ser garantido que mesmo nas condições requeridas pelos estudos de Fase 0 a toxicidade seja completamente nula. Estes investigadores sustentam a sua posição no facto de que dado, os testes de toxicidade requeridos para a realização destes estudos são limitados, podendo existir um certo grau de incerteza quanto ao risco a que os participantes poderão estar sujeitos.^{12,44}

Contraopondo tais preocupações, os investigadores que defendem a visão dos estudos de Fase 0 afirmam que, por si só, o argumento da toxicidade do ponto de vista ético não é um impedimento à realização dos mesmos uma vez que, esta irá sempre existir em qualquer estudo realizado de um novo fármaco em seres humanos. Assim, estes consideram que uma importante estratégia a implementar no decurso de toda a investigação é a de manterem os participantes sob criteriosamente monitorização por uma equipa de investigação altamente qualificada no sentido de se despistar quaisquer efeitos adversos ou complicações que do estudo possa advir.⁴⁴

Deste modo, os estudos de microdosagem não podem ser entendidos como inconsistentes com as fases precoces de investigação de novos fármacos do modelo tradicional no entanto, também não é possível descartar-se por completo o risco da ocorrência de eventos adversos imprevistos causados pelas intervenções relacionadas à pesquisa.

A ocorrência de efeitos adversos no decurso da investigação clínica surge assim também como um ponto em discussão na medida em que, este pode ser desde logo, um factor condicionador à participação nos estudos de Fase 0.⁴⁰

Apesar de, esta crítica ser apresentada como argumento condicionador da realização dos estudos clínicos de Fase 0 importa ressaltar que, o mesmo argumento poderia ser utilizado na

argumentação contra os ensaios clínicos de Fase 1, uma vez que, nesta fase são administradas doses significativamente maiores e durante um período mais prolongado de tempo, existindo um risco superior de ocorrência de adversidades.⁴⁴ Para além disso, de acordo com o autor, o tradicional estudo de escalonamento de um qualquer fármaco tem também início na administração de doses subterapêuticas em quantidades semelhantes às do estudo de Fase 0 pelo que, numa etapa inicial os riscos dos estudos de Fase 0 podem ser equiparados aos estudos de Fase 1.

Deste modo, o autor propõe que, tais críticas, para que possam ser fundamentadas exigiriam também toda uma nova perspectiva de pensamento acerca da investigação clínica tradicional nas suas etapas iniciais. Isto incluiria uma revisão de procedimentos de estudo minimamente "arriscadas" e que não oferecem recompensa terapêutica como por exemplo, a realização de biópsias para testar uma distribuição de um fármaco e o uso de toxicidade como uma finalidade em estudos de agentes cuja eficácia ainda não se encontra estabelecida.⁴⁴

Outra questão ética enunciada inerente aos riscos e benefícios para os participantes diz respeito, desde logo, à selecção e aceitação para integração no estudo de pessoas gravemente doentes ou em estados avançados de doença uma vez que, estas não beneficiarão de qualquer finalidade terapêutica.¹² Neste âmbito, embora os estudos de Fase 0 apresentem como grande vantagem, a integração de voluntários que podem pertencer a populações específicas que, à partida, seriam logo excluídas de estudo tradicional, a FDA desaconselha a participação de doentes em condições de doença agravada ou prolongada na medida em que, a participação destes doentes mesmo que devidamente esclarecidos no que se refere à falta de intenção terapêutica pode ainda assim, ser encarada como uma expectativa de cura podendo gerar sentimentos de ansiedade e de angústia baseados em falsas esperanças.⁴⁴

Também no que diz respeito às populações vulneráveis, como crianças e mulheres em idade fértil, numa perspectiva ética, a integração dos mesmos no estudo de Fase 0 por um lado é entendida pelo princípio da beneficência e da justiça, como um importante contributo para o avanço do conhecimento científico numa fase inicial de investigação e que poderá ser crucial para tratamentos futuros destes grupos mas por outro, é entendido como uma grande preocupação ética uma vez que, os potenciais riscos envolvidos podem colocar em risco a segurança e vida destes participantes.⁴⁴ Neste caso em concreto, as restrições potenciais colocadas por certas propriedades proibitivas do agente em estudo como a mutagenicidade e a

carcinogenicidade por exemplo, devem ser tidas em consideração e devem ser estudadas criteriosamente antes do início do estudo.

Neste contexto, atendendo à reflexão crítica realizada por Kurihara (2011), tal condicionalismo poderia ser solucionado satisfatoriamente com uma análise crítica e posterior requerimento de medidas adicionais de proteção destes grupos aquando da realização dos estudos de Fase 0.

Também importa ressaltar que, uma vez que a natureza não terapêutica dos estudos de Fase 0 não pode ser superada pelos investigadores, estes deverão agir no sentido de minimizar os riscos envolvidos nos estudos de Fase 0 associados ao agente de estudo em investigação podendo por exemplo, no caso de estudos na área de oncologia, minimizar a necessidade de realização de procedimentos invasivos como a realização de biópsias, garantindo assim uma melhor relação no que diz respeito ao risco-benefício envolvido.⁴⁰

- Consentimento informado e equívoco terapêutico:

No que concerne aos estudos de Fase 0, a obtenção de um consentimento informado voluntário bem justificado e devidamente documentado surge como uma das principais preocupações éticas a ter em consideração.⁴⁰

De acordo com Kimmelman (2007) o recrutamento de participantes para os estudos de Fase 0 está associado a duas grandes preocupações.

A primeira diz respeito à possibilidade dos candidatos providenciarem um consentimento inválido porque não foi entendida correctamente a intenção não-terapêutica do estudo.⁴⁴ O “equívoco terapêutico” poderá assim acontecer quando, os participantes não entenderam ou não foram devidamente informados da natureza não-terapêutica explícita do estudo em causa e poderão assim, criar falsas expectativas de poderem vir a ter qualquer benefício terapêutico com a sua participação no estudo.^{40,44} Neste âmbito, do ponto de vista ético, deverá existir por parte dos investigadores uma preocupação em clarificar a ausência de acção terapêutica e de benefício para os mesmos, explicitando cuidadosamente a pesquisa comparativamente com os cuidados terapêuticos e demais ensaios clínicos. Para tal, Gupta *et al.* (2011) enunciam a importância dos investigadores procurarem documentar os dados inerentes ao estudo evitando o uso de palavras que possam induzir a uma interpretação errónea, devendo utilizar-se

expressões como “pesquisa exploratória” ou “estudo clínico” em detrimento de “ensaio clínico”.⁴⁰

Neste domínio para que, do ponto de vista ético, se garanta um consentimento livre e informado, todos os participantes deverão estar bem cientes da natureza dos estudos ou seja, da falta de intenção terapêutica (falta de benefício médico pessoal apenas eventualmente benefício para doentes no futuro), limitada toxicologia requerida (com potenciais riscos imprevisíveis) e limitados testes de segurança. Esta clarificação será imprescindível para se evitar o denominado "equivoco terapêutico".⁴⁴

A segunda preocupação ética relacionada com o consentimento para realização do estudo de Fase 0 diz respeito à possibilidade de confusão entre "aspiração" com "interesse próprio" uma vez que, os candidatos doentes podem acreditar que ao participar no estudo de um novo fármaco numa fase precoce a possam receber mais tarde.^{5,44} Neste contexto, a não ser que a continuidade em estudos posteriores esteja previamente definida e esta continuidade esteja claramente expressa no pedido de consentimento informado, estes pensamentos devem ser desencorajados pelos investigadores.⁴⁴

Importa ressaltar assim que, no contexto ético, é necessário realizar-se uma reflexão sobre a visão dos participantes como “assunto de pesquisa” ou “participantes do estudo” uma vez que, no caso dos estudos clínicos de Fase 0, os participantes surgem simultaneamente como contribuintes, auxiliando os investigadores no estudo, quer como meio de pesquisa mas também como fim investigativo em si mesmo. Para além disso, se for analisado a sua participação do ponto de vista da reciprocidade, tal relação pode ser entendida como uma relação desequilibrada e unidireccional na medida em que, o investigador retirará benefício da participação da pessoa no entanto, esta não terá qualquer benefício pessoal associado.⁴⁴

Deste modo, deverá existir uma consciencialização por parte do investigador no reconhecimento da pessoa como “participante” do estudo, com um papel activo no desenvolvimento do processo e que, portanto, deverá ser tratada não como um “objecto de estudo” mas no respeito pelo princípio da dignidade humana garantindo assim, a moralidade do estudo.⁴⁴ Para reforço de tal concepção, o participante deveria ser envolvido em todas as etapas do estudo, principalmente, pela partilha dos resultados que serão alcançados com os mesmos. Esta partilha deveria ser ainda alargada ao público em geral no sentido de se fomentar uma opinião geral dos estudos de Fase 0.⁴⁰

De um modo geral, os princípios éticos inerentes à pesquisa biomédica em seres humanos evidenciam a premissa central de que, o interesse dos participantes prevalece sobre o interesse da sociedade o que, no caso, é desafiado pela perspectiva dos estudos clínicos de Fase 0. Atendendo à sua especificidade, o benefício para os outros e sociedade em geral surge como propósito central em detrimento do benefício pessoal de cada um dos participantes.⁵

Tal facto, de acordo com Abdoler, Taylor & Wendler (2008) como referido em Coloma (2013) não revela por si só um impedimento à sua realização no entanto, há uma maior necessidade de incremento da moralidade e para tal, a construção ética dos ensaios clínicos de fase 0 deve ser melhorada no futuro.

Assim, para que o consentimento de participação seja considerado o mais livre, esclarecido e fundamentado possível, é necessário que os doentes entendam 3 pontos centrais: objectivos do estudo, desenho experimental do estudo e risco inerente à investigação.¹²

Inerente assim à tomada de consentimento livre e esclarecido acerca dos estudos de Fase 0 após os participantes terem toda a informação necessária à decisão de integração no estudo podem surgir algumas barreiras que condicionam a participação dos mesmos. Neste âmbito, Gupta *et al.* (2011) enunciam como principais factores que podem condicionar a participação em estudos de Fase 0 os seguintes motivos: a falta de benefício terapêutico, a possível necessidade de realização de procedimentos invasivos como a realização de biópsias, os potenciais efeitos adversos que podem ocorrer durante a sua realização, o receio de ter a sua participação adiada ou excluída de outros ensaios clínicos com finalidade terapêutica, a possível necessidade de deslocação a locais de estudo distantes da área de residência, a falta de apoio por parte de membros de família, o aconselhamento desfavorável à participação por parte do médico que acompanha o caso e ainda, a necessidade de tratamento imediato.⁴⁰

Importa ressaltar que, de entre as condicionantes à participação, o atraso ou exclusão em ensaios que possam ser benéficos para o participante surge como um dos principais receios mencionados no entanto, de acordo com Kummar *et al.* (2007), geralmente o esquema de administração e análise do estudo de microdose ocorre num curto período de tempo não se prolongando por mais do que 2 semanas pelo que, à partida não resultará num significativo atraso nas demais colaborações no entanto, desde logo, tal aspecto deverá ser tido em consideração no planeamento do estudo. Esta questão deverá ser discutida com os participantes

do estudo tendo também, ainda em consideração, se doentes em estado avançado de doença necessitarão ou não de um possível tratamento imediato.⁹

Contrariamente, do ponto de vista ético, são enumeradas algumas razões pelas quais mesmo não existindo benefício directo para o participante, este aceita colaborar e integrar um estudo de fase 0 sendo estas: acto de altruísmo (em que o participante aceita a integração no estudo com intenção de apoiar a investigação científica e de ajudar futuros doentes), a relação anterior favorável doente-médico (em que este sente segurança clínica para colaborar no estudo), a participação prévia em outros estudos/ensaios clínicos (tendo uma maior compreensão do elemento de pesquisa e de como decorrem os ensaios clínicos) e ainda, a orientação de pesquisa comprovada da instituição de recrutamento (que garante uma maior confiança no estudo e nos profissionais envolvidos).⁴⁰

Após a reflexão de todos estes prós e contras por parte do participante e considerando que a sua análise final é favorável aos estudos de Fase 0, é importante que o seu consentimento livre e esclarecido seja documentado, ficando assim expresso categoricamente o seu entendimento do estudo. Para tal, deverá ser realizada uma declaração explícita de consentimento informado, que deverá reconhecer claramente que a participação no estudo não terá qualquer benefício esperado a nível pessoal e que poderá conduzir a alguns constrangimentos como a um possível atraso no tratamento/participação de outros ensaios. Assim, a título de exemplo tem-se a declaração redigida no estudo de Fase 0 ABT-888 (sujeito a revisão pela comissão de ética) como referido em Gupta *et al.* (2011) " *Este estudo não pretende tratar o seu cancro. A sua participação neste estudo pode atrasar (até um período de 6-8 semanas) ou excluir a sua capacidade de participar de outros ensaios clínicos*". Os participantes devem assinar a declaração confirmando assim, claramente que entenderam o propósito do estudo.⁴⁰

Também para garantir completa idoneidade no que diz respeito a remuneração ou recompensa financeira caso esta possa ser realizada ao abrigo legal, de acordo com Gupta *et al.* (2011), o montante apresentado deverá ser modesto uma vez que, quantias excessivas podem influenciar indevidamente a decisão dos participantes.

- Finalidade dos estudos exploratórios e validade científica:

Como referido anteriormente, uma das principais preocupações éticas enunciadas prende-se, desde logo, com a finalidade dos próprios estudos. Sabendo que os estudos de Fase 0 não têm qualquer finalidade terapêutica, o propósito para a sua realização deve ser criteriosamente ponderado.⁴⁰ Desde logo, há que reflectir se a realização do estudo surge com propósito central de ser um veículo impulsionador do conhecimento científico de novos compostos ou se este visa somente um fim comercial com intenção de rentabilização de um composto para a indústria farmacêutica. Tal crítica foi enunciada pela própria FDA na sua iniciativa “*Critical Path Initiative*” relativamente aos custos e benefícios para os mesmos que poderiam advir dos estudos clínicos de Fase 0.⁴⁰ Também de acordo com Kimmelman (2007), a evidência comercial dos mesmos é irrefutável no entanto, tal crítica segundo o autor poderia ser enunciada para todos os estudos de novos fármacos uma vez que, todos são realizados com o intuito de sucesso de comercialização das mesmas.⁴⁴

Ultrapassando tais críticas, as questões primordiais que se levantam acerca da finalidade de estudos clínicos de Fase 0 relacionam-se sobretudo com a sua validade científica e se estes estudos, são estudos promissores para as questões investigativas requeridas.⁴⁴ Assim, como principais críticas enunciadas pela comunidade científica tem-se o facto: se estes estudos apresentam uma metodologia de investigação válida, se os seus resultados podem ser sujeitos à generalização e, ainda, se o interesse comercial pode colocar em perigo a relevância, validade ou generalização dos mesmos.⁴⁴

No domínio da validade científica, é então colocado em questão se os estudos de microdose e, conseqüentemente, os seus resultados de farmacocinética/farmacodinâmica poderão ser ou não extrapolados para a dose terapêutica. A não linearidade do fármaco pode assim conduzir a sérios desafios que podem comprometer a validade científica do estudo.⁴⁰

Neste contexto, é importante que seja constatada a validade das extrapolações devendo para tal, ser validada a dosagem administrada antes do início do estudo assim como, o biomarcador a ser estudado.

Importa salientar ainda que, existem alguns obstáculos à generalização dos resultados uma vez que, dado se tratarem de estudos com objectivos limitados, estes podem não ser divulgados ou quando o são, esta divulgação geralmente é tardia, somente após as conclusões dos estudos

de Fase 1.⁴⁴ Tal facto, condiciona a atribuição de validade científica a estes estudos o que, pode ser ultrapassado se os seus resultados forem publicados e disponibilizados electronicamente o mais precocemente possível.

Por fim, no que diz respeito à influência comercial, do ponto de vista ético espera-se que o materialismo permaneça elevado para os benefícios da sociedade no sentido em que, a concretização bem-sucedida da pesquisa científica poderá conduzir à comercialização de novos fármacos mais eficazes e mais seguras, atingindo mais rapidamente o mercado e conseqüentemente, providenciando uma resposta mais rápida às doenças que acometem a sociedade.⁴⁰

O propósito dos estudos de Fase 0 para o desenvolvimento de medicamentos promete tornar o processo mais eficiente e menos dispendioso em termos de custos e de tempo, o que seria benéfico para a sociedade de um modo geral, no entanto, não deve ser esquecido que a questão comercial continua a ser uma das principais críticas à sua concretização e carece assim de uma importante clarificação e regulamentação por parte das entidades reguladoras não esquecendo, o abrigo legal a que estes estudos deverão estar sujeitos.⁴⁰

Em suma, apesar das preocupações éticas constatadas estas por si só não impossibilitam a realização dos estudos clínicos de fase 0 no entanto, tornam emergente um processo de reflexão crítica para que estes novos projetos possam ser acompanhados de uma nova e dinâmica visão. Propõe-se para tal, a criação de uma “agenda ética” que promova oportunidades de discussão entre especialistas para que, estes possam abordar com mais rigor a integração dos estudos de Fase 0 num novo modelo de investigação de novos fármacos. Torna-se assim importante, a revisão dos protocolos de investigação por parte das entidades competentes no sentido de se garantir um melhor equilíbrio entre as questões éticas e a conducta inerente aos estudos de fase 0.⁴⁰

9.2. Aspectos legais e regulamentares da Investigação Clínica:

No que diz respeito à regulamentação europeia, foi inicialmente apresentada a Directiva 2001/20/CE de 4 de Abril⁴⁵. Esta directiva surgiu com a intenção de garantir a aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas dos Estados-Membros em relação às questões relacionadas com as boas práticas clínicas requeridas para a condução dos ensaios clínicos de medicamentos para uso humano.⁴⁵

Este documento integra as questões fundamentais à concretização de um ensaio clínico tendo sido, desde logo, legislado acerca de questões éticas inerentes ao processo de consentimento informado e parecer ético, ao planeamento e apresentação formal de um pedido de ensaio clínico, questões protocolares de condução de cada etapa do ensaio, notificação de eventos adversos e efeitos indesejáveis e também, acerca da apresentação dos resultados inerentes ao estudo.⁴⁵

Posteriormente esta directiva foi revogada, tendo sido aprovada a Directiva 2004/27/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 31 de Março de 2004, estabelecendo-se um código comunitário relativo aos medicamentos para uso humano. Posteriormente, no ano de 2005, em complementaridade à directiva apresentada anteriormente foi enunciada a Directiva 2005/28/CE de 8 de Abril que estabeleceu os princípios e as directrizes pormenorizadas das boas práticas clínicas aplicável à concepção, realização, registo e notificação dos ensaios clínicos de uso experimental de medicamentos para uso humano. Esta directiva veio estabelecer ainda os requisitos para autorização de fabrico do medicamento ou sua importação, bem como, estabeleceu as condições relativas ao processo permanente do ensaio e métodos de arquivo.⁴⁶

Na sequência de uniformização da actuação em ensaios clínicos a nível comunitário foi enunciado a 16 de Abril de 2014, o Regulamento (EU) N.º 536/2014 do Parlamento Europeu e do Conselho⁴⁷ o qual, visou clarificar melhor os ensaios clínicos e as especificidades que deverão estar salvaguardadas na realização dos mesmos e que, veio revogar a Directiva 2001/20/CE. Esta legislação seria então directamente aplicável ao regime jurídico dos Estados Membros, 6 meses após a sua publicação no Jornal Oficial das Comunidades Europeias e após aviso da Comissão Europeia da conformidade operacional dos requisitos instituídos nele, através do Portal da União Europeia e da Base de Dados da União Europeia previstos sendo assim, esperado a sua consecução em Outubro de 2018. Até então a realização de ensaios clínicos continua a ser regulada pela Directiva n.º 2001/20/CE.⁴⁸

Neste regulamento é clarificado o conceito de ensaio clínico em vigor, estabelecido anteriormente na Directiva na medida em que, este deverá ser definido de um modo mais preciso e mais amplo sendo, para tal, sobretudo utilizado o conceito de “estudo clínico”.

Assim é entendido de acordo com o Regulamento que “estudo clínico” é

*qualquer intervenção relacionada com seres humanos destinada a : a) descobrir ou verificar os efeitos clínicos, farmacológicos ou outros efeitos farmacodinâmicos de um ou mais medicamentos; b) a identificar quaisquer reacções adversas a um ou mais medicamentos; c) a estudar a absorção, a distribuição, o metabolismo e a excreção de um ou mais medicamentos.*⁴⁷

No caso de “ensaio clínico” passa a caracterizar-se como

*um estudo clínico que satisfaz qualquer uma das seguintes condições: a) a aplicação ao sujeito do ensaio de uma determinada estratégia terapêutica é decidida antecipadamente, não se inserindo na prática clínica normal no Estado-Membro em causa; b) a decisão de prescrever o medicamento experimental é tomada ao mesmo tempo que a decisão de incluir o sujeito do ensaio no estudo clínico ou c) a aplicação ao sujeito do ensaio de procedimentos de diagnóstico ou de monitorização complementares em relação à prática clínica normal.*⁴⁷

De acordo com tal regulamento, é importante que estejam salvaguardados os direitos, a segurança, a dignidade e o bem-estar dos sujeitos que integram o ensaio, produzindo resultados fiáveis, importantes ao desenvolvimento do conhecimento científico.

Também se constata um esforço de uniformização e harmonização dos conceitos, bem como, dos procedimentos realizados à luz dos ensaios clínicos de medicamentos em humanos no sentido de se garantir que, todos os Estados-membros possam levar a cabo acções de investigação *standardizadas* que tornem não só o processo mais eficiente como também promova a colaboração inter-estados.

Neste regulamento enfatiza-se ainda importância dos ensaios clínicos realizados em determinado estado-membro para a investigação clínica europeia pelo que, a submissão de dados relativos ao ensaio clínico devem ser transmitidos através de um portal único de comunicação.⁴⁷

Neste âmbito surgiu assim, em 2004, a EudraCT como referido pelo INFARMED (Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P) que consiste numa base de dados de todos os ensaios clínicos interventivos com estudo de medicamentos realizados na União Europeia e que foram submetidos à Comissão de Ética e à Autoridade Regulamentar Competente.⁴⁹ Esta base de dados foi desenvolvida atendendo às directrizes da Directiva

2001/20/CE e contém informação confidencial que apenas se encontra disponível às autoridades competentes de cada estado-membro, à EMA e à Comissão Europeia.⁴⁹

Outro documento formal importante é o *ICH E6 (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements For Registration of Pharmaceuticals For Human Use): Guideline For Good Clinical Practice* apresentado em 1996 e com edição revista em Novembro de 2016 e que, enuncia um padrão internacional de qualidade ética e científica no que concerne à concepção, realização, registo e apresentação dos ensaios clínicos que envolvem a participação de seres humanos.⁵⁰ O cumprimento desta norma é de extrema importância na garantia do respeito dos direitos, da segurança e do bem-estar de todos os participantes em ensaios clínicos baseando-se nos princípios instituídos na Declaração de Helsínquia.⁵⁰

Assim, a aplicação de tal directriz visa fornecer um padrão unificado para toda a União Europeia em concordância também com o Japão e os Estados Unidos, garantindo uma maior aceitação dos dados clínicos alcançados por meio de ensaios clínicos pelas autoridades reguladoras atendendo às suas jurisdições. Trata-se portanto, da directriz mais importante aquando da concepção, planeamento e concretização do projecto de ensaio clínico para salvaguarda da segurança e bem-estar dos seres humanos envolvidos.

Ao longo dos últimos anos, as *ICH Guidelines* têm vindo a ser revistas no que concerne às questões relacionadas com a qualidade, segurança e eficácia dos estudos farmacológicos em humanos destacando-se as actualizações das *guidelines ICH Q8/Q9/Q10* e *Q11*. Esta última directriz veio descrever as abordagens para o desenvolvimento dos processos para maior entendimento dos medicamentos experimentais bem como promover uma maior clarificação dos princípios e conceitos descritos anteriormente nas restantes *ICH* com enfoque no desenvolvimento Farmacêutico (*Q8*), gestão de risco da qualidade (*Q9*) e qualidade dos sistemas farmacêuticos (*Q10*), no que se refere ao desenvolvimento e fabrico de novas substâncias medicamentosas.⁵¹

Também no que diz respeito aos estudos de investigação clínica de fármacos na população pediátrica, foi apresentada uma adenda à *guideline ICH E11 (R1)*, em Agosto de 2017, que actualmente se encontra no seu período de implementação e que vem integrar novos avanços

científicos e técnicos no desenvolvimento de novos medicamentos para uso pediátrico e actualizar assim, a diretriz *ICH E11* adoptada em 2000.⁵²

Importa ressaltar ainda a importância da orientação da *guideline ICH M3(R2) on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals*, a qual foi desenvolvida no sentido de recomendar e promover a harmonização dos padrões internacionais instituídos dos estudos de segurança não clínicos recomendados para suportar os ensaios clínicos em seres humanos, dando enfoque à sua duração e autorização de introdução no mercado de produtos farmacêuticos. Assim, veio uniformizar e padronizar a prática destes estudos procurando promover o desenvolvimento seguro e ético e a disponibilidade de novos produtos farmacêuticos.⁵³

No que concerne aos estudos exploratórios de novos fármacos, a presente *guideline* apresenta as principais abordagens de estudos clínicos de Fase 0, enunciando os programas de testes não-clínicos que seriam recomendados para cada uma das abordagens em específico destacando assim, as doses iniciais recomendadas e doses máximas para cada uma das abordagens apresentadas no documento no sentido de, apoiar a seleção da dose humana a se estudar no respectivo estudo tendo por base as características de farmacodinâmica e farmacologia presentes nos estudos dos modelos *in vitro* e/ou *in vivo*. Neste contexto, na presente *guideline* são abordadas em maior detalhe duas principais abordagens de microdose: a primeira que envolve uma administração não superior a 100 µg que pode ser administrada numa única dose ou em doses subdivididas e a segunda abordagem que envolve ≤5 administrações de um máximo de 100µg por administração (um total de 500µg por indivíduo), dando ênfase aos requisitos requeridos de estudos não-clínicos recomendados para apoiar os estudos de microdose quer aquando da administração de dose única quer de múltiplas doses.⁵³

Todos estes documentos regulamentares para a realização de tais estudos estão presentes no Volume 10 da Eudralex que tem vindo a ser revisto e actualizado atendendo às alterações exigidas pelo regulamento da UE nº 536/2014.⁵⁴ Neste documento encontram-se integrados todos os documentos aplicáveis aos ensaios clínicos autorizados ao abrigo da Directiva 2001/20/CE e os documentos relevantes ao abrigo do Regulamento EU nº536/2014.⁵⁴

Importa ressaltar ainda a existência de uma compilação de documentos legais, *International Compilation of Human Research Protections* (2009)⁵⁵, apresentada pelo *U.S. Department of Health and Human Services*, a qual integra aproximadamente 1 100 leis, regulamentos e directrizes que regulam a realização da investigação clínica em seres humanos em 92 países, assim como, as orientações das organizações internacionais e nacionais de cada país. A sua principal finalidade é a de ajudar os investigadores a conhecer os requisitos legais e regulamentares exigidos em cada país no que diz respeito à investigação científica.⁵⁵

No que concerne à realização de ensaios clínicos de medicamentos para uso humano em Portugal esta é regulada a nível nacional pela Lei nº21/2014 de 16 Abril (denominada de Lei de Investigação Clínica)⁵⁶ alterada posteriormente pela Lei nº73/2015 de 27 de Julho⁵⁷ e que, relativamente a esta temática veio revogar a Lei nº46/2004 de 19 de Agosto.⁵⁸

A lei nº21/2014⁵⁶, denominada Lei da Investigação Clínica, transpôs para a ordem jurídica nacional a Directiva nº 2001/20/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho. Tal lei veio assim garantir a aproximação jurídica, legislativa e regulamentar do contexto português no que diz respeito à condução de boas práticas clínicas na realização de ensaios clínicos de medicamentos para uso humano, estabelecendo o regime jurídico da realização de ensaios clínicos em seres humanos com recurso à administração de um medicamento humano.^{56,58} Apesar da integração desta lei no enquadramento jurídico e legal português permitir uma base sólida regulamentar para a realização de ensaios clínicos de medicamentos em humanos, esta salvaguarda que os ensaios clínicos sem intervenção deverão ser objecto de regulamentação própria.

Na lei nº21/2014 foi definido como ensaio clínico

*qualquer investigação conduzida no ser humano, destinada a descobrir ou verificar os efeitos clínicos, farmacológicos ou os outros efeitos farmacodinâmicos de um ou mais medicamentos experimentais, ou identificar os efeitos indesejáveis de um ou mais medicamentos experimentais, ou a analisar a absorção, a distribuição, o metabolismo e a eliminação de um ou mais medicamentos experimentais, a fim de apurar a respectiva segurança ou eficácia.*⁵⁶

Na presente lei, são definidos os alicerces da investigação clínica de medicamentos em humanos esclarecendo os conceitos-chave como “Centro de Ensaio”, “Medicamento Experimental”, “Boas Práticas Clínicas”, “Consentimento Livre e Esclarecido”. Também surge evidência da necessidade de todos os ensaios clínicos em humanos serem realizados no estrito

respeito pelo princípio da dignidade da pessoa e dos seus direitos fundamentais, prevalecendo estes sobre os interesses da ciência e da sociedade.⁵⁶ Assim, é possível constatar-se que a Lei da Investigação Clínica vai de encontro ao que está regulamentado nas directrizes europeias.

Como lei fundamental da investigação clínica são regulamentados os princípios básicos de um ensaio clínico desde o princípio das boas práticas, direitos e deveres das partes integrantes no ensaio (investigador e participantes), com particular enfoque na avaliação dos riscos e benefícios inerentes ao mesmo.⁵⁶

Também é legislado sobre as condições especiais de realização de ensaios clínicos, como a realização de ensaios clínicos em menores e pessoas que não conseguem expressar o seu consentimento livre e esclarecido bem como, sobre o estudo de um medicamento sem autorização de introdução no mercado e que constem do anexo A do Regulamento (CE) n.º 726/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 31 de março de 2004 ou que apresentem características especiais, como por exemplo, quando a substância ou substâncias activas sejam produtos biológicos de origem humana ou animal. Também com necessidade de autorização expressa enunciam-se: os ensaios clínicos que envolvam medicamentos de terapia génica, de terapia celular somática, que contenham organismos geneticamente modificados e de terapia celular xenogénica.⁵⁶

Posteriormente em 27 de Julho de 2015, Lei n.º 73/2015, foi aprovada a primeira alteração à lei da investigação clínica, Lei nº21/2014 no sentido de fixar as condições em que os monitores, auditores e inspectores podem aceder ao registo dos participantes em estudos clínicos.⁵⁸ Neste contexto, a actualização da lei portuguesa procurou ir de encontro às novas *guidelines* europeias.

Importa ainda ressaltar que, após a integração da Lei nº21/2014 de 16 de Abril foi desenvolvido um organismo denominado Comissão de Ética para a Investigação Clínica (CEIC) que surge como um organismo independente constituído por individualidades ligadas à saúde e a outras áreas de actividade que têm como principal missão garantir a protecção dos direitos, da segurança e do bem-estar dos participantes nos estudos clínicos, através da emissão de pareceres éticos sobre os protocolos de investigação que lhe são submetidos. Este organismo monitoriza e avalia todas as questões inerentes ao procedimento do estudo clínico como por

exemplo, a pertinência e a concepção do protocolo/plano de investigação, os recursos humanos e os materiais envolvidos.⁵⁶

Neste âmbito, a nível nacional, todos os ensaios clínicos devem ser desenvolvidos tendo em consideração os princípios e direitos éticos consagrados na Constituição Portuguesa pelo que, um dos documentos mais importantes a evidenciar é o Ficheiro de Resolução da Assembleia da República nº1/2001- Convenção sobre os direitos do Homem e Biomedicina, no qual foi realizada a ratificação da Convenção para a Protecção dos Direitos do Homem e da dignidade do ser humano face às aplicações da Biologia e da Medicina.⁵⁹

No que concerne ao desenvolvimento metodológico dos ensaios clínicos de medicamento de uso humano foi estabelecido em Decreto-Lei nº102/2007 de 2 de Abril ⁶⁰, os princípios e as directrizes de boas práticas clínicas para desenvolvimento de medicamentos experimentais para uso humano bem como, os requisitos especiais aplicáveis às autorizações de fabrico e de importação destes mesmos produtos, transpondo assim para ordem jurídica interna a Directiva nº2005/28/CE da Comissão, de 8 de Abril. Também no âmbito da legislação inerente às áreas de fabrico, controlo de qualidade, segurança e eficácia, introdução no mercado e comercialização dos medicamentos para uso humano foi instituído o Decreto-Lei nº176/2006 de 30 de Agosto de Estatuto do Medicamento.⁶¹

Durante a realização de qualquer ensaio clínico em Portugal, todas as acções encontram-se sob supervisão e inspecção por parte do INFARMED, sob mandato das instituições comunitárias.⁵⁸ O INFARMED surge assim como a autoridade competente para ensaios clínicos e estudos clínicos com intervenção de dispositivos médicos. As suas acções visam assim verificar o cumprimento das Boas Práticas regulamentadas na condução do ensaio clínico em questão recorrendo para tal, a uma série de actividades que compreendem a verificação/revisão de documentos, instalações, registos e quaisquer outros recursos relacionados com um ensaio clínico tendo por base, o cumprimento da legislação nacional e comunitária em vigor.⁵⁸

Ainda ao abrigo da inspecção realizada por parte do INFARMED é garantido que, o fabrico dos medicamentos experimentais é realizado de acordo com os princípios de Boas Práticas de Fabrico assim como, é avaliado o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório quando estas são aplicáveis.⁵⁸ Neste contexto o INFARMED monitoriza a segurança da utilização

experimental de medicamentos garantindo assim uma contínua avaliação da relação de benefício-risco inerente ao ensaio clínico em questão e, caso seja necessário, a suspensão ou revogação da autorização concedida para a sua realização. Tais obrigações estão legalmente definidas pela Lei nº21/2014, de 16 de Abril e revogada pela Lei nº73/20/CE.^{56,57}

No que diz respeito a ensaios clínicos realizados em contextos especiais, a regulamentação apresentada segue a regulamentação comunitária existente sendo apresentada a legislação específica sobre as considerações éticas de ensaios clínicos em crianças bem como, o desenvolvimento de estudo de produtos para aplicação pediátrica destacando-se os seguintes documentos: *Ethical Considerations for Clinical Trials Performed in Children; Regulation N. 1901/2006 of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006 on medical products for paediatric use; ICH- Clinical Investigation of Medical Products in the Pediatric Population.*^{62,63,64}

Importa ainda ressaltar que, o desenvolvimento de ensaios clínicos em Portugal encontra-se sujeito ao cumprimento de uma série de normativas nacionais que garantem o cumprimento das boas práticas no decurso da investigação clínica e neste âmbito, também a sua realização tem que atender ao que se encontra instituído nos códigos deontológicos que regem o exercício dos principais profissionais envolvidos na concretização dos ensaios clínicos a nível nacional: Código Deontológico da Ordem dos Enfermeiros, Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos e Código Deontológico da Ordem dos Médicos.

No que concerne ao registo dos dados de ensaios clínicos realizados em Portugal, foi definida pela Lei de Investigação Clínica e posteriormente pela Lei nº73/2015 de 27 de Julho, a criação de um registo nacional de estudos clínicos (RNEC) surgindo este como uma plataforma electrónica de registo e divulgação de estudos clínicos que promove a interacção entre os parceiros na área da investigação, promovendo a divulgação dos resultados para investigadores, profissionais e população em geral. Existe ainda o Registo de Ensaio Clínicos da União Europeia (EUCTR- *European Union Clinical Trials Register*) e ainda, o registo internacional de ensaios clínicos da OMS.^{56,57}

Analisando assim todo o quadro regulamentar referido anteriormente, no que concerne à integração dos estudos de Fase 0 existe ainda uma necessidade de legislar e regulamentar esta nova perspectiva de estudo clínico dos medicamentos em seres humanos.

É importante que seja realizada uma reflexão acerca da Lei de Investigação Clínica actualmente em vigor e a implementação do novo Regulamento Europeu apresentado (planeada para Outubro de 2018) no sentido de, se fomentar uma resposta mais eficiente e promissora para o estímulo de novos ensaios clínicos e consequentemente, do avanço científico.

Na última actualização da Lei Portuguesa respeitante aos Ensaios Clínicos constatou-se um esforço no sentido de tornar a investigação portuguesa mais eficiente e responsável mas ao mesmo tempo competitiva procurando-se assim, acelerar o processo de descoberta de novas entidades terapêuticas e neste âmbito destaca-se a criação da Rede Nacional das Comissões de Ética para a Saúde (RNCES) e do RNEC. Sucintamente, esta nova Lei da Investigação Clínica apresenta-se num âmbito mais abrangente contemplando todos os tipos de estudos clínicos (com e sem intervenção) e com ou sem dispositivos médicos.⁴⁸ Introduce o conceito da Comissão de Ética Competente, atribuindo uma responsabilidade diferente de acordo com o tipo de centro de estudo clínico. Enuncia a criação de uma plataforma eletrónica, a RNEC, para o registo e divulgação de todos os estudos clínicos e cria a RNCES para apoiar e uniformizar o processo de avaliação das comissões de ética para a Saúde. Ainda, atendendo à leitura de Andrade (2016) a nova Lei promove a divulgação dos estudos clínicos (pelo investigador/equipa e junto do público) e define prazos de avaliação mais competitivos.⁴⁸

Também o novo Regulamento Europeu apresenta novas estratégias para o incentivo de realização de novos ensaios clínicos, integrando um novo processo de avaliação/aprovação dos ensaios clínicos sendo este dividido em 2 etapas: a primeira etapa caracteriza-se por ser uma fase centralizada comum a todos os estados-membros através de um portal de submissão comum e a segunda etapa uma aprovação local e administrativa.⁴⁷

Estas novas directrizes apresentadas visam tornar todo o processo de estudo de um novo medicamento mais eficiente e rápido, mantendo o grau de exigência requerido em termos de segurança.

Neste contexto, há uma necessidade cada vez maior de enfoque na fase inicial de todo o processo e consequentemente, na promessa de eficiência e eficácia dos estudos de Fase 0 uma

vez que, estes estudos poderão ser uma óptima oportunidade para se seleccionar/rejeitar potenciais candidatos.⁴⁸

Este novo modelo de investigação de novos fármacos em seres humanos necessita assim de ser integrado nos parâmetros regulamentares até então instituídos e que permanecem muito associados ao modelo tradicional de investigação. Nestas novas actualizações regulamentares referenciadas, tanto a nível europeu como a nível nacional, constata-se um reconhecimento de abertura a novas estratégias investigacionais verificando-se uma nova denominação conceptual dos conceitos-chave tais como “ensaio clínico”, “estudo clínico” e “estudos sem intervenção” no entanto, atendendo à especificidade dos estudos de Fase 0 de poderem ser realizados num leque mais alargado de indivíduos, à luz de uma intenção puramente investigativa, torna-se importante legislar atendendo às especificidades destes mesmos estudos.

No contexto português, nos últimos anos, tem-se assistido a um decréscimo no número de ensaios clínicos realizados, o que de acordo com Andrade (2016) constitui um dado revelador de uma perda de competitividade progressiva face aos demais países europeus. Tal facto ocorre sobretudo devido à morosidade e entraves administrativos e burocráticos que impedem a agilização do processo. Desde a introdução da nova lei de investigação clínica constatou-se um crescimento na ordem dos 5% relativamente a 2013 no entanto, o processo ainda é demasiado moroso.⁴⁸

Neste âmbito como sugestão para inverter tal situação, o desenvolvimento legislativo e de regulamentação direccionada à integração dos estudos de Fase 0 pode incrementar um maior número de novas investigações com enfoque na fase inicial dos ensaios clínicos e neste contexto, do ponto de vista regulamentar e administrativo todo o processo de avaliação deveria ser inevitavelmente mais ágil e célere. Esta seria uma estratégia promissora de voltar a tornar Portugal um país competitivo com potencial para o desenvolvimento científico.⁴⁸ Contudo, na actualidade, apesar das actualizações benéficas à lei da Investigação Clínica, os estudos de Fase 0 continuam a ser um campo de actuação muito pouco conhecido e sobre o qual permanecem ainda importantes questões regulamentares, legislativas e éticas que carecem de uma resposta para o seu possível desenvolvimento em contexto português.

10. Breve reflexão sobre contexto actual e futuro dos estudos de Fase 0

Após realizar uma pesquisa no *site* ClinicalTrials.Gov no sentido de averiguar o contexto actual de desenvolvimento de estudos clínicos de Fase 0 foi possível constatar-se que, até à actualidade, foram registados como estudos clínicos de Fase 0 terminados e/ou completos cerca de 988 estudos em adultos (mais de 18 anos até mais de 65 anos de idade).⁶⁵

Tais estudos centraram-se sobretudo na área da oncologia como por exemplo, no estudo de fármacos ao nível do adenocarcinoma do pâncreas, melanoma e outras malignidades em estadio avançado. Foi possível constatar-se ainda, estudos na área da neurologia com enfoque nas doenças neurodegenerativas como a Doença de Alzheimer. Os estudos foram desenvolvidos em inúmeros centros de investigação a nível mundial tendo-se verificado não só o seu desenvolvimento em países com forte predomínio de investigação como os Estados Unidos da América e Reino Unido como também em países como o Irão e Gana. Deste modo, um dos aspectos favorecedores dos Estudos de Fase 0 de uma maior flexibilidade na realização dos mesmos, tem-se reflectido num maior espectro de estudos a serem realizados quer na diversidade de temáticas estudadas quer nos próprios centros de estudo nos quais se realizam os estudos.⁶⁵

Actualmente, pela pesquisa efectuada foi possível constatar-se que a nível mundial estão registados cerca de 115 estudos activos de fase 0, dos quais 37 estudos aceitaram o recrutamento de indivíduos saudáveis.⁶⁵

Encontram-se em processo de recrutamento cerca 516 estudos sendo que, 146 estudos estão a recrutar também participantes saudáveis.⁶⁵

Numa perspectiva de futuro pela consulta do *Site* é possível verificar ainda que, se encontram registados cerca de 76 novos estudos de Fase 0, no entanto, estes ainda não se encontram em fase de recrutamento de participantes para a sua concretização.

No que concerne à realidade portuguesa dos ensaios clínicos para estudo de novos fármacos, até à actualidade, não foi realizado qualquer registo relativo a estudos de Fase 0 permanecendo a investigação clínica em Portugal pouco desenvolvida comparativamente com os restantes países da Europa e restante contexto mundial.

Neste âmbito é possível inferir que, no seio da comunidade científica, o desenvolvimento dos estudos de Fase 0 tem sido aceite como um processo mais dinâmico, menos moroso e menos dispendioso para estudos de novos fármacos num estadio inicial em seres humanos, no entanto, o número de estudos clínicos ainda poderá ser incrementado nos próximos anos pelo que, é necessário que a reflexão acerca dos estudos de Fase 0 continue a ser realizada criteriosamente e sustentada nos estudos realizados até à actualidade.

Também importa ainda ressaltar a importância de desenvolvimento de condições favoráveis à realização de estudos de Fase 0 e demais estudos de investigação no processo de desenvolvimento de novos fármacos em contexto português uma vez que, até à data, nenhum estudo clínico neste âmbito foi até então realizado.

Como referido anteriormente, a actualização regulamentar poderá ser um incentivo para o seu desenvolvimento no entanto, é necessário a criação de condições favoráveis á sua realização como um maior suporte aos centros de investigação e abertura a parceria com parceiros da indústria farmacêutica.

CONCLUSÃO

No decurso da presente revisão da literatura realizada foi possível constatar que, no seio da comunidade científica, os estudos de Fase 0 foram entendidos como uma abordagem contemporânea e desafiadora ao modelo tradicional de investigação de novos fármacos até então instituído.

A integração desta nova etapa de estudo precoce de novos compostos em seres humanos surgiu assim, como uma importante promessa na aquisição e consolidação dos principais dados de farmacologia necessários ao estudo da validade de um composto e do sucesso do mesmo ao longo de todo o processo de desenvolvimento de um novo fármaco. A expectativa de que, tais estudos pudessem garantir importantes informações para a tomada de decisão “*go-no go*” e consequentemente, garantir a redução do tempo e custos envolvidos em todo este processo, foi um dos aspectos mais reforçados pelos autores e pelas próprias agências EMA e FDA no encorajamento à sua concretização.

Importa ressaltar que, ao longo da análise realizada acerca dos estudos de fase 0, em nenhuma questão esta nova abordagem foi entendida como uma alternativa aos primeiros ensaios clínicos em humanos integrados no modelo tradicional (estudos de Fase 1) pelo contrário, é entendida pela maioria dos investigadores como uma importante ferramenta de complementaridade às demais estratégias instituídas até então, encorajando novos estudos de novos compostos em contextos clínicos mais desfavoráveis, como em grupos de populações vulneráveis e possibilidade de estudos em voluntários saudáveis sem que a segurança dos mesmos possa ser consideravelmente colocada em causa.

Também a integração dos estudos de fase 0 veio possibilitar estudos mais detalhados numa fase precoce em humanos de questões relacionadas à farmacocinética do composto, cinética dos metabólitos, linearidade, biodisponibilidade, distribuição e interacção farmacológica. No seguimento dos avanços da medicina, esta nova abordagem possibilitou ainda a integração de estudos farmacodinâmicos, de quimioressistência e estudos farmacogenómicos indo assim, muito além, de apenas um simples experimento farmacocinético.

Esta perspectiva aliciante de abertura a um estudo de novos fármacos perante novos horizontes comporta em si, por outro lado, uma série de obstáculos e desafios inerentes ao seu

desenvolvimento no que concerne, desde logo, à génese do estudo e conflitos clínicos, éticos e regulamentares que estes possam apresentar. Neste âmbito, ao longo da presente revisão, constatou-se uma preocupação constante na reflexão crítica de cada um destes aspectos assim como, na necessidade cada vez mais crescente de regulamentação e desenvolvimento de orientações criteriosas para o desenvolvimento desta nova estratégia. Neste domínio, a participação activa das entidades competentes EMA, FDA, comissões de ética e de outros órgãos institucionais é enunciada como de extrema importância na garantia da segurança, bem-estar dos participantes envolvidos e na garantia da validade científica dos resultados alcançados.

Neste contexto, pelo alcance expectável que estes novos estudos em humanos possam ter, é reforçada a ideia de que, estes não devem ser entendidos como uma mera “ferramenta” analítica predictiva mas sim, devem ser encarados como toda uma nova estratégia de olhar da interação humano-fármaco pelo que, de futuro, é importante que exista um consenso mundial das questões regulatórias deste tipo de estudos e haja uma maior promoção da microdosagem integrando um maior conhecimento dos aspectos éticos e científicos no desenvolvimento desta nova era de investigação.

Deste modo, uma das questões emergentes num futuro próximo passa pela incorporação dos estudos de fase 0 no quadro legislativo quer a nível internacional quer a nível nacional uma vez que, como constatado anteriormente, existem algumas lacunas na salvaguarda deste novo tipo de estudos à luz da Constituição Portuguesa.

Apesar de tais condicionalismos referenciados, é inegável que a apresentação dos estudos de Fase 0 veio instigar todo o processo de modernização de desenvolvimento de novos fármacos. Estes estudos vieram estimular no seio da comunidade científica uma maior necessidade de partilha e de interacção entre os vários grupos de investigação por todo o mundo, conduzindo a uma maior necessidade de colaboração entre parceiros de investigação incitando assim, a uma visão mais dinâmica e inovadora dos ensaios clínicos, procurando quebrar a estagnação instituída até aos últimos anos.

Neste âmbito, pelos estudos integrados na presente revisão da literatura, os estudos de Fase 0, na sua grande maioria, apresentaram resultados promissores na capacidade para predição de uma resposta interaccional fármaco-corpo no entanto, apenas a consolidação e melhoria desta nova abordagem permitirá nos próximos anos, uma resposta melhor fundamentada dos benefícios que possam advir dos mesmos.

Assim, espera-se que o desenvolvimento de estudos de Fase 0 possibilitem num futuro próximo que, o modelo de desenvolvimento de novos fármacos possa ser mais eficiente e eficaz, conseguindo-se realizar uma escolha mais criteriosa dos potenciais compostos e um desenrolar das etapas posteriores com maior brevidade e com uma melhor gestão dos recursos, tempo e custos envolvidos porém, as opiniões divergentes mantêm-se ainda muito presentes no seio da comunidade científica pelo que, a evidência actual destes estudos ainda não se encontra bem consolidada, requerendo-se novos estudos para uma averiguação mais clara se de facto, esta abordagem dará uma resposta efectiva às interrogações que permanecem no domínio de desenvolvimento de novos fármacos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Food and Drug Administration- FDA. (2004). Innovation or Stagnation, Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products. U. S. Department of Health and Human Services. Disponível em: <http://www.who.int/intellectualproperty/documents/en/FDAproposals.pdf>
- 2- Rani, P., U., Naidu, M.U.R. (2008). Phase 0- Microdosing strategy in clinical trials. *Indian Journal of Pharmacology*, 40 (6), 240-242. Doi: 10.4103/0253-7613.45147.
- 3- Gupta, U., Bhatia, S., Garg, A., Sharma, A. & Choudhary, V. (2011). Phase 0 clinical trials in oncology new drug development. *Perspectives in Clinical Research*, 2 (1), 13-22. Doi: 10.4103/2229-3485.76285.
- 4- Bhandari, P. R. (2013). Phase 0 trials (microdosing): a new paradigm in clinical research. *International Journal of Health & Allied Sciences*, 2 (2), 75-80. Doi: 10.4103/2278-344X.115680.
- 5- Coloma, P. M. (2013). Phase 0 clinical trials: theoretical and practical implications in oncologic drug development. *Journal of Clinical Trials*, 5, 119-126. Doi: <https://doi.org/10.2147/OAJCT.S32978>.
- 6- Mahajan, R., Parvez, A. & Gupta, K. (2010). Food and drug administration's critical path initiative and innovations in drug development paradigm: Challenges, progress and controversies. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 2 (4), 307-313. Doi:10.4103/0975-7406.72130.
- 7- Food and Drug Administration. (2006). Guidance for Industry, Investigators, and Reviewers – Exploratory IND Studies. U. S. Department of Health and Human Services. Disponível em: <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm078933.pdf>
- 8- Camporesi, S. (2008). Phase 0 Workshop at the 20th EORTC-NCI-AACR Symposium, Geneva. *Ecancer Medical Science*, 2(107). Doi: 10.3332/ecancer.2008.107.
- 9- Kummar, S., Kinders, R., Rubinstein, L., Parchment, R., Murgo, A., Collins, J., Pickeral, O., Low, J., Steinberg, S., Gutierrez, M., Yang, S., Helman, L., Wilttrout, R.,

Tomaszewski, J. & Doroshow, J. (2007). Compressing drug development timelines in oncology using phase “0” trials. *Nature Reviews. Cancer*, 7, 131-139. Doi: 10.1038/nrc2066.

10- Muller, P. (2011). Comparative requirements for exploratory clinical trials- eIND, eCTA and microdosing. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63, 511-517. Doi: 10.1016/j.addr.2010.10.010.

11- Bae, S. K., Shon, J. (2011). Microdosing Studies Using Accelerated Mass Spectrometry as Exploratory Investigational New Drug Trials. *Archives of Pharmacal Research*, 34 (11), 1789-1797. Doi: 10.1007/s12272-011-1102-3.

12- Kurihara, C. (2011). Ethical, legal and social implications (ELSI) of microdose clinical trials. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63, 503-510. Doi: 10.1016/j.addr.2011.01.002.

13- Santos, C., Pimenta, C & Nobre, M. (2007). A Estratégia PICO para a construção da pergunta de pesquisa e busca de evidências. *Revista Latino Americana de Enfermagem. Ribeirão Preto*, 15 (3), s/p.

14- Marchetti, S. & Schellens, J.H. (2007). The impact of FDA and EMEA guidelines on drug development in relation to Phase 0 trials. *British Journal of Cancer*, 97 (5), 577-581. Doi : 10.1038/sj.bjc.6603925

15- Takimoto, C. (2009). Phase 0 clinical trials in oncology: a paradigm shift for early drug development?. *Cancer Chemother Pharmacology*, 63, 103-709. Doi: 10.1007/s00280-008-0789-4.

16- Gawai, A., Shaikh, F., Gadekar, M., Deokar, N., Kolhe, S. & Biyani, K. (2017). A Review on: Phase “0” Clinical Trials or Exploratory Investigational New Drug. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14 (1), 84-89. Doi: 10.4274/tjps.63935.

17- Fuloria, N., Fuloria, S. & Vakiloddin, S. (2013). Phase zero trials: a novel approach in drug development process. *Renal Failure*, 35(7), 1044-1053. Doi: 10.3109/0886022X.2013.810543.

- 18- Agência Europeia de Medicamentos- EMEA (2003). Position Paper on non-clinical safety studies to support clinical trials with a single microdose. Disponível em: http://www.iaa-ams.co.jp/img_bsnss/MD1.pdf
- 19- Kummar, S., Doroshov, J., Tomaszewski, J., Calvert, A., Lobbezoo, M. & Giaccone, G. (2009). Phase 0 clinical trials: Recommendations from the task force on methodology for the development of innovative cancer therapies. *European Journal of Cancer*, 45, 741-746.
- 20- Arnum, P. (2008). Microdosing in Phase 0: A Q&A with J. Scott Tarrant, Xceleron. *Pharmaceutical Technology*, 3.
- 21- Tewari, T., Mukherjee, S. (2018). Microdosing: Concept, Application and Relevance. *Perspectives in Clinical Research*, 1 (2), 61-63.
- 22- Burt, T., Yoshida, K., Lappin, G., Vuong, L., John, C., de Wildt, S. N., Sugiyama, Y. & Rowland, M. (2016). Microdosing and Other Phase 0 Clinical Trials: Facilitating Translation in Drug Development. *Clinical and Translational Science*, 9 (2), 74-88. Doi: 10.1111/cts.12390.
- 23- Bertino, J., Greenberg, H. & Reed, M. (2007). American College of Clinical Pharmacology Position Statement on the Use of Microdosing in the Drug Development Process. *Journal of Clinical Pharmacology*, 47, 418-422. Doi: 10.1177/0091270006299092
- 24- Bauer, M., Wagner, C. & Langer, O. (2008). Microdosing Studies in Humans: The Role of Positron Emission Tomography. *Drugs in R&D*, 9(2), 73-81.
- 25- Svendsen, P., El-Galaly, T., Dybkaer, K., Bøgsted, M., Laursen, M., Schmitz, A., Jensen, P. & Johnsen, H. (2016). The application of human phase 0 microdosing trials: A systematic review and perspectives. *Leukemia& Lymphoma*, 57 (6), 1281-1290. Doi: 10.3109/10428194.2015.1101097.
- 26- Yamane, N., Takami, T., Tozuka, Z., Sugiyama, Y., Yamazaki, A. & Kumagai, Y. (2009). Microdose Clinical Trial: Quantitative Determination of Nicardipine and Prediction of Metabolites in Human Plasma. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 24 (4), 389-403.

- 27- Seth, S.D., Kumar, N. & Dua, P. (2009). Human microdosing: a boon or a bane?. *Indian Journal of Medical Research*, 130, 202-204.
- 28- Eliopoulos, H., Giranda, V., Carr, R., Tiehen, R., Leahy, T. & Gordon, G. (2008). Phase 0 trials: an industry perspective. *Clinical Cancer Research*, 14 (12), 3683-3688. Doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4586.
- 29- Sugiyama, Y. & Yamashita, S. (2011). Impact of microdosing clinical study- Why necessary and how useful?. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63, 494-502. Doi: 10.1016/j.addr.2010.09.0.10
- 30- Heuveling, D., De Bree, R., Vugts, D., Huisman, M., Giovannoni, L., Hoeskstra, O., Leemans, C., Neri, D. & Dongen, G. (2013). Phase 0 Microdosing PET Study Using the Human Mini Antibody F16SIP in Head and Neck Cancer Patients. *The Journal of Nuclear Medicine*, 54 (3), 397-401. Doi: 10.2967/jnumed.112.111310
- 31- Burt, T., Noveck, R.J., MacLeod, D.B., Layton, A.T., Rowland, M. & Lappin, G. (2017). Intra-Target Microdosing (ITM): A novel drug development approach aimed at enabling safer and earlier translation of biological insights into human testing. *Clinical and Translational Science*, 10, 337-350. Doi: 10.1111/cts.12464
- 32- Burt, T., MacLeod, D., Lee, K., Santoro, A., DeMasi, D.K., Hawk, T., Feinglos, M., Rowland, M & Noveck, R.J. (2017). Intra-Target Microdosing- A novel drug development approach: proof of concept, safety and feasibility study in Humans. *Clinical and Translational Science*, 10, 351-359. Doi: 10.1111/cts.12477
- 33- Kummar, S., Kinders, R., Gutierrez, M., Rubinstein, L., Parchment, R., Philips, L. Ji, J., Monks, A., Low, J., Chen, A., Murgo, A., Collins, J., Steinberg, S., Eliopoulos, H., Giranda, V., Gordon, G., Helman, L., Wiltout, R., Tomaszewski, J. & Doroshow, J. (2009). Phase 0 clinical trial of the Poly (ADP-Ribose) Polymerase Inhibitor ABT-888 in patients with advanced malignancies. *Journal of Clinical Oncology*, 27 (16), 2705-2711. Doi: 10.1200/JCO.2008.19.7681.
- 34- Yamashita, S., Kataoka, M., Suzaki, Y., Imai, H., Morimoto, T., Ohashi, K., Inano, A., Togashi, K., Mutaguchi, K & Sugiyama, Y. (2015). An assessment of the oral bioavailability of three Ca²⁺-channel blockers using a cassette-microdose study: a new strategy for streamlining oral drug development. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104, 3154-3161.

- 35- Lappin,G., Boyce, M. J., Matzow, T., Lociuro, S., Seymour, M. & Warrington, S. J. (2013). A microdose study of ¹⁴C-AR-709 in healthy men: pharmacokinetics, absolute bioavailability and concentrations in key compartments of the lung. *European Journal of Pharmacology*, 69, 1673-1682. Doi: 10.1007/s00228-013-1528-2.
- 36- Lappin, G., Shishikura, Y., Jochemsen, R., Weaver, R., Gesson, C., Houston, J., Oosterhuis, B., Bjerrum, O., Grynkiewicz, G., Alder, J., Rowlnad, M. & Garner, C. (2011). Comparative pharmacokinetics between a microdose and therapeutic dose for clarithromycin, sumatriptan, propafenone, paracetamol (acetaminophen) and phenobarbital in human volunteers. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 43, 141-150. Doi: 10.1016/j.ejps.2011.04.009
- 37- Reid, J., Walden,C., Qin, R., Ziegler, K., Haslam, J., Rajewski, R., Warndahl, R., Fitting, C., Boring, D., Szabo, E., Crowell, J., Perloff, M., Jong, L., Bauer, B., Mandrekar, S., Ames, M. & Limburg, P. (2011). Phase 0 clinical chemoprevention trial of the Akt Inhibitor SR13668. *Cancer Prevention Research*, 4 (3), 347-353. Doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0313
- 38- Jacobs, BA., Meulenaar,J., Rosing, H., Pluim, D., Tibben, MM., De Vries, N., Nuijen, B., Huitema, AD., Beijnen, JH., Schellens, JH. & Marchetti, S. (2016). A phase 0 clinical trial of a novel candidate extended-release formulations of capecitabine. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 77 (6), 1201-1207. Doi: 10.1007/s00280-016-3035-5
- 39- Nardini, C. (2014). The Ethics of Clinical Trials. *Ecancermedicalsecience*, 8, 387. Doi: 10.3332/ecancer.2014.387.
- 40- Gupta, U., Mishra, S., Bhatia, S., Rajul, R. & Sharma, A. (2011). Evaluating the Strategies on Ethical Grounds for Phase 0 Oncology Clinical Trials. *Journal of Clinical Research and Bioethics*, 2 (110). Doi: 10.4172/2155-9627.1000110
- 41- Pereira do Vale, M. (s.d). Ética da Investigação. Comissão de Ética para a Investigação Clínica. Consultado em 11 de Novembro de 2017. Disponível em: <http://www.ceic.pt/documents/20727/57508/%C3%89tica+da+Investiga%C3%A7%C3%A3o/6b0bba31-029c-4d9a-b7ad-0e8a6dc2eebb>
- 42- Patrick Hill, T. (2012). Phase 0 Clinical Trials: towards a more complete ethics critique. *Ecnacermedicalsecience*, 6 (248). Doi: 10.3332/ecancer.2012.248

- 43- Goldim (1997-2000). *Belmont Report*. Consultado em 11 Novembro de 2017. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/bioetica/belmont.htm>
- 44- Kimmelman, J. (2007). Ethics at Phase 0: Clarifying the Issues. *Global Health Law, Ethics, and Policy* Winter, 35(4), 727-733. Doi: 10.1111/j.1748-720X.2007.00194.x
- 45- Directiva 2001/20/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 4 de Abril de 2001. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*. Parlamento Europeu e o Conselho da União Europeia.
- 46- Directiva 2005/28/CE da Comissão de 8 de Abril de 2005. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*. Comissão das Comunidades Europeias.
- 47- Regulamento (UE) N.º 536/2014 do Parlamento Europeu e do Conselho de 16 de Abril de 2014. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*. Parlamento Europeu e o Conselho da União Europeia.
- 48- Andrade (2016). A Regulamentação da Investigação Clínica em Portugal: Perspetiva atual e futura. Candidatura ao Título de Especialista em Assuntos Parlamentares. Colégio de Especialidade de Assuntos Regulamentares, Ordem dos Farmacêuticos.
- 49- INFARMED, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. Base de dados europeia (EudraCT). Disponível em: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/ensaios-clinicos>
- 50- International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: ICH Harmonised Tripartite Guideline for Good Clinical Practice E6. European Medicines Agency, 1996.
- 51- International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: ICH guideline Q11 on development and manufacture of drug substances (chemical entities and biotechnological/biological entities). European Medicines Agency, 2011.
- 52- International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Addendum to ICH E11: Clinical Investigation of

Medicinal Products in the Paediatric Population E11 (R1). European Medicines Agency, 2017.

53- International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: ICH guideline M3 (R2) on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals. European Medicines Agency, 2009.

54- EUDRALEX- Volume 10- Clinical trials guidelines. Comissão Europeia. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-10_en

55- International Compilation of Human Research Protections 2009. Office for Human Research Protections U.S. Department of Health and Human Services.

56- Lei nº21/2014 de 16 Abril. Diário da República, 1ª série, nº75. Diário da República n.º 75/2014, Série I de 2014-04-16. Assembleia da República.

57- Lei nº73/2015 de 27 de Julho. Diário da República n.º 144/2015, Série I de 2015-07-27. Assembleia da República.

58- INFARMED, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. Ensaios Clínicos. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/ensaios-clinicos>.

59- Ratificação da Convenção para a Protecção dos Direitos do Homem e da Dignidade do Ser Humano face às Aplicações da Biologia e da Medicina: Convenção sobre os Direitos do Homem e da Biomedicina. Assembleia da República nº1/2001.

60- Decreto-Lei n.º 102/2007, de 2 de Abril. Diário da República n.º 65/2007, Série I de 2007-04-02. Ministério da Saúde.

61- Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de Agosto. Diário da República n.º 167/2006, Série I de 2006-08-30. Ministério da Saúde.

62- Comissão de Ética para a Investigação Clínica. Ethical Considerations for Clinical Trials Performed in Children. Disponível em: <http://www.ceic.pt/web/ceic/legislacao-especifica>

63- Comissão de Ética para a Investigação Clínica. Regulation N. 1901/2006 of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006 on medical products for paediatric use. Disponível em: <http://www.ceic.pt/web/ceic/legislacao-especifica>

64- Comissão de Ética para a Investigação Clínica. ICH- Clinical Investigation of Medical Products in the Pediatric Population. Disponível em: <http://www.ceic.pt/web/ceic/legislacao-especifica>

65- U.S. National Library of Medicine. Clinicaltrials.gov. Consultado em 27 de Janeiro de 2018. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/>