



**UNIVERSIDADE DO ALGARVE**

“Citocromo P450 2D6: Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias”



**Marta Raquel Rocha Inês**

**Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas**

**Dissertação orientada por: Prof.<sup>a</sup> Doutora Vera Ribeiro Marques**

**Faro, 2012**



**UNIVERSIDADE DO ALGARVE**

“Citocromo P450 2D6: Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias”



**Marta Raquel Rocha Inês**

**Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas**

**Dissertação orientada por: Prof.<sup>a</sup> Doutora Vera Ribeiro Marques**

**Faro, 2012**

# **Citocromo P450 2D6: Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias**

## **Declaração de autoria de trabalho**

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluídas.

Copyright © Marta Inês

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

## **Agradecimentos**

Gostaria de agradecer ...

... à Docente Vera Ribeiro Marques que esteve disponível para me ajudar.

... à minha família em especial aos meus pais, Graciano Inês e M<sup>a</sup> Raquel Inês, bem como à minha irmã, Rute Inês.

... aos meus amigos que sempre me apoiaram desde o início do meu percurso académico.

... ao José Miguel Fernandes, por me apoiar, aconselhar e ter estado sempre comigo nos momentos mais difíceis.



**Citocromo P450 2D6:**  
*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

---

## **Resumo**

O Citocromo P450 2D6 (*CYP 2D6*) é uma importante enzima metabolizadora de fármacos. Apesar de representar apenas 2% do total das isoenzimas CYP, o CYP 2D6 tem um papel importante pois é responsável pela metabolização de cerca de 20 a 25% dos fármacos mais frequentemente utilizados. (Ramamoorthy, 2010)

É sabido que nem todos os indivíduos respondem da mesma maneira a um fármaco, podendo alguns sofrer reação adversa devido à toma deste e outros nem apresentar qualquer efeito terapêutico. Tais diferenças na resposta terapêutica devem-se a variações genómicas interindividuais, nos genes que codificam as enzimas responsáveis pelo metabolismo do fármaco.

Os alelos polimórficos podem levar a uma redução ou aumento na capacidade metabólica, ao passo que um aumento do número de cópias do gene *CYP 2D6* pode conduzir a um aumento da atividade metabólica. Os indivíduos comportam-se de acordo com o seu fenótipo, como metabolizadores lentos, rápidos ou ultra-rápidos (Abraham, 2001)

Visto existirem grandes alterações nesta enzima metabolizadora de fármacos, é importante perceber quais as situações onde a segurança e a eficácia estão alteradas, pois qualquer terapêutica tem sempre como base o binómio risco/benefício.

Para além do seu papel bem estabelecido na segurança e eficácia terapêutica, estudos mais recentes relatam que o CYP 2D6 desempenha um papel importante no aparecimento de algumas doenças, condicionando a predisposição individual para patologias, de que é exemplo a esclerose sistémica. (Sanjay Harhang & al, 2001)

Como desenvolvimento desta monografia pretende-se estudar os efeitos a nível de segurança e eficácia em determinadas situações terapêuticas e ainda avaliar a associação dos polimorfismos no *CYP 2D6* com a predisposição individual para patologias.

**Palavras-Chave:** Citocromo P450, enzima, metabolização, segurança, eficácia, predisposição.



## **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

---

### **Abstract**

Cytochrome P450 2D6 (CYP 2D6) is a major drug metabolizing enzyme. Although it represents only 2% of CYP isozymes, CYP 2D6 plays an important role because it is responsible for metabolizing approximately 20 to 25% of the drugs most frequently used. (Ramamoorthy, 2010)

It is known that not all patients respond the same way to a drug, some may suffer from side effects and others may not exhibit any therapeutic effect. These differences in response are due to genomic interindividual variations in genes encoding the enzymes responsible for drug metabolism.

The polymorphism may lead to a reduction or increase in metabolic capacity, whereas an increased number of copies of the *CYP 2D6* gene may lead to an increased metabolic activity. Individuals behave according to their phenotype, such as poor, rapid or ultra-rapid metabolizers. (Abraham, 2001)

Since there are major changes in this drugs metabolizing, it is important to understand in which situations safety and efficacy are affected, because every therapy is always based on the risk / benefit binominal. Apart from the well established role in the therapeutic efficacy and safety, more recent studies reported that CYP 2D6 plays an important role in the onset of certain diseases, conditioning the individual predisposition to diseases such as systemic sclerosis. (Sanjay Harhang & al, 2001)

This monograph is intended to study the role of CYP 2D6 in terms of safety and efficacy in certain therapeutic situations and also to evaluate the association of polymorphisms in *CYP 2D6* with individual predisposition to diseases.

**Key-Words:** Cytochrome P450 enzyme, metabolism, safety, efficacy, disposition.



## ÍNDICE

1. Introdução .....	12
2. Citocromo P 450 .....	13
2.1. Citocromo P 450 2D6 .....	14
2.2. Fenótipos determinados pelo gene <i>CYP 2D6</i> .....	15
2.3. Distribuição geográfica das variantes do <i>CYP 2D6</i> .....	17
3. Estrutura e regulação do <i>CYP 2D6</i> .....	19
3.1. Regulação exercida pelos miRNAs .....	22
4. O <i>CYP 2D6</i> e a Codeína .....	24
4.1. Mecanismo de ação .....	24
4.2. Variabilidade na resposta .....	26
4.2.1. Reflexões finais .....	35
5. O <i>CYP 2D6</i> e o tamoxifeno .....	36
5.1. Mecanismo de ação .....	37
5.2. Metabolismo do tamoxifeno .....	38
5.3. Genótipo do <i>CYP 2D6</i> e a terapêutica com tamoxifeno .....	42
5.4. Outras causas de variabilidade no metabolismo do tamoxifeno .....	44
5.5. Reflexões finais .....	44
6. O <i>CYP 2D6</i> e a terapêutica antidepressiva .....	45
6.1. Reflexões finais .....	51
7. Esclerose sistémica .....	52
7.1. O <i>CYP 2D6</i> e a esclerose sistémica .....	52
7.2. Reflexões finais .....	55
8. O <i>CYP 2D6</i> e o cancro da mama .....	56
8.1. Reflexões finais .....	60
9. A doença de Parkinson .....	60
9.1. O <i>CYP 2D6</i> e a doença de Parkinson .....	61
9.2. Reflexões Finais .....	65
10. Conclusão .....	65
11. Bibliografia .....	67



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação de uma enzima do citocromo P450 .....	13
Figura 2 - Frequência dos vários tipos de metabolizadores para o CYP 2D6 em diferentes regiões do mundo .....	18
Figura 3 - Família de genes <i>CYP 2D</i> humanos e variantes mais comuns do <i>CYP 2D6</i> .....	20
Figura 4 - Esquema da cascata de regulação das enzimas do citocromo P450 .....	21
Figura 5 - Mecanismo de ação do miRNA .....	22
Figura 6 - Via de metabolização da codeína .....	25
Figura 7 - Gráfico com os valores de AUC para os diferentes grupos de atividade do <i>CYP 2D6</i> .....	30
Figura 8 - Variação das concentrações urinárias de metabolitos ao longo do tempo ....	32
Figura 9 - Variação entre a clearance e a razão metabólica morfina / codeína para os vários tipos de metabolizadores .....	34
Figura 10 - Mecanismo de ação dos moduladores seletivos dos recetores de estrogénio (MSRE) .....	38
Figura 11 - Metabolismo do Tamoxifeno (TAM) no fígado .....	41
Figura 12 - Alterações na dose de antidepressivos tricíclicos ao longo do tempo segundo o tipo de genótipo .....	49
Figura 13 - Alterações na dose dos inibidores seletivos da recaptção da serotonina ao longo do tempo segundo o tipo de genótipo .....	49



## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Atividade e funcionalidade alélica dos polimorfismos no <i>CYP 2D6</i> .....	16
Tabela 2 - Genótipo do <i>CYP 2D6</i> e do recetor $\mu$ da amostra e classificação fenotípica.....	27
Tabela 3 - Parâmetros farmacocinéticos no plasma referentes à codeína e os seus metabolitos .....	29
Tabela 4 - Razões metabólicas na urina da codeína e dos seus metabolitos entre as 0-6h e 6-12h .....	31
Tabela 5 - Frequências e tipos de antidepressivos utilizados durante o período do estudo e o papel do <i>CYP 2D6</i> no seu metabolismo .....	47
Tabela 6 - Associação entre o genótipo e a substituição terapêutica antidepressiva num intervalo menor que 45 dias .....	48
Tabela 7 - Associação entre o genótipo e a descontinuação da terapêutica antidepressiva num intervalo menor que 45 dias .....	48
Tabela 8 - Distribuição dos genótipos do PM e EM no grupo dos doentes com ES e no grupo de controlo .....	53
Tabela 9 - Frequência de distribuição de genótipos para o <i>CYP 2D6</i> no grupo dos doentes com ES e no grupo de controlo .....	53
Tabela 10 – Frequência de distribuição dos alelos do <i>CYP 2D6</i> no grupo dos doentes com ES e no grupo de controlo .....	54
Tabela 11 - Distribuição dos genótipos do <i>CYP 2D6</i> e alelos no grupo I e controlo ....	57
Tabela 12 - Distribuição dos genótipos do <i>CYP 2D6</i> e alelos no grupo Ia (doentes com antecedentes familiares) e controlo .....	58
Tabela 13 - Distribuição dos genótipos do <i>CYP 2D6</i> nos grupos estudados .....	58



**Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

---

Tabela 14 – Polimorfismos no <i>CYP 2D6</i> e associação aos recetores de progesterona....	59
Tabela 15 - Distribuição dos fenótipos para o <i>CYP 2D6</i> .....	62
Tabela 16 - Frequência alélica para o <i>CYP 2D6</i> no grupo de controlo e de doentes com Parkinson .....	62
Tabela 17 - Distribuição dos genótipos para o <i>CYP 2D6</i> no grupo de controlo e de doentes com Parkinson (espontâneos) .....	63
Tabela 18 - Distribuição dos genótipos para o <i>CYP 2D6</i> nos indivíduos com DP no meio familiar .....	64



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

---

## **LISTA DE SIGLAS**

AINE - Anti-inflamatórios não esteroides

AUC - área sob a curva (*area under the curve*)

CYP - Citocromo P450

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DP - Doença de Parkinson

DME - enzimas metabolizadoras de fármacos (*drug metabolizing enzymes*)

EM - Metabolizadores extensivos (*extensive metabolizers*)

ER - Recetores de estrogénio

ES - Esclerose sistémica

FDA - *Food and drug administration*

HNF4 $\alpha$  - factor nuclear hepático 4  $\alpha$

IM - Metabolizadores intermédios (*intermediate metabolizer*)

LETf - fatores de transcrição enriquecidos no fígado

M3G - morfina-3-glucuronido

M6G - morfina-6-glucuronido

miRNA - microRNA

PCR-RFLP - Reação em cadeia da polimerase-Polimorfismos de fragmentos de restrição

PM - Metabolizadores lentos (*poor metabolizer*)

PR- Recetores de progesterona

PXR - Recetor X de pregnanos

RNA - Ácido ribonucleico

SULT - sulfotransferases UDP-glucuronosiltransferases

TAM - Tamoxifeno

UGT - UDP-glucuronosiltransferases

UM - Metabolizadores ultra-rápidos (*ultra-rapid metabolizer*)

UTR - Regiões não traduzidas (*untranslated region*)



## 1. Introdução

Polimorfismos nas chamadas enzimas metabolizadoras de fármacos (drug metabolizing enzymes, DME), nas proteínas transportadoras e nos recetores de fármacos, levam à ocorrência de importantes alterações na capacidade que o indivíduo tem para metabolizar e eliminar determinado fármaco que esteja a ser-lhe administrado. Quando falamos em enzimas metabolizadoras de fármacos não podemos esquecer-nos da família citocromo P450 (CYP), especialmente das enzimas que apresentam uma maior papel na metabolização de fármacos, como é o caso do CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5 e do CYP2D6. (Laika et al., 2009).

O desenvolvimento científico permitiu efetuar estudos para tentar perceber a ação destas enzimas e como uma pequena alteração pode alterar a resposta a um fármaco. O CYP 3A4 é das enzimas metabolizadoras mais estudadas visto metabolizar grande parte dos xenobióticos, sendo os fármacos um exemplo destes. Outra enzima também muito estudada é o CYP2D6, visto ser a enzima responsável pela metabolização de fármacos como antidepressivos, antipsicóticos, fármacos anticancerígenos e ainda antivirais. Coloca-se então a questão, será ou não importante fazer-se o *screening* de cada indivíduo relativamente a este tipo de enzimas para se poder avaliar qual será a melhor terapêutica e assim ter menos efeitos adversos e um aumento dos benefícios clínicos. (Laika et al., 2009).

Em termos gerais podemos considerar que apenas 30-60% das terapêuticas são bem-sucedidas, ocorrendo cerca de 7% de reações adversas que culminam no internamento do doente, levando a grandes encargos económicos para a sociedade. Será então esta a nova política a seguir num mundo cada vez mais evoluído e com novas exigências? Fica então a questão, será que existe uma necessidade tão grande de haver uma terapêutica farmacológica individualizada e específica para cada um de nós, ou podemos correr o risco de ocorrerem potenciais efeitos adversos. (Ingelman-Sundberg M. , Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms., 2004)



**Citocromo P450 2D6:**  
*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

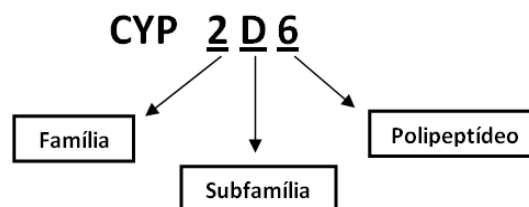
## **2. Citocromo P450**

O citocromo P450 (CYP 450) é considerado uma hemoproteína pois contém um átomo de ferro no seu interior. Quando o citocromo P450 está em contacto com o monóxido de carbono, forma um complexo que apresenta um máximo de absorvência aos 450 nm, tendo assim sido descoberto e ficado conhecido por citocromo P450. (Zanger, 2004)

A sua principal função destas enzimas é catalisar reações de oxidação em compostos orgânicos. Geralmente, os citocromos P450 executam reações de monoxigenases, em que uma molécula de oxigénio é consumida (reduzida) por cada molécula de substrato. Algumas destas reações levam à formação de produtos intermédios altamente instáveis e por isso poderão levar ao aparecimento de toxicidade. (Zanger, 2004)

O citocromo P450 é considerado uma superfamília, tendo já sido identificados cerca de 6000 genes referentes aos CYP em diferentes espécies, como em mamíferos e bactérias. Relativamente ao ser humano, conhecem-se 57 genes ativos que codificam para proteínas com especificidades únicas e ainda 58 pseudogenes. Atualmente considera-se que existem 18 famílias de proteínas CYP. (Ingelman-Sundberg M. , 2005)

No que diz respeito à classificação e denominação das enzimas, considerando a nomenclatura CYP 2D6, temos que é uma enzima que pertence à superfamília Citocromo P450, família 2, sub-família D e corresponde ao polipeptídeo 6. (figura 1)



**Figura 1** – Classificação de uma enzima do citocromo P450.



## **2.1. Citocromo P450 2D6**

Os primeiros relatos sobre o CYP 2D6 aconteceram na década de 70 na Inglaterra e Alemanha. Estava a decorrer um estudo farmacocinético em voluntários com debrisoquina e verificou-se que uma parte substancial dos voluntários apresentavam uma baixa capacidade de oxidar o fármaco, concluindo-se que o “defeito” metabólico teria um controlo genético e que este era hereditário, podendo assim ser passado à descendência, caracterizando-se como uma doença autossómica recessiva. (Mahgoub, 1977).

Pouco tempo depois verificou-se que o defeito metabólico poderia se devido a um polimorfismo e que levava a que um determinado grupo de voluntários apresenta-se uma baixa atividade metabólica para a debrisoquina, ou quase nula. Este facto foi também constatado para outros fármacos, como é o caso do metoprolol. (Mahgoub, 1977)

Estudos realizados utilizando a fração microssomal de fígado humano mostraram uma alteração numa enzima P450, a qual era a responsável pelo fenótipo de metabolizador lento. Em 1988, Gonzalez *et al.* conseguiu isolar um cDNA humano completo, completamente distinto de todos os outros até à data, sendo considerado da subfamília *CYP 2D* e denominado *CYP 2D6*. Heim e Meyer apresentaram em 1990 o primeiro teste de PCR específico para identificar alterações nos alelos do *CYP 2D6*. (Zanger, 2004)

Um grande número de alelos que codificam proteínas não funcionais, ou até que conduzem a um aumento ou diminuição de função destas, foram estudados, identificados e isolados. Descobriu-se posteriormente as relações entre o fenótipo/genótipo, a variabilidade interétnica e a associação a doença, fazendo desta área uma das mais promissoras para o nosso futuro. (Zanger, 2004)



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

## **2.2. Fenótipos determinados pelo gene *CYP 2D6***

O gene *CYP 2D6* é altamente polimórfico, variando bastante de indivíduo para indivíduo, trazendo assim alterações a nível da metabolização de fármacos o que pode conduzir à ocorrência de potenciais reações adversas ou falta de efetividade. Quatro fenótipos determinados pelo gene *CYP 2D6* podem ser observados e classificados de maneiras diferentes.

A maioria dos indivíduos consegue metabolizar extensivamente os substratos do *CYP 2D6*, denominando-se assim de metabolizadores extensivos (*extensive metabolizers*, EM), contudo cerca de 7% a 10% dos caucasianos apresentam um *CYP 2D6* não funcional ou com menor atividade, denominando-se assim de metabolizadores lentos (*poor metabolizers*, PM), sendo o seu organismo obrigado a seguir outras vias metabólicas. Uma fração mais pequena da população apresenta ainda mais dois tipos de fenótipos: um que se encontra entre o metabolizador pobre e metabolizador extensivo, denominado de metabolizador intermedio (*intermediate metabolizers*, IM); e ainda outro grupo de indivíduos que são metabolizadores muito rápidos, chamados de metabolizadores ultra-rápidos (*ultra-rapid metabolizers*, UM) e que se deve ao elevado número de cópias do gene *CYP 2D6* que este indivíduo. (McElroy, et al., 2000)

Como sabemos, um polimorfismo caracteriza a atividade metabólica de um indivíduo. Nas tabelas 1 encontram-se representadas as variantes do *CYP 2D6* identificadas até hoje, bem como o resultado metabólico que se espera observar. É ainda importante lembrar que cada um de nós apresenta dois alelos para uma determinada característica, podendo um destes alelos estar alterado ou estarem os dois, com mutações distintas ou semelhantes, tal como é o caso descrito na tabela 1, onde verificamos que foram estudados casos de indivíduos que apresentavam por exemplo tanto a variante 36 como a 10. (Ingelman-Sundberg, et al., 2007)



**Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

**Tabela 1** – Atividade e funcionalidade alélica dos polimorfismos no *CYP 2D6*. (Ingelman-Sundberg, et al., 2007)

<i>CYP 2D6</i> Variante	Funcionalidade do alelo (UM, EM, IM ou PM)	Atividade enzimática
<i>CYP 2D6*1</i>	EM	Normal
<i>CYP 2D6*1 x N</i> $N \geq 2$	UM	Aumentada
<i>CYP 2D6*2</i>	EM	Normal
<i>CYP 2D6*2 x N</i> $N=2, 3, 4, 5$ ou 13	UM	Aumentada
<i>CYP 2D6*3</i>	PM	Nula
<i>CYP 2D6*4</i>	PM	Nula
<i>CYP 2D6*4 x 2</i>	PM	Nula
<i>CYP 2D6*5</i>	PM	Nula
<i>CYP 2D6*6</i>	PM	Nula
<i>CYP 2D6*7</i>	PM	Nula
<i>CYP 2D6*8</i>	PM	Nula
<i>CYP 2D6*9</i>	IM	Diminuída
<i>CYP 2D6*10</i>	IM	Diminuída
<i>CYP 2D6*10 x N</i>	IM	Diminuída
<i>CYP 2D6*14</i>	PM	Nula
<i>CYP 2D6*17</i>	IM	Diminuída
<i>CYP 2D6*17 x N</i> $N=2$	EM	Normal
<i>CYP 2D6*18</i>	PM	Nula
<i>CYP 2D6*21</i>	PM	Nula
<i>CYP 2D6*29</i>	IM	Diminuída
<i>CYP 2D6*35</i>	EM	Normal
<i>CYP 2D6*35 x 2</i>	UM	Aumentada
<i>CYP 2D6*36</i>	IM	Diminuída
<i>CYP 2D6*36_*10</i>	IM	Diminuída
<i>CYP 2D6*36 x 2</i>	IM	Diminuída



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

<i>CYP 2D6*41</i>	IM	Diminuída
<i>CYP 2D6*41 x 2</i>	EM	Normal
<i>CYP 2D6*44</i>	PM	Nula

### **2.3. Distribuição geográfica das variantes do CYP 2D6**

Sendo o CYP 2D6 responsável por 20 a 30% da metabolização de fármacos, torna-se imperativo saber quais os indivíduos ou grupos populacionais que poderão estar mais susceptíveis a alterações nesta enzima. Estas alterações vão resultar em dificuldade na previsão da dose, bem como em alterações na segurança e na eficácia para um fármaco que seja metabolizado maioritariamente pelo CYP 2D6. (Neafsey, et al., 2009)

#### **Caucasianos**

Para este grupo populacional, sabe-se que o alelo mais comum é o que corresponde ao fenótipo *wild-type* ou de referência (\*1) e ocorre aproximadamente em 70% dos caucasianos. As variantes mais prevalentes nesta população são a variante \*2 que conduz a uma aumento de atividade e também a variante \*4 que leva a uma diminuição da atividade, perfazendo estas cerca de 20-30%. Outra variante que demonstra alguma importância na população caucasiana é a variante \*5 que leva ao aparecimento de uma enzima não funcional e que ocorre com uma frequência de 2-3%. Os genótipos que resultam em metabolizador ultra-rápido também estão presentes na população caucasianas mas numa baixa percentagem, podendo variar entre 1-4%. (Neafsey, et al., 2009)

#### **Afro-Americanos**

Estudos efetuados na população Afro-Americana sugerem que esta apresenta uma maior percentagem de indivíduos com variante \*1 relativamente a outras populações, cerca de 83-87%. Relativamente à frequência alélica da variante \*4, esta é inferior à da população caucasiana (7-9% para a população Afro-Americana contrariamente aos 20-30% da população Americana). No que diz respeito à variante \*17, esta conduz a uma diminuição da atividade metabólica, fazendo destes indivíduos metabolizadores



### **Citocromo P450 2D6:**

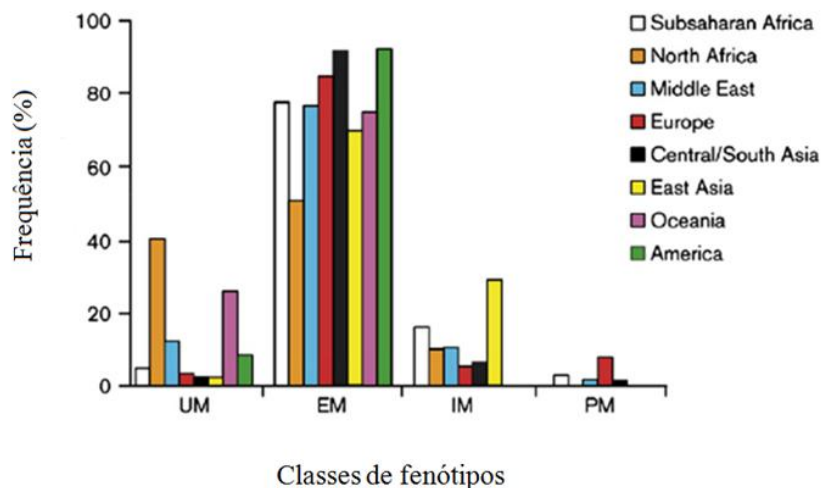
*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

intermédios (IM). Sabe-se que é nesta população que a frequência é maior, entre os 9-34%. (Neafsey, et al., 2009)

### **Asiáticos**

A frequência alélica de metabolizadores lentos nas populações asiáticas é muito baixa, sendo cerca de 2%, contrariamente aos metabolizadores intermédios (IM) que apresentam uma frequência de 57%. A genotipagem efetuada por Garcia-Barcelo nas populações asiáticas mostra que a elevada frequência de IM é devida à ocorrência da variante \*10 (65-70% dos IM). (Garcia-Barcelo, 2000) No que diz respeito à variante 4, esta é rara ou nunca foi detetada nas populações asiáticas. (Neafsey, et al., 2009)

É importante referir que os valores das frequências alélicas para um determinado polimorfismo variam de autor para autor, pois está dependente da amostra em estudo e esta poderá ser mais ou menos representativa da população em geral. A figura 2 mostra a distribuição dos vários fenótipos em diferentes locais no mundo. (Ingelman-Sundberg, et al., 2007)



**Figura 2** – Frequência dos vários tipos de metabolizadores para o CYP 2D6 em diferentes regiões do mundo. Adaptado de: Ingelman-Sundberg, et al., 2007



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Verifica-se que a maioria dos indivíduos são classificados como metabolizadores extensos (EM), contudo é de salientar que a distribuição dos fenótipos não varia de igual modo em todos os locais analisados. O Norte de África apresenta um elevado número de indivíduos considerados metabolizadores ultra-rápidos (UM) (cerca de 40% da população) ao passo que para metabolizadores intermédios, o local onde é maior a ocorrência é na Ásia Oriental, com uma frequência de aproximadamente 35%. Já para metabolizadores lentos (PM), verifica-se que este polimorfismo é pouco comum e raro, não tendo grande significado estatístico nalguns países, contudo ainda demonstra alguma expressão em determinadas zonas, como na Europa. (Ingelman-Sundberg, et al., 2007)

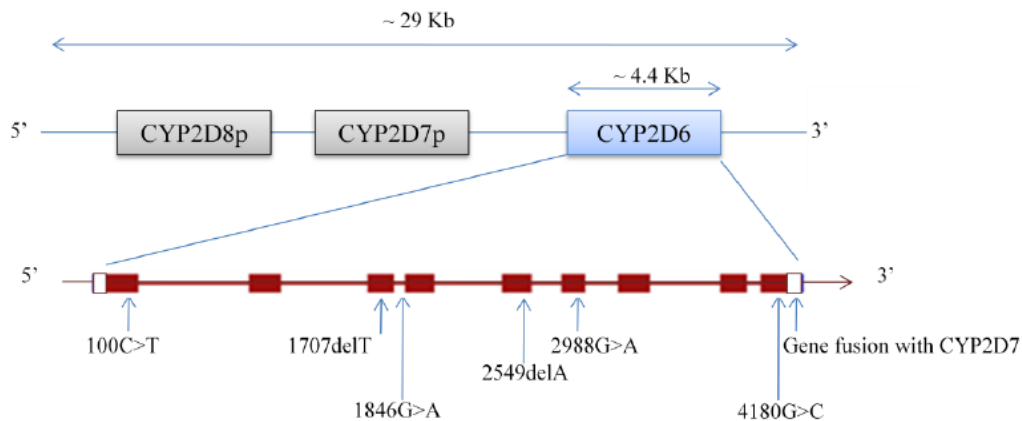
### **3. Estrutura e Regulação do CYP 2D6**

O *CYP 2D6* pertence à subfamília de genes *CYP 2D* e encontra-se localizado no cromossoma 22q13.1, que consistem, no homem, em três genes: *CYP 2D6*, gene funcional; *CYP 2D8*, pseudogene que surgiu por conversão genética; *CYP 2D7*, um gene não funcional que surgiu por duplicação. O gene *CYP 2D6* tem cerca de 4,4 Kb e é constituído por 9 exões, que originam uma proteína com 497 aminoácidos. Como sabemos o *CYP 2D6* é altamente polimórfico, levando a alterações a nível do metabolismo, da farmacocinética, na segurança e eficácia terapêutica. (Ingelman-Sundberg M. , 2005)



### Citocromo P450 2D6:

Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias



**Figura 3** – Família de genes *CYP 2D* humanos e variantes mais comuns *do CYP 2D6*. (Ingelman-Sundberg M. , 2005)

Na figura 3 encontra-se representada a subfamília *CYP 2D*, que tem cerca de 29 kb. Relativamente ao *CYP 2D6*, o seu gene encontra-se representado a vermelho e apresenta duas regiões UTR – 3'UTR e 5'UTR (a branco). Podemos ainda observar nesta figura a localização de algumas variantes, sendo estas tanto de substituição de nucleótidos (representado por >) ou de deleção de nucleótidos (representado por del) (Ingelman-Sundberg M. , 2005)

No que diz respeito à expressão do *CYP 2D6*, esta acontece no retículo endoplasmático e corresponde a cerca de 3% do conteúdo total das proteínas citocromo P450 no fígado. O mRNA e a proteína *CYP 2D6* são também expressos a nível extra-hepático, mas a concentrações diferentes, geralmente muito mais baixas. Alguns destes tecidos onde podemos encontrar *CYP 2D6* são o rim, a placenta, o coração, o cérebro, a mama, o pulmão e intestino. (Miksys, Rao, Hoffmann, Mash, & Tyndale, 2002)

Relativamente ao controlo da expressão e atividade da enzima *CYP 2D6*, esta parece ser fortemente induzida por fármacos como a rifampicina, barbitúricos, fenitoína e carbamazepina. (Miksys, et al., 2002)

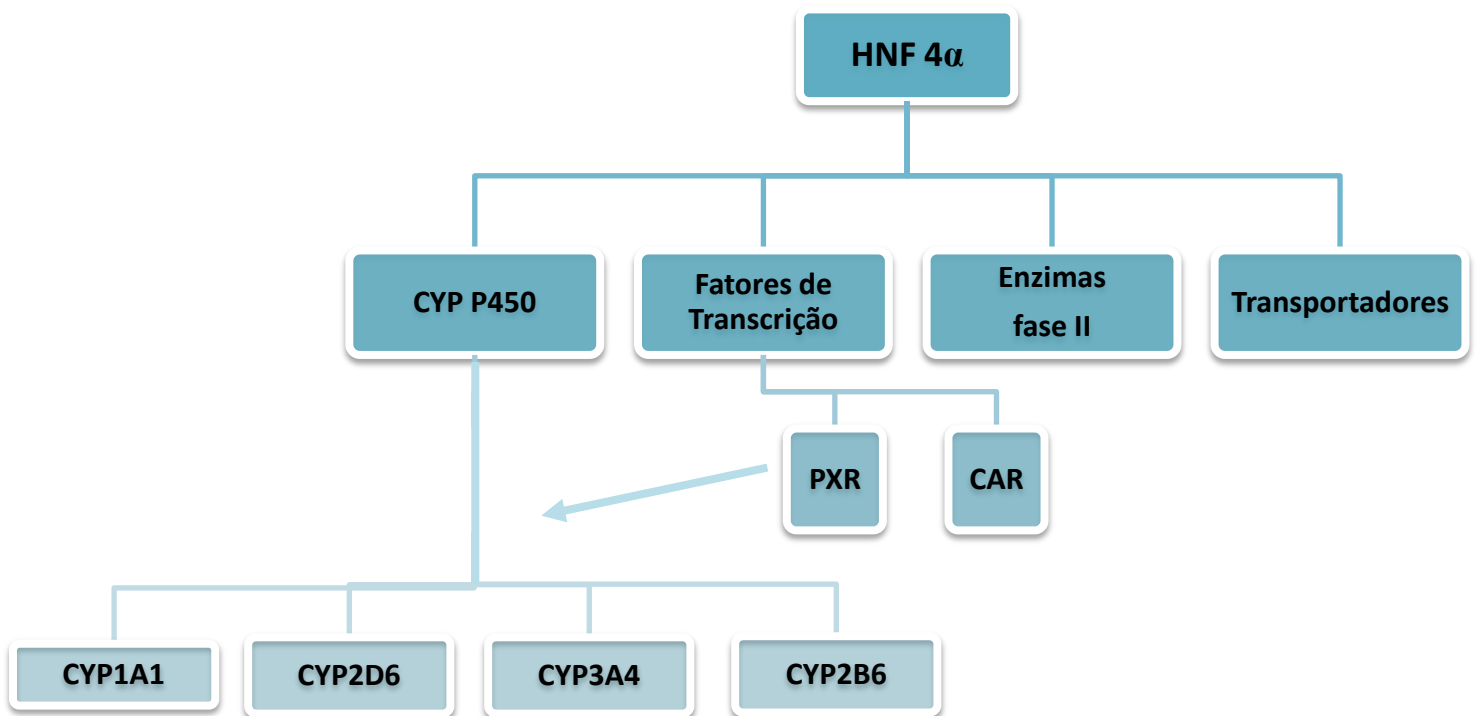
A expressão do *CYP 2D6* é então fundamental para a metabolização de fármacos. Sabe-se que a primeira etapa de regulação acontece a nível de fatores de transcrição



**Citocromo P450 2D6:**  
*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

enriquecidos no fígado (LFTF), como é o caso do fator nuclear hepático 4 $\alpha$  (HNF4 $\alpha$ ). (Corchero, et al., 2001)

Possíveis mutações no fator HNF4 $\alpha$  levam a alterações na expressão enzimática do *CYP 2D6*, levando a que o HNF4 $\alpha$  seja considerado como o “regulador de topo”, regulando a expressão de muitos genes que originam enzimas de fase I, fase II, transportadores de membrana e outros fatores de transcrição que regulam os genes CYP. Os HNF4 $\alpha$  apresentam outras funções hepáticas bastante importantes como a regulação do metabolismo dos ácidos gordos e colesterol, metabolismo da glicose, biossíntese da ureia e ainda controla a diferenciação do fígado. A figura 4 ilustra exatamente este processo. (Kamiyama, et al., 2007)

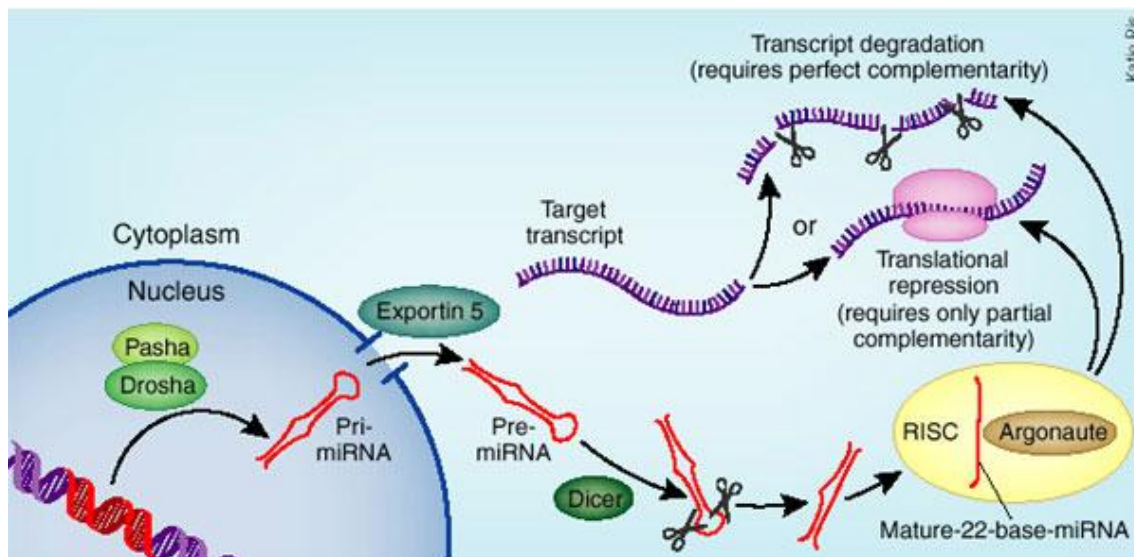


**Figura 4** – Esquema da cascata de regulação das enzimas do citocromo P450.



### 3.1. Regulação exercida pelos microRNAs

Para além da regulação que acontece pelo HNF4 $\alpha$ , os microRNAs também podem apresentar um papel importante, contudo este é um tema que começa agora a ser estudado. Os microRNAs (miRNA) são pequenos segmentos de nucleótidos em cadeias lineares não codificantes e que se ligam geralmente à região 3'-UTR do RNA mensageiro (mRNA), regulando negativamente a expressão deste. Os miRNA regulam a expressão dos genes por dois mecanismos diferentes: por bloquear a tradução proteica ou por degradar o mRNA.



**Figura 5** – Mecanismo de ação do miRNA. (Mack, 2007)

A fase inicial de processamento do miRNA é semelhante à de qualquer proteína, contudo existem algumas diferenças. No núcleo, os genes codificantes do miRNA são transcritos pela enzima RNA polimerase II, formando o pri-miRNA (200-300bp) que tem um 5'cap e uma cauda 3' poli-A. O pri-miRNA é processado pelo complexo enzimático RNase III, Drosha Pasha/DGCR8, formando-se uma cadeia mais pequena com 70-80 bp chamado de pre-miRNA. Este é depois exportado pela exportina 5 para o citoplasma onde é processado pela Dicer (outra RNase II), para formar uma cadeia



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

dupla. Depois deste processo o miRNA é incorporado no complexo *RNA-induced silencing complex* (RISC) onde vai ser direcionado para se ligar a porção 3'UTR, bloqueando assim a síntese proteica ou promovendo a degradação direta do mRNA. (Du & Zamore, 2005)

Os miRNAs podem agir como oncogenes ou genes supressores de tumores, tendo assim um papel importante a nível oncológico. Uma expressão anormal dos genes miRNA foi detetada nalguns subtipos de cancro, sugerindo que os miRNA têm um papel fundamental no ciclo celular. (Calin & Croce, 2006)

Há medida que novos estudos vão sendo feitos em torno deste tema, vão-se descobrindo novas funções dos miRNA. Descobriu-se recentemente que os miRNA não têm uma função apenas de regulação negativa, mas que podem induzir a expressão de genes, tanto por ligação a região 5'-UTR dos mRNA para promover a tradução, como também podem ainda ligar-se à região codificante do gene e reprimir a expressão deste. (Bartel, 2004) (Duursma, et al., 2008)

A importância dos miRNA no metabolismo dos xenobióticos começa agora a ser descoberta. Atualmente sabe-se que o transportador de xenobióticos da família ABC (*ATP-binding cassette*) ABCG2, o *CYP 1B1*, *CYP 3A4* e o fator de transcrição do recetor X de pregnanos (PXR) são regulados pelos miRNA. Esta regulação pode ser a chave para explicar as diferenças a nível metabólico que acontecem em alguns indivíduos e que até agora não eram perceptíveis.

O *CYP 1B1* é expresso em vários tecidos como a mama e o ovário. Este tem a capacidade de converter o 17 $\beta$ -estradiol em 4-hidroxiestradiol, causando danos no DNA. Em alguns tipos de cancro da mama foram identificados elevados níveis de *CYP1B1* e estudos mais recentes mostraram que a expressão deste CYP é regulada por miRNAs, os quais bloqueiam a síntese deste. Este foi o primeiro CYP a ser identificado como sendo regulado por miRNA. (Tsuchiya, et al., 2006)

Descobriu-se que a sua regulação é feita também pelo hsa.miR-148A (um tipo de miRNA), o qual bloqueia a síntese proteica. Esta regulação negativa vai afetar a expressão do *CYP3A4*. (Takagi, et al., 2008)



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Polimorfismos num único nucleótido (SNP) podem acontecer nos genes dos miRNA originando assim miRNA únicos (miRSNP). Estes miRNA mutados levam a que tanto possa ocorrer uma perda de função como um ganho desta. Existe ainda muito por explorar neste tema e os miRNA podem ser uma explicação adicional para a variabilidade interindividual encontrada na resposta a fármacos.

A variabilidade do gene *CYP 2D6* e as interações medicamentosas que levam à inibição da enzima *CYP 2D6* conduzem a diferentes respostas metabólicas. Embora estes dois fatores expliquem uma grande parte desta variabilidade na atividade da enzima *CYP 2D6*, uma parte substancial continua por explicar. A regulação numa fase pós-tradução pode ser parte da solução. Fatores como o miRNA podem ser uma explicação para a variabilidade interindividual. Contudo muito pouco é conhecido sobre a regulação pós-tradução do *CYP 2D6*.

## **4. O *CYP 2D6* e a codeína**

A codeína é considerada um analgésico opióide para o alívio da dor moderada a forte, sendo por vezes utilizada em associação terapêutica com paracetamol, aspirina ou ainda outros anti-inflamatórios não esteroides (AINEs). Esta propriedade de analgesia é devida à sua conversão no organismo em morfina e morfina-6-glucuronido.

### **4.1. Mecanismo de ação**

Ao entrar no nosso organismo, a codeína vai ser absorvida e posteriormente metabolizada. A metabolização pode ocorrer por 3 vias diferentes, tal como mostra a figura 6. A primeira via (via 1) consiste na conjugação de uma molécula de ácido glucurónico ao grupo OH na posição 6 feita pela enzima UGT 2B7, resultando assim no composto codeína-6-glucuronido (C6G). É importante referir que esta é a principal via de metabolização. A segunda via (via 2) consiste na N-desmetilação da codeína, que é feita via *CYP 3A4*. Por fim, a via menos extensa (via 3), é aquela que é feita pelo *CYP*

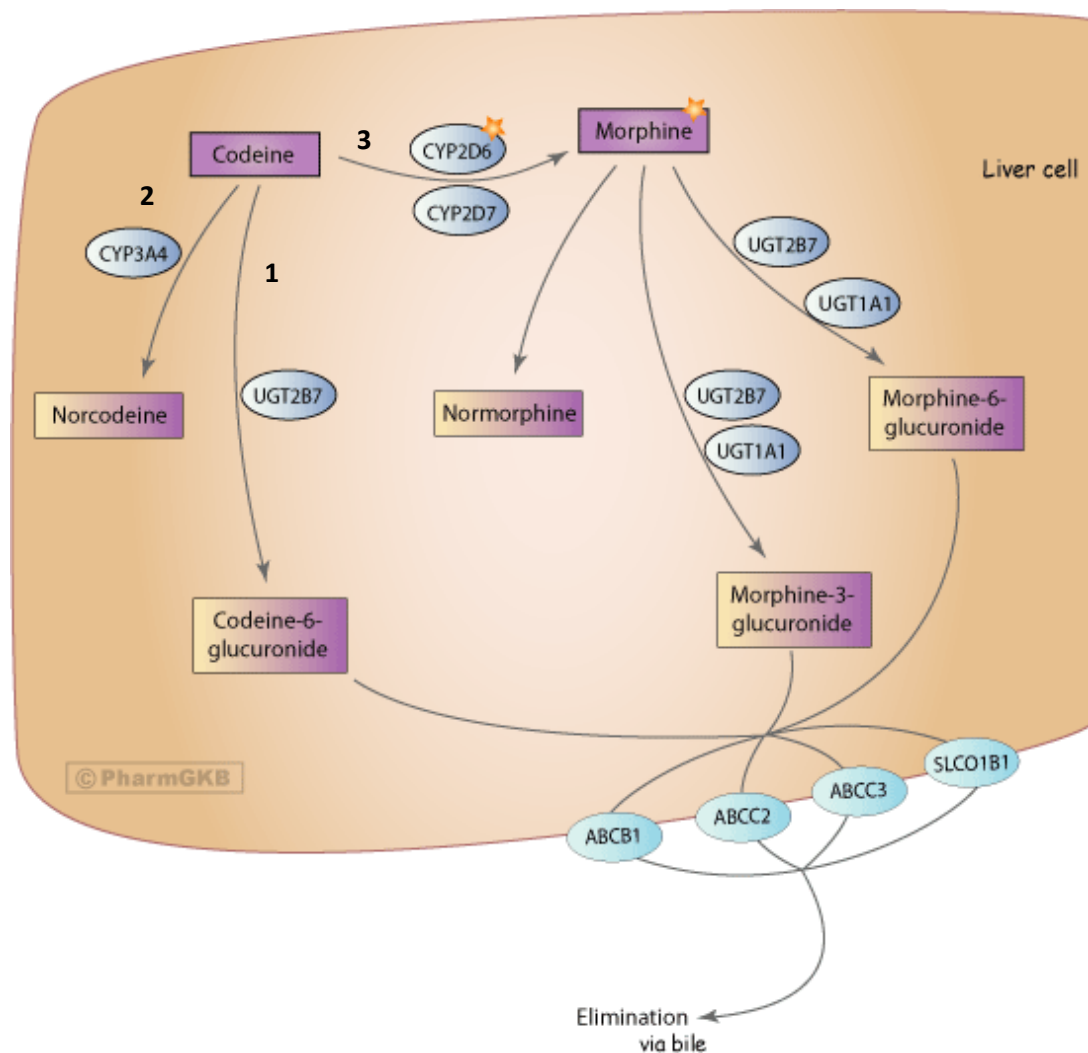


### Citocromo P450 2D6:

Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias

2D6 e que apresenta um papel bastante importante pois conduz à obtenção do metabolito ativo, a morfina.

A codeína apresenta uma afinidade muito baixa para os recetores opióides (recetores  $\mu$ ), sendo o efeito analgésico obtido pelo produto resultante da metabolização codeína pelo CYP 2D6, a morfina. Portanto, é a enzima CYP 2D6 que tem um papel fulcral na analgesia obtida por administração da codeína. Alterações nesta enzima irão conduzir a alterações na metabolização e na concentração de metabolito ativo. (Morfina)



**Figura 6** – Via de metabolização da codeína. (Thorn, 2011)



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

## **4.2. Variabilidade na resposta**

A reação de O-desmetilação que ocorre na codeína corresponde a cerca de 10% da clearance, contudo é esta a reação que é responsável pela bioativação da codeína.

A variabilidade na resposta à codeína encontra-se bem caracterizada, em vários estudos, de que é exemplo o estudo desenvolvido por Kirchheiner *et al.* (Kirchheiner, et al., 2007)

De uma amostra de 26 voluntários do sexo masculino, de etnia Caucasiana, com idades compreendidas entre os 18 e 65 anos, com um índice de massa corporal entre 20 e 30 kg/m<sup>2</sup>, foram selecionados 11 que apresentavam duplicação de um alelo funcional do *CYP 2D6* (correspondendo ao grupo de metabolizadores ultra-rápidos, UM), 12 indivíduos com os 2 alelos funcionais (grupo de metabolizadores extensivos, EM) e 3 indivíduos portadores de dois alelos variantes (grupo dos metabolizadores pobres, PM).

Foi administrada uma dose de 30 mg de codeína, sendo esta dose relativamente baixa a fim de minimizar o risco de efeitos adversos devido ao uso desta. Amostras sanguíneas foram recolhidas antes e depois da administração do fármaco. A urina também foi recolhida em duas etapas diferentes: entre as 0 e 3 horas e entre as 3 e 6 horas. É de referir que todos estes participantes tiveram que se submeter a um regime alimentar cuidadoso, onde não podiam ingerir toranja (já conhecida como sendo capaz de alterar a atividade enzimática), álcool ou qualquer tipo de medicação.

A avaliação do efeito da codeína nos recetores  $\mu$  foi feita por medição do diâmetro da pupila, numa sala com luminosidade controlada. Os investigadores também fizeram a genotipagem do *CYP 2D6* utilizando a técnica de RFLP, onde foi analisada a possível existência das variantes: \*2, \*3, \*4, \*5, \*6, \*9, \*10, \*35 e \*41, e a eventual existência de duplicações. No que diz respeito às amostras de plasma humano recolhidas, estas sofreram extração por fase sólida e foram analisadas para determinar a concentração dos produtos de reação: morfina, morfina-3-glucuronido (M3G), morfina-6-glucuronido (M6G), codeína e codeína-6-glucoronada (C6G).



### Citocromo P450 2D6:

Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias

O resultado da genotipagem do *CYP 2D6* dos vários participantes no estudo encontra-se descrito na tabela 2. A escolha dos participantes foi feita com base na presença de três tipos de alelos diferentes: alelos que codificam enzimas com atividade reduzida ou nula (PM), alelos que conferem atividade enzimática elevada (EM) e ainda alelos em duplicado (UM).

**Tabela 2** – Genótipo do *CYP 2D6* e do recetor  $\mu$  da amostra e classificação fenotípica.

Genótipo <i>CYP 2D6</i>	N	Atividade prevista <sup>a</sup>	Fenótipo <i>CYP 2D6</i>	Recetor $\mu$	Cl/peso (Lh <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup> )	AUC morfina (µghL <sup>-1</sup> )
*3/*3	1	0	PM	Asn/Asn	1.7 (1.25-1.75)	0.5 (0.5-2.8)
*4/*4	2			Asn/Asn		
*17*9	1	1.5	EM	Asn/Asn	1.7 (1.1-2.4)	8.4 (5.0-12)
*1/*10	1			Asn/Asn		
*2/*41	1			Asn/Asn		
*35/*41	1			Asn/Asn		
*1/*1	4	2		Asn/Asn	2.0 (1.7-2.6)	12 (6.9-17)
*1/*2	3			2 (Asn/Asn), 1 Asn/Asp		
*1/*35	1			Asn/Asn		
*1x2/*9	1	2.5	UM	Asn/Asn	1.8 (1.2-2.1)	16 (11-18)
*1x2/*10	1			Asn/Asn		
*1x2/*41	1			Asn/Asn		
*2x2/*41	1			Asn/Asn		
*35x2/*1	1	3		Asn/Asn	2.4 (1.7-2.8)	16 (10-24)
*2x2/*35	2			Asn/Asn		
*1x2/*35	1			Asn/Asn		
*2x2/*1	2			Asn/Asn		
*1x2/*1	1			Asn/Asn		
					<i>P</i> = 0.01	<i>P</i> < 0.001

#### Observações:

AUC – diz respeito à concentração plasmática versus o tempo; EM, metabolizadores extensivos; PM, metabolizadores lentos; UM, metabolizadores ultra-rápidos

<sup>a</sup> Atividade prevista do *CYP 2D6*: calculada pela combinação dos alelos: alelos inativos: fator 0 (*CYP2D6*\*3, \*4, \*5, \*6); alelos com atividade diminuída: fator 0.5 (*CYP2D6*\*9, \*10, \*41); alelos com total atividade: fator 1 (*CYP2D6*\*1, \*2, \*35).

Alelos duplicados: \*1x2, \*2x2, \*35x2



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Ao analisar a tabela 2, verificamos que existem os três grupos de metabolizadores referidos anteriormente: o grupo de metabolizadores pobres, metabolizadores extensivos e metabolizadores ultra-rápidos. Foi então calculada a previsão da atividade do CYP 2D6, seguindo as seguintes regras: aos indivíduos que apresentavam variantes \*3, \*4, \*5 ou \*6 (alelos inativos) atribuiu-se o facto 0; para as variantes \*9, \*10 e \*41 (alelos com baixa atividade) foi atribuído o fator 0,5 e para os portadores da variante \*1, \*2 e \*35 (alelos com grande atividade) foi atribuído o fator 1. Para exemplificar consideremos o caso de um indivíduo \*3/\*3, como este apresente duas variantes \*3 a sua previsão de atividade será de 0. Já um indivíduo com \*1x2/\*10, a sua atividade será de  $2 \times 1 + 0,5$  resultando no valor de 2,5.

De forma a efetuar-se a associação entre as concentrações de metabolitos e alterações no CYP 2D6, genotipou-se o recetor membranal que permite fazer a entrada de codeína na célula, o recetor  $\mu$ . Foi analisada a presença do polimorfismo 118 A>G uma vez que este afeta a atividade do recetor e apresenta uma frequência alélica de 15% na população Caucasiana. Do grupo de indivíduos analisados, apenas um demonstrou ser heterozigótico, apresentado um aminoácido alterado que conduzia à formação de Asp (aspartato). Apesar desta evidência, o indivíduo não apresentava uma farmacocinética e efeito dos opióides muito diferentes dos indivíduos do seu grupo (grupo dos metabolizadores extensivos).



### Citocromo P450 2D6:

Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias

**Tabela 3** – Parâmetros farmacocinéticos no plasma da codeína e dos seus metabolitos.

	Codeína	Codeína-6-glucoronido	Morfina	Morfina-3-glucoronido	Morfina-6-glucoronido
<b>AUC (<math>\mu\text{ghL}^{-1}</math>)</b>					
<b>PM (n = 3)</b>	180 (175-325)	4066 (2931-4347)	0.5 (0.5-2.8)	6.4 (5-18)	6.5 (3.7-6.5)
<b>EM (n = 11)</b>	192 (163-403)	3850 (2812-4998)	11 (5-17)	382 (274-623)	63 (50-112)
<b>UM (n = 12)</b>	192 (142-279)	3385 (2265-4492)	16 (10-24)	506 (333-726)	87 (66-134)
<b>P* =</b>	NS	NS	0.02	0.02	0.036
<b>C<sub>max</sub> (<math>\mu\text{ghL}^{-1}</math>)</b>					
<b>PM</b>	45 (37-56)	628 (626-841)	0.05 (0.03-0.07)	0.7 (0.6-0.9)	0.8 (0.2-0.8)
<b>EM</b>	51 (24-104)	652 (528-904)	2.1 (0.6-4.3)	39 (32-82)	9.6 (7.2-17)
<b>UM</b>	43 (30-70)	672 (456-1027)	2.6 (1.5-4.6)	59 (33-103)	13 (8.7-24)
<b>P =</b>	NS	NS	NS	0.02	0.036
<b>Eliminação (h)</b>					
<b>PM</b>	4.8 (3.8-5.0)	4.8 (3.8-5.2)	17 (15-60)	8.2 (7.6-13)	6.2 (6.2-14)
<b>EM</b>	3.6 (3.2-5.7)	3.5 (3.0-5.2)	13 (7.7-30)	9.3 (7.0-17)	7.2 (2.8-10.7)
<b>UM</b>	3.7 (3.2-4.1)	3.4 (2.6-4.0)	14 (6.3-27)	10 (6.3-14)	7.1 (5.7-14)
<b>P =</b>	NS	NS	NS	NS	NS

#### Observações:

EM, metabolizadores extensivos; PM, metabolizadores lentos; UM, metabolizadores ultra-rápidos.

\*Significância dada pela diferença entre dois grupos, EM e UM.

Verificou-se que a concentração de codeína nos pacientes em estudo estaria entre 24 e 104  $\mu\text{g l}^{-1}$  (média de 47  $\mu\text{g l}^{-1}$ ). No que diz respeito à clearance, esta variou entre 75 e 211  $\text{L h}^{-1}$  (média 161  $\text{L h}^{-1}$ ). O tempo de semivida variou entre 3.2 e 5.7 h como uma média de 3.7h. Relativamente às concentrações dos vários metabolitos, estas variaram bastante de grupo para grupo, o que se explica pelas diferentes variantes alélicas do

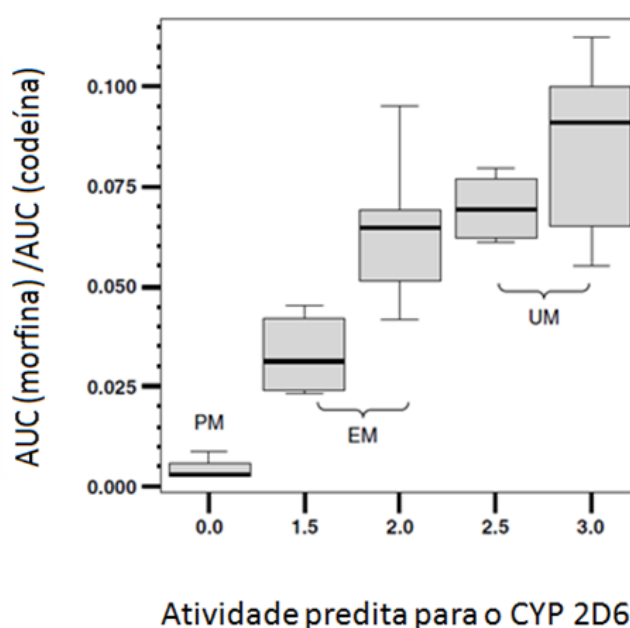


### Citocromo P450 2D6:

Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias

*CYP 2D6*. Para o grupo dos metabolizadores pobres, as concentrações obtidas rondavam  $0.05 \text{ ng ml}^{-1}$ , o que está perto do limite mínimo de determinação. (tabela 3)

AUC significa *area under the curve* e diz respeito à concentração de um determinado metabolito ao longo do tempo. Quanto maior o valor de AUC, maior será a concentração do metabolito. A média das AUC da morfina para PM, EM e UM foi respetivamente  $0.5$ ,  $11$  e  $16 \mu\text{g h l}^{-1}$ . As AUCs médias para o metabolito M3G foram de  $6.4$ ,  $382$  e  $506 \mu\text{g h l}^{-1}$  e para o metabolito M6G foram de  $6.5$ ,  $63$  e  $87 \mu\text{g h l}^{-1}$ .



**Figura 7** – Gráfico com os valores de AUC para os diferentes grupos de atividade do *CYP 2D6*. Adaptado de: Kirchheiner, et al., 2007

A figura 7 mostra a razão  $AUC_{\text{morfina}} / AUC_{\text{codeína}}$  e verificamos que esta tende a aumentar com o aumento da atividade do *CYP 2D6*. Este facto é facilmente perceptível uma vez que os metabolizadores extensivos e ultra-rápidos conseguem metabolizar uma maior quantidade de codeína e consequentemente, um indivíduo destes grupos irá apresentar uma maior concentração sérica de morfina, comparativamente a um metabolizador lento. A urina foi colhida em duas fases diferentes: uma correspondente às 6 primeiras horas e outra das 6 às 12h após administração da codeína. Foi calculada



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

então a razão metabólica codeína/morfina e (codeína+C6G) / (morfina+ M3G + M6G), verificando-se que esta era dependente da atividade da enzima CYP 2D6. (tabela 4)

**Tabela 4** – Razões metabólicas na urina da codeína e dos seus metabolitos entre as 0-6h e 6-12h.

<b>Atividade prevista</b>	<b>Codeína/Morfina 0-6h</b>	<b>(Codeína+C6G)/ (Morfina+M3G+M6G) 0-6h</b>	<b>Codeína/Morfina 6-12h</b>	<b>(Codeína+C6G)/ (Morfina+M3G+M6G) 6-12h</b>
PM 0 (n=3)	198 (143-599)	363 (257-652)	68 (46-278)	255 (162-442)
EM 1.5 (n=3)	28 (16-31)	15 (12-17)	18 (15-20)	13 (12-15)
2 (n=6)	19 (9.9-28)	10 (5.9-16)	9.4 (5.6-19)	8.4 (5.6-12)
UM 2.5 (n=4)	17 (13-19)	10 (6.2-11)	14 (5.6-16)	8.6 (5.1-9.1)
3 (n=7)	18 (6.3-4.3)	8.9 (6.2-16)	12 (4.5-30)	7.4 (5.5-12.8)
<i>P</i>	NS	0.01	NS	0.029

#### **Observações:**

EM, metabolizadores extensivos; PM, metabolizadores lentos; UM, metabolizadores ultra-rápidos.

As razões metabólicas para os metabolizadores ultra-rápidos e extensivos foi semelhante, contudo quando comparamos estas razões com a razão metabólica dos metabolizadores pobres, verificamos que esta última apresenta um valor bastante elevado, algo que seria de esperar pois é neste grupo que a metabolização se encontra comprometida e como tal, vamos encontrar uma maior concentração de codeína na urina.

A figura 8 mostra as concentrações séricas dos vários metabolitos em função do tempo, para os três tipos de metabolizadores. Verifica-se relativamente à codeína, que esta apresenta uma distribuição de concentração semelhante entre os vários tipos de metabolizadores, concluindo-se que mesmo nos metabolizadores lentos, a codeína apresenta outras vias de metabolização não dependentes da enzima CYP 2D6.

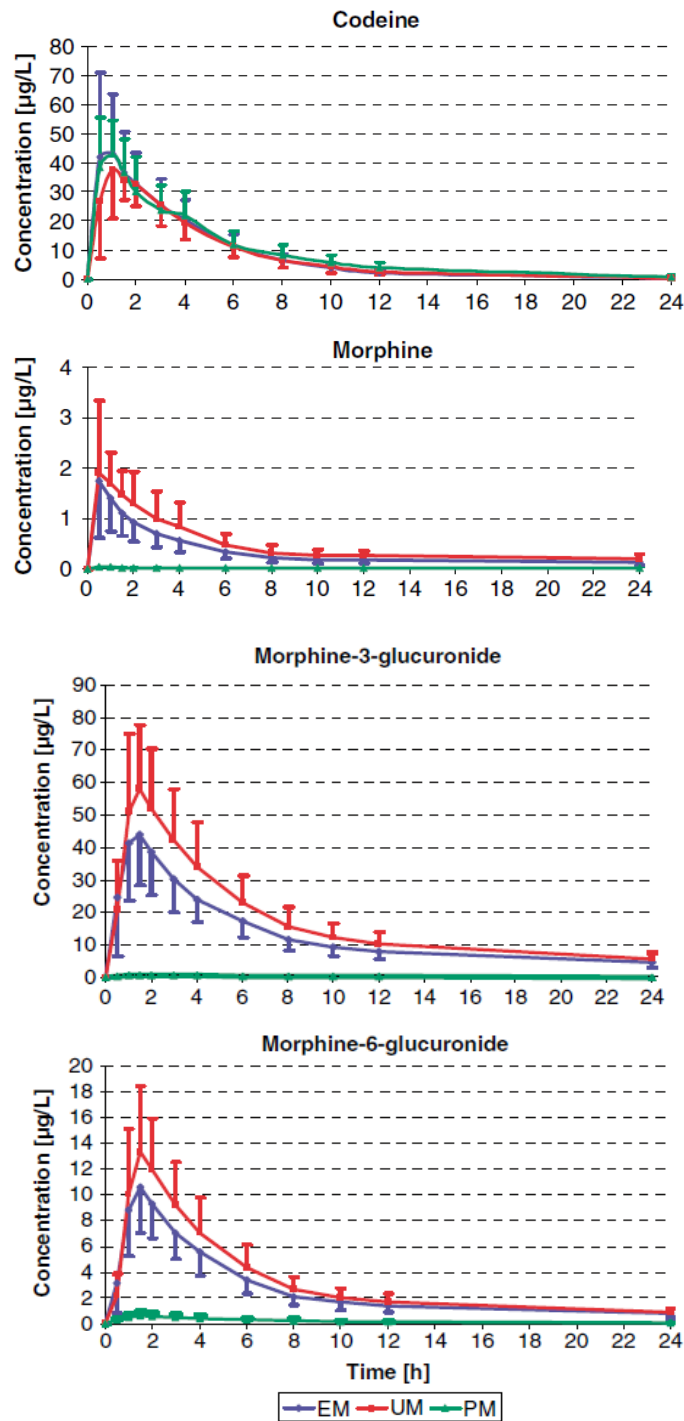
A morfina, M3G e M6G apresentam também uma distribuição esperada, em que os metabolizadores pobres, como apresentam baixa atividade para a enzima CYP 2D6, vão ter baixa concentração de morfina, e por sua vez baixa concentração de M3G e M6G, os quais resultam da glucuronidação da morfina, previamente formada a partir da codeína pela ação da enzima CYP 2D6.



### Citocromo P450 2D6:

Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias

É de notar ainda que as curvas de distribuição dos metabolizadores extensivos (EM) e dos metabolizadores ultra-rápidos (UM) são próximas, contudo a curva da concentração de morfina, M3G e M6G dos metabolizadores ultra-rápidos (UM) apresenta-se sempre mais elevada, devida à maior atividade enzimática.



**Figura 8** - Variação das concentrações urinárias de metabolitos ao longo do tempo. Adaptado de Kirchheiner, et al., 2007



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

A medição do diâmetro das pupilas é um parâmetro que traduz a farmacodinâmica da codeína, o qual é influenciado pelo genótipo do *CYP 2D6*, contudo os resultados obtidos para este não pareceram claros. Todos os pacientes apresentaram miose até um máximo de 2.5h após a administração. A dose administrada aos pacientes foi de 30 mg de codeína, sendo uma dose bastante baixa e provavelmente insuficiente para provocar o efeito de analgesia, daí este não ter sido um dos parâmetros de estudo.

É importante ainda referir que 18 dos 26 participantes do estudo referiram sentir sedação, sendo 10 deles metabolizadores ultra-rápidos (91% dos UM) e 6 metabolizadores extensivos (50%).

Este estudo demonstrou assim uma forte correlação entre o número de cópias do gene *CYP 2D6* com a concentração plasmática de morfina e também com as razões metabólicas entre os metabolitos resultantes da O-desmetilação da codeína.

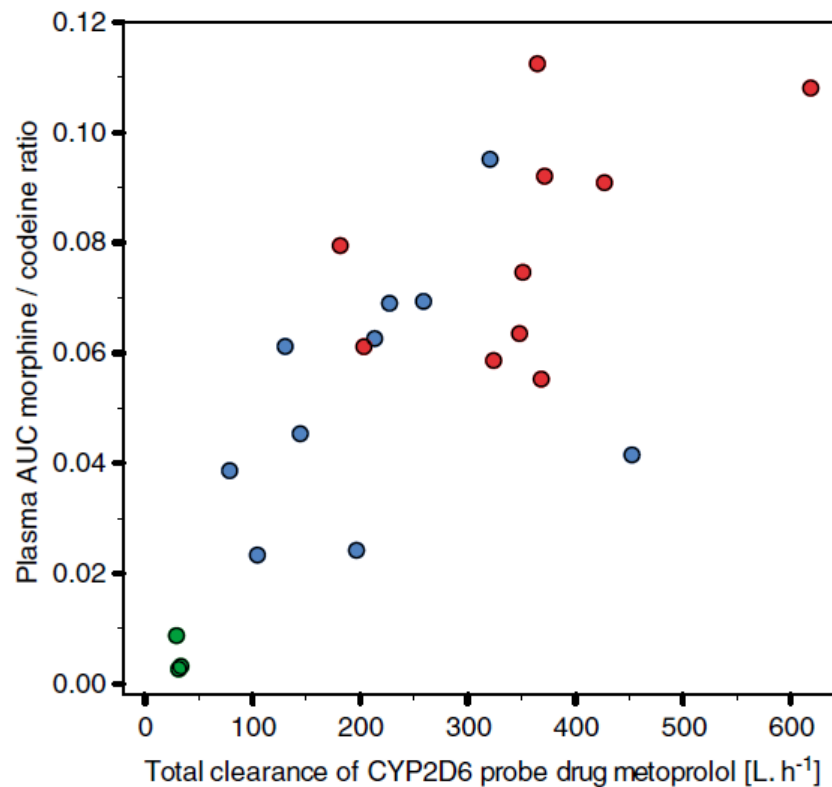
O metoprolol pode ser utilizado para fenotipar a atividade do *CYP 2D6*. Segundo um estudo anterior elaborado também por Kirchheiner *et al.*, comparou-se a atividade de metabolização do metoprolol com a razão de morfina/codeína para os diferentes grupos de metabolizadores. Como se pode observar pela figura 9, existe uma correlação entre a atividade do *CYP 2D6* relativamente ao metoprolol e a razão metabólica de morfina/codeína, tal como era esperado e demonstrado pelos resultados obtidos no estudo anteriormente descrito. (Kirchheiner, et al., 2004) Este método de análise pode ser assim utilizado na prática clínica para a fenotipagem da enzima *CYP 2D6*.

Ao se realizar a genotipagem detalhada do *CYP 2D6* conseguimos classificar melhor o fenótipo de cada indivíduo por atribuição de pontos correspondentes à presença de cada tipo de alelo, ou seja, uma pessoa que apresenta um dos alelos *CYP2D6*\*3, \*4, \*5, \*6, vai ter uma pontuação de zero, visto que estes alelos levam a que a enzima tenha baixa atividade. Para os alelos *CYP2D6*\*9, \*10, \*17, \*41 a pontuação vai ser de 0.5; e por fim, para os alelos *CYP2D6*\*1, \*2, \*35, a pontuação atribuída é de 1, tal como é ilustrado na tabela 2 e na figura 7.



### Citocromo P450 2D6:

Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias



**Figura 9** – Variação entre a clearance e a razão metaboliza morfina / codeína para os vários tipos de metabolizadores. Adaptado de Kirchheiner, et al., 2007

**Observações:** Verde – metabolizadores pobres; Azul – metabolizadores intermédios, Vermelho – metabolizadores ultra-rápidos

A importância clínica que se espera conhecer é o efeito da codeína nos metabolizadores ultra-rápidos e os efeitos secundários resultantes. Noutro estudo, em que foi medida a sedação e a miose, verificou-se que todos os voluntários apresentavam um ligeiro decréscimo no diâmetro da pupila ( $1\text{mm} \pm 0.5$ ) contudo este não parece ser um efeito devido ao genótipo do *CYP 2D6*, uma vez que os metabolizadores lentos apresentavam um período de miose superior à dos metabolizadores mais rápidos, mas sem significado estatístico devido ao tamanho da amostra. Este facto é semelhante ao que acontece com os metabolizadores pobres que não conseguem metabolizar a dihidrocodeína em dihidromorfina e demonstram também miose. (Schmidt, et al., 2003)



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Dados mais recentes mostram que a própria codeína pode causar miose, mesmo comparando com concentrações iguais à da morfina e dos seus metabolitos. Estes dados sugerem que uma dose única de codeína apresenta um efeito nos recetores opióides, contudo este é 7 a 14 vezes menos potente que o efeito exercido pela morfina. (Lotsch, et al., 2006)

Também devemos ter em conta os metabolitos não-O-demetilados, como é o caso da norcodeína, a qual é recuperada na urina numa taxa de 4%, verificando-se que esta não se liga aos recetores  $\mu$  no cérebro, indicando assim a baixa afinidade para este. O efeito de analgesia nos metabolizadores pobres pode ainda ser explicado pela grande quantidade de C6G presente em circulação, contudo os conjugados com ácido glucurónico têm uma menor probabilidade de entrar no cérebro devido às suas propriedades hidrofílicas. (Bertalmio, et al., 1992)

Relativamente à sedação, esta é exercida pelos opióides a nível central, verificando-se um maior impacto nos metabolizadores ultra-rápidos comparativamente com os metabolizadores extensivos e pobres, sendo que neste último grupo não houve nenhum relato de efeito sedativo.

#### **4.2.1. Reflexões finais**

A partir da análise crítica dos estudos descritos anteriormente, conclui-se que os indivíduos que apresentam mais do que uma cópia para o gene *CYP 2D6* (metabolizadores ultra-rápidos e presentes em cerca de 3% dos Caucasianos) têm uma maior concentração de morfina em circulação, comparativamente aos metabolizadores extensivos (50% da população caucasiana).

O risco de intoxicação por opióides pode estar aumentado se estivermos a falar de indivíduos que sejam metabolizadores ultra-rápidos e ao mesmo tempo apresentem uma redução da função renal, conduzindo a elevados níveis de morfina em circulação.



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

## **5. O CYP 2D6 e o tamoxifeno**

Segundo a Liga Portuguesa Contra o Cancro, surgem por ano cerca de 4 500 novos casos de cancro da mama em Portugal, cerca de 11 casos por dia, levando à morte de 4 mulheres por dia com esta doença. (Liga Portuguesa Contra o Cancro, 2012)

O tamoxifeno (TAM) tem sido utilizado mundialmente, e com bastantes resultados positivos, na terapêutica adjuvante contra tumores na pré-menopausa, bem como terapêutica contra tumores na pós-menopausa, simultaneamente com os inibidores da aromatase (IA).

O tamoxifeno atua nos recetores de estrogénio, sendo agonista destes em alguns tecidos e antagonista noutros, considerando-se um modelador seletivo do recetor de estrogénios (MSRE). (Gaston & Kolesar, 2008)

Verifica-se que a terapêutica adjuvante com tamoxifeno leva a que um terço dos doentes tratados apresente recorrência, em média, após 15 anos da cirurgia. Dados mais recentes mostraram que a eficácia do tamoxifeno está dependente da sua biotransformação, predominantemente pela via do CYP 2D6. O endoxifeno, produto resultante da metabolização pelo CYP 2D6, é o metabolito ativo que apresenta grande afinidade para os recetores estrogénicos e é um inibidor muito mais potente que o “fármaco-mãe”, o tamoxifeno. (Jin, et al., 2005)

Visto o CYP 2D6 ser uma enzima que apresenta grande variabilidade, é de esperar que também exista variabilidade na resposta à terapêutica com tamoxifeno, levando que determinados grupos apresentem um menor potencial de cura. Para além da variabilidade genética deve-se ainda ter em conta a possível coadministração de fármacos que possam inibir ou induzir o *CYP 2D6*. (Jin, et al., 2005)



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

---

## **5.1. Mecanismo de ação**

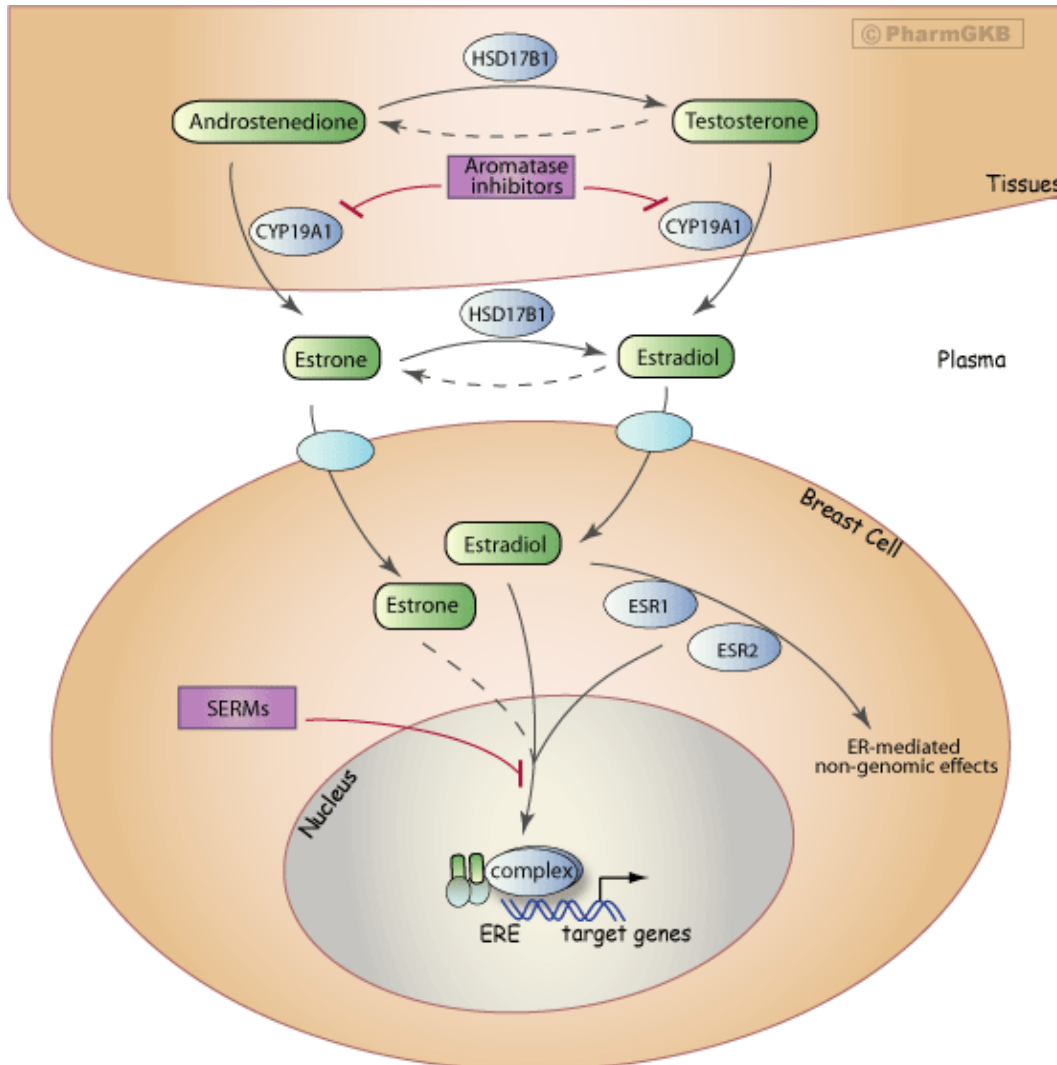
O tamoxifeno é um fármaco usado na terapêutica hormonal contra o cancro da mama, mas também pode ser usado no tratamento da infertilidade, fibrose retroperitoneal, ginecomastia e doença bipolar. O tamoxifeno é um modulador seletivo dos recetores de estrogénio (MSRE) e tem demonstrado uma melhoria da taxa de sobrevivência em doentes com cancro da mama. (Osborne, 1998)

Nas células mamárias, o tamoxifeno atua como antagonista, competindo com o estradiol na ligação aos recetores de estrogénio (ER), induzindo uma alteração conformacional destes que leva à inibição da transcrição de genes regulados pelo estradiol, tal como mostra a figura 10.

O estradiol tem a capacidade de se ligar aos recetores de estrogénio, levando a alterações na célula para induzir a proliferação celular. O tamoxifeno por antagonizar este processo vai inibir os mecanismos envolvidos na proliferação celular, a qual é excessiva em tecidos tumorais.



**Citocromo P450 2D6:**  
*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*



**Figuras 10** – Mecanismo de ação dos moduladores seletivos dos receptores de estrogênio (MSRE) (Anne Nguyen, et al., 2007)

## 5.2. Metabolismo do tamoxifeno

O tamoxifeno é um pró-fármaco, uma vez que não apresenta atividade farmacológica por si só, necessitando assim de sofrer ativação metabólica para originar o endoxifeno, metabolito ativo. A metabolização do tamoxifeno é feita no fígado predominantemente pelos citocromos P450, produzindo-se metabolitos primários e secundários. Esta



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

biotransformação do tamoxifeno é importante tanto na clearance como na conversão em metabolitos ativos.

As vias de metabolização do tamoxifeno conhecidas até à atualidade encontram-se esquematizadas na figura 11. O tamoxifeno é metabolizado por duas vias: uma que origina o *N*-desmetiltamoxifeno e outra que origina o 4-hidroxitamoxifeno. A principal via de metabolização é feita pelas enzimas CYP 3A4 e CYP 3A5, que conduzem à produção do *N*-desmetiltamoxifeno, correspondendo a 90% da oxidação do tamoxifeno. A outra via de metabolização é feita pela enzima CYP 2D6, obtendo-se o 4-hidroxitamoxifeno, o metabolito minoritário mas que apresenta uma atividade anti-estrogénica 30 a 100 vezes superior ao tamoxifeno e *N*-desmetiltamoxifeno. Na principal via de metabolização, após a obtenção do *N*-desmetiltamoxifeno, este sofre oxidação, que é mediada pela enzima CYP 2D6, originando o endoxifeno (4-hidroxi-*N*-desmetiltamoxifeno), o qual é o metabolito chave para o efeito terapêutico exercido pelo tamoxifeno. Posto isto, é perceptível que o CYP 2D6 apresente um papel fundamental na ativação metabólica do tamoxifeno, atuando em duas vias distintas. (Jordan, Collins, Rowsby, & Prestwich, 1977) (Johnson, et al., 2004)

O endoxifeno, metabolito chave e que se encontra com numa concentração dez vezes superior à do 4-hidroxitamoxifeno, é o responsável pela efetividade do tratamento, apresentando uma capacidade de supressão da proliferação celular dependente dos níveis de estrogénios, muito semelhante ao 4-hidroxitamoxifeno. Estudos mais recentes mostraram que o endoxifeno tem a capacidade de reduzir concentração de proteínas ER- $\alpha$  por “marcação” destas, para assim serem degradadas pelos proteassomas. Verificou-se que este facto ocorre de uma maneira dependente da dose, uma vez que nos metabolizadores lentos tal não acontece. (Stearns, et al., 2003) (Wu, et al., 2009)

O *CYP 2D6* é bastante polimórfico, tendo-se já identificado mais de 100 variantes alélicas, conduzindo a um aumento, diminuição ou até nenhuma atividade metabólica. Estudos de cohort demonstraram que o genótipo do *CYP 2D6* apresenta um papel importante na formação do endoxifeno *in vivo*. Num estudo com 80 mulheres com diagnóstico de cancro da mama fazendo uma terapêutica adjuvante com tamoxifeno, foi analisada a concentração plasmática de endoxifeno após 4 meses de tratamento, verificando-se que esta era mais baixa em mulheres homozigóticas ou heterozigóticas



### **Citocromo P450 2D6:**

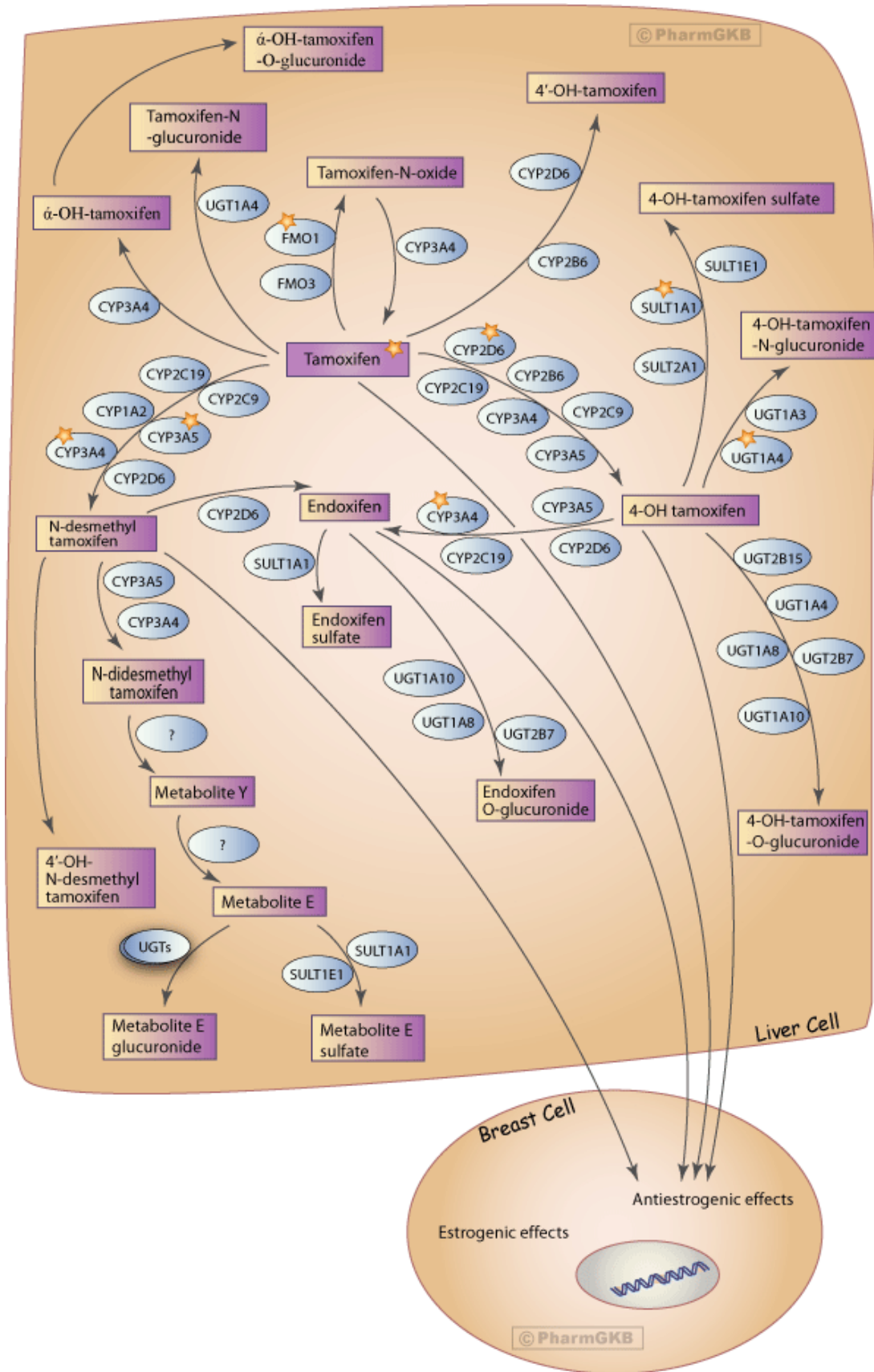
*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

para um alelo não funcional do *CYP 2D6*, comparativamente com as mulheres que apresentavam os dois alelos funcionais do *CYP 2D6*. (Jin, et al., 2005)

Como sabemos, é muito frequente encontrar indivíduos a fazer medicação para várias patologias e tal acontece também em doentes com cancro da mama. Uma das terapêuticas que pode estar mais associada a esta patologia são os antidepressivos, como é o caso dos inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRS) e os antidepressivos tricíclicos. Este tipo de fármacos utilizados para desordens neurológicas e são fortemente metabolizados pelo *CYP 2D6*, levando assim a um comprometimento desta enzima. Estudos revelaram que a toma deste tipo de fármacos em associação à terapêutica com tamoxifeno pode conduzir a uma redução de 58% da concentração plasmática de endoxifeno. Contudo existe variabilidade nas concentrações plasmáticas de endoxifeno que não são explicadas nem pela genética nem pelo historial clínico. (Lim, et al., 2007)



**Citocromo P450 2D6:**  
*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*



**Figura 11** – Metabolismo do Tamoxifeno (TAM) no fígado. (Klein, et al., 2011)



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

### **5.3. Genótipo do *CYP 2D6* e a terapêutica com tamoxifeno**

A primeira evidência clínica que liga o metabolismo do *CYP 2D6* com a resposta à terapêutica com tamoxifeno foi relatada em 2005 por Goetz *et al.*, onde foram analisados 223 doentes tratados com tamoxifeno numa situação de pós-menopausa e com ER positivo (tumores que respondem à terapêutica hormonal). Apesar de só se ter incluído neste estudo as variantes alélicas *CYP 2D6 \*4* e *CYP 2D6 \*6*, verificou-se que existia uma grande diferença entre elas. As mulheres que apresentavam a variante *CYP 2D6 \*4* demonstravam um maior risco de ter um novo tumor e uma menor incidência de afrontamentos na pós-menopausa. Após um seguimento de 11 anos, as mulheres homozigóticas para a variante *\*4* (*CYP 2D6 \*4/\*4*) apresentaram um menor intervalo de tempo sem aparecimento de novo tumor (recidivas), comparativamente aos heterozigóticos ou homozigóticos para o alelo *wild-type* (*CYP 2D6\*1*). (Goetz, et al., 2008)

Vários ensaios clínicos têm sido feitos para analisar esta situação sendo um deles de Schroth *et al.*, onde se analisaram também as variantes *\*10* e *\*41* num estudo retrospectivo de 206 mulheres com cancro da mama ER-positivo e a receber tamoxifeno em monoterapia, com um grupo de 280 doentes como controlo (doentes que não receberam a terapêutica de tamoxifeno). Após um *follow-up* de 71 meses, os doentes que apresentavam um ou dois alelos com baixa atividade ou nenhuma, tinham um tempo de sobrevivência sem eventos (recidivas) muito menor que os doentes com dois alelos funcionais para o *CYP 2D6*. (Schroth, et al., 2007)

Um outro estudo analisou 115 doentes com mutação tanto no *BRCA1* e *BRCA2* (genes que pertence à classe dos supressores de tumores e aquando da presença desta mutação existe uma maior probabilidade de aparecimento de cancro da mama e ovários) que foram tratados com uma terapêutica adjuvante de tamoxifeno durante um período superior a 4 anos e genotipados para as variantes alélicas *CYP 2D6 \*3*, *\*4*, *\*5* e *\*41*. Os doentes classificados como metabolizadores lentos, que apresentam alelos com atividade nula para o *CYP 2D6* ou doentes que tomam medicação concomitante com capacidade de inibir o *CYP 2D6*, demonstraram uma redução do intervalo de tempo sem recidivas. Um resultado semelhante foi também constatado para os doentes que tinham



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

a mutação *BRCA2*, uma vez que estes doentes têm uma maior probabilidade de apresentar recetores ER mutados. (Ramón, et al., 2010) (Gonzalez-Santiago, et al., 2007)

Mais recentemente foi efetuado um estudo retrospectivo com 1361 doentes com cancro da mama e apresentando células com ER, tratados com terapêutica adjuvante de tamoxifeno e genotipados para as variantes *CYP 2D6* \*3, \*4, \*5, \*10, \*41 e duplicação do gene. O grupo dos EM (metabolizadores extensivos) apresentava um menor risco de ocorrência de recidivas, comparativamente a indivíduos que apresentavam uma ou mais variantes alélicas, podendo esta diferença entre os EM e PM ser até 2 vezes menor, contudo não se encontrou uma relação entre o genótipo e a taxa de sobrevivência em si. É de referir que a maioria dos estudos é feita na Europa e na América, havendo assim poucos dados sobre a ação do tamoxifeno noutras populações. Num estudo recente de Kitoyani *et al.* foi verificado que os indivíduos fazendo uma terapêutica com tamoxifeno e apresentando a variante *CYP 2D6* \*10 (mais comum nos países asiáticos), conduzia a uma baixa concentração plasmática de endoxifeno e por sua vez a uma baixa efetividade do tratamento com tamoxifeno. (Kitoyani, et al., 2010) (Schroth, et al., 2009)

Um dos efeitos adversos mais comum na terapêutica com tamoxifeno são os afrontamentos (*hot flashes*), tendo sido demonstrado no estudo de Goetz *et al.*, que os doentes com a variante *CYP 2D6*\*4 têm uma incidência menor. Uma baixa atividade da enzima vai levar a que se obtenham menores concentrações séricas de endoxifeno, ocorrendo nestes indivíduos um menor efeito anti-estrogénico, que conduz assim a uma menor ocorrência de afrontamentos, visto estes serem causados por este efeito anti-estrogénico. (Goetz, et al., 2005)

Um outro dado de interesse observado por Rae *et al.* é a correlação entre os vários genótipos e a descontinuidade da terapêutica com tamoxifeno. Verificou-se que os indivíduos que têm os alelos normais para o *CYP 2D6*, os quais beneficiariam mais da terapêutica com tamoxifeno, são aqueles que apresentam uma maior taxa de descontinuação do tratamento, podendo isto ser explicado pelos afrontamentos causados pela terapêutica com tamoxifeno devido aos efeitos anti-estrogénicos. (Rae, et al., 2009)



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

## **5.4. Outras causas de variabilidade no metabolismo do tamoxifeno**

Nem só a variabilidade do *CYP 2D6* apresenta um papel importante nas concentrações séricas de endoxifeno, pois existem outras enzimas polimórficas envolvidas no processo de produção e excreção deste, que podem deste modo conduzir a diferentes concentrações de metabolito ativo. Exemplos de enzimas que podem estar associadas a estas alterações são também citocromo P450, como é o caso do *CYP 2C9*, *CYP 2C19* e *CYP 2B6* *CYP 3A4* e *CYP 3A5*, enzimas responsáveis também pela ativação do tamoxifeno. O processo de eliminação do TAM é feito por enzimas de fase II, como é o caso das sulfotransferases (*SULT*) e UDP-glucuronosiltransferases (*UGT*). A sulfotransferase 1A1 é responsável pela adição de um grupo de sulfato ao endoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno, tornando este mais fácil de ser excretado. No que diz respeito à *UGT*, a glucuronidação do endoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno é realizada pelas seguintes enzimas: *UGT 1A4*, *2B15*, *2B7*, *1A8* e *1A10*. Como é de esperar, qualquer polimorfismo que ocorra nestas enzimas reguladoras do metabolismo poderá levar a alterações nas concentrações séricas de endoxifeno, conduzindo assim a uma alteração na efetividade do tratamento com tamoxifeno. (Coller, et al., 2002) (Sun, et al., 2007)

É ainda de referir que estudos mais recentes mostraram que o genótipo dos recetores de estrogénio (*ER*) pode conduzir por si só a diferenças na variabilidade interindividual da efetividade da terapêutica com tamoxifeno. (Ntukidem, et al., 2008)

## **5.5. Reflexões finais**

O TAM tem sido por mais de 25 anos, a terapêutica endócrina *standard* do cancro da mama com *ER* positivo. Este é um pró-fármaco, sofrendo metabolização por várias enzimas do citocromo P450, sendo a que tem um papel mais importante a enzima *CYP 2D6*, obtendo-se assim o endoxifeno (com atividade farmacológica). Estudos demonstraram que baixas concentrações plasmáticas de endoxifeno são causadas devido a diferenças interindividuais na atividade das enzimas metabolizadoras, como é o caso do *CYP 2D6*, enzima altamente polimórfica.



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Em 2005 demonstrou-se que existe uma forte correlação entre o genótipo do *CYP2D6* e a eficácia prevista da terapêutica com tamoxifeno. Esta informação levou a que *Food and Drug Administration* (FDA) alterasse o resumo das características do medicamento (RCM), incorporando informação de como os fatores genéticos e interações entre fármacos podem alterar a eficácia da terapêutica com tamoxifeno.

Goetz *et al.* realizaram vários estudos em torno deste assunto, tendo concluído que os metabolizadores lentos têm um risco 3,8 vezes superior de ter recidivas comparativamente aos metabolizadores extensivos, num período de 5 anos. Contudo alguns destes doentes, pertencentes ao grupo dos metabolizadores pobres (PM), ao final de 2 anos alteraram a sua terapêutica de tamoxifeno para anastrozol (inibidor da aromatase), verificando-se que o risco de ter novas recidivas era menor, sugerindo assim que pode haver um benefício na troca para uma terapêutica com anastrozol ou outro inibidor da aromatase em indivíduos que apresentem baixa atividade para o *CYP 2D6*. (Goetz, et al., 2008)

Atualmente não existem dados suficientes que façam com que a genotipagem do *CYP 2D6* seja fundamental na prática clínica na toma de decisão em relação à terapêutica a seguir. Existem disponíveis vários estudos sobre o impacto da quimioterapia e da terapêutica com inibidores da aromatase em mulheres em situação pré-menopausa, contudo não existem muitos dados sobre a associação do genótipo do *CYP 2D6* e as concentrações de endoxifeno no prognóstico da doença, sendo ainda uma área em descoberta.

## **6. O *CYP 2D6* e a terapêutica antidepressiva**

A depressão é um dos principais problemas de saúde e característico das sociedades de países mais desenvolvidos. Esta é a principal causa de incapacidade e a segunda causa que leva à perda de mais anos de vida saudáveis. Em média 1 em cada 4 sofre ou virá a sofrer de depressão. Esta é considerada uma doença mental caracterizada por uma tristeza muito marcada ou prolongada, perda de interesse por atividades habitualmente



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

tidas como agradáveis e perda de energia, ficando rapidamente cansado. (Portal da Saúde)

A terapêutica mais utilizada para esta doença consistem em antidepressivos tricíclicos e inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRS). Contudo mais de 50% dos doentes não responde adequadamente ao seu primeiro tratamento. Esta diferença na resposta pode ser explicada devido à variabilidade de indivíduo para indivíduo, tanto por causa genéticas, ambientais ou fisiopatológicas. (Roose & Schatzberg, 2005)

A maioria dos antidepressivos é metabolizada pela enzima CYP 2D6. Desta forma indivíduos que sejam metabolizadores pobres vão apresentar elevadas concentrações séricas de fármaco em circulação, comparativamente a metabolizadores extensivos (EM), os quais apresentam o genótipo *CYP 2D6\*1/CYP 2D6\*1*, o que pode levar à ocorrência de reações adversas dependentes da dose. (Mulder, et al., 2006)

Em doentes recebendo uma dose de 75 mg de amitriptilina duas vezes ao dia, verificou-se que os doentes com baixa atividade para a enzima CYP 2D6 demonstravam maior risco de reações adversas comparativamente aos doentes com atividade enzimática normal (76,5% contra 12,1% respetivamente). Este facto mostra então a importância de se conhecer o *CYP 2D6* na prática clínica para se poder garantir sempre a eficácia e segurança da terapêutica. (Steimer W, 2005)

Bijl *et al.* tentaram perceber se existe alguma influência entre a descontinuação da terapêutica antidepressiva e a variante *CYP 2D6\*4*. Para tal fizeram um estudo de cohort prospetivo, seguindo as indicações e parâmetros do estudo de Rotterdam., envolvendo 1198 indivíduos. (Bijl, et al., 2007)

Neste estudo foram analisados três aspetos: troca de terapêutica, descontinuação ou dose. Troca de terapêutica foi definida como sendo a passagem para outro antidepressivo, independentemente da classe deste, no máximo 45 dias após o início da primeira prescrição. A ocorrência de uma troca deste tipo foi entendida como sendo devido a intolerância ao fármaco, uma vez que a eficácia de um antidepressivo só pode ser avaliada num mínimo após 6 semanas de terapêutica. A descontinuidade da terapêutica foi considerada como o terminar desta, em que não houve futuras prescrições para aquele fármaco em particular após os 45 dias iniciais da terapêutica.



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Para comparar as doses dos diferentes antidepressivos em indivíduos com diferentes genótipos, determinou-se a razão entre a dose diária prescrita (DDP) pela dose diária definida (DDD).

Na tabela 5 encontram-se as frequências e os tipos de antidepressivos usados pelos doentes no decorrer do estudo, bem como o papel do CYP 2D6 no metabolismo desse fármaco.

**Tabela 5** – Frequências e tipos de antidepressivos utilizados durante o período do estudo e o papel do CYP 2D6 no seu metabolismo.

<b>Antidepressivos</b>	<b>Número de doentes (%) N = 1198</b>	<b>Papel do CYP 2D6 no metabolismo</b>
<b>Antidepressivos tricíclicos</b>		
<b>Amitriptilina</b>	551 (45.9)	++
<b>Maprotilina</b>	99 (8.2)	+++
<b>Clomipramida</b>	79 (6.6)	++
<b>Nortriptilina</b>	35 (2.9)	+++
<b>Imipramida</b>	29 (2.4)	++
<b>Dosulepina</b>	8 (0.7)	-
<b>Doxepina</b>	4 (0.3)	++
<b>ISRS</b>		
<b>Paroxetina</b>	390 (32.5)	+++
<b>Fluvoxamina</b>	161 (13.4)	++
<b>Fluoxetina</b>	139 (11.6)	+++
<b>Sertralina</b>	87 (7.3)	-
<b>Citalopram</b>	55 (4.6)	-
<b>Escitalopram</b>	1 (0.1)	-
<b>Outros</b>		
<b>Mirtazapina</b>	73 (6.1)	++
<b>Mianserina</b>	70 (5.8)	++
<b>Venlafaxina</b>	41 (3.4)	++
<b>Trazodona</b>	29 (2.4)	-
<b>Nefazodona</b>	1 (0.1)	-

As tabelas 6 e 7 mostram a associação entre o genótipo do CYP 2D6 e a troca de terapêutica ou descontinuação desta, respetivamente.



**Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

**Tabela 6** – Associação entre o genótipo e a troca para outra terapêutica antidepressiva num intervalo menor que 45 dias.

Genótipo CYP 2D6	Trocas de terapêutica (nº)	OR da troca de terapêutica	P
<b>Antidepressivos</b>			
*1/*1	33	Referência	
*1/*4	13	0.90 (0.47, 1.73)	0.74
*4/*4	6	1.80 (0.72, 4.48)	0.20
<b>Antidepressivos tricíclicos</b>			
*1/*1	11	Referência	
*1/*4	4	0.84 (0.26, 2.70)	0.77
*4/*4	4	5.77 (1.59, 21.03)	0.01
<b>ISRS</b>			
*1/*1	19	Referência	
*1/*4	9	1.09 (0.48, 2.49)	0.84
*4/*4	2	0.91 (0.20, 4.15)	0.90

**Tabela 7** – Associação entre o genótipo e a descontinuação da terapêutica antidepressiva num intervalo menor que 45 dias.

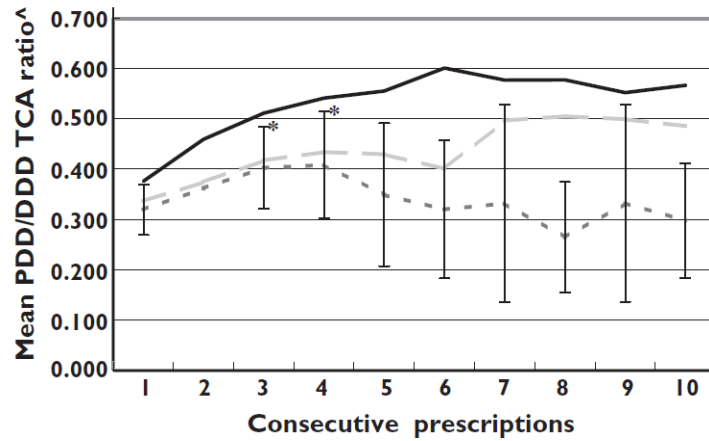
Genótipo CYP 2D6	Descontinuação da terapêutica (nº)	OR da descontinuação da terapêutica	P
<b>Antidepressivos</b>			
*1/*1	285	Ref.	
*1/*4	135	1.13 (0.87, 1.47)	0.36
*4/*4	36	1.80 (0.72, 4.48)	0.12
<b>Antidepressivos tricíclicos</b>			
*1/*1	144	Ref.	
*1/*4	74	1.33 (0.92, 1.90)	0.13
*4/*4	9	1.62 (0.84, 3.12)	0.15
<b>ISRS</b>			
*1/*1	118	Ref.	
*1/*4	51	0.96 (0.63, 1.45)	0.83
*4/*4	13	1.20 (0.56, 2.57)	0.65



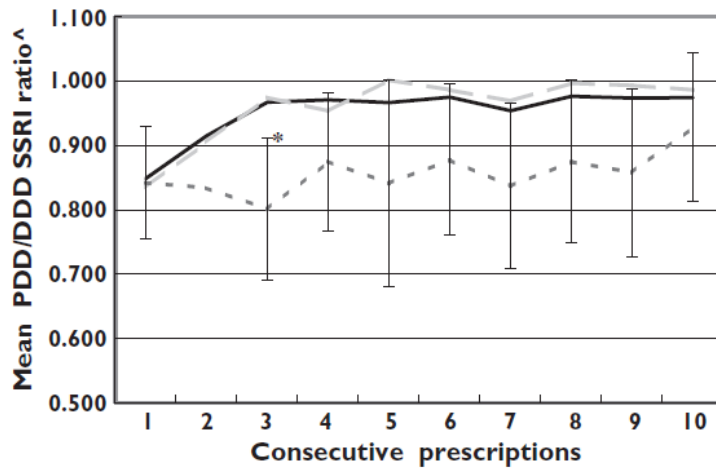
**Citrocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

A razão DDP/DDD dos antidepressivos tricíclicos encontra-se representada na figura 12, enquanto a razão DDP/DDD dos inibidores da recaptção seletiva da serotonina encontra-se ilustrada na figura 13.



**Figura 12** – Alterações na dose de antidepressivos tricíclicos ao longo do tempo segundo o tipo de genótipo. (Bijl, et al., 2007)



**Figura 13** – Alterações na dose dos inibidores seletivos da recaptção da serotonina ao longo do tempo segundo o tipo de genótipo. (Bijl, et al., 2007)

**Observações:** (\*1/\*1, ( — )); \*1/\*4, ( - - - - ); \*4/\*4, ( ······ )); PDD: dose diária prescrita; DDD: dose diária definida.



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Este estudo demonstra que doentes metabolizadores pobres (PM) a fazer uma terapêutica com antidepressivos tricíclicos têm uma maior probabilidade de trocarem de terapêutica até um período de 45 dias depois do início desta, comparativamente a doentes que seja metabolizadores extensivos (EM). Este facto está então em acordo com os resultados identificados em estudos anteriores. (Mulder, et al., 2005)

A troca por outra terapêutica antidepressiva devido ao aparecimento de reações adversas foi considerado apenas até um período de 45 dias, visto para ser considerada por falta de eficácia necessitaria de pelo menos 6 semanas de tratamento. O risco de troca para outro antidepressivo não foi verificado na terapêutica com inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS), mesmo sendo estes fármacos metabolizados principalmente pelo CYP 2D6. É ainda de referir que não foi encontrada qualquer relação entre a concentração plasmática de ISRS e o seu efeito clínico, parecendo que as reações adversas causadas por estes não se prendem com a concentração plasmática do fármaco, explicando assim a baixa frequência de troca de terapêutica em metabolizadores pobres. (Rasmussen & Broesen, 2000)

A descontinuação da terapêutica foi também estudada, sendo esta de 30% na amostra total. Esta pareceu não ser devida especificamente ao CYP 2D6 mas sim a possíveis reações adversas que tenham ocorrido, à não melhoria ou ao não cumprimento da terapêutica, sendo esta última a razão mais provável.

Após um ajuste da dose de antidepressivo à dose ótima e com mínimas reações adversas, verificou-se que esta era significativamente mais baixa nos doentes metabolizadores pobres, comparativamente com os metabolizadores extensivos. A diferença nas doses foi por volta de 0,10 DDD, correspondendo a cerca de 2-15 mg, dependendo do fármaco, sendo esta muito pequena trazendo assim um impacto mínimo.

Relativamente à terapêutica com antidepressivos tricíclicos, os metabolizadores intermédios ( $CYP\ 2D6^*1/CYP\ 2D6^*4$ ) apresentaram uma dose ótima entre a dose ótima dos metabolizadores extensivos e pobres, enquanto para os ISRS, os metabolizadores intermédios tiveram uma dose ótima muito semelhante à dos metabolizadores extensivos. Esta diferença pode ser explicada pela quantidade de fármaco metabolizada pelo CYP 2D6. O CYP 2D6 não é a única enzima do citocromo P450 envolvida no metabolismo dos antidepressivos. O CYP 2C19 também apresenta um papel importante



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

na desmetilação da amitriptilina, imipramida, clomipramida, sertalina e citalopram. Outras enzimas que também atuam no metabolismo deste tipo de fármacos são o CYP 1A2 e o CYP 3A4, contudo a um nível muito menor. (Kirchheiner, et al., 2001)

A maioria dos antidepressivos tricíclicos é metabolizada total ou parcialmente pelo CYP 2D6, contudo alguns ISRS não são metabolizados pelo CYP 2D6, como é o caso do citalopram, escitalopram e sertralina. Os resultados obtidos demonstram que os antidepressivos tricíclicos dependem mais do CYP 2D6 do que os ISRS. É de referir que devido à baixa prescrição de ISRS não metabolizados pelo CYP 2D6, não foi feita neste estudo uma distinção destes dos restantes ISRS.

Analisando a tabela 6 verifica-se que a relação ente os genótipos e a terapêutica antidepressiva não tem significado estatístico, contudo para os doentes fazendo terapêutica antidepressiva com tricíclicos, a presença da variante *CYP 2D6\*4/CYP 2D6\*4* (PM) parece estar associada a um risco maior de trocas de terapêutica por reações adversas, sendo esta quase 6 vezes (OR de 5,77) superior à dos metabolizadores extensivos (*CYP 2D6\*1/CYP 2D6\*1*).

## **6.1. Reflexões finais**

Este estudo demonstrou que existe uma forte associação entre o *status* de metabolizador pobre para o CYP 2D6 e a necessidade de troca da terapêutica de antidepressivos tricíclicos para outra categoria de antidepressivo, devido à ocorrência de reações adversas. Dados identificados pelo investigador indicam que a dose de partida é baixa, aumentando progressivamente até atingir a dose ótima, reduzindo assim a possibilidade de ocorrência de efeitos adversos.

Apesar de ter sido demonstrado em vários estudos que o polimorfismo *CYP 2D6\*4* está associado a reações adversas nos antidepressivos tricíclicos, a incógnita persiste, contribuirá ou não a genotipagem para se atingir a otimização farmacoterapêutica.



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

## **7. Esclerose sistémica**

A esclerose sistémica (ES), também conhecida por esclerodermia, é uma doença reumática crónica caracterizada por alterações a nível vascular, na produção de anticorpos dirigidos contra os tecidos do próprio corpo (auto anticorpos) e ainda um aumento da produção de tecido fibroso, tanto na pele superficial como no interior dos órgãos. A ES pode aparecer em qualquer idade, contudo é na faixa etária dos 25 aos 55 anos que esta é mais frequente, sendo que esta doença atinge 3 a 4 vezes mais mulheres do que homens. A prevalência desta doença é difícil de determinar mas estima-se que em cada 1 milhão de habitantes em Portugal, existem 250 doentes, contudo estes valores podem estar aquém da realidade.

A associação do género e a ocorrência desta doença no seio familiar leva a que se considere que exista um importante fator genético para a ocorrência desta. Por esta razão têm sido realizados estudos avaliando os possíveis polimorfismos nos genes que podem conduzir ao aparecimento da esclerose sistémica. Alguns destes genes estudados foram os genes responsáveis pela produção das citocinas, o complexo de histocompatibilidade e os mecanismos de sinalização moleculares. (Allanore, et al., 2007)

### **7.1. CYP 2D6 e a esclerose sistémica**

Para além da função que os CYP desempenham no metabolismo de xenobióticos, têm vindo a surgir evidências do seu envolvimento na indução da resposta imunitária, podendo estar relacionados com o risco individual de patologias do foro imunológico.

Num estudo muito recente de Barańska et al. é analisada a presença de polimorfismo no CYP 2D6 (variantes alélicas CYP 2D6 \*1, CYP-2D6 \*3 e CYP-2D6 \*4) em doentes com esclerose sistémica. (Barańska, et al., 2012) Foi determinada a frequência de distribuição dos metabolizadores pobres e extensivos no grupo de doentes com ES e controlo, tal como mostra a tabela 8.



### Citocromo P450 2D6:

Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias

**Tabela 8** – Distribuição dos genótipos do PM e EM no grupo dos doentes com ES e no grupo de controlo.

Grupo	Doentes (n°)	Metabolizadores pobres (PM)	Metabolizadores extensivos (EM)
ES	77	5 (6.5%)	72 (93.5%)
Grupo Controlo	129	12 (9.3%)	117 (90.7%)

Na tabela 9 são comparados os genótipos dos doentes com ES e do grupo controlo. É de realçar a elevada percentagem de indivíduos doentes com a combinação das variantes *CYP 2D6 \*1/ CYP 2D6 \*4*, cerca de 55,8% comparativamente com os 30,2 % no grupo de controlo. A percentagem de homozigóticos para a variante *CYP 2D6\*1 (wild-type)* é de 33,8% no grupo dos doentes com ES e de 57,4% no grupo controlo, tal como esperado visto tratar-se da sequência de referência. Para os homozigóticos para a variante *CYP 2D6 \*4* a percentagem foi de 6,5% para o grupo de doentes com ES, ligeiramente mais baixa que no grupo controlo (9,3%).

**Tabela 9** – Frequência de distribuição de genótipos para o *CYP 2D6* no grupo dos doentes com ES e no grupo de controlo.

	Genótipo CYP 2D6	Doentes com ES N = 77		Grupo de controlo N = 129		P	OR CI
		N°	%	N°	%		
Metabolizadores Extensivos (EM)	<b>Homozigótico</b> <i>CYP2D6*1/CYP2D6*1</i>	26	33.8	74	57.4	0.001	0.38 (0.211-0.684)
	<b>Heterozigótico</b> <i>CYP2D6*1/CYP2D6*3</i>	3	3.9	4	3.1	0.258	1.27 (0.277-5.833)
	<i>CYP2D6*1/CYP2D6*4</i>	43	55.8	39	30.2	0.001	3.20 (1.767-5.795)
	<b>Total</b>	72	93.5	117	90.7	0.823	1.48 (0.502-4.371)
Metabolizadores Pobres (PM)	<i>CYP2D6*4/CYP2D6*4</i>	5	6.5	12	9.3	0.823	0.68 (0.23-2.008)
	<b>Total</b>	5	6.5	12	9.3	0.823	0.68 (0.23-2.008)



**Citocromo P450 2D6:**  
*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

**Tabela 10** - Frequência de distribuição dos alelos do *CYP 2D6* no grupo dos doentes com ES e no grupo de controlo.

Alelos	<i>CYP2D6*1</i>	<i>CYP2D6*3</i>	<i>CYP2D6*4</i>
<b>Doentes com ES (%)</b>	98 (63.6%)	3 (9.1%)	53 (34.5%)
<b>Grupo controlo (%)</b>	191 (74.0%)	4 (1.6%)	63 (24.4%)
<b>OR (95% CI)</b>	0.61 (0.397-1.239)	1.26 (0.278-5.709)	1.62 (1.044-2.512)
<b>P</b>	0.026	0.764	0.029

Na tabela 10 estão representadas as distribuições das frequências alélicas para o *CYP 2D6* nos dois grupos: controlo e doentes com ES. Como é de esperar, e segundo os resultados obtidos anteriormente a variante \*4 apresenta uma maior frequência no grupo de doentes com ES do que no grupo de controlo. O mesmo se passa para a variante \*3, contudo nenhuma delas é significativamente estatística, sendo estas distribuições dos alelos semelhantes nos dois grupos.

A relação entre os polimorfismos das enzimas oxidativas e a predisposição para o aparecimento de problemas neurológicos, neoplasias e alérgias já é conhecida e relatada. Nos últimos anos tem-se vindo a analisar a capacidade destas variações polimórficas alterarem a forma como as enzimas metabolizam os xenobioticos e de conduzirem assim a doenças auto-imunes como é o caso da ES. Fatores ambientais externos a radiação UV, solventes orgânicos, fumo do tabaco, componentes do silicone, pesticidas e fármacos podem levar a alterações na estrutura dos cromossomas ou outras moléculas biológicas, dando início a um processo patológico. (Butler, et al., 2001) (D’Cruz, 2000)

O primeiro estudo sobre a relação entre as alterações genéticas do processo oxidativo e doenças autoimunes foi descrito na década de 90. O estudo era constituído por 69 doentes com lúpus eritematoso sistémico (LES) e 514 voluntários saudáveis de origem Caucasiana. Verificou-se que nos doentes com LES existia uma elevada incidência da variante *CYP 2D6\*4* comparativamente ao grupo controlo (28,3% e 18,6% respetivamente) contudo esta diferença não era estatisticamente significativo. (Sabbagh, et al., 1998)



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Neste estudo de Barańska *et al.* sobre a relação entre os polimorfismos do *CYP 2D6* e a esclerose sistêmica, verifica-se a ocorrência de um tipo particular de genótipo que pode ser considerado um fator de risco para ES. Este genótipo em particular é o *CYP 2D6\*1/ CYP 2D6\*4* (OR=3,2; p=0,001) que aparece três vezes mais nos indivíduos com ES. (Barańska, et al., 2012)

Estes resultados sugerem que pode haver influência da ocorrência da mutação G1934A no *CYP 2D6*, causando uma maior incidência da esclerose sistêmica, tal como foi demonstrado num estudo anterior de Skretkiewicz *et al.*, em que o risco de ocorrência de ES foi quase cinco vezes superior em indivíduos *CYP 2D6\*1/ CYP 2D6\*4* (OR=4,8; p <0,001) e quase três vezes superior para o alelo *CYP 2D6\*4* (OR=2,6; p <0,0002) (Skrêtkowicz & Barańska, 2009)

Existem ainda relatos de polimorfismo noutros citocromos P450 que podem ter alguma associação com a patologia. Povey *et al.* mostrou que a variante *CYP 2E1\*3* encontra-se 9 vezes mais em doentes com ES expostos anteriormente a solventes orgânicos (tricloroetileno e tricloroetano). Outro exemplo relatado por Tew *et al.* refere-se ao polimorfismo na enzima de fase II glutathiona S-transferase (GST). O genótipo que leva a atividade nula da enzima GST era significativamente mais frequente em doentes com ES que apresentavam também hipertensão arterial e doença pulmonar. (Povey, et al., 2001) (Tew, et al., 2001)

### **Reflexões finais**

O conhecimento acerca da variabilidade genética nos processos oxidativos e das mutações nas isoenzimas do citocromo P450 têm uma grande importância na prática clínica. Os resultados obtidos deste estudo mostram que existe uma forte associação entre os polimorfismos no processo oxidativo e o risco de vir a desenvolver esclerose sistêmica.

Ter este tipo de conhecimento é importante uma vez que a ES é uma doença que pode afetar em vários órgãos do organismo e na possibilidade de um indivíduo ter que ser tratado para qualquer outra patologia, já sabemos à partida que pode haver um envolvimento do *CYP 2D6*, contribuindo assim para uma escolha de terapêutica mais segura e eficaz.



## **8. O CYP 2D6 e o risco de cancro da mama**

O cancro da mama é uma das patologias oncológicas mais comuns nos países desenvolvidos, afetando até 10% da população feminina. Muitas são as causas que levam ao aparecimento do cancro da mama, como por exemplo a idade, a prolongada influência dos estrogénios e a instabilidade do genoma. (Singletary, 2003)

O *CYP 2D6* tem sido estudado no contexto de patologias oncológicas, sabendo-se que algumas variantes deste podem influenciar a suscetibilidade para o aparecimento de outros tipos de cancro, como é o caso do cancro do pulmão, pescoço, fígado e melanoma. Vários estudos têm sido feitos para avaliar a associação entre o risco de desenvolver cancro da mama e as enzimas envolvidas no metabolismo de substâncias carcinogénicas. (Agundez, 2004)

Entre as enzimas envolvidas no metabolismo dos estrogénios encontramos o *CYP 2D6*, enzima de metabolização de fase I. Esta enzima tem um papel bastante importante pois metaboliza cerca de 20-30% dos fármacos, sendo um deles o tamoxifeno, medicamento oncológico utilizado na terapêutica hormonal contra o cancro da mama (Ver capítulo 5). (Jin, et al., 2005)

Um estudo realizado recentemente por Levkovich et al. pretendia avaliar a existência de uma associação entre a variante *CYP 2D6\*4* e o risco de vir a ter cancro da mama. Para tal foram incluídas no estudo 85 mulheres Caucásicas com idades compreendidas entre os 18 e 80 anos, devidamente diagnosticadas com cancro da mama lobular em estádios I ou II (grupo I). Posteriormente fez-se a subdivisão deste grupo em dois – o grupo Ia com as mulheres que tinham tido dois ou mais casos de cancro da mama no seio familiar (67 mulheres) e o grupo Ib com as mulheres que tiveram um ou nenhum caso de cancro da mama na sua família (18 mulheres). Para constituir o grupo de controlo foram escolhidos 637 voluntários provenientes da mesma região, com uma idade média semelhante ao do grupo em estudo. (Levkovich, Gorovenko, & Myasoedov, 2011)



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Os resultados obtidos por estes autores revelam que quando comparados os resultados do grupo I com o grupo de controlo verificou-se que existiam algumas alterações mas frequências esperadas para os genótipos *CYP 2D6\*1/ CYP 2D6\*1* (EM) e *CYP 2D6\*4/ CYP 2D6\*4* (PM), tal como mostra a tabela 11. A tabela 12 analisa a distribuição dos genótipos e dos alelos mas ao nível hereditário, ou seja, considerando os doentes com historial na sua família de 2 a 5 casos de cancro da mama. Já a tabela 13 diz respeito à distribuição dos genótipos do *CYP 2D6* nos vários grupos estudados.

**Tabela 11** – Distribuição dos genótipos do *CYP 2D6* e alelos no grupo I e controlo.

Polimorfismo	Genótipo	Grupo I n = 85		Grupo Controlo n = 637		X <sup>2</sup>	OR	CI
		n	%	n	%			
<i>CYP 2D6*4</i>	EM (*1/*1)	45	52.94	417	65.46	5.1	0.59	0.38-0.94
	IM (*1/*4)	34	40.00	203	31.87	2.25	1.43	0.9-2.27
	PM (*4/*4)	6	7.06	17	2.67	4.69	2.77	1.06-7.23
	p (*1)		0.73		0.81	6.81	0.62	0.43-0.89
	q (*1)		0.27		0.19		1.62	1.12-2.34



**Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

**Tabela 12** – Distribuição dos genótipos do *CYP 2D6* e alelos no grupo Ia (doentes com antecedentes familiares) e controlo.

Polimorfismo	Genótipo	Grupo Ia n = 67		Grupo Controlo n = 637		X <sup>2</sup>	OR	CI
		n	%	n	%			
<b><i>CYP 2D6*4</i></b>	EM (*1/*1)	33	49.25	417	65.46	6.91	0.51	0.31-0.85
	IM (*1/*4)	28	41.79	203	31.87	2.71	1.53	0.92-2.56
	PM (*4/*4)	6	8.86	17	2.67	7.58	3.59	1.36-9.44
	p (*1)		0.7		0.81	9.71	0.54	0.36-0.8
	q (*1)		0.3		0.19		1.86	1.25-2.77

**Tabela 13** – Distribuição dos genótipos do *CYP 2D6* nos grupos estudados.

	*1/*1 (EM)		*1/*4 (IM)		*4/*4 (PM)		*1/*4+ *4/*4		Frequência alélica	
	n	%	n	%	n	%	n	%	p (*1)	q (*4)
<b>Grupo I n = 85</b>	45	52.94	34	40	6	7.06	40	47	0.73	0.27
<b>Grupo Ia n = 67</b>	33	49.25	28	41.79	6	8.96	34	51	0.7	0.3
<b>Grupo Ib n = 18</b>	12	66.67	6	33.33	0	0	6	50	0.83	0.17
<b>Grupo Controlo n = 637</b>	417	65.46	203	31.87	17	2.67	220	34	0.81	0.19

Analisando os resultados da distribuição hereditária do cancro da mama com o grupo de controlo, verifica-se que as mulheres com o genótipo *CYP 2D6\*4/ CYP 2D6\*4* (PM) têm um risco mais elevado de ter cancro da mama, não apenas por comparação com o



### Citocromo P450 2D6:

Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias

grupo de controlo, mas por comparação com o grupo onde estão incluídas todas as mulheres com cancro da mama. (OR = 3,59 e 2,77 respetivamente).

Verifica-se também que a frequência do genótipo *CYP 2D6\*1/ CYP 2D6\*4* (IM) foi maior no grupo de mulheres que apresentavam um historial familiar de cancro da mama (41,79%). A presença do genótipo *CYP 2D6\*1/ CYP 2D6\*1* (EM) pode ser uma fator protetor, demonstrado pelo OR de 0,59.

Este estudo revelou uma elevada frequência do genótipo heterozigótico (*CYP 2D6\*1/ CYP 2D6\*4*) em doentes com cancro da mama, bem como uma grande percentagem de indivíduos que transportam consigo o alelo *CYP 2D6\*4* (*\*1/\*4* ou *\*4/\*4*), 47 % contra os 34% do grupo de controlo. (tabela 13).

Também foram analisados os recetores presentes nas células mamárias: recetores de estrogénio (ER) ou recetores de progesterona (PR). Contudo não se observou qualquer ligação entre o *CYP 2D6* e os recetores de estrogénio, mas foi verificada uma associação entre a presença de recetores de progesterona e o genótipo *CYP 2D6\*1/ CYP 2D6\*4* (IM), tal como mostra a tabela 14. Verifica-se então que dos indivíduos com recetores de progesterona positivos, 54,05% destes eram metabolizadores intermédios, tendo esta associação um OR de 3,24.

**Tabela 14** – Polimorfismos no *CYP 2D6* e associação aos recetores de progesterona.

Polimorfismo	Genótipo	Grupo Ia PR <sup>+</sup> n = 37		Grupo Ia PR <sup>-</sup> n = 30		p	X <sup>2</sup>	OR	CI
		n	%	n	%				
<i>CYP 2D6*4</i>	EM (*1/*1)	14	37.89	19	63.33	0.05	4.31	0.35	0.13-0.95
	IM (*1/*4)	20	54.05	8	26.67	0.02	5.11	3.24	1.15-9.11
	PM (*4/*4)	3	8.11	3	10	1	0.07	0.79	0.15-4.25
	p (*1)		0.65		0.77	0.18	2.2	0.56	0.26-1.21
	q (*1)		0.35		0.23			1.78	0.83-3.83



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

---

## **8.1. Reflexões finais**

Como conclusão deste estudo, não é de descartar a hipótese de que a variante *CYP 2D6\*4* possa apresentar um papel fundamental no despoletar do cancro da mama, especialmente se já existir um historial familiar da doença. Outro aspeto interessante identificado foi a percentagem dos indivíduos com a variante *\*4* e com recetores de progesterona positivos, podendo sugerir que existe alguma associação entre estes dois fatores.

Mais uma vez é importante continuar com investigação nesta área visto muitos casos de cancro de mama ainda não estarem bem explicados. É sabido que o cruzamento entre os fatores ambientais, fatores genéticos e endócrinos podem conduzir a um aumento da suscetibilidade para o aparecimento de doenças oncológicas, contudo ainda muito é necessário fazer e compreender nesta área.

## **9. Doença de Parkinson**

A doença de Parkinson (DP) é uma doença de evolução lenta e progressiva, na qual existe perda dos mensageiros químicos produzidos no cérebro e que são responsáveis pelo controlo dos movimentos. Esta doença atinge 1 em cada 1000 indivíduos, independentemente do género, grupo social ou etnia. Em geral a DP aparece com maior frequência acima dos 50 anos de idade, contudo existem casos de DP em indivíduos mais novos. Trata-se de uma doença difícil de diagnosticar por ter sintomas semelhantes ao do normal envelhecimento, recomendando-se sempre o seguimento pelo neurologista para a adequada avaliação. (Associação Portuguesa de Doentes de Parkinson)

A DP é algo complexa e não está ainda muito estudada, não se percebendo bem as causas desta. Parece haver nesta doença um papel importante da genética (predisposição genética) que ao se cruzar com os fatores ambientais pode despoletar a DP. Esta parece ser a principal razão do aparecimento da DP. (Di Monte & Manning-Bog, 2002)



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Alguns estudos realizados mostram que pode existir uma ligação entre o *CYP 2D6* e a DP, onde uma baixa atividade do *CYP 2D6* leva a que exista uma maior propensão para o aparecimento da DP. (Llerena, et al. , 1993) (Lucotte, et al., 1996)

## **9.1.O *CYP 2D6* e a doença de Parkinson**

Para verificar tal informação, Sabbagh *et al.* elaborou um estudo para assim testar a associação entre o *CYP 2D6* e a doença de Parkinson. Neste estudo, de 1999, foi utilizada a técnica de PCR-SSCP para avaliar a região codificante do gene, em associação com a técnica de RFLP para analisar o locus do DNA em 109 doentes com Parkinson. Esta técnica já usada anteriormente num grande estudo Europeu veio revelar a ocorrência de novas mutações no *CYP 2D6* e trouxe um grande avanço científico uma vez que permitia analisar a região codificante do gene e eliminar a possibilidade de existência de uma associação alélica do *CYP 2D6* com a doença de Parkinson. (Sabbagh, et al., 1999)

Foram então escolhidos 109 indivíduos diagnosticados com a doença de Parkinson (sem antecedentes desta doença na família), sendo 64 destes mulheres e 45 homens. Como grupo controlo foram escolhidos 514, com 144 indivíduos plenamente saudáveis e 370 indivíduos com varias doenças que foram escolhidos aleatoriamente, sendo que neste grupo não houve separação entre os géneros. Ambos os grupos foram genotipados e determinadas as variantes alélicas para o *CYP 2D6*. (Sabbagh, et al., 1999)

Para analisar a relação entre o genótipo do *CYP 2D6* e a doença de Parkinson fez-se um estudo em duas partes diferentes. A primeira parte foi realizada com 109 doentes com DP e o grupo de controlo com 514 indivíduos. A segunda parte do estudo foi feita em 18 doentes com DP e 50 parentes destes. Estes doentes foram escolhidos por apresentarem casos de doença de Parkinson no seu seio familiar. Na tabela 15 encontra-se a caracterização da atividade metabólica de todos os indivíduos presentes no estudo. Já na tabela 16 encontra-se a frequência dos alelos do *CYP 2D6* do grupo com doentes de Parkinson e no grupo controlo. Na tabela 16 foi feita a distinção entre os doentes de Parkinson relativamente à idade: os com menos de 60 anos e mais de 60 anos.



**Citocromo P450 2D6:**  
*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

**Tabela 15** – Distribuição dos fenótipos para o *CYP 2D6*.

<b>Fenótipo</b>	<b>Grupo Controlo N = 514</b>	<b>Doentes com DP N = 109</b>
<b>PM</b>	40 (7.8)	6 (5.5)
<b>EM</b>	461 (89)	98 (90)
<i>EM</i>	463 (90)	100 (92)
<b>UM</b>	13 (2.5)	5 (4.5)
<i>UM</i>	11 (2.1)	3 (2.7)

**Observações:**

EM, metabolizadores extensivos; PM, metabolizadores lentos; UM, metabolizadores ultra-rápidos.

Valores com letra standard – alelos com atividade indeterminada foram considerados como tendo atividade normal.

Valores com letras em itálicas - alelos com atividade indeterminada foram considerados como sendo não funcionais.

Valores entre parênteses correspondem as frequências.

**Tabela 16** – Frequência alélica para o *CYP 2D6* no grupo de controlo e de doentes com Parkinson.

<b>Alelos CYP 2D6</b>	<b>Frequência (%)</b>		
	<b>Grupo Controlo n = 1028</b>	<b>Grupo dos doentes com Parkinson Total n = 218</b>	<b>Doentes com &lt;60 anos n = 104</b>
<b>*1A</b>	32.6	33.4	34.6
<b>*1B</b>	1.3	0.9	1.9
<b>*2</b>	25	27.5	27.8
<b>*2B</b>	6.9	8.7	9.6
<b>*2D</b>	0.7	0.9	0.96
<b>*3</b>	1.6	1.8	0.96
<b>*4A</b>	18.6	15	15.4
<b>*4D</b>	0.9	0.4	-
<b>*4I</b>	0.09	0.4	0.96
<b>*5</b>	2.8	5.0	3.8
<b>*6B</b>	0.9	1.4	0.96
<b>*9</b>	3.0	2.7	0.96
<b>*10B</b>	1.6	0.4	0.96
<b>*M1</b>	0.09	0.9	0.96



### Citocromo P450 2D6:

Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias

Na tabela 17 encontram-se os resultados obtidos para a distribuição do genótipo do *CYP 2D6* no grupo de doentes de Parkinson espontâneo. Já a tabela 18 mostra os resultados obtidos para os indivíduos com casos de doença de Parkinson na família.

**Tabela 17** – Distribuição dos genótipos para o *CYP 2D6* no grupo de controlo e de doentes com Parkinson (espontâneos).

Genótipo	Fenótipo	Grupo de doentes com Parkinson		
		Grupo Controlo n = 514	Total n = 109	Doentes com <60 anos n = 52
*1A/*1A	EM	57 (11)	13 (12)	8 (15)
*1A/*2	EM	95 (19)	15 (14)	8 (15)
*1A/*2B	EM	17 (3.3)	6 (5.5)	3 (5.7)
*1A/*2D	EM	5 (1)	1 (0.9)	1 (1.9)
*1A/*3	EM	5 (1)	1 (0.9)	-
*1A/*4A	EM	51 (10)	12 (11)	4 (7.7)
*1A/*4I	EM	-	1 (0.9)	1 (1.9)
*1A/*5	EM	11 (2.1)	5 (4.6)	1 (1.9)
*1A/*6B	EM	2 (0.4)	1 (0.9)	-
*1A/*9	EM	9 (1.7)	4 (3.7)	1 (1.9)
*1A/*10B	EM	7 (1.4)	1 (0.9)	1 (1.9)
*1B/*4A	EM	3 (0.6)	1 (0.9)	1 (1.9)
*1B/*5	EM	-	1 (0.9)	1 (1.9)
*2/*2	EM	32 (6.2)	12 (11)	5 (9.6)
*2/*2B	EM	18 (3.5)	5 (4.6)	2 (3.8)
*2/*3	EM	7 (1.4)	1 (0.9)	-
*2/*4A	EM	45 (9)	9 (8.2)	7 (13.5)
*2/*5	EM	6 (1.2)	2 (1.8)	1 (1.9)
*2/*6B	EM	1 (0.2)	1 (0.9)	-
*2/*9	EM	3 (0.6)	1 (0.9)	-
*2/M1	EM	-	2 (0.9)	1 (1.9)
*2B/*2B	EM	5 (1)	2 (1.8)	2 (3.8)
*2B/*4A	EM	17 (3.3)	2 (1.8)	-
*2B/*5	EM	3 (0.6)	2 (1.8)	1 (1.9)
*2D/*4D	EM	-	1 (0.9)	-
*3/*4A	PM	2 (0.4)	2 (1.8)	1 (1.9)
*4A/*4A	PM	22 (4.3)	2 (1.8)	1 (1.9)
*4A/*5	PM	7 (1.4)	1 (0.9)	-
*4A/*6B	PM	3 (0.6)	1 (0.9)	1 (1.9)
*4A/*9	EM	7 (1.4)	1 (0.9)	-

#### Observações:

EM, metabolizadores extensivos; PM, metabolizadores lentos; UM, metabolizadores ultra-rápidos.



**Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

**Tabela 18** – Distribuição dos genótipos para o *CYP 2D6* nos indivíduos com DP no meio familiar.

Genótipo	Fenótipo	Familiares	
		Afetados n = 18	Não afetados n =50
*1A/*1A	EM	2	10
*1A/*1B	EM	-	1
*1A/*2	EM	3	11
*1A/*2B	EM	1	-
*1A/*2D	EM	1	-
*1A/*4A	EM	-	3
*1A/*5	EM	2	2
*1A/*10B	EM	1	-
*2/*2	EM	-	5
*2/*2D	EM	-	2
*2/*4A	EM	2	3
*2/*4D	EM	2	2
*2/*5	EM	2	3
*2/*10B	EM	-	3
*2D/*4A	EM	-	2
*4A/*10B	EM	1	1
*4A/*4D	PM	1	-
*4A/*5	PM	-	1
*4D/*5	PM	-	1

Os resultados de estudo, contrariamente aos resultados prévios obtidos por outros estudos de genotipagem do *CYP 2D6*, mostraram não haver diferenças significativas na distribuição das variantes do *CYP 2D6* em doentes com Parkinson. Também não se verificou diferenças na distribuição do genótipo entre os doentes esporádicos e os doentes com doença de Parkinson no meio familiar, fazendo com que estes resultados não suportem as hipóteses anteriormente propostas. (Sabbagh, et al., 1999)



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

## **9.2. Reflexões finais**

A possibilidade de existir uma variante do *CYP 2D6* que consiga fazer a ativação metabólica de potenciais substância neurotóxicas não é totalmente posta de parte. Contudo se tal existisse iria observar-se uma grande diferença entre os dois extremos de atividade do *CYP 2D6*, entre os metabolizadores pobres e os metabolizadores ultra-rápidos, podendo assim fazer-se a associação de que um determinado fenótipo (e posteriormente o genótipo) do *CYP 2D6* seria um fator de risco para o aparecimento da doença de Parkinson.

Como conclusão, os resultados obtidos pelo estudo de 1999 de Sabbagh *et al.* não refletem que possa existir associação entre o genótipo do *CYP 2D6* como sendo fator de risco para o aparecimento da doença de Parkinson, contudo mais estudos deverão ser feito neste sentido, para tentar perceber se existe alguma relação entre determinadas característica do nosso genoma e risco de ocorrência da Parkinson.

## **10. Conclusão geral**

Sendo o *CYP 2D6* enzima metabolizadora de inúmeros fármacos, alterações na atividade desta podem conduzir a diferentes respostas, como a não produção suficiente de metabolito ativo ou então a produção excessiva deste, levando assim a que tanto a eficácia como a segurança se encontrem comprometida.

Estudos recentes mostram que polimorfismos no *CYP 2D6* são mais frequentes em algumas patologias, sugerindo assim que indivíduos que apresentem estes polimorfismos poderão ter uma maior suscetibilidade para vir a desenvolver determinadas patologias.

O papel do *CYP 2D6* está bem estudado e comprovado, contudo a questão mantém-se, será útil fazer-se um teste genético para iniciar uma terapêutica onde o *CYP 2D6* é a principal enzima de metabolização. Para responder a esta questão temos sempre que pensar no risco/benefício da terapêutica, bem como devemos também incluir o custo associado a esta.



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Como reflexão final concluo que a genotipagem do *CYP 2D6* não é importante quando se inicia alguma terapêutica contudo em casos onde a administração do fármaco pode salvar a vida, esta pode ser bastante importante tal como vimos para o tamoxifeno, onde um metabolizador pobre beneficia menos, podendo assim ser remetido para uma terapêutica oncológica de que beneficiará.

Relativamente à associação entre o *CYP 2D6* e a suscetibilidade para patologias, esta deve ser investigada, não no sentido de perceber se um indivíduo apresentar um polimorfismo se vai ter ou não a patologia, mas perceber em que medida estes polimorfismos afetam o aparecimento da patologia e assim identificar-se mecanismos de atuação da terapêutica que possam conduzir à cura.



## **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

### **11. Bibliografia**

Abraham, B. K. (2001). Genetics polymorphism of CYP 2D6. *Indian Journal of Pharmacology*, Vol 33: 147-169.

Agundez, J. (2004). Cytochrome P450 gene polymorphism and cancer. *Cur Drug Metabol*, Vol. 5, 211–24.

Allanore, Y., Wipff, J., Kahan, A., & Boileau, C. (2007). Genetic basis for systemic sclerosis. *Joint Bone Spin*, Vol. 74, 577–583.

Anne Nguyen, F. D., Weinshilboum, D., Fletcher, R., Skaar, T., & Desta, Z. (15 de Outubro de 2007). *PharmGKB*. Obtido em 11 de Setembro de 2012, de <http://www.pharmgkb.org/pathway/PA145011120>

*Associação Portuguesa de Doentes de Parkinson*. (s.d.). Obtido em 12 de Setembro de 2012, de [http://www.parkinson.org.pt/index.php?view=items&cid=2%3Aparkinson&id=2%3Ao-que-e-a-doenca-de-parkinson&option=com\\_quickfaq&Itemid=107](http://www.parkinson.org.pt/index.php?view=items&cid=2%3Aparkinson&id=2%3Ao-que-e-a-doenca-de-parkinson&option=com_quickfaq&Itemid=107)

Baranska, M., Dziankowska-Bartkowiak, B., Waszczykowska, E., Rychlik-Sych, M., & Skrêtkowicz, J. (2012). Significance of genetic polymorphism of CYP2D6 in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Pharmacological Reports*, Vol. 64, 336-342.

Barañska, M., Dziankowska-Bartkowiak, B., Waszczykowska, E., Rychlik-Sych, M., & Skrêtkowicz, J. (2012). Significance of genetic polymorphism of CYP2D6 in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Pharmacological Reports*, Vol. 64, 336-342.

Bartel, D. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, Vol. 116, 281-297.

Bertalmio, A., Medzihradsky, F., Winger, G., & Woods, J. (1992). Differential influence of N-dealkylation on the stimulus properties of some opioid agonists. *J Pharmacol Exp Ther*, 261: 278–284.

Bijl, M., Visser, L., Hofman, A., Vulto, A., Gelder, T., Stricker, B., et al. (2007). Influence of the CYP2D6\*4 polymorphism on dose, switching and discontinuation of antidepressants. *British Journal of Clinical Pharmacology*, Vol. 65, nº 4, 558–564.

Butler, W., Ryan, P., & Roberts-Thomson, I. (2001). Metabolic genotypes and risk for colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol*, Vol. 16, 631–635.

Calin, G., & Croce, C. (2006). MicroRNA-cancer connection: the beginning of a new tale. *Cancer Res*, Vol. 66:7390-7394.

Coller, J., Krebsfaenger, N., Klein, K., Endrizzi, K., Wolbold, R., Lang, T., et al. (2002). The influence of CYP2B6, CYP2C9 and CYP2D6 genotypes on the formation of the potent antioestrogen Z-4-hydroxy-tamoxifen in human liver. *J. Clin. Pharmacol*, Vol. 54, 157-167.

Corchero, J., Granvil, C., Akiyama, T., Hayhurst, G., Pimprale, S., Feigenbaum, L., et al. (2001). The CYP2D6 humanized mouse: effect of the human CYP2D6 transgene and HNF4alpha on the disposition of debrisoquine in the mouse. *Mol Pharmacol*, Vol:60 pp 1260-1267.



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

- D'Cruz, D. (2000). Autoimmune diseases associated with drugs chemicals and environmental factors. *Toxicol Lett* , 421–432.
- Di Monte, D. L., & Manning-Bog, A. (2002). Environmental factors in Parkinson's disease. *Neurotoxicology* , Vol. 23, 487-502.
- Du, T., & Zamore, P. (2005). microPrimer: the biogenesis and function of microRNA. *Development* , Vol.132, 4645-4652.
- Duursma, A., Kedde, M., Schrier, M., le Sage, C., & Agami, R. (2008). miR-148 targets human DNMT3b protein coding region. *J Nat Cancer Inst* , Vol.96, 936-945.
- Ferraldeschi, R., & Newman, W. G. (2010). The Impact of CYP2D6 Genotyping on Tamoxifen Treatment. *Pharmaceuticals* , vol 3 1122-1138.
- Garcia-Barcelo, M. C. (2000). Genetic analysis of the CYP2D6 locus in Hong Kong Chinese population. *Clin. Chem.* , Vol. 46, 18-23.
- Gaston, C., & Kolesar, J. (2008). Clinical Significance of CYP2D6 Polymorphisms and Tamoxifen in Women with Breast Cancer. *Clinical Advances in Hematology & Oncology* , Vol 6 825-833.
- Goetz, M., Ames, M., Gnant, M., Filpits, M., Jakesz, R., Greil, R., et al. (2008). Pharmacogenetic (CYP2D6) and gene expression profiles (HOXB13/IL17BR and molecular grade index) for prediction of adjuvant endocrine therapy benefit in the ABCSG 8 trial. *San Antonio Breast Cancer Symposium, San Antonio*, (pp. 10-14). San Antonio, TX, USA.
- Goetz, M., Rae, J., Suman, V., Safgren, S., Ames, M., Visscher, D., et al. (2005). Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. *J. Clin. Oncol.* , Vol. 23, 9312-9318.
- Goetz, M., Suman, V., Ames, M., Black, J., Safgren, S., Kuffel, M., et al. (2008). Tamoxifen pharmacogenetics of CYP2D6, CYP2C19, and SULT1A1: long term follow-up of the North Central Cancer Treatment Group 89-30-52 adjuvant trial. *San Antonio Breast Cancer Symposium* , Abstract 6037.
- Gonzalez-Santiago, S., Zárate, R., Haba-Rodríguez, J., Gómez, A., Bandrés, E., Moreno, S., et al. (2007). CYP2D6\*4 polymorphism as blood predictive biomarker of breast cancer relapse in patients receiving adjuvant tamoxifen. *J. Clin. Oncol.* , abstract 590.
- Halling, J., Petersen, M., Damkier, P. ..., Nielsen, F., Grandjean, P., Weihe, P., et al. (2005). Polymorphism of CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 and CYP2C8 in the Faroese population. *J Clin Pharmacol* , Vol. 61, 491-497.
- Ingelman-Sundberg, M. (2005). Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) - Clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J.* , Vol. 5, 6–13.
- Ingelman-Sundberg, M. (2004). Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol* , 369, 89–104.
- Ingelman-Sundberg, M. (2005). Pharmacogenetics of drug-metabolizing enzymes: implications for a safer and more effective drug therapy. *Philosophical Transactions of the Royal Society* , 360, 1563–1570.



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Ingelman-Sundberg, M., Sim, S. C., Gomez, A., & Rodriguez-Antona, C. (2007). Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeepigenetic and clinical aspects. *Pharmacology & Therapeutics* , Vol 116 pp 496-526.

Jin, Y., Desta, Z., Stearns, V., Ward, B., Ho, H., Lee, K., et al. (2005). CYP2D6 genotype, antidepressant use, and tamoxifen metabolism. *J. Natl. Cancer Inst* , vol 97 30-39.

Johnson, M., Zuo, H., Lee, K., Trebley, J., Rae, J., Weatherman, R., et al. (2004). Pharmacological characterization of 4-hydroxy-N-desmethyl. *Breast Cancer Res. Treat.* , Vol 85, 151-159.

Jordan, V., Collins, M., Rowsby, L., & Prestwich, G. (1977). A monohydroxylated metabolite of tamoxifen with potent antioestrogenic activity. *J. Endocrinol* , Vol 75, 305-316.

Kamiyama, Y., Matsubara, T., Yoshinari, K., Nagata, K., Kamimura, H., & Yamazoe, Y. (2007). Role of human hepatocyte nuclear factor 4alpha in the expression of drug-metabolizing enzymes and transporters in human hepatocytes assessed by use of small interfering RNA. *Drug Metab Pharmacokinet* , Vol 22 pp 287-298.

Kirchheiner, J., Brosen, K., Dahl, M., Gram, L., Kasper, S., Roots, I., et al. (2001). CYP2D6 and CYP2C19 genotype-based dose recommendations for antidepressants: a first step towards subpopulation-specific dosages. *Acta Psychiatr Scand* , Vol. 104, 173–92.

Kirchheiner, J., Heesch, C., Bauer, S., Meisel, C., Seringer, A., Goldammer, et al. (2004). Impact of the ultrarapid metabolizer genotype of cytochrome P450 2D6 on metoprolol pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther* , Vol 76, pp 302-312.

Kirchheiner, J., Schmidt, H., Tzvetkov, M., Keulen, J., Lotsch, J., Roots, I., et al. (2007). Pharmacokinetics of codeine and its metabolite morphine in ultra-rapid metabolizers due to CYP2D6 duplication. *The Pharmacogenomics Journal* , Vol. 7, 257–265.

Kitoyani, K., Mushiroda, T., Imamura, C., Hosono, N., Tsunoda, T., Kubo, M., et al. (2010). Significant effect of polymorphisms in CYP2D6 and ABCC2 on clinical outcomes of adjuvant tamoxifen therapy for breast cancer patients. *J.Clin. Oncol.* , Vol. 28 N°8 .

Kiyohara, C. (2000). Genetic polymorphism of enzymes involved in xenobiotic metabolism and risk of colorectal cancer. *J Epidemiol* , Vol. 10, 349–360.

Klein, D., Desta, Z., Nguyen, A., Flockhart, D., Skaar, T., Fletcher, R., et al. (14 de Abril de 2011). *PharmGKB*. Obtido em 25 de Agosto de 2012, de <http://www.pharmgkb.org/pathway/PA145011119>

Levkovich, N., Gorovenko, N., & Myasoedov, D. (2011). Association of polymorphic G1934A variant (allele \*4) of CYP2D6 gene with increased risk of breast cancer development in ukrainian women. *Experimental Oncology* , Vol. 3, 136-139.

*Liga Portuguesa Contra o Cancro*. (21 de Agosto de 2012). Obtido em 22 de Agosto de 2012, de <http://www.ligacontracancro.pt/>

Lim, H., Ju, L. H., Seok Lee, K., Sook Lee, E., Jang, I., & Ro, J. (2007). Clinical implications of CYP2D6 genotypes predictive of tamoxifen pharmacokinetics in metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol* , Vol. 25, 3837–3845.

Llerena, A., Edman, G., Cobaleda, J., Benitez, J., Schalling, D., & Bertils-son, L. (1993). Relationship between personality and debrisoquine hydroxylation capacity. Suggestion of an



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

endogenous neuroactive substrate or product of the cytochrome P4502D6. *Acta Psych Scand* , Vol. 87:23–28.

Lotsch, J., Skarke, C., Schmidt, H., Rohrbacher, M., Hofmann, U., & Schwab, M. (2006). Evidence for morphine-independent central nervous opioid effects after administration of codeine: contribution of other codeine metabolites. *Clin Pharmacol Ther* , 79: 35–48.

Lucotte, G., Turpin, J., Gérard, N., Panserat, S., & Krishnamoorthy, R. (1996). Mutation frequencies of the cytochrome CYP2D6 gene in Parkinson's. *Am J Med Genet* , Vol. 67, 361-365.

Mack, G. (2007). MicroRNA gets down to business. *Nature Biotechnology* , Vol. 25, 631-638.

Mahgoub, A. (1977). Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. *The Lancet* , 584-256.

McElroy, S., Richmond, J., Lira, M., Friedman, D., Silber, B., Milos, et al. (2000). CYP2D6 genotyping as an alternative to phenotyping for determination of metabolic status in a clinical trial setting. *AAPS Pharmsci* , 2 (4) article 33.

Miksys, S., Rao, Y., Hoffmann, E., Mash, D., & Tyndale, R. (2002). Regional and cellular expression of CYP2D6 in human brain: higher levels in alcoholics. *J Neurochem* , Vol 82 pp 1376-1387.

Milman, N., Steig, T., Koefoed, P., Pedersen, P., Fenger, K., & Nielsen, F. (2005). Frequency of the hemochromatosis HFE mutations C282Y, H63D, and S65C in blood donors in the Faroe Islands. *Ann Hematol* , Vol. 84, 146-149.

*Morfina.* (s.d.). Obtido em 24 de Maio de 2012, de [http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0708/g15\\_morfina/codeina.htm](http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0708/g15_morfina/codeina.htm)

Mulder, H., Herder, A., Wilmlink, F., Tamminga, W., Belitser, S., & Egberts, A. (2006). The impact of cytochrome P450–2D6 genotype on the use and interpretation of therapeutic drug monitoring in long-stay patients treated with antidepressant and antipsychotic drugs in daily psychiatric practice. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* , Vol.15, 107–14.

Mulder, H., Wilmlink, F., Beumer, T., Tamminga, W., Jedema, J., & Egberts, A. (2005). The association between cytochrome P450 2D6 genotype and prescription patterns of antipsychotic and antidepressant drugs in hospitalized psychiatric patients: a retrospective follow-up study. *J Clin Psychopharmacol* , Vol. 25, 188–191.

Nambiar, M., Juang, Y., Krishanan, S., & Tsokos, G. (2004). Dissecting the molecular mechanisms of TCR  $\zeta$  chain downregulation and T cell signaling abnormalities in human systemic lupus erythematosus. *Rev Immunol* , Vol.23, 245-63.

Neafsey, P., Ginberg, G., Hattis, D., & Sonawane, B. (2009). Genetic Polymorphism in Cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): Population Distribution of CYP2D6 Activity. *Journal of Toxicology and Environmental Health* , Vol 12 pp 334-361.

Ntukidem, N., Nguyen, A., Stearns, V., M., R., Schott, A., Skaar, T., et al. (2008). Estrogen receptor genotypes, menopausal status, and the lipid effects of tamoxifen. *Clin. Pharmacol. Ther* , Vol.83, 702-710.

Osborne, C. (1998). Tamoxifen in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med* , Vol. 339, 1609-1618.



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Portal da Saúde. (s.d.). Obtido em 14 de Setembro de 2012, de <http://www.min-saude.pt/portal/conteudos/enciclopedia+da+saude/saude+mental/depressao.htm>

Povey, A. G., Wood, M., Knight, C., Black, C., & Silman, A. (2001). Cytochrome P2 polymorphism and susceptibility to scleroderma following exposure to organic solvents. *Arthritis Rheum* , Vol. 44, 662–65.

Rae, J., Sikora, M., Henry, N., Li, L., Kim, S., Oesterreich, S., et al. (2009). Cytochrome P450 2D6 activity predicts discontinuation of tamoxifen therapy in breast cancer patients. *Pharmacogenomics* , Vol.9, 258-264.

Ramamoorthy, A. (2010). *Mechanisms of variability in CYP 2D6 metabolism - The contributions of polymorphisms, copy number variations and microRNA*. Department of Medical and Molecular Genetics.

Ramón, y. C., Altés, A., Paré, L., del Rio, E., Alonso, C., Barnadas, A., et al. (2010). Impact of CYP2D6 polymorphisms in tamoxifen adjuvant breast cancer treatment. *Breast Cancer Res. Treat.* , Vol. 119, 33-38.

Rasmussen, B., & Broesen, K. (2000). Is therapeutic drug monitoring a case for optimizing clinical outcome and avoiding interactions of the selective serotonin reuptake inhibitors? *Ther Drug Monit* , Vol. 22, 143–154.

Roose, S., & Schatzberg, A. (2005). The efficacy of antidepressants in the treatment of late-life depression. *J. Clin Psychopharmacol* , Vol.25 (4 Suppl 1), S1–7.

Sabbagh, N., Brice, A., Marez, D., & Durr, A. (1999). CYP2D6 Polymorphism and Parkinson's Disease Susceptibility. *Movement Disorders* , Vol. 14, No. 2, 230–236.

Sabbagh, N., Marez, D., Queyrel, V., Lo Guidice, J., Spire, C., Vanhille, P., et al. (1998). Genetic analysis of cytochrome P450 CYP2D6 polymorphism in patients with systemic lupus erythematosus. *Pharmacogenetics* , Vol. 8, 191–194.

Sanchez, E., Sabio, J., & Callejas, J. e. (2006). Association study of genetic variants of pro-inflammatory chemokine and cytokine genes in systemic lupus erythematosus. *Medical Genetics* , Vol. 7, 48-55.

Sanjay Harhang, B., & al, e. (2001). CYP2D6 Polymorphism in Parkinson's Disease. *Movement Disorders* , Vol. 16 pp 290 - 293.

Schmidt, H., Vormfelde, S., Walchner-Bonjean, M., Klinder, K., Freudenthaler, S., & Gleiter, C. (2003). The role of active metabolites in dihydrocodeine effects. *Clin Pharmacol Ther* , 41: 95–106.

Schroth, W., Antoniadou, L., Fritz, P., Schwab, M., Muerdter, T., Zanger, U., et al. (2007). Breast cancer treatment outcome with adjuvant tamoxifen relative to patient CYP2D6 and CYP2C19 genotypes. *J. Clin. Oncol.* , Vol. 25, 5187-5193.

Schroth, W., Goetz, M., Hamann, U., Fasching, P., Schmidt, M., Winter, S., et al. (2009). Association between CYP2D6 polymorphisms and outcomes among women with early stage breast cancer treated with tamoxifen. *JAMA* , Vol. 302, 1429-1436.

Silver, R., Heyes, M., Maize, J., Quearry, B., Vionnet-Fuasset, M., & Sternberg, E. (1990). Scleroderma, fasciitis and eosinophilia associated with the ingestion of tryptophan. *N Engl J Med* , Vol 322, 874–881.



### **Citocromo P450 2D6:**

*Variabilidade na terapêutica e na predisposição para patologias*

Singletary, S. (2003). Rating the risk factors for breast cancer. *Ann Surg* , Vol. 237, 474–82.

Skrêtkowicz, J., & Barańska, M. R.-S. (2009). Genetic polymorphisms of CYP2D6 oxidation in patients with systemic sclerosis. *Eur J Clin Pharmacol* , Vol. 65, 971-976.

Stearns, V., Johnson, M., Rae, J., Morocho, A., Novielli, A., Bhargava, P., et al. (2003). Active tamoxifen metabolite plasma concentrations after coadministration of tamoxifen and the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. *J. Natl. Cancer Inst* , Vol 95, 1758-1764.

Steimer W, Z. K. (2005). Amitriptyline or not, that is the question: pharmacogenetic testing of CYP2D6 and CYP2C19 identifies patients with low or high risk for side effects in amitriptyline therapy. *Clin Chem* , Vol. 51, 376-385.

Sun, D., Sharma, A., Dellinger, R., Blevins-Primeau, A., Balliet, R., Chen, G., et al. (2007). Glucuronidation of active tamoxifen metabolites by the human UDP glucuronosyltransferases. *Drug Metab. Dispos* , Vol. 35, 2006-2014.

Takagi, S., Nakajima, M., Mohri, T., & Yokoi, T. (2008). Post-transcriptional regulation of human pregnane X receptor by micro-RNA affects the expression of cytochrome P450 3A4. *J Biol Chem* , Vol. 283, 9674-9680.

Tew, M., Reveille, J., Arnett, F., Friedman, A., McNearney, T., Fischbach, M., et al. (2001). Glutathione S-transferase genotypes in systemic sclerosis and their association with clinical manifestations in early disease. *Genes Immun* , Vol. 2, 236–238.

Thorn, C. (19 de Abril de 2011). *PharmGKB*. Obtido em 11 de Setembro de 2011, de <http://www.pharmgkb.org/pathway/PA146123006>

Tsuchiya, Y., Nakajima, M., Takagi, S., Taniya, T., & Yokoi, T. (2006). MicroRNA regulates the expression of human cytochrome P450 1B1. *Cancer Res* , Vol. 66, 9090-9098.

Wu, X., Hawse, J., Subramaniam, M., Goetz, M., Ingle, J., & Spelsberg, T. (2009). The tamoxifen metabolite, endoxifen, is a potent antiestrogen that targets estrogen receptor alpha for degradation in breast cancer cells. *Cancer Res* , Vol 69, 1722-1727.

Yu, A. K., Rettie, A., & Haining, R. (2002). Expression purification, biochemical characterization, and comparative function of human cytochrome P450 2D6\*1, 2D6\*2, 2D6\*10 and 2D6\*17 allelic isoforms. *J Pharmacol Exp Ther* , Vol. 303, 1291-300.

Zanger, U. (2004). Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* , 369 : 23–37.