

A TERAPÊUTICA COM O OMEPRAZOL: AVALIAÇÃO  
DA POTENCIAL RELAÇÃO COM A  
SUSCETIBILIDADE AO CANCRO



Ana Filipa Ferreira da Costa Palma Inácio

Monografia

Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de  
Professora Doutora Vera Marques Ribeiro





UNIVERSIDADE DO ALGARVE  
Faculdade de Ciências e Tecnologia  
Departamento de Química e Farmácia

A TERAPÊUTICA COM O OMEPRAZOL: AVALIAÇÃO  
DA POTENCIAL RELAÇÃO COM A  
SUSCETIBILIDADE AO CANCRO

Ana Filipa Ferreira da Costa Palma Inácio

Monografia

Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de  
Professora Doutora Vera Marques Ribeiro

# A TERAPÊUTICA COM O OMEPRAZOL: AVALIAÇÃO DA POTENCIAL RELAÇÃO COM A SUSCETIBILIDADE AO CANCRO

## *Declaração de autoria de trabalho*

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

---

**Copyright**© Ana Filipa Ferreira da Costa Palma Inácio. Todos os direitos reservados.

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

À minha avó Maria Amélia,  
A prova de que um grande exemplo  
pode partir de uma pequena grande mulher.

“Onde fica a saída?”, perguntou a Alice ao gato que ria. “Depende”, respondeu o gato.

“De quê?”, replicou Alice; “Depende de para onde quiseres ir...”

Lewis Carroll

## Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus pais, pelo quão exigentes foram comigo, durante toda a minha vida de estudante. À minha querida mãe, razão dos meus, precoces, cabelos brancos, por todo o amor, amizade e ternura, mas também por todas as chamadas de atenção. Ao meu pai, homem da minha vida, pelos bons exemplos, compreensão, carinho e atenção. Agradeço, também, à minha irmã Inês, que eu tanto amo, por toda a amizade e apoio. Sem eles, nunca teria sido possível, nem valeria a pena, desfrutar de toda a essência da minha vida. Também não o teria conseguido sem o apoio dos meus avós, em especial das minhas avós Gena e Melinha. Um grande obrigado por todo o amor incondicional. A toda a minha restante família, agradeço, também, do fundo do meu coração. Sei que estão, todos, muito felizes por estar prestes a encerrar um capítulo tão importante da minha vida.

Gostaria também de agradecer ao meu querido namorado, César. Obrigada por seres a minha rocha.

A todos os meus amigos, em especial à Rita, Ana, Célia, Adriana, Carla, Daniela, Catarina e Cátia, por todos os momentos.

À minha professora e orientadora, Vera Ribeiro Marques, por todo o apoio na construção desta monografia mas, principalmente, por todo o conhecimento e gosto pela Farmacogenómica, que me transmitiu, como professora.

À Ordem dos Farmacêuticos, agradeço todo o apoio na pesquisa de material científico.

Por último, mas não menos importante, gostaria de agradecer aos Serviços Farmacêuticos do Hospital de Beja, pelo carinho com que me receberam.

## RESUMO

---

O omeprazol, principal benzimidazol substituído utilizado na inibição da secreção gástrica, através do bloqueio da ATPase da célula parietal, é um dos 10 fármacos mais prescritos do mundo. Farmacodinamicamente aliciente, dada a sua extraordinária seletividade química, o omeprazol foi um sucesso imediato, desde o seu lançamento, em 1988. Para além da sua eficácia altamente satisfatória, o omeprazol é, à semelhança, um fármaco farmacocineticamente ideal, uma vez que desfruta de um tempo de meia-vida curto, e concentra-se e é ativado no seu local de ação, onde exhibe uma longa duração terapêutica. É considerado um fármaco seguro e não apresenta eventos secundários marcados, nem efeitos a longo prazo, conhecidos, significativos.

A metabolização do omeprazol é da responsabilidade do sistema de Citocromos P450, mais concretamente dos CYP2C19 e CYP3A4. Ambos os enzimas são regulados pelos xenosensores celulares PXR e CAR, os quais estão envolvidos em processos que conduzem à variabilidade da metabolização e excreção do omeprazol.

O omeprazol é indutor dos CYP1A, através de um mecanismo indutor diferente do adotado pela maioria dos agonistas do recetor AhR, responsável pela regulação destes enzimas. A indução dos CYP1A1 e CYP1A2, pelo omeprazol, é efetuada por um processo misto, que consiste na ligação direta, do fármaco, a um local secundário do AhR, que não o sítio ativo e, adicionalmente, através da ativação indireta do recetor, por estimulação da fosforilação do mesmo, mediada por proteínas tirosina cinases.

Os CYP1A estão envolvidos na ativação metabólica de substratos policíclicos e aromáticos, presentes no fumo do tabaco e carnes cozinhadas, em metabolitos eletrofílicos e instáveis, que se ligam covalentemente ao ADN e outras moléculas endógenas, com conseqüente possibilidade de evolução para um quadro tumoral.

Dado a capacidade do omeprazol estimular enzimas envolvidos na geração de substâncias tóxicas e reativas, questionou-se a possibilidade de a terapêutica com o fármaco adicionar risco na suscetibilidade ao cancro. Até à data, estas especulações têm se provado infundadas e após mais de 20 anos de uso clínico, o omeprazol continua a ser um fármaco seguro e prescrito a milhões doentes, todos os anos.

**Termos-chave:** omeprazol, AhR, indução enzimática, CYP1A1, CYP1A2, cancro

## ABSTRACT

---

Omeprazole, a substituted benzimidazole used in the inhibition of gastric secretion, by blocking the ATPase of the parietal cell, is one of the 10 most prescribed drugs all over the world. Omeprazole is pharmacodynamically attractive, given its extraordinary selectivity and was an instant success since its launch in 1988. Apart from its highly satisfactory efficacy, omeprazole is, similarly, a pharmacokinetically ideal drug since it has a short half-life and it's activated and concentrated at its site of action, where it shows a long duration therapy. It is considered a safe drug and expresses no severe side effects or marked long term effects.

The metabolism of omeprazole is mediated by the Cytochrome P450 system, specifically CYP2C19 and CYP3A4. Both enzymes are regulated by PXR and CAR, which are involved in processes leading to variability in the metabolism and excretion of omeprazole.

Omeprazole is an inducer of CYP1A, through a different mechanism from those adopted by most AhR agonists. The induction of CYP1A1 and CYP1A2, by omeprazole, is performed by a dual process which consists in linking the drug to a secondary location of AhR other than the active site and phosphorylation of the receptor by protein tyrosine kinases.

CYP1A are involved in metabolic activation of polycyclic aromatic substrates, present in tobacco smoke and charcoal-grilled meat, in electrophilic and unstable metabolites, which bind covalently to DNA and other endogenous molecules, with consequent possibility of evolution to cancer.

Given the ability of omeprazole to stimulate enzymes involved in the generation of toxic and reactive substrates, we question the possibility that omeprazol add susceptibility to the risk of cancer. To date, these speculations have proved unfounded and after over 20 years of clinical use, omeprazole continues to be a safe drug prescribed to millions of patients every year.

**Keywords:** omeprazole, AhR, enzyme induction, CYP1A1, CYP1A2, cancer

## ÍNDICE

---

Resumo .....	8
Abstract .....	9
Índice de Figuras .....	12
Índice de Tabelas .....	13
Lista de Siglas e Abreviaturas .....	14
1. Introdução .....	19
2. O Omeprazol .....	21
2.1. Nota Histórica .....	21
2.2. Estrutura e Classificação .....	22
2.3. Propriedades Farmacodinâmicas .....	23
2.3.1. Fisiologia da secreção gástrica .....	23
2.3.2. Mecanismo de Ação .....	26
2.4. Propriedades Farmacocinéticas .....	28
2.4.1. Absorção .....	28
2.4.2. Distribuição .....	29
2.4.3. Metabolismo .....	29
2.4.4. Excreção .....	31
2.5. Utilização Clínica .....	31
2.6. Reações Adversas .....	32
2.7. Interações Medicamentosas .....	33
3. O sistema enzimático dos citocromos P450 .....	36
3.1. CYP1A1 e CYP1A2 .....	37
3.1.1. Efeitos da metabolização dos PAHs pelos CYP1A .....	40
3.1.2. Efeitos da metabolização das Aminas Heterocíclicas e Aromáticas pelos CYP1A .....	43
3.2. CYP2C19 .....	46
3.2.1. Variantes Polimórficas com significado clínico na terapêutica com o Omeprazol .....	48
3.3. CYP3A4 .....	49
4. Indução enzimática dos Citocromos P450 .....	53
4.1. Indução mediada pelo AhR .....	57

4.1.1. Papel do AhR no risco à Toxicidade Ambiental e Cancro.....	61
4.2. Indução mediada pelo PXR e CAR .....	64
4.2.1 PXR.....	68
4.2.2 CAR .....	71
5. Indução enzimática pelo Omeprazol .....	75
5.1 O Omeprazol como indutor dos CYP1A – A história do mecanismo de ativação indireta do AhR.....	75
5.2 Mecanismo indutor do Omeprazol .....	81
5.3 Papel do CYP3A4 na regulação do AhR, pelo sulfureto de omeprazol .....	83
5.4 Vantagens da utilização do Omeprazol como indutor dos CYP1A.....	85
6. Risco da utilização do Omeprazol a longo prazo .....	86
6.1. A terapêutica com o omeprazol e a variabilidade interindividual.....	87
6.2. A terapêutica com o omeprazol <i>versus</i> estilos de vida.....	88
6.3. A terapêutica com o omeprazol – Perspetivas de estudos futuros.....	90
7. Conclusão.....	92
8. Referências Bibliográficas.....	95

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

Figura 2.1 – Estrutura química do omeprazol.....	22
Figura 2.2 - Isómeros S e R do omeprazol.....	22
Figura 2.3 – Modelo esquemático da fisiologia da secreção gástrica.....	23
Figura 2.4 – Processo de indução da produção de ácido, pela célula parietal.....	25
Figura 2.5 – Mecanismo de ação do omeprazol.....	27
Figura 2.6 – Modelo esquemático da biotransformação, hepática, do omeprazol.....	29
Figura 3.1 – Representação da conversão enzimática do benzo(a)pireno.....	41
Figura 3.2 – Mecanismo mutagénico do metabolito tóxico do BaP.....	42
Figura 3.3 – Estrutura química da PhIP.....	44
Figura 3.4 – Mecanismo de ativação das aminas aromáticas/heterocíclicas.....	45
Figura 3.5 – Estrutura química do 2-aminonaftaleno.....	46
Figura 4.1 – Esquema de indução dos CYP1A.....	58
Figura 4.2 – Mecanismo de indução pelos xenosensores CAR e PXR.....	64
Figura 5.1 – Indução do mRNA CYP1A1, em linhas celulares humanas.....	76
Figura 5.2 –Modelo proposto como mecanismo geral de indução dos CYP1A.....	81
Figura 5.3 – Recrutamento das proteínas AhR e ARNT para indução dos CYP1A1, mediada pelo omeprazol.....	82
Figura 5.4 – Mecanismo interativo entre o PXR/CYP3A4 e o AhR.....	84
Figura 6.1 – Inibição dos Citocromos P450 1A1, 1A2 e 3A4 humanos, pelo omeprazol, em indivíduos expostos ao BaP.....	89

## ÍNDICE DE TABELAS

---

Tabela 2.1 – Marcadores farmacocinéticos dos diferentes inibidores da bomba de prótons.....	28
Tabela 3.1 – Substratos, indutores e inibidores do CYP1A.....	38
Tabela 3.2 – Principais fármacos, indutores e inibidores do Citocromo P450 2C19.....	47
Tabela 3.3 – Principais fármacos, indutores e inibidores do Citocromo P450 3A4.....	51
Tabela 4.1 – Principais características dos recetores mediadores de indução AhR, CAR e PXR.....	56

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

---

3MC – 3-metilcolantreno

3-OH OME – 3-hidroxiomeprazol

5'-desmetil OME – 5'-O-desmetilomeprazol

5-OH OME – 5-hidroxiomeprazol

ABCB1 - Transportador de Efluxo Dependente de ATP, membro 1 da sub-família B (*"ATP-binding cassette, sub-family B member 1"*); P-gp; MDR-1

AC – Adenilciclase (*"Adenyl Cyclase"*)

ACh – Acetilcolina (*"Acetylcholine"*)

ACh-R - Recetor da Acetilcolina (*"Acetylcholine Receptor"*)

ADN - Ácido Desoxirribonucleico; DNA

ADPF – Fator Promotor da Degradação do AhR (*"AhR Degradation Promoting Factor"*)

AhR – Recetor dos Hidrocarbonetos Aromáticos (*"Aryl Hydrocarbon Receptor"*),

AINEs – Anti-inflamatórios Não Esteróides

AIP – Proteína de Interação com o AhR (*"AhR Interacting Protein"*)

AKR - Aldo-Ceto Redutase (*"Aldo-Keto Reductase"*)

ALAS –  $\delta$ -Aminolevulinato Sintetase (*" $\delta$ -Aminolevulinate Synthase"*)

ALDH – Aldeído Desidrogenase (*"Aldehyde Dehydrogenase"*)

AMP - Monofosfato de Adenosina (*"Adenosine Monophosphate"*)

AMPK - Proteína Cinase Ativada pela Adenosina Monofosfato (*"Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase"*)

ARN - Ácido Ribonucleico; RNA

ARNT - Translocador Nuclear do Recetor dos Hidrocarbonetos Aromáticos (*"Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator"*)

ASC-2 - Co-integrador de Sinal Activador (*"Activating Signal Cointegrator-2"*)

ATP – Trifosfato de Adenosina (*"Adenosine Triphosphate"*)

AUC - Área Sob a Curva (*"Area Under Curve"*), exposição total de um organismo a um fármaco

BaP – Benzo(a)pireno

BNF –  $\beta$ -naftoflavona

Ca<sup>2+</sup> - Cálcio

cAMP - Monofasto Cíclico de Adenosina (*"Cyclic Adenosine Monophosphate"*)

CAR - Recetor Constitutivo dos Androstanos (*"Constitutive Androstane Receptor"*),  
NR113

CES - Carboxilesterase

CCK – Colecistonina, ou colecistoquinina (*"Cholecystokinina"*)

CCRP - Proteína Citoplasmática de Retenção do CAR (*"Cytoplasmic CAR-Retention Protein"*)

CH-223191 – Ácido 2-metil-2H-pirazol-3-carboxílico (2-metil-4-o-tolilazo-fenil)-amida

CITCO - 6- (4-clorofenil)imidazo[2,1-b][1,3]tiazol-5-carbaldeideO-(3,4-diclorobenzil)oximo

CYP – Citocromo P450

DAG – Dialciliglicerol (*"Diacylglycerol"*)

DBD - Domínio de Ligação ao DNA (*"DNA-Binding Domain"*)

DNA - Ácido Desoxirribonucleico (*"Deoxyribonucleic Acid"*); ADN

DR - Repetição Direta (*"Direct Repeat"*)

DR-3 - Repetição Direta Separada por 3 Nucleótidos (*"Direct Repeat Separated by 3 Nucleotides"*),

DR-4 - Repetição Direta Separada por 4 Nucleótidos (*"Direct Repeat Separated by 4 Nucleotides"*)

DRE - Elementos de Reposta à Dioxina (*"Dioxin-responsive Element"*); XRE

ECL (Cells) - Células enterocromafins (*"Enterochromaffin-like Cells"*)

EM – Metabolizadores Rápidos (*"Extensive Metabolizers"*)

ER - Repetição "Evertida" (*"Everted Repeat"*)

ER-6 - Sequência "Evertida" Separada por 6 Nucleótidos (*"Everted Repeat Separated by 6 Nucleotides"*)

ER-8 - Sequência "Evertida" Separada por 8 Nucleótidos (*"Everted Repeat Separated by 8 Nucleotides"*)

ET-743 - Trabectedina

FDA – *"Food and Drug Administration"*

FoxO1 - Proteína *Forkhead Box O1*

FXR - Recetor X de Farnesóides (*"Farnesoid X Receptor"*)

G/CCK-B-R - Recetor B da Gastrina e da Colecistocinina (*"Gastrin/Cholecystokinin B Receptor"*)

GERD – Doença do refluxo gastroesofágico (*"Gastroesophageal Reflux Disease"*)

GR - Recetor dos Glucocorticóides (*"Glucocorticoid Receptor"*)

GRP-R – Recetor peptídico libertador de gastrina (*"Gastrin-releasing Peptide Receptor"*)

GST – Glutathione-S-Transferase

H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase – Bomba de Protões; Trifosfatase de Adenosina Sódio/Potássio (*"Sodium-potassium adenosine triphosphatase"*)

H<sub>2</sub> - Histamina

H<sub>2</sub>-R – Recetor 2 da Histamina

HCA's – Aminas Heterocíclicas (HCA's – *"Heterocyclic Amines"*)

HIF-1 $\alpha$  - Fator Induzido por Hipoxia 1, subunidade  $\alpha$  - *"Hypoxia-inducible factor 1, alpha subunit"*)

hsp90 - Proteína de Choque Térmico 90 (*"Heat-shock Protein 90"*)

IP<sub>3</sub> – Trifosfato de inositol (*"Inositol Triphosphate"*)

IQ - 2-amino-3- metilimidazol[4,5-f]quinolina

IR - Repetição Invertida (*"Inverted Repeated"*)

IRS – Sequência de Resposta à Insulina (*"Insulin-Response Sequence"*),

LBD - Domínio de Ligação ao Ligando (*"Ligand-Binding Domain"*)

M<sub>3</sub>-R - Recetor Muscarínico 3 (*"Muscarinic Receptor 3"*)

mARN - ARN Mensageiro; mRNA

MDR - Proteína Responsável pela Resistência Múltipla a Fármacos (*"Multidrug Resistance Protein "*), ou ABCB

MDR1 - Proteína Responsável pela Resistência Múltipla a Fármacos 1 (*"Multidrug Resistance Protein 1"*); P-gp; ABCB1

mEH - Epóxido Hidrolase Microssomal (*"Microsomal Epoxide Hydrolase"*)

MeIQ - 2-amino-3,4-dimetilimidazol[4,5-f]quinolina

MeIQx - 2-amino-3,8- dimetilimidazol[4,5-f]quinolina

mRNA – ARN Mensageiro (*"Messenger RNA"*), mARN

MRP – Proteínas Associadas à Resistência Múltipla (*"Multidrug resistance-associated protein"*) ou ABCC

NAT – N-Acetiltransferase

NCOR2 - Co-repressor do Recetor Nuclear 2 (“*Nuclear Receptor Co-repressor 2*”), SMRT

NF- $\kappa$ B - Fator Nuclear *kappa*-B (“*Nuclear Factor kappa-B*”)

NR1I2 - Membro 2, do Grupo I, da Subfamília 1, dos Recetores Nucleares (“*Nuclear Receptor Subfamily 1, Group I, Member 2*”), PXR

NR1I3 - Membro 3, do Grupo I, da Subfamília 1, dos Recetores Nucleares (“*Nuclear Receptor Subfamily 1, Group I, Member 3*”), CAR

OATP - Polipéptidos de Transporte de Aniões Orgânicos (“*Organic Anion Transporting Polypeptides*”)

OME – Omeprazol

OMS – Sulfureto de Omeprazol

P-gp - Glicoproteína-p (“*P-glycoprotein 1*”); ABCB1; MDR-1

PAHs – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (“*Polycyclic aromatic hydrocarbons*”)

PAPSS – 3'-Fosfoadenosina 5'-fosfosulfato Sintase (“*3'-Phosphoadenosine 5'-phosphosulfate Synthase*”)

PBP - Proteína de Ligação ao Recetor Activado pela Proliferação de Peroxissoma (“*Peroxisome Proliferator-activated Receptor Binding Protein*”)

PBREM - Elementos de Resposta ao Fenobarbital (“*Phenobarbital Responsive Enhancer Module*”)

PHAHs - Hidrocarbonetos Aromáticos Polihalogenados (“*Polyhalogenated Aromatic Hydrocarbons*”)

PhIP - 2-amino-1-metil-6-fenilimidazol[4,5-*b*]piridina

PHS - Prostaglandina H Sintase (“*Prostaglandin H Syntase*”)

PIP<sub>2</sub> - 4,5-bifosfato de fosfatidilinositol (“*Phosphatidylinositol 4,5-biphosphate*”)

PK11195 - 1-(2-clorofenilmetilpropil)-3-isoquinolina-carboxamida

PLC – Fosfolipase C (“*Phospholipase C*”),

PM – Metabolizador Lento (“*Poor Metabolizer*”)

PPAR $\alpha$  - Recetor  $\alpha$  Activado por Proliferadores do Peroxissoma (“*Peroxisome Proliferator Activated Receptor-Alpha*”)

PPi - Pirofosfato Inorgânico (“*Inorganic Pyrophosphate*”)

PPI - Inibidores da Bomba de Protões (“*Proton Pump Inhibitors*”)

PPP1R16A – Subunidade da Proteína Fosfatase 1 Associada à Membrana; R16A

PTK - Proteína Tirosina Cinase (*"Protein Tyrosine Kinase"*)

PXR - Recetor X de Pregnanos (*"Pregnane X Receptor"*), NR1I2

PXRE - Elemento de Resposta do PXR (*"PXR Response Element"*)

R-ome – Isómero R do Omeprazol

RAC3 - Co-ativador Associado ao Recetor 3 (*"Receptor-Associated Coactivator 3"*)

RE – Retículo Endoplasmático

RIF - Rifampicina

RNA - Ácido Ribonucleico (*"Ribonucleic Acid"*)

RXR - Recetor X Retinóide (*"Retinoid X Receptor"*)

S-ome – Isómero S do Omeprazol

S20 - C-ciclopropilalquilamida

SEH - Epóxido Hidrólase Solúvel (*"Soluble Epoxide Hydrolase"*)

SHP - Pequeno Parceiro Heterodimérico 1 (*"Small Heterodimer Partner-1"*)

SMRT - Mediador Silenciador dos Recetores dos Retinóides e Hormonas Tiroideas (*"Silencing Mediator for Retinoid or Thyroid-hormone Receptors"*), NCOR2

SNP – Polimorfismo de um só nucleótido (*"Single-nucleotide Polymorphism"*)

Somatostatin-R – Recetor da Somatostatina (*"Somatostatin receptor"*)

Sp1 - Proteína Especificante 1 (*"Specificity Protein 1"*),

SRC-1 - Co-ativador 1 do Recetor Esteróide (*"Steroid Receptor Coactivator-1"*)

SULT - Sulfotransferase

SXR - Recetor X de Esteróides (*"Steroid X Receptor"*)

$t_{1/2}$  – Tempo de Meia Vida

TCDD - 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (*"2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin"*)

TCPOBOP - 1,4-bis[2(3,5-dicloropiridiloxi)]benzeno

UGT – UDP-Glucuronosiltransferase (*"UDP-Glucuronosyltransferase"*)

VDR - Recetor da Vitamina D (*"Vitamin D Receptor"*)

WT – *Wild-type*, genótipo de indivíduos portadores de 2 alelos não mutados de um determinado local polimórfico

XRE – Elementos de Resposta a Xenobióticos (XRE - *"Xenobiotic Response Element"*);  
DRE

XREM – Módulo Potenciador de Resposta a Xenobióticos (*"Xenobiotic Responsive Enhancer Module"*)

## 1. INTRODUÇÃO

---

O omeprazol (OME) consiste num bloqueador da bomba de prótons altamente utilizado no tratamento das patologias gastrointestinais, associadas a fenómenos hipersecretórios, como a dispepsia, úlcera péptica, esofagite de refluxo ou, mesmo, o síndrome de *Zollinger-Ellison*, dado o seu eficiente efeito terapêutico no bloqueio da secreção gástrica, pela célula parietal da mucosa gástrica (Ma & Lu, 2007).

O sistema dos Citocromos P450 envolve um grupo de enzimas altamente especializadas na biotransformação, ativação e destoxificação de substâncias estranhas, como é o caso dos fármacos e poluentes ambientais. Neste sistema inserem-se os CYP1A, constituídos pelos enzimas CYP1A1 e CYP1A2. Ambos estão envolvidos na metabolização de algumas moléculas de carácter farmacológico, mas também na bioativação de determinadas substâncias, cujos metabolitos resultantes apresentam um perfil toxicológico muitíssimo mais marcado e, por isso, uma maior capacidade em contribuir para o dano biológico, que pode ir desde a destabilização de proteínas endógenas até à formação de adutos e mutações no material genético celular (Lemaire, *et al.*, 2004). Um dos exemplos mais conhecidos deste fenómeno consiste na transformação de compostos presentes no fumo do tabaco, como o benzo(a)pireno, em epóxidos eletrofílicos, altamente instáveis e mutagénicos (Gelboin, 1980). Com isto, pretende-se apresentar os CYP1A como os enzimas que, em parte, determinam a toxicidade, mutagénese e carcinogénese de químicos ambientais nocivos e cuja variabilidade genética parece estar associada a diferentes comportamentos individuais humanos no que concerne ao resultado da exposição a estes compostos. Os CYP1A são altamente indutíveis no fígado, pulmão, pele e rim, num processo mediado pelo Recetor dos Hidrocarbonetos Aromáticos (AhR – “*Aryl Hydrocarbon Receptor*”). Ironicamente, os indutores mais potentes deste recetor são os próprios substratos dos CYP1A, como é o caso dos Hidrocarbonetos Aromáticos e das Aminas Policíclicas, o que contribui, inevitavelmente para o chamado “efeito dominó” – quanto mais tentar destoxificar estas moléculas, mais espécies mutagénicas vou produzir, uma vez que, na exposição ao poluente, estarei, adicionalmente, a estimular esta enzima bioativadora (Ma & Lu, 2003).

O omeprazol, apesar de não ser estruturalmente homólogo, ou mesmo semelhante, aos agonistas do AhR, detém capacidade para induzir este recetor, embora não através do mecanismo padrão de indução dos CYP1A (Diaz, et al., 1990; Kikuchi, *et al.*, 1998). Dada a sua interferência nos processos enzimáticos envolvidos na temática da toxicidade genética, coloca-se a possibilidade do omeprazol poder intervir na suscetibilidade ao cancro humano (Ma & Lu, 2007) e, se sim, quais são as repercussões futuras que um procedimento destes pode ter em termos de saúde pública, dada a larga extensão de população que desfruta do tratamento com inibidores da bomba de prótons, em especial do omeprazol, aliada à exposição a moléculas bioativadas pelos CYP1A. Este texto pretende avaliar, em termos de literatura científica, os contributos já lançados na perceção e avaliação desta possibilidade.

## 2. O OMEPRAZOL

---

### 2.1. NOTA HISTÓRICA

---

Há quase 40 anos atrás, doenças do foro gastrointestinal, como a gastrite, a azia e as úlceras duodenais, associadas a níveis elevados e inapropriados de ácido gástrico, eram o dia-a-dia de milhões de pessoas, para as quais existia pouca, ou em certos casos nenhuma, opção terapêutica.

O tratamento de doenças relacionadas com a acidez gástrica teve o seu *boost* no final de 1970, com o aparecimento dos compostos antagonistas do recetor 2 da histamina (H<sub>2</sub>-R), tais como a cimetidina e a ranitidina. Através do seu efeito inibitório gástrico, esta classe de fármacos proporcionou alívio dos sintomas e melhorou o prognóstico das doenças gástricas, reduzindo a necessidade de cirurgia (Olbe, Carlsson, & Lindberg, 2003). No entanto, os bloqueadores H<sub>2</sub> detinham uma curta duração de ação, assim como flutuações indesejáveis dos níveis de ácido gástrico. Além disso, falharam na resposta à doença do refluxo gastroesofágico (GERD – *Gastroesophageal reflux disease*) e ao Síndrome de Zollinger-Ellison (Katzung, *et al.*, 2009).

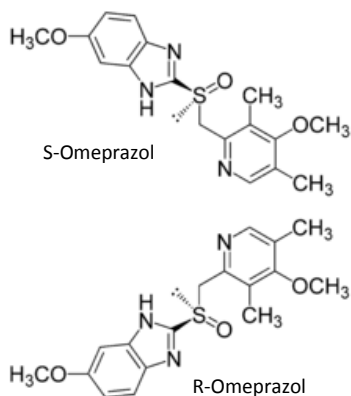
Desde 1960 que a empresa farmacêutica Astra® procurava um fármaco capaz de inibir a secreção gástrica e com o lançamento dos antagonistas H<sub>2</sub>, a indústria encontrou a sua inspiração e começou na busca de uma molécula capaz de inibir a fase final da produção gástrica: a bomba de prótons das células parietais do estômago. A empresa focou-se em imidazóis, mais especificamente em benzimidazóis, em parte devido ao facto de a cimetidina e derivados serem desta classe e após anos de investigação e dedicação surgiu, enfim, em 1979, o omeprazol (OME). Em 1982, começaram os testes em humanos, os quais exibiram resultados altamente satisfatórios e em 1988 o omeprazol foi finalmente aprovado pela FDA (Olbe, *et al.*, 2003; Katzung *et al.*, 2009).

Após o seu lançamento, o omeprazol tornou-se um sucesso, sendo, mesmo, considerado o fármaco mais vendido, em todo o mundo, nos anos 90. Em 1999, contava já com vendas mundiais correspondentes a 5,9 mil milhões de dólares e na primeira metade de 2001 as vendas ascendiam aos 14 mil milhões. Neste mesmo ano, o omeprazol perdeu a sua patente e não demorou até que múltiplas empresas de genéricos o produzissem. Existem, hoje, 4 derivados do omeprazol: Esomeprazol,

Lansoprazol, Pantoprazol e Rabeprazol, disponíveis, fruto de várias indústrias farmacêuticas (Katzung *et al.*, 2009).

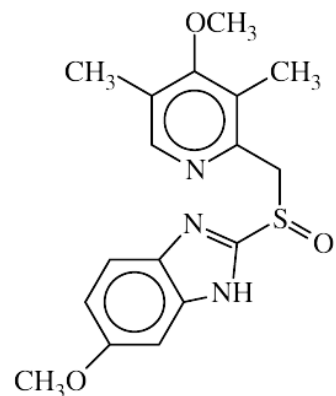
## 2.2. ESTRUTURA E CLASSIFICAÇÃO

Pertencente à família dos benzimidazóis, o omeprazol é um 5-metoxi-2-[[[4-metoxi-3,5-dimetil-2-piridinil]metil]sulfinil]-1H-benzimidazol, cuja fórmula empírica é  $C_{17}H_{19}N_3O_3S$  e apresenta um peso molecular de 345,42 (AstraZeneca, 2012). Este fármaco apresenta certas características importantes, próprias do seu mecanismo de ação: é uma base fraca, o que significa que se dirige e acumula em compartimentos ácidos; é lipofílico, o que



**Figura 2.2 - Isómeros S e R do omeprazol (Olbe, *et al.*, 2003)**

lhe permite penetrar, facilmente, as membranas celulares; e, apesar de quimicamente estável a pH neutro, é altamente instável a pH ácido, pelo que é revestido por uma cápsula gastro-resistente, que só o liberta após abandonar o estômago (Brunton, *et al.*, 2006).



**Figura 2.1 - Estrutura química do omeprazol (Brunton, *et al.*, 2006)**

A sua estrutura química, representada na figura 2.1, contém um grupo sulfóxido, o que lhe confere o estatuto de mistura racémica, constituída por 2 isómeros,

R e S (moléculas de forma idêntica, mas invertida, sobreponíveis em frente ao espelho), numa proporção de um para um (figura 2.2). Comparativamente ao racemato e ao isómero R, o isómero S do omeprazol está associado, no humano, a uma biodisponibilidade e potencialidade para inibir a secreção gástrica bastante superior. Por esta razão, o isómero S do omeprazol começou, em 2000, a ser comercializado individualmente, com o nome de esomeprazol (Olbe, *et al.*, 2003). Cinco anos antes, em 1995, foi aprovado o lansoprazol e em 2002 saíram para o mercado o pantoprazol e o rabeprazol (CenterWatch, 2012). A diferença entre os diversos derivados do omeprazol reside nas distintas substituições nos seus grupos

funcionais, que afetam, maioritariamente, a biodisponibilidade, tempo de meia-vida no plasma e dose terapêutica dos compostos (Katzung, *et al*, 2009).

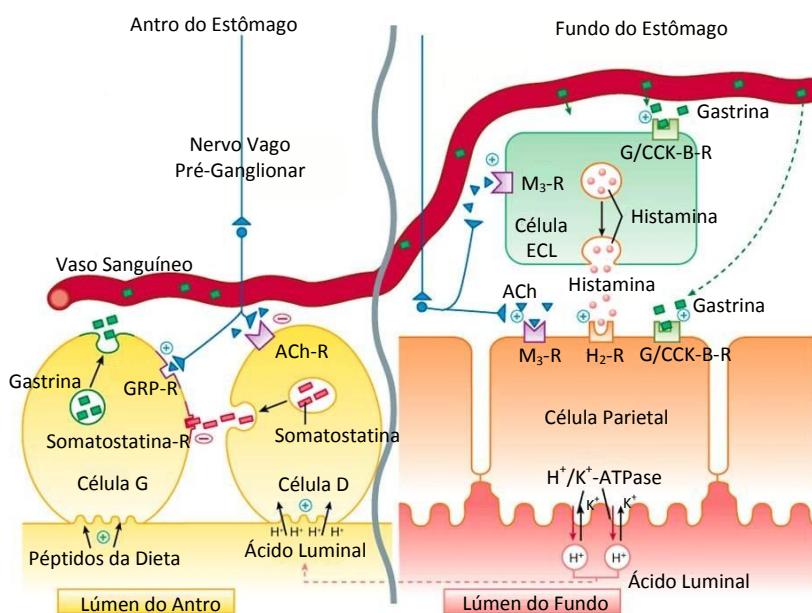
### 2.3. PROPRIEDADES FARMACODINÂMICAS

O omeprazol, à semelhança de outros inibidores da bomba de prótons (PPI – “Proton Pump Inhibitors”), atua na etapa final da secreção gástrica. O seu mecanismo de ação está bem estudado e esclarecido e é centrado na bomba de prótons da célula parietal (ou oxíntica). O modo de atuação dos inibidores da bomba de prótons é mais bem compreendido quando se conhece o modo como a regulação fisiológica da secreção gástrica (Figura 2.3) é conseguida, o que será explicado a seguir (Junqueira & Carneiro, 2004; Brunton, *et al.*, 2006; Katzung, *et al.*, 2009).

#### 2.3.1. FISIOLOGIA DA SECREÇÃO GÁSTRICA

O arranque da produção gástrica acontece por consequência de um estímulo, no bulbo raquidiano, derivado do cheiro e sabor dos alimentos, da sensação táctil, na boca, ou, até, do simples pensamento em comer. Estes estímulos desencadeiam um potencial de ação,

que percorre os neurónios parassimpáticos, do nervo gago, desde o bulbo até ao estômago. Uma vez na parede deste, o terminal do neurónio liberta acetilcolina (ACh –



**Figura 2.3 - Modelo esquemático da fisiologia da secreção gástrica (Katzung, *et al.*, 2009)**

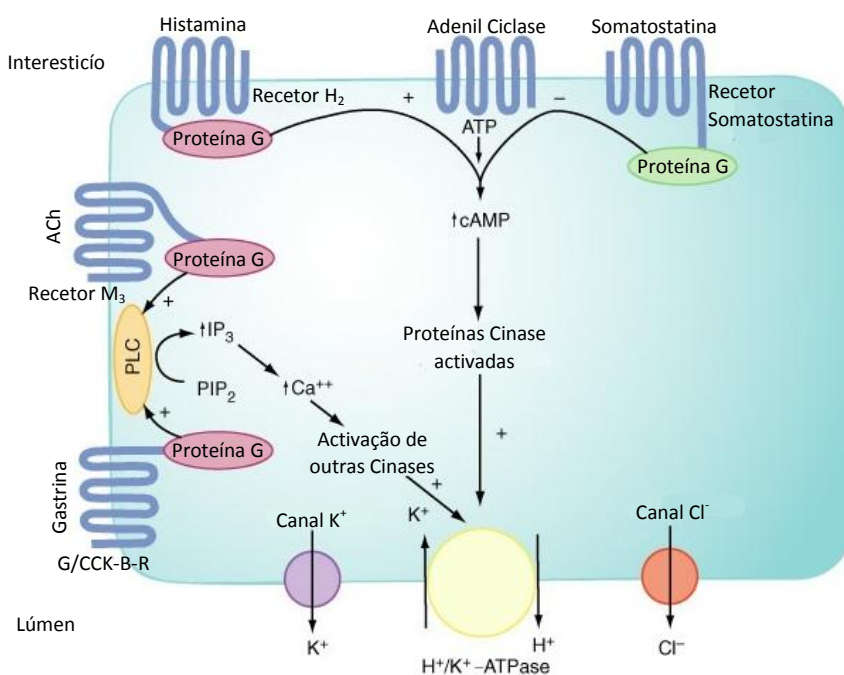
quatro locais distintos: ao recetor peptídico libertador de gastrina (GRP-R – “Gastrin-realising Peptide Receptor”) das células enteroendócrinas G, ao recetor da acetilcolina

(ACh-R – “*Acetylcholine Receptor*”) das células enteroendócrinas D, ao recetor muscarínico 3 (M<sub>3</sub>-R – “*Muscarinic Receptor 3*”) das células parietais e ao recetor M<sub>3</sub>-R das células enterocromafins (ECL Cells – “*Enterochromaffin-like Cells*”). Consoante a célula a que se liga, a acetilcolina provoca diferentes reações (Junqueira & Carneiro, 2004; Brunton, *et al.*, 2006; Katzung, *et al.*, 2009).

A ligação da ACh ao M<sub>3</sub>-R, da célula parietal, induz a libertação de ácido através de uma via dependente de cálcio (Ca<sup>2+</sup>) (Brunton, Lazo, & Parker, 2006). Esta via inicia-se com a ligação do neurotransmissor ao recetor que, através da proteína G (proteína envolvida na transdução de sinais celulares), estimula a fosfolipase C (PLC – “*phospholipase C*”), responsável pela clivagem dos fosfolípidos, da membrana, imediatamente antes do seu grupo fosfato. A fosfolipase C hidrolisa o 4,5-bifosfato de fosfatidilinositol (PIP<sub>2</sub> – “*Phosphatidylinositol 4,5-biphosphate*”) conduzindo à formação de trifosfato de inositol (IP<sub>3</sub> – “*Inositol Triphosphate*”) e diacilglicerol (DAG – “*Diacylglycerol*”). O IP<sub>3</sub>, por sua vez, promove o aumento do cálcio, a partir da mobilização das reservas de cálcio intracelulares, activando proteínas cinases, responsáveis pela ativação da bomba de protões, H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase (“*Sodium-potassium adenosine triphosphatase*”) (Damiani, 2005; Misodor, 2009). A H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase é constituída por 2 unidades: uma subunidade α, onde se situa o sítio ativo do enzima, responsável pela troca do Hidrogénio (H<sup>+</sup>), intracelular, pelo Potássio (K<sup>+</sup>), extracelular e uma subunidade β, encarregue da estabilidade e funcionalidade da bomba. O ião hidrogénio, constituinte do ácido gástrico (Ácido Clorídrico – HCl), é conseguido, no interior da célula parietal, através da reação entre dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e água (H<sub>2</sub>O), catalisada pela anidrase carbónica, com consequente formação de ácido carbónico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Posteriormente, a dissociação do H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> resulta em iões H<sup>+</sup> e bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (Seeley, *et al.*, 2003). Quando activada, a bomba de protões promove a troca de iões H<sup>+</sup>, intracelulares, por K<sup>+</sup>, extracelulares. Esta troca é acompanhada pela expulsão de iões cloreto (Cl<sup>-</sup>), via canais de cloro, localizados na membrana apical da célula. No exterior da célula parietal, o H<sup>+</sup> e o Cl<sup>-</sup> associam-se, formando ácido clorídrico (Potrich, 2009). Apesar da saída de iões Cl<sup>-</sup>, da célula, a expulsão de iões H<sup>+</sup> acarreta um gasto energético, uma vez que o transporte é contra um gradiente de concentração acentuado (em mais um milhão de vezes), meramente reduzido, mas não anulado, pela saída do cloro. Devido a esta necessidade energética,

a célula parietal apresenta o maior conteúdo em mitocôndrias do que qualquer outra célula do organismo, representado por 34% do seu volume celular.

Ao mesmo tempo que o processo anterior se processa, a ACh liga-se, igualmente, ao recetor GRP-R das células enteroendócrinas G e estimula, de forma direta, a produção de gastrina, hormona esta que deriva do processamento (clivagem) pós-tradução da pré-pró-gastrina (Misodor, 2009). Além do estímulo da ACh, os péptidos da dieta, presentes no estômago, podem também induzir a célula a produzir esta hormona. Assim que é libertada, a gastrina entra na circulação e ao atingir a



mucosa da parte superior do estômago (fundo), liga-se ao recetor B da Gastrina e da Colecistocinina (G/CCK-B-R – “Gastrin/Cholecystokin B Receptor”) nas células parietais e nas células ECL (de

**Figura 2.4 - Processo de indução da produção de ácido, pela célula parietal (Misodor, 2009).**

notar que o recetor ao qual a

gastrina se liga, é também o local de ligação da hormona colecistocinina, ou colecistoquinina (CCK), referida mais adiante). Da ligação, à célula parietal, deriva a produção de ácido, igualmente pela via dependente de cálcio, descrita anteriormente. Por outro lado, a presença de gastrina na célula ECL conduz à libertação de histamina, armazenada em grânulos ácidos, nestas células. Após libertada, a histamina migra até às células parietais, onde se une ao H<sub>2</sub>-R, exercendo, através da proteína G, um efeito estimulante na adenilciclase (AC – “adenyl cyclase”). Como consequência, a AC catalisa a conversão de trifosfato de adenosina (ATP - “Adenosine Triphosphate”) em monofosfato cíclico de adenosina (cAMP – “Cyclic Adenosine Monophosphate”) e pirofosfato inorgânico (PPi – “Inorganic Pyrophosphate”). O aumento do cAMP

intracelular ativa proteínas cinases, que ativam a bomba de prótons a secretar ácido, da forma já descrita (Katzung, *et al.*, 2009; Misodor, 2009).

Outra das ligações da Ach é, à semelhança da gastrina, à célula ECL, estimulando, da mesma forma, a libertação de histamina, com consequente ligação ao H<sub>2</sub>-R da célula parietal e produção de ácido, pela H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase (Misodor, 2009).

Por último, a ACh é, também, capaz de se ligar ao ACh-R situado na célula enteroendócrina D, inibindo a libertação de somatostatina. A somatostatina, quando secretada, é responsável pela inibição da produção gástrica, de modo direto, na célula parietal, inibindo a adenilciclase, ou indiretamente, através da inibição da libertação de gastrina, pela célula enteroendócrina G e através da regulação da secreção de histamina, pelas células ECL, que é diminuída. A produção de somatostatina presencia-se na célula enteroendócrina D e verifica-se quando a célula é estimulada pelo aumento da concentração de H<sup>+</sup> intraluminal e pela libertação de CCK, pelas células duodenais (localizadas na parte inicial do intestino delgado), em resposta à presença de proteínas e lípidos, no local. Assim, a inibição da célula enteroendócrina D, pela ACh, cessa a libertação de somatostatina, levando, indiretamente, ao aumento da libertação de gastrina, com consequente acidificação do líquido gástrico, pelo processo já descrito (Katzung, *et al.*, 2009; Misodor, 2009). Todos os processos descritos anteriormente, na célula parietal, encontram-se demonstrados na figura 2.4.

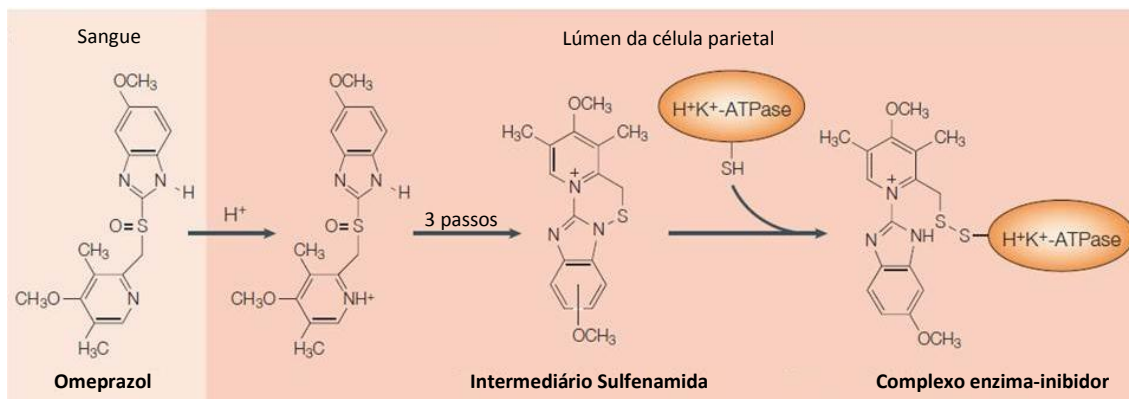
---

### 2.3.2. MECANISMO DE AÇÃO

---

O mecanismo de ação do omeprazol inicia-se com a sua conversão na forma ativa. Sendo este pró-fármaco uma base fraca, tem uma elevada afinidade para ambientes de baixo pH, como é o caso dos canalículos intracelulares da célula parietal. Assim, uma vez absorvido e lançado na corrente sanguínea, o omeprazol atravessa facilmente a membrana celular e concentra-se no lúmen, ácido, da célula parietal, onde é ativado. Esta sua particularidade, torna-o um fármaco altamente seletivo e direcionado, sendo esta uma das grandes razões pelas quais o omeprazol tem uma taxa de sucesso tão elevada (Furuta, *et al.*, 2005; Silva, 2011). A ativação inicia-se com a protonação do composto que, após rearranjo, se transforma numa sulfenamida. Este último metabolito interage covalentemente e irreversivelmente com os grupos

sulfidrilo (SH) dos resíduos de cisteína (em particular da Cys 813) existentes no domínio extracelular da  $H^+/K^+$ -ATPase (figura 2.5), enzima responsável pelo passo final



**Figura 2.5- Mecanismo de ação do omeprazol (Olbe, *et al.*, 2003)**

na secreção de ácido (Olbe, *et al.*, 2003; Brunton, *et al.*, 2006). Apesar de existirem outras bombas de prótons no organismo, a  $H^+/K^+$ -ATPase só parece existir na célula parietal e é estrutural e funcionalmente distinta de outras enzimas transportadoras de  $H^+$ , o que também contribui para a afincada seletividade dos inibidores da bomba de prótons (Katzung, *et al.*, 2009).

A inibição da bomba de prótons, na célula parietal, é dose-dependente e providencia uma rápida (em 1 a 2 horas) e eficaz redução da secreção gástrica, tanto basal quanto estimulada, em cerca de 90%. A produção de ácido só é retornada após a produção de novas moléculas de  $H^+/K^+$ -ATPase, aproximadamente 18 horas depois, apesar de também poder ocorrer alguma dissociação, por ação da glutatona endógena, do complexo. Assim sendo, e tratando-se de uma inibição maioritariamente irreversível, a duração do efeito terapêutico é notoriamente mais longa, mantendo-se mesmo quando o fármaco já não se encontra em circulação (Silva, 2011; AstraZeneca, 2012). Além disso, uma vez que o omeprazol atua na fase final da produção de ácido, a inibição da secreção ácida é independente de quanta produção de ácido é estimulada, o que lhe confere uma indiscutível vantagem em relação a outros fármacos anti-acídicos (Olbe, *et al.*, 2003). Note-se que são necessários 3 a 4 dias de toma contínua de omeprazol para se obter a inibição, máxima, da secreção gástrica.

Resta, por fim, salientar que os diferentes inibidores da bomba de prótons ligam-se a diferentes locais na bomba de prótons, o que pode justificar a sua diferente potência, apesar de esta não diferir vincadamente (Brunton, *et al.*, 2006).

## 2.4. PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS

Do ponto de vista farmacocinético, o omeprazol, principal inibidor da bomba de protões, é um fármaco ideal: demonstra um tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ) plasmático curto, concentra-se e ativa-se perto do local de ação e exibe um longo efeito terapêutico. Para além disso, tem um rápido efeito de 1ª passagem e a excreção renal é pouco significativa. Demonstra, apenas, precaução de utilização em doentes com disfunções hepáticas severas, não sendo necessária redução de dose nas disfunções ligeiras a moderadas (Aranda da Silva & Olivença, 1997; Walker & Edwards, 2003; Katzung, *et al.*, 2009).

Apesar de pequenas, existem algumas diferenças entre os diversos inibidores da bomba de protões e que estão representadas na tabela 2.1.

	Omeprazol	Lansoprazol	Pantoprazol	Rabeprazol	Esomeprazol
Biodisponibilidade	65%	80%	77%	52%	89%
t 1/2 vida	0,7h	1,3h	1,0h	1,5h	1,2h
Ligação proteínas plasmáticas	95%	97%	98%	96%	95%

**Tabela 2.1 - Marcadores farmacocinéticos dos diferentes inibidores da bomba de protões (Adaptado de Walker & Edwards, 2003)**

O perfil farmacocinético do omeprazol será, minuciosamente, discriminado nas linhas abaixo.

### 2.4.1. ABSORÇÃO

Lábil em meio ácido, o omeprazol, administrado oralmente, só é libertado, pela cápsula gastroresistente, na entrada do intestino delgado, onde é rapidamente absorvido. O pico dos níveis plasmáticos ocorre, aproximadamente, 1 a 2 horas após a toma e a absorção conclui-se, na totalidade, ao fim de 3 a 6 horas (Infarmed, 2010; AstraZeneca, 2012).

A biodisponibilidade da primeira toma é de cerca de 40%, sendo que aumenta para 65% após administração, repetida, diária. Note-se que a ingestão concomitante de alimentos não tem qualquer influência na biodisponibilidade, ao contrário do

lansoprazol, por exemplo, que vê a sua biodisponibilidade ligeiramente diminuída (Brunton, *et al.*, 2006; Infarmed, 2010).

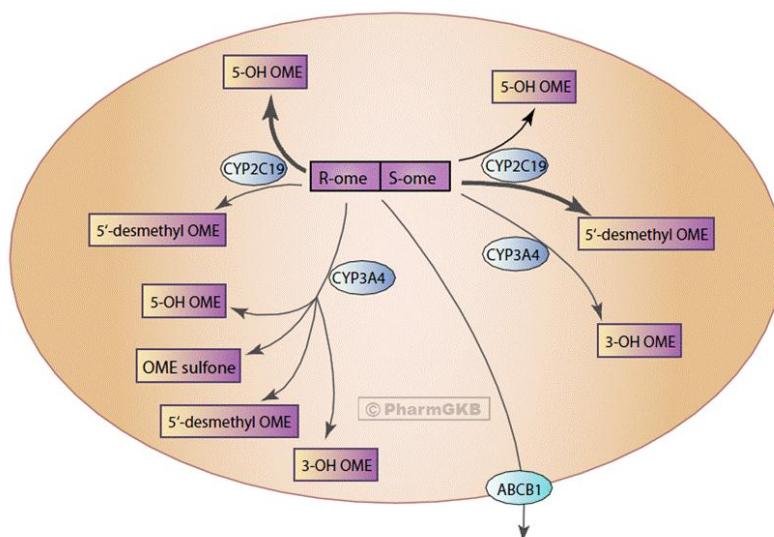
#### 2.4.2. DISTRIBUIÇÃO

Ao atingir a corrente sanguínea, o omeprazol apresenta um volume de distribuição de, aproximadamente, 0,3 l/kg de peso corporal, em indivíduos saudáveis e liga-se em cerca de 95% às proteínas plasmáticas.

#### 2.4.3. METABOLISMO

Os inibidores da bomba de prótons são metabolizados, extensamente, pelo sistema enzimático do Citocromo P450 (CYP), mais concretamente pelos enzimas CYP2C19 e CYP3A4, com conseqüente formação de 4 metabolitos diferentes. No entanto, a afinidade do omeprazol pelo CYP2C19 é notoriamente superior, pelo que a maior parte deste fármaco é metabolizada por este citocromo. A restante fração é metabolizada pelo CYP3A4 (Informed, 2010).

O omeprazol é uma mistura racémica e apresenta, na sua constituição, um grupo sulfóxido, que é quiral, o que significa que dá origem aos 2 enantiómeros, R e S, já mencionados mais atrás, no texto. O CYP2C19 apresenta uma maior afinidade pelo enantiómero R do omeprazol (R-ome) e é esse o substrato que é biotransformado mais extensa e rapidamente, pelo enzima (Casarett & Doull, 2008). Assim, da metabolização do isómero R, do omeprazol, via CYP2C19, resulta, primariamente, o 5-



**Figura 2.6 - Modelo esquemático da biotransformação, hepática, do omeprazol (PharmGKB, 2011)**

hidroxiomeprazol (5-OH OME), metabolito principal no plasma e, em menor

quantidade, o metabolito 5'-desmetilomeprazol (5'-desmetil OME). O CYP3A4 catalisa a biotransformação, do isómero R, em 4 diferentes metabolitos: 5'-desmetil OME, 5-OH OME, omeprazol sulfona (OME sulfona) e 3-hidroxiomeprazol (3-OH OME). Relativamente ao isómero S, do omeprazol (S-ome), o CYP2C19 catalisa a conversão em 5'-desmetil OME e, em quantidade inferior, em 5-OH OME. Da metabolização, via CYP3A4, resulta, apenas, o metabolito 3-OH OME. A figura 2.6 representa, esquematicamente, o processo discriminado, anteriormente.

Apesar de os estudos efetuados ainda não serem suficientemente esclarecedores, há indícios de que apesar de o omeprazol entrar, facilmente, no fígado por difusão, este pode ser expelido da célula hepática pela proteína transportadora de efluxo dependente de ATP, membro 1 da sub-família B (ABCB1 – “*ATP-binding cassette sub-family B member 1*”), também conhecida como glicoproteína-p (P-gp – “*P-glycoprotein 1*”) ou pela proteína responsável pela resistência múltipla a fármacos 1 (MDR1– “*Multidrug Resistance Protein 1*”) (PharmGKB, 2011).

Justificado pela maior afinidade do omeprazol pelo CYP2C19, existe um maior potencial de inibição competitiva deste citocromo, comparativamente ao CYP3A4, com possibilidade de conseqüentes interações com outros fármacos, igualmente metabolizados pelo CYP2C19. Por outro lado, não se verifica uma possibilidade, clinicamente relevante, do omeprazol interagir com outros fármacos, substratos do CYP3A4, uma vez que não há uma inibição substancial deste enzima (Infarmed, 2010).

No caso de carência de um enzima funcional CYP2C19, mais comum nos indivíduos asiáticos (metabolizadores lentos), o omeprazol é catalisado principalmente pelo CYP3A4. Nestes indivíduos, as concentrações de fármaco presente no plasma são 3 a 5 vezes superiores, comparativamente com os metabolizadores extensivos, detentores de um enzima CYP2C19 funcional. Mesmo assim, este facto não apresenta quaisquer implicações na posologia do omeprazol (Infarmed, 2010), nem se verifica risco de toxicidade. Nestes indivíduos, observa-se, inclusive, uma resposta terapêutica mais promissora e satisfatória, ao omeprazol (Klotz, 2006).

As potenciais mutações nos citocromos P450 2C19 e 3A4, com conseqüências clínicas no metabolismo do omeprazol, serão discutidos, meticolosamente, mais à frente, no texto.

---

#### 2.4.4. EXCREÇÃO

---

O  $t_{1/2}$  plasmática do omeprazol é, habitualmente, inferior a uma hora (0,7h), quer após administração única, quanto repetida, diariamente, do fármaco. Por esta razão, não se verifica qualquer perigo de acumulação do omeprazol, entre administrações (Brunton, *et al.*, 2006; Infarmed, 2010).

Perto de 80% dos metabolitos, inativos, formados na biotransformação, são excretados pela urina e os restantes 20% pelas fezes, provenientes da excreção biliar (Walker & Edwards, 2003; Infarmed, 2010).

---

#### 2.5. UTILIZAÇÃO CLÍNICA

---

O omeprazol, à semelhança dos restantes inibidores da bomba de protões, está indicado no tratamento de distúrbios gastrointestinais associados à acidez gástrica, como é o caso das úlceras duodenais e gástricas. O tratamento destas últimas pode variar entre as 2 e as 8 semanas e entre doses de 20 a 40 mg, consoante a gravidade da patologia. Também na prevenção de recidivas e hemorragias ulcerosas, o uso de omeprazol está comprovado e indicado (Katzung, *et al.*, 2009; Silva, 2011).

Outra das utilizações é a erradicação do *Helicobacter pylori*, em combinação com antibióticos adequados e que normalmente variam entre a amoxicilina, a claritromicina e o metronidazol ou tinidazol. A terapêutica dura, normalmente, uma semana e pode ser repetida, se necessário, não ultrapassando os 40 mg diários.

O tratamento e prevenção de úlceras gástricas e duodenais relacionadas com a toma de anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) também se inserem nas indicações do omeprazol, que, neste caso, não deve exceder os 20 mg. A cura deve acontecer nas 4 a 8 semanas a seguir ao início do tratamento e no caso de doentes de risco, o omeprazol deve ser tomado continuamente, a título de prevenção (Informed, 2010).

Os inibidores da bomba de protões são, à semelhança de outras patologias homólogas, altamente prescritos no gastrinoma ou noutras condições hipersecretórias, em doses que rondam os 60 a 120 mg (Katzung, *et al.*, 2009).

O omeprazol é, também, utilizado no tratamento da esofagite de refluxo, cujo tratamento deve preservar-se durante 4 a 8 semanas, numa dose de 20 a 40 mg. Após

a cura, o omeprazol deve ser continuado com vista à manutenção do doente, podendo a dose variar entre os 10 e os 40 mg (Infarmed, 2010).

A dispepsia não ulcerosa é outra das indicações do omeprazol. No entanto, não se encontra demonstrado que o seu interesse farmacológico, nesta patologia, seja superior ao dos antagonistas H<sub>2</sub>.

Também na prevenção da hemorragia na gastrite de *stress* se utiliza os inibidores da bomba de protões, sendo prescritos, hoje em dia, quase na totalidade dos doentes hospitalizados (Katzung, *et al.*, 2009).

No tratamento sintomático da GERD, devem ser prescritos 10 a 20 mg de omeprazol diários. A cura deve ocorrer após 4 semanas de tratamento. Também na Esofagite Erosiva, que deve ser confirmada por endoscopia, se utiliza o omeprazol, a curto prazo (AstraZeneca, 2012).

Por último, o omeprazol está, ainda, indicado no Síndrome de Zollinger-Ellison e a dose diária pode variar entre os 20 e os 120 mg. O tratamento deve ser continuado enquanto for clinicamente relevante (Aranda da Silva & Olivença, 1997; Silva, 2011).

## 2.6. REAÇÕES ADVERSAS

---

O omeprazol, à semelhança dos seus derivados, é considerado um fármaco seguro e as reações adversas graves são esperadas em apenas 1% da população. Os efeitos adversos mais frequentes (1 a 10% dos doentes) são cefaleias, dor abdominal, obstipação, diarreia, flatulência, náuseas e vômitos. A fotossensibilidade, leucopénia, trombocitopénia, angioedema, confusão, alterações no paladar e mialgia são exemplos de reações adversas raras ao omeprazol. Em cada 1 em 10.000 indivíduos podem, ainda, ocorrer eventos adversos muito raros, como a hipomagnesemia e a granulocitose (Dalmady-Israel & Hernandez, 1995; Aranda da Silva & Olivença, 1997; Infarmed, 2010).

Verificou-se a diminuição da absorção de vitamina B12, ferro, cálcio e zinco, durante o tratamento com inibidores da bomba de protões, uma vez que o pH ácido é essencial para a correta absorção destes nutrientes. No entanto, nunca foram reportadas quaisquer deficiências minerais e vitamínicas nos doentes aos quais foi prescrito omeprazol. Ainda assim, o risco de anemia e osteoporose deve ser tido em

conta e monitorizado, recorrendo, se necessário, a suplementos alimentares (Katzung, *et al.*, 2009).

Durante o tratamento, a longo prazo, podem desenvolver-se, com elevada frequência, quistos glandulares gástricos, consequência da pronunciada inibição da secreção gástrica. No entanto, estas alterações morfológicas são benignas e parecem ser reversíveis com a cessação do tratamento (Infarmed, 2010).

Além do efeito anteriormente referido, o aumento do pH gástrico é vulnerável ao desenvolvimento de microorganismos patogénicos, como a *Salmonella*, o *Campylobacter* e o *Clostridium difficile*, com consequente aumento da prevalência de gastroenterites e outras infeções gastrointestinais (Brunton, *et al.*, 2006; Infarmed, 2010). Verifica-se, também, um aumento do risco de infeções respiratórias, adquiridas na comunidade, e pneumonia nosocomial em doentes a tomar inibidores da bomba de protões (Katzung, *et al.*, 2009).

Foi, ainda, observada hiperplasia das células ECL e carcinomas gástricos, em estudos em ratos tratados com omeprazol, a longo prazo. Estas modificações são resultado da hipergastrinémia, comum no tratamento com inibidores da bomba de protões e outros fármacos anti-acídicos (Infarmed, 2010). Assim, embora ainda não tenha sido encontrada nenhuma evidência de proliferação da mucosa gástrica, humana, com a administração, prolongada de omeprazol, os clínicos devem ponderar a terapêutica, a longo prazo, nos seus doentes e considerar terapêuticas alternativas (Brunton, *et al.*, 2006).

## 2.7. INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS

Todos os fármacos supressores da acidez apresentam o potencial de diminuir, ou aumentar, a absorção de outros, por aumento do pH. Dependentes do pH, a absorção de posaconazol, erlotinib, atazanavir, sais de ferro, ésteres de ampicilina, cetoconazol e itraconazol encontra-se diminuída, na toma concomitante com o omeprazol, pelo que a sua eficácia clínica está comprometida (Walker & Edwards, 2003; AstraZeneca, 2012; EMA, 2012). Por outro lado, a absorção da digoxina é aumentada com o aumento do pH gástrico, com consequente aumento da biodisponibilidade da mesma, pelo que a sua monitorização terapêutica deve ser reforçada (Infarmed, 2010).

A administração concomitante de nelfinavir com o omeprazol também está contra-indicada, uma vez que se verifica uma diminuição do efeito antirretroviral do nelfinavir, quer por diminuição da absorção deste fármaco, quer pela diminuição da bioativação no composto ativo pelo CYP2C19, que é inibido pelo omeprazol (EMA, 2011).

Também o clopidogrel, cujo efeito terapêutico depende de bioativação metabólica pelo CYP2C19, exibe uma menor capacidade antiagregante na presença do omeprazol (Infarmed, 2010).

Devido a inibição do CYP2C19, pelo omeprazol, fármacos como o diazepam, cilostazol, fenitoína, dissulfiram, ciclosporina, benzodiazepinas, R-varfarina e outros antagonistas da vitamina K apresentam um maior potencial para aumentarem as suas concentrações plasmáticas, devido à sua menor metabolização e excreção (Dalmady-Israel & Hernandez, 1995; Aranda da Silva & Olivença, 1997; AstraZeneca, 2012).

Importa, ainda, salientar que existem outros fármacos capazes de inibir o CYP2C19 e CYP3A4, como a claritromicina e o voriconazol, e que podem conduzir a aumentos séricos de omeprazol. No entanto, o ajuste da dose do omeprazol só é necessária no caso de doentes com compromisso hepático grave.

Por outro lado, observa-se diminuição dos níveis plasmáticos de omeprazol na toma concomitante com indutores do CYP2C19 e CYP3A4, tais como a rifampicina e o hipericão, por aumento da taxa de metabolismo deste fármaco (Infarmed, 2010).

Recomenda-se, ainda, a precaução na administração concomitante de omeprazol com saquinavir, metotrexato e tacrolimus, por aumento dos níveis séricos destes fármacos, cujo mecanismo de interação é, ainda, desconhecido (Infarmed, 2010; AstraZeneca, 2012)

É importante referir que, de todos os inibidores da bomba de prótons, o pantoprazol é aquele que tem um menor potencial de originar interações, uma vez que tem uma menor afinidade para o sistema enzimático dos Citocromos P450, sendo, igualmente, metabolizado por uma sulfotransferase. Também no caso do rabeprazol, verifica-se uma menor contribuição do CYP2C19 no metabolismo. Note-se que o omeprazol é o fármaco da sua classe que tem uma maior relevância no metabolismo pelos Citocromos P450 (Walker & Edwards, 2003). Contudo, apesar da grande possibilidade que o omeprazol tem de interagir com diversos fármacos, importa

realçar que raramente o faz, uma vez que o seu tempo de semi-vida é muito curto (Katzung, *et al.*, 2009).

### 3. O SISTEMA ENZIMÁTICO DOS CITOCROMOS P450

---

A metabolização de fármacos consiste na biotransformação, através de sistemas enzimáticos e, ou, outros processos metabólicos, de determinado composto, de forma a torná-lo quimicamente mais suscetível de ser removido do organismo, ou seja mais hidrofílico. Em certos casos, a metabolização pode, contrariamente ao pretendido pelo corpo humano, transformar uma substância, outrora inativa, noutra farmacologicamente ativa ou, até, quimicamente mais tóxica (Aranda da Silva & Olivença, 1997; Casarett & Doull, 2008).

A metabolização de xenobióticos executa-se, fundamentalmente, a nível do tecido hepático, rim e epitélio gastrointestinal (Aranda da Silva & Olivença, 1997). No entanto, apesar do intestino e fígado conterem a maior concentração de enzimas metabólicas, estas estão distribuídas por todos os tecidos (Casarett & Doull, 2008).

O sistema dos Citocromos P450, que abrange, no Homem, cerca de 50 tipos de isoenzimas diferentes, expressas por genes distintos, é o principal responsável pela metabolização de fármacos (Walker & Edwards, 2003). Estas proteínas, biotransformadoras, estão presentes, em quantidades consideráveis, na membrana microsomal ou, em alguns casos, na mitocôndria, da célula (Oinonen & Lindros, 1998)

Da totalidade dos citocromos P450, presentes na fração microsomal celular, sobressaem 4 subfamílias, as quais são responsáveis por mais de 90% do metabolismo de fármacos: CYP1, CYP2, CYP3 e CYP4, sendo que as mais relevantes na biotransformação são os CYP1A2, CYP2C9, CP2C19, CYP2D6 e CYP3A4 (Walker & Edwards, 2003).

Os Citocromos P450 são proteínas e incluem, na sua constituição, um grupo Heme. Catalisam reações de monooxigenação, sendo, por isso, oxidases. O mecanismo base é a incorporação de um átomo de oxigénio no substrato que metabolizam (Guengerich, 1991; Guengerich, 2000) Representam enzimas de fase I, ou seja detêm o potencial de aumentar ou diminuir a toxicidade do xenobiótico a metabolizar, ao contrário das enzimas de fase II que apenas têm a habilidade de a diminuir (Gonzalez & Yu, 2006).

Os níveis e a atividade dos diferentes Citocromos P450 variam de indivíduo para indivíduo, essencialmente devido a alterações estruturais, nos seus genes codificantes, resultantes de fatores ambientais e/ou genéticos. Assim, níveis mais baixos, ou mais

altos, de enzima podem resultar de induções, ou mutações, respectivamente, dos enzimas envolvidos na biotransformação de determinada substância. Em certos casos, estas alterações podem, mesmo, ser suficientes para decidir se determinado fármaco terá efeito terapêutico, ou tóxico, em determinado indivíduo. Estima-se que cerca de 20-25% das terapias farmacológicas são influenciadas por polimorfismos enzimáticos, que comprometem o resultado do tratamento (Ingelman-Sundberg, *et al.*, 2007). Na grande maioria dos casos, trata-se da adaptação do organismo ao meio envolvente, através da indução ou inibição de enzimas catalisadoras dos substratos estranhos ao organismo (Ingelman-Sundberg, *et al.*, 1999).

Neste texto, os Citocromos P450 a serem abordados serão os CYP1A1, CYP1A2, CYP2C19 e CYP3A4, uma vez que são estes os que intervêm, aos mais variados níveis, na atuação do omeprazol no organismo humano.

### 3.1. CYP1A1 E CYP1A2

---

A subfamília dos Citocromos P450 1A é composta pelos enzimas CYP1A1 e CYP1A2. O CYP1A2 concentra-se, em elevada quantidade, na fração microssomal hepática, ao contrário do CYP1A1, cuja existência é praticamente indetetável, neste tecido. No entanto, o CYP1A1 é facilmente encontrado no pulmão humano, pele, intestino, linfócitos e placenta, sobretudo em indivíduos fumadores. Por esta razão, em humanos, considera-se o CYP1A2 um enzima hepático, enquanto que o CYP1A1 se enquadra no título de extra-hepático (Ma & Lu, 2003)

Apesar da sua similaridade, os diferentes enzimas CYP1A têm preferência pela catalisação de diferentes substratos. O CYP1A1, presente em quantidades consideráveis, como já referido, no pulmão, é o principal responsável pela hidroxilação e epoxidação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs – “*Polycyclic aromatic hydrocarbons*”), como é o caso do benzo(a)pireno (BaP), componente do fumo do tabaco (Ma & Lu, 2003). Também a epoxidação do antagonista dos recetor D<sub>4</sub> dos leucotrienos, verlu caste, é fomentada por este enzima (Casarett & Doull, 2008). Por sua vez, o CYP1A2 metaboliza a hidroxilação de amins aromáticas, como certas moléculas de aminonaftaleno e outras amins carcinogéneas, também comuns no fumo do tabaco e alimentos cozinhados. A metabolização de fármacos é exercida,

essencialmente, pelo CYP1A2, que metaboliza, a título de exemplo, a fenacetina, a duloxetina e a cafeína (Sachse, *et al.*, 1999)

Os CYP1A são enzimas suscetíveis de serem induzidos e inibidos. Conhece-se, como principais indutores, os PAHs, presentes no fumo do tabaco (Rasmussen, *et al.*, 2002), as aminas aromáticas e as heterocíclicas (HCAs – “*Heterocyclic Amines*”), resultantes da combustão de alguns alimentos (Oinonen & Lindros, 1998) e os indoles, presentes nos vegetais. Também os fármacos omeprazol e lansoprazol são indutores dos enzimas CYP1A. (Ma

& Lu, 2003) Pelo contrário, a expressão do Citocromo P450 1A2 pode ser suprimida pelos contraceptivos orais (Rasmussen, *et al.*, 2002) e pela  $\alpha$ -naftoflavona, um flavonoide comum nos mais variados vegetais e frutos, que também bloqueia a

CYP1A		
Substratos	Inibidores	Indutores
	Aciclovir	
Alosetron	Ciprofloxacina	3-Metilcolantreno
Cafeína	Famotidina	$\beta$ -Naftoflavona
Duloxetina	Fluvoxamina	Omeprazol
Fenacetina	$\alpha$ -Naftoflavona	Lansoprazol
Tacrina	Propafenona	TCDD
Teofilina	Verapamil	
	Zileutona	

**Tabela 3.1 - Substratos, indutores e inibidores do CYP1A (Adaptado de Casarett & Doull, 2008).**

atuação do enzima, homólogo, CYP1A1 (Ma & Lu, 2003). Os principais fármacos biotransformados pelos CYP1A, assim como os seus indutores e inibidores encontram-se referidos na tabela 3.1.

Dado a sua capacidade adaptativa e componente genética, os níveis dos enzimas CYP1A, em especial do CYP1A2, podem variar interindividualmente. No entanto, o gene codificante do enzima CYP1A2 é bem-conservado entre os diferentes indivíduos e espécies e, até à data, considera-se que ainda não se conhecem variantes alélicas comuns, capazes de fazer variar a capacidade metabólica do CYP1A2 de forma significativa (Ingelman-Sundberg, *et al.*, 2007). Apesar disso, assim como toda a regra tem exceções, também esta possui as suas.

Neste gene, a variação derivada de defeitos genéticos é extremamente rara pelo que seria de esperar que esta deveria ser feita, sobretudo, à custa dos fatores externos e ambientais. No entanto, estima-se que o fator genético é responsável por mais de

70% da variação na expressão dos CYP1A2, em comparação com os fatores ambientais, apesar de estes últimos estarem altamente disponíveis nas sociedades evoluídas (Rasmussen, *et al.*, 2002), o que prova que apesar da escassa predisponibilidade que os fatores endógenos têm de interferir na expressão dos CYP1A, esta consegue ser maior que o dano motivado por causas externas. A título de exemplo, Rasmussen *et al.* (2002), à semelhança de Ma & Lu (2003), verificou que o sexo masculino apresenta concentrações mais elevadas de CYP1A2 que as mulheres, mesmo excluindo o efeito inibitório que os contraceptivos orais apresentam neste Citocromo P450, em mulheres férteis.

Também nas diferentes espécies de mamíferos parece haver diferenças na função e regulação dos CYP1A, que são importantes ter em conta em estudos farmacológicos e toxicológicos, uma vez que, devido a este facto, os resultados obtidos, em animais, nem sempre são comparáveis aos humanos. Um bom exemplo é o caso do omeprazol, que é responsável pela indução dos CYP1A, no humano, mas não no ratinho ou no coelho (Casarett & Doull, 2008). Comparativamente, o fármaco metirapone, utilizado na terapêutica do Síndrome de Cushing, induz o enzima CYP1A1 no hepatócito do rato, mas não no humano (Harvey, *et al.*, 2000). Também, o CYP1A1, embora pouco expresso no hepatócito humano, está presente, em larga escala, no fígado do macaco *Rhesus* e do porquinho-da-índia. Por outro lado, verifica-se que a indução dos CYP1A pelos hidrocarbonetos aromáticos polialogenados e policíclicos realiza-se em todos os mamíferos. (Casarett & Doull, 2008).

Relativamente a polimorfismos, conhecem-se vários, responsáveis por níveis alterados dos CYP1A. Vários investigadores identificaram duas variantes com especial importância na região regulatória do gene *CYP1A2*. Uma delas é o alelo *CYP1A2\*1F*, possuidor de um polimorfismo de um só nucleótido (SNP – “*Single-nucleotide Polymorphism*”) no intrão 1, onde se verifica uma troca de uma citosina (C) por uma timina (T) na posição 163. Este polimorfismo influencia a indutibilidade do enzima, que aumenta o seu metabolismo, após consumo de tabaco e/ou omeprazol. A outra variante, *CYP1A2\*1K*, engloba o SNP anterior e ainda uma nova troca, também C>T, na posição -729, ou seja numa região de ligação de fatores de transcrição do gene. Esta mutação, altamente rara, só foi encontrada em indivíduos Africanos e faz diminuir a

expressão do enzima, o que conduz a um metabolismo diminuído (Ingelman-Sundberg, *et al.*, 2007).

Ainda no que se refere ao CYP1A2, os estudos de MacLeod *et al.* (1998) e Sachse *et al.* (1999) demonstraram que os indivíduos caucasianos fumadores que são portadores homozigóticos de um variante que consiste numa troca de uma C por uma adenina (A) no intrão 1, do gene, são frequentes (46% dos indivíduos estudados) e apresentam uma atividade metabólica menor. Os indivíduos não fumadores não exibem diferenças metabólicas significativas entre os indivíduos dos diferentes fenótipos, o que comprova que o consumo de substâncias policíclicas, aliado à existência do fenótipo referido, ou semelhante, põe em causa a correcta metabolização dos substratos do CYP1A2, com as possíveis repercussões que isso acarreta.

Para além da sua função no metabolismo de diversos xenobióticos, o CYP1A2 foi relacionado com a produção de factores endógenos essenciais. Pineau, *et al.*, (1995) verificou que o CYP1A2 está envolvido na produção de surfactante pulmonar e no desenvolvimento pulmonar, no neonato.

Já no CYP1A1, o raro alelo mutante *MspI* (*CYP1A1\*2A*) provou estar envolvido no aumento da susceptibilidade ao cancro do pulmão, induzido pelo tabaco, em indivíduos Japoneses (Nebert, *et al.*, 2004) Também uma troca de uma isoleucina (Ile) por uma valina (Val) no exão 7 deste gene traduz um alelo variante que também está co-relacionado com o aumento de susceptibilidade ao cancro do pulmão em indivíduos Japoneses (Kawajiri, *et al.*, 1995) e Brasileiros (Oinonen & Lindros, 1998).

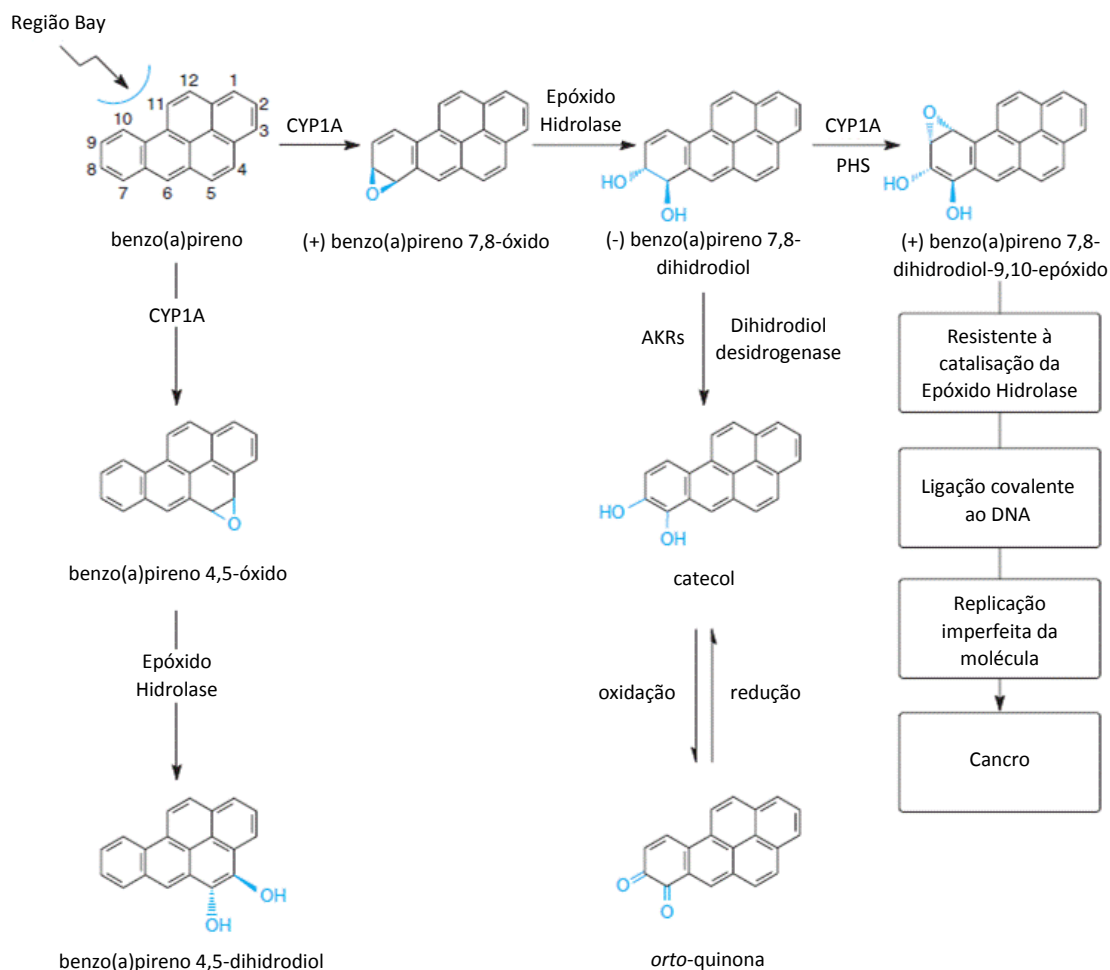
---

### 3.1.1. EFEITOS DA METABOLIZAÇÃO DOS PAHS PELOS CYP1A

---

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos são conhecidos pelos seus possíveis efeitos nocivos e mutagénicos no organismo humano. De facto, a exposição, a longo prazo destas substâncias pode ter consequências graves e irreversíveis no homem. Ironicamente, o êxito do efeito tóxico destas moléculas deve-se à tentativa, falhada, do organismo destoxificar e eliminar estas substâncias, ativando-as, ainda mais, em vez de as suprimir (Ma & Lu, 2003).

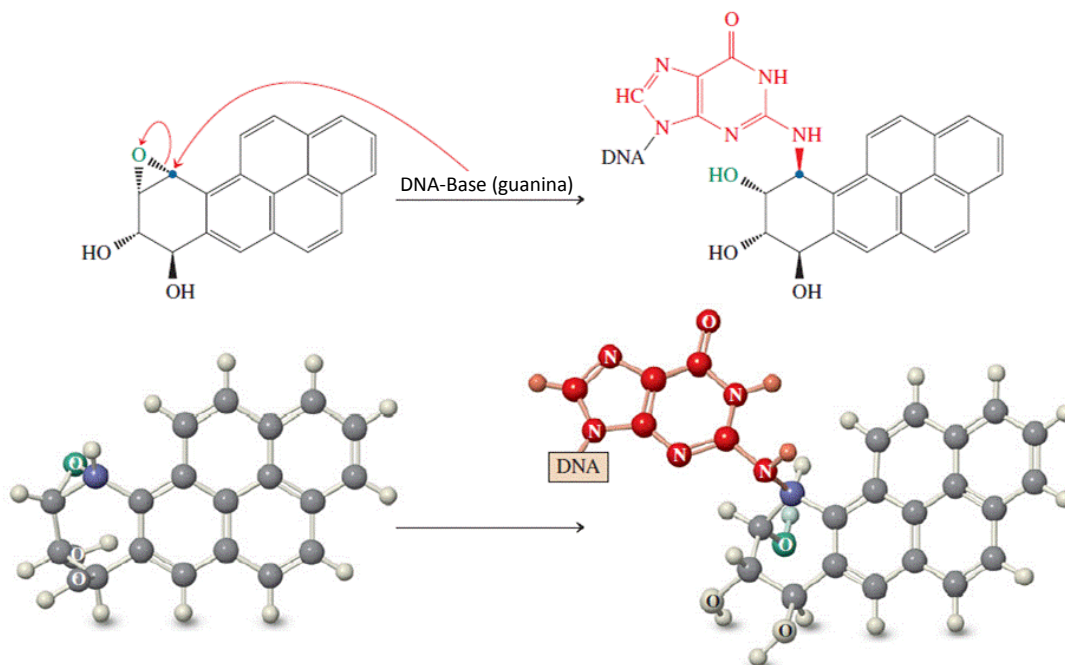
O benzo(a)pireno, representante dos PAHs, é um conhecido poluente do meio ambiente, libertado na combustão de matéria orgânica, combustíveis de automóveis e óleos de aquecimento doméstico, na incineração, na geração industrial de energia, nos incêndios florestais e no fumo de tabaco e está, ainda, presente na carne cozinhada. Esta molécula, à semelhança de outros PAHs como o benzo(a)antraceno ou o dibenzo(a)antraceno, tem propriedades cancerígenas no organismo humano e já foi,



**Figura 3.1 – Representação da conversão enzimática do benzo(a)pireno nos metabolitos benzo(a)pireno 7,8-dihidrodiol-9,10-epóxido (tóxico), benzo(a)pireno 4,5-dihidrodiol e orto-quinona, onde intervêm os enzimas CYP1A, epóxido hidrolase, prostaglandina H sintase (PHS), aldo-ceto redutase (AKR) e dihidrodiol desidrogenase (Adaptado de Vollhardt & Schore, 2004).**

por várias vezes, associada à suscetibilidade ao cancro do pulmão (Proctor, 2001) e duodeno (Buchtal, *et al.*, 1995). O mecanismo de ativação do BaP inicia-se com a sua

conversão, pelos CYP1A, no respetivo óxido, nas posições 7,8. O grupo funcional epóxido, instável, é, por sua vez, convertido, pela epóxido hidrolase, no diol correspondente, inócuo e facilmente excretável. No entanto, esta molécula pode ser novamente ativada pelos CYP1A, transformando-se em BaP-7,8-dihidrodiol-9,10-epóxido, altamente reativo e resistente à inativação pela epóxido hidrolase. Assim, este metabolito consegue circular livremente até ao núcleo da célula, onde se liga covalentemente ao ácido desoxirribonucleico (DNA – “*Deoxyribonucleic Acid*”). Esta ligação é a base da ação carcinogénica do BaP-7,8-dihidrodiol-9,10-epóxido e deve-se ao ataque nucleofílico do azoto da guanina da base azotada do DNA, em particular da guanina, a um dos carbonos eletrofílicos e descompensados do epóxido da molécula.



**Figura 3.2 – Mecanismo mutagénico do metabolito tóxico do BaP (Adaptado de Vollhardt & Schore, 2004).**

Esta ligação, covalente, afeta a dupla hélice do DNA, com repercussões graves na replicação desta macromolécula, uma vez que a alteração do código genético pode conduzir à multiplicação rápida e indiscriminada das células, que se tornam neoplásicas.

O BaP-7,8-dihidrodiol-9,10-epóxido, epóxido mais tóxico, é, hoje, conhecido como o “dielepoxido da região Bay” (região de fusão de 3 anéis da molécula), por ser resistente à inativação pela epóxido hidrolase, pelo que todas as moléculas, do mesmo

género, possuidoras de uma região deste tipo, são consideradas, à semelhança do BaP-7,8-dihidrodiol-9,10-epóxido, metabolitos mutagénicos.

É também importante referir que o BaP pode ser metabolizado, pelos CYP, em várias posições, da sua molécula, o que origina diferentes metabolitos, com diferentes graus de mutagenicidade, uma vez que consoante a localização do epóxido, o perfil reativo do metabolito com as macromoléculas endógenas envolventes, da célula, pode variar (Gelboin, 1980; Vollhardt & Schore, 2004). A figura 3.1 representa os diferentes caminhos e metabolitos que podem ser formados durante a biotransformação do benzo(a)pireno. Note-se que a metabolização do BaP, pelos Citocromos P450, nem sempre conduz à formação de epóxidos não transformáveis, nem todos os epóxidos são reativos e tóxicos para as células que os produzem. No entanto, a maior parte deles, se não forem inativados, pelas epóxido hidrólases, acabarão por se ligar a macromoléculas endógenas, como as proteínas e o DNA, e causar toxicidade celular e genética.

No geral, as epóxido hidrolases estão presentes nos mesmos tecidos onde se encontram os CYPs, em particular no fígado, no pulmão e no intestino, de modo a permitir a máxima neutralização destes compostos tóxicos, assim que eles são produzidos. As mais comuns são a epóxido hidrolase microsossomal (mEH – “*Microsomal Epoxide Hydrolase*”) e a epóxido hidrolase solúvel (sEH – “*Soluble Epoxide Hydrolase*”) (Casarett & Doull, 2008).

Como já referido, algumas variações genéticas, como os polimorfismos Msp 1 e Ile-Val, no CYP1A1, estão fortemente associados ao cancro do pulmão, em especial aquele induzido pelo fumo do tabaco (Kawajiri, *et al.*, 1995), uma vez que promovem o processo cancerígeno explicitado anteriormente.

---

### 3.1.2. EFEITOS DA METABOLIZAÇÃO DAS AMINAS HETEROCÍCLICAS E AROMÁTICAS PELOS CYP1A

---

As HCAs são concebidas através da condensação da creatinina com os aminoácidos, durante o processo de confeção e combustão da carne (Marchand, *et al.*, 2001) Também alguns peixes e os ovos podem conter estas substâncias, embora em quantidade inferior. Para além disso, apesar de a exposição a estes metabolitos ser maioritariamente conseguida através da carne e peixe, é, também, possível detetar

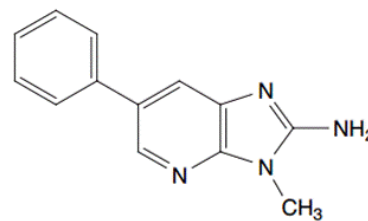
HCA nos condimentos dos alimentos processados, na cerveja, no vinho, nos grãos de café, no fumo do tabaco, nos produtos das incinerações e nos detritos dos escapes dos automóveis. (NTP, 2011)

Existem 4 aminas heterocíclicas com, comprovada, capacidade carcinogénica, no humano: a 2-amino-3,4-dimetilimidazol[4,5-f]quinolina,

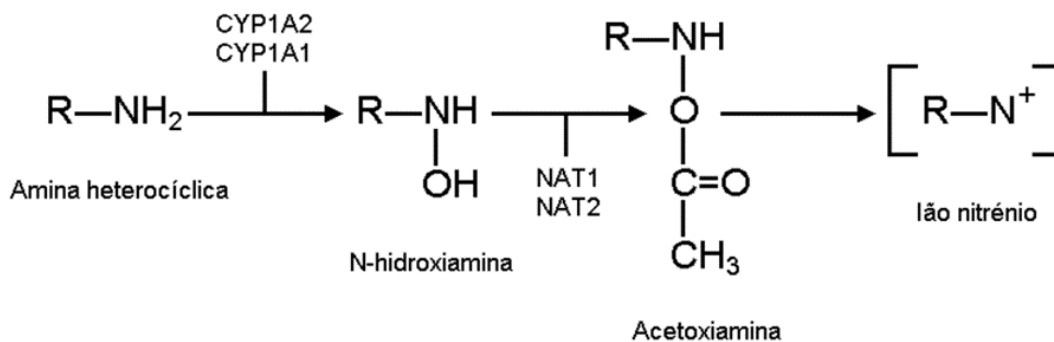
vulgarmente conhecida como MeIQ, a 2-amino-3,8- dimetilimidazol[4,5-f]quinolina, também conhecida como MeIQx, a 2-amino-3-metilimidazol[4,5-f]quinolina, representada pela sigla IQ e a 2-amino-1-metil-6-fenilimidazol[4,5-b]piridina, reconhecida como PhIP (Gooderham, et al., 1996), sendo a mais abundante das aminas heterocíclicas carcinogénicas presente nas carnes bem passadas (Frandsen & Alexander, 2000).

As HCAs demonstram as mais variadas evidências epidemiológicas de que o seu consumo, em larga escala, em alimentos “bem-passados”, contribui e está associada ao aumento do risco de cancro, no humano, em especial o cancro coloretal. (Marchand, et al., 2001) Estas substâncias provocam dano a nível do DNA e já demonstraram, em estudos realizados em linhas celulares humanas, levar a consequentes aberrações cromossomais. Apesar de o tipo de cancro mais associado ser o, já referido, cancro coloretal (Moonen, *et al.*, 2005) a incidência tumoral destas moléculas observa-se também ao nível do tecido prostático, do intestino, do estômago e da mama. Comparativamente com outros agentes mutagénicos, como o BaP, as HCAs apresentam uma maior contribuição para a formação de massas, tanto benignas quanto malignas (NTP, 2011).

O mecanismo de ativação destes compostos, representado na figura 3.4, inicia-se com a N-hidroxilação da HCA pelos enzimas CYP1A, em especial o CYP1A2, presente em maior quantidade no intestino. Depois, a hidroxiamina, formada, é biotransformada em acetoxiamina, através da enzimas esterificantes, como a N-Acetiltransferase (NAT), em especial a 2, também em maior concentração no intestino. Ao quebrar a ligação azoto-oxigénio, a acetoxiamina adquire um grupo funcional nitrénio, alquilante, electrofílico e altamente instável, que reage e forma adutos com o DNA, mais concretamente com a base guanina da dupla cadeia, na posição C-8, à



**Figura 3.3 – Estrutura química da PhIP (NTP, 2011).**



**Figura 3.4 – Mecanismo de ativação das aminas aromáticas/heterocíclicas (Adaptado de Gonçalves, 2010).**

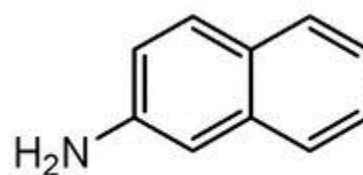
semelhança do metabolito final mutagénico do BaP. Para além disso, o agente alquilante formado é, também, capaz de reagir com outras macromoléculas endógenas, como as proteínas, deformando-as e tornando-as não funcionais. (Frandsen & Alexander, 2000)

De facto, as HCAs necessitam de uma ativação prévia, pelos enzimas CYP1A e NAT, para se tornarem metabolitos cancerígenos. Marchand, et al., (2001) estudou a expressão dos enzimas envolvidos no metabolismo destas moléculas e verificou que os indivíduos fumadores e portadores de genótipos rápidos dos dois enzimas, ou seja que apresentam alelos enzimáticos variantes, em especial o alelo NAT1\*10, comum nos Japoneses, que codificam um enzima fisiologicamente mais ativo e/ou em maior quantidade, detêm um risco acrescentado em 8,8 vezes de sofrer de cancro coloretal, uma vez que usufruem de uma biotransformação mais extensiva das HCA e, por isso, de uma maior concentração de metabolitos, finais, nefastos. Em indivíduos não fumadores, não se encontrou uma associação significativa com o risco deste tipo de patologia, quer os indivíduos apresentassem formas mutantes, ou não, dos seus enzimas. Como já referido anteriormente, os PAH, presentes no fumo do tabaco, à semelhança das HCAs e outras aminas cancerígenas, são potentes indutores dos Citocromos P450 1A, o que é coerente com os resultados obtidos.

Estudos mais recentes têm vindo a expor novas mutações no Citocromo P450 1A. O polimorfismo -164A>C (CYP1A2\*1F) é uma das variantes com especial importância na contribuição para as diferenças interindividuais registadas, no que concerne à suscetibilidade ao cancro derivado do consumo de HCAs e de outros comportamentos de comprovado risco. O polimorfismo CYP1A2\*F, embora localizado

na região não codificante do gene (intrão 1) parece afetar a expressão do enzima, por se localizar numa região de ligação de proteínas reguladoras. Este alelo é bastante comum nos indivíduos de raça caucasiana e está envolvido na redução da capacidade de ativação dos HCAs pelo enzima. Assim, apenas os indivíduos *wild-type*, ou seja aqueles que são portadores de um genótipo CYP1A2-164A/A, detêm uma maior habilidade para produzir metabolitos mutagénicos e, por isso, um maior risco de desenvolver adenomas coloretais, comparativamente com os indivíduos cujo genótipo é C/A ou C/C (Moonen, *et al.*, 2005).

Dentro das HCA inserem-se, também, as aminas aromáticas, como o 2-aminonaftaleno e o 4-aminobifenilo. Estas substâncias estão presentes nos corantes, nas borrachas e no fumo do tabaco, em particular naquele libertado da ponta incandescente do cigarro. O mecanismo de carcinogénese destas moléculas é similar ao anteriormente referido e termina com a produção de espécies eletrofílicas, capazes de reagir com os centros nucleofílicos das macromoléculas biológicas, como é o caso do DNA. As duas aminas referidas anteriormente são, do seu grupo, as que mais contribuem para a incidência de cancro no humano, em especial o da bexiga (Gonçalves, 2010).



**Figura 3.5 – Estrutura química do 2-aminonaftaleno (Gonçalves, 2010).**

### 3.2. CYP2C19

---

O Citocromo P450 2C19 integra a subfamília 2C, à qual também pertencem os Citocromos P450 2C8, 2C9 e 2C18. Este enzima, à semelhança dos seus análogos, é crucial no metabolismo de fármacos. Metaboliza moléculas com um elevado grau de estereoespecificidade, tendo, sempre, maior afinidade para um dos enantiómeros do substrato, metabolizando-o primeiro e a maior velocidade. Os substratos mais pertinentes do CYP2C19, assim como os seus inibidores e indutores, encontram-se discriminados na Tabela 3.2.

O CYP2C19 é suscetível de ser induzido. Este processo é mediado pelo Recetor X de Pregnanos (PXR – “*Pregnane X Receptor*”) e pelo Recetor Constitutivo dos

Androstanos (CAR – “*Constitutive Androstane Receptor*”), que têm múltiplos agonistas, de que são exemplo a rifampicina e a os barbitúricos. O mecanismo indutor, regulado pelo PXR e CAR, será abordado mais à frente (Chen, *et al.*, 2003).

CYP2C19		
Substratos	Inibidores	Indutores
Fluoxetina	Fluvoxamina	
Lansoprazol	Moclobemida	Fenobarbital
Moclobemida	Nootcatone	Rifampicina
Omeprazol	Omeprazol	
Pantoprazol	Ticlopidina	

**Tabela 3.2 – Principais fármacos, indutores e inibidores do Citocromo P450 2C19 (Adaptado de Casarett & Doull, 2008).**

À semelhança dos restantes Citocromos P450, também a expressão e níveis do CYP2C19 sofrem diferenças de indivíduo para indivíduo. Durante bastante tempo, os investigadores suspeitaram de uma relação entre a variabilidade do CYP2C19 e a personalidade humana, uma vez que este citocromo afeta o metabolismo de alguns compostos endógenos que contribuem para as diferenças interindividuais no comportamento humano (Ingelman-Sundberg, *et al.*, 2007). De facto, há relativamente poucos anos, Ishii *et al.* (2007) provou isso mesmo e associou certos genótipos do CYP2C19 com diferentes personalidades em mulheres Japonesas, mas não nos homens. Ainda não se sabe, ao certo, qual o mecanismo, ou mecanismos, envolvidos no comportamento e personalidade individual e de que forma estes estão relacionados com o perfil metabólico do CYP2C19. Aguardam-se, até à data, novas descobertas (Ingelman-Sundberg, *et al.*, 2007).

Os polimorfismos no gene *CYP2C19* têm vindo, também, a influenciar o metabolismo e conseqüente ação terapêutica de diversos fármacos substratos deste enzima, como os PPI (Chong & Ensom, 2003) e os antidepressivos (Ingelman-Sundberg, *et al.*, 2007). Os estudos de Steimer *et al.* (2005) fundamentam isso mesmo e associam o genótipo do CYP2C19 com o risco a reações adversas durante o tratamento com antidepressivos como a amitriptilina.

### 3.2.1. VARIANTES POLIMÓRFICAS COM SIGNIFICADO CLÍNICO NA TERAPÊUTICA COM O OMEPRAZOL

Ao longo dos anos, a investigação médica tem-nos dado provas mais do que suficientes de que a constituição do genoma humano de cada indivíduo está, indiscutível e comprovadamente, relacionada com o resultado das terapêuticas medicamentosas e o tratamento com os PPI não é exceção (Furuta, *et al.*, 1999; Furuta, *et al.*, 2002; Kawamura, *et al.*, 2003; Furuta, *et al.*, 2005). Como já muito referido anteriormente, um dos fármacos catalisados pelo CYP2C19 é omeprazol, cujo metabolismo farmacocinético já foi descrito atrás. De facto, e como também já abordado, os indivíduos cujo fenótipo para o CYP2C19 é lento (PM – “*Poor Metabolizer*”) apresentam taxas de sucessos bastante mais satisfatórias no tratamento das úlceras gástricas (Klotz, 2006) e da GERD, com o omeprazol e outros PPI (Furuta, *et al.*; 2002; Kawamura, *et al.*, 2003; Kawamura, *et al.*, 2007). Um estudo Japonês revelou que os indivíduos com um fenótipo de metabolização lento (PM) do CYP2C19 necessitariam de apenas 10 mg de omeprazol, ao contrário das 20 mg *standard*, para adquirir um efeito terapêutico comparável aos indivíduos não portadores desse alelo variante (Shimatani, *et al.*, 2003). As alterações na expressão ou atividade dos CYPs que conduzem a um fenótipo de metabolização lenta (PM) geram sempre alguma preocupação, uma vez que esta variabilidade pode alterar a concentração plasmática e segurança dos seus substratos farmacológicos, cuja metabolização depende desses enzima. No entanto, e uma vez que o aumento dos níveis séricos de PPIs nos indivíduos PM sujeitos a uma dose *standard* de fármaco não desencadeiam efeitos adversos significativos nem se verifica o risco de toxicidade, os investigadores incentivam estes indivíduos a beneficiar do efeito terapêutico mais satisfatório que a dose padrão lhes pode proporcionar (Furuta, *et al.*, 1998; Ingelman-Sundberg, *et al.*, 2007).

Dentro dos metabolizadores rápidos (EM – “*Extensive Metabolizers*”), para o CYP2C19, as variações metabólicas entre os indivíduos são, ainda, muito pronunciadas. Deste modo, nos últimos anos, os investigadores têm-se debruçado sobre estes mesmos indivíduos de modo a estabelecer uma correlação entre novos alelos *CYP2C19* e os fenótipos individuais (Ingelman-Sundberg, *et al.*, 2007). Ingelman-Sundberg *et al.* (2007) analisou, recentemente, o alelo *CYP2C19\*17*, relativamente comum em

Caucasianos, e demonstrou que este causa o aumento da expressão do CYP2C19, derivado do aumento na transcrição do gene codificante. Os estudos de Kurzawski, *et al.*, (2006) investigaram os efeitos do alelo *CYP2C19\*17*, variante de fenótipo rápido, no resultado do tratamento com o pantoprazol e não obtiveram resultados significativos. No entanto, o mesmo estudo, para o omeprazol, revelou diferentes conclusões. Os indivíduos homozigóticos *CYP2C19\*17* apresentavam concentrações de omeprazol 40% mais baixas ao longo do tempo (Área Sob a Curva – AUC - “*Area Under Curve*”), quando comparados com indivíduos *wild-type* (WT) *CYP2C19\*1*, após uma toma isolada de 20 mg de fármaco (Sim, *et al.*, 2006). Os resultados de ambos os estudos são coerentes se pensarmos que o omeprazol usufrui de uma maior afinidade para com o CYP2C19, do que o pantoprazol, o que realmente se verifica (Li, *et al.*, 2004). Assim, o fenótipo interindividual terá tanto mais importância, no tratamento, quanto maior afinidade para o CYP2C19 tiver o PPI escolhido para a terapêutica. Tendo em conta que o rabeprazol e o pantoprazol são os fármacos do seu grupo que menos afinidade têm para o enzima CYP2C19, estes serão, à partida, os que menos desvios farmacocinéticos sofrerão sendo, por isso, portadores de melhores respostas terapêuticas nos indivíduos EM (Walker & Edwards, 2003)

A expressão e atividade do CYP2C19 tem uma marcada variabilidade étnica. Verifica-se que apenas 1 a 5% dos indivíduos caucasianos e africanos são metabolizadores lentos, enquanto que 13 a 23% dos turcos e orientais (Japoneses, Chineses, Coreanos e Árabes) são portadores deste fenótipo (Desta, *et al.*, 2002). Quer o alelo *CYP2C19\*2* quanto o *CYP2C19\*3* estão presentes na grande maioria dos indivíduos PM, em especial o *CYP2C19\*3*, que é comum na maioria dos asiáticos (Ingelman-Sundberg, *et al.*, 1999; Xie, *et al.*, 2001). Assim, e uma vez que há 4 vezes mais metabolizadores lentos Asiáticos, principalmente Japoneses, do que Caucasianos, alguns autores defendem que o despiste do fenótipo nos indivíduos sujeitos a PPIs tem uma justa relevância clínica, na Ásia (Ingelman-Sundberg, *et al.*, 2007).

### 3.3. CYP3A4

---

O citocromo P450 3A4 pertence à subfamília de enzimas mais abundantes no hepatócito humano: a subfamília CYP3A. Presente no fígado e intestino, o CYP3A4

metaboliza cerca de 60% dos fármacos existentes, o que o torna responsável por uma parte considerável das interações medicamentosas. De facto, este CYP metaboliza mais fármacos do que qualquer outra enzima humana (Gonzalez & Yu, 2006). Contribui, também, no intestino, para o efeito de 1ª passagem a que se sujeitam os fármacos entéricos (Casarett & Doull, 2008).

A estrutura química do CYP3A4 é, inevitavelmente, interessante e é responsável por diversas particularidades do enzima. Após se conhecer a capacidade deste enzima em catalisar substratos de elevadas dimensões, verificou-se que o centro ativo do CYP3A4 é suficientemente grande para metabolizar dois substratos, diferentes, ao mesmo tempo, embora em regiões, do centro ativo, distintas. Esta característica confere ao CYP3A4 algumas particularidades. Uma delas, prende-se com o facto de que existe a possibilidade de ativação homotrópica (o substrato estimula o seu próprio metabolismo, como é o caso do diazepam e da testosterona) dos seus substratos e também de ativação heterotrópica (onde um dos substratos estimula a atividade relativamente ao outro, como é o caso da  $\alpha$ -naftoflavona), com consequente modificação do comportamento cinético, esperado, do, ou dos, fármacos em questão. Na verdade, apurou-se que quando um substrato se liga, o centro ativo aumenta o seu tamanho em, pelo menos, 80%, o que permite a ligação de um segundo substrato. Para além disso, o facto de os diferentes substratos se ligarem a diferentes locais do centro ativo, permite que raramente se verifique inibição do enzima, pelo seu substrato. Deste modo, o resultado das diferentes interações fármaco-enzima, a possibilidade e força da inibição depende muito do, ou dos, substratos ligados. No entanto, note-se que a ligação, ou interação de um substrato ao grupo heme, inibe diretamente o metabolismo de todos os substratos do CYP3A4, sendo esta a única forma que se conhece de o inibir completamente (Ekroos & Sjogren, 2006).

O CYP3A4 é suscetível de ser induzido e inibido e conhece-se, atualmente, uma série de fármacos capazes de modificar a expressão deste enzima. Do lado da inibição, os responsáveis são, a título de exemplo, a eritromicina e o cetoconazol (Casarett & Doull, 2008) ou, ainda, as furanocumarinas, presentes nos sumos de toranja (Paine, *et al.*, 2006). Por outro lado, a indução do CYP3A4 verifica-se na presença de rifampicina, fenobarbital, fenitoína, carbamazepina e da hiperforina, presente na erva de São João (*Hypericum perforatum*) (Casarett & Doull, 2008). A indução é, à semelhança do

CYP2C19, mediada pelas proteínas CAR e PXR, que podem ser estimuladas a modificar a atividade do CYP3A4 tanto por agonistas ambientais e externos, como os fármacos já referidos, como por fatores genéticos. De facto, apesar de serem vários os metabolitos capazes de participar no mecanismo indutor do CYP3A4, a contribuição genética é a que mais conta para a diferente expressão interindividual do enzima (Ozdemir, *et al.*, 2000). Note-se que o CYP3A4 é o enzima humano mais expresso no fígado e intestino e responsável pela regulação dos níveis de diversas moléculas endógenas. Posto isto, a indução do CYP3A4 pode alterar significativamente o metabolismo de fatores intrínsecos, assim como de fármacos ou outros xenobióticos co-administrados (Harvey, *et al.*, 2000).

CYP3A4		
Substratos	Inibidores	Indutores
Alfentanilo		Carbamazepina
Alprazolam		Ciproterona
Budesonida		Clotrimazol
Claritromicina	Fluconazol	Dexametasona
Clopidrogrel	Cetoconazol	Fenitoína
Eritromicina	Eritromicina	Fenobarbital
Itraconazol	Indinavir	Lovastatina
Lopinavir	Ritonavir	Nifedipina
Loperamida	Verapamil	Omeprazol
Midazolam		Rifampicina
Nifedipina		Ritonavir
Ritonavir		Sinvastatina
Sinvastatina		

**Tabela 3.3 – Principais fármacos, indutores e inibidores do Citocromo P450 3A4 (Adaptado de Casarett & Doull, 2008).**

A regulação da expressão deste enzima é semelhante e bem conservada nos diferentes mamíferos. No entanto, e em ambiente laboratorial, devemos ter em atenção certas exceções. Uma delas é, a título de exemplo, não se verificar indução do CYP3A4, pela rifampicina, no ratinho e no rato, ao contrário do humano (Zhang, *et al.*, 2003). No próprio organismo humano, verifica-se, também, uma maior concentração

deste enzima na mulher do que no homem, apesar destes valores poderem variar em ambos os sexos (Casarett & Doull, 2008).

À semelhança dos seus outros enzimas homólogos CYP3A, o CYP3A4 está envolvido no metabolismo de diversas moléculas endógenas tais como o ácido retinóico, as hormonas esteróides ou mesmo os ácidos biliares (Ingelman-Sundberg, *et al.*, 2007). Pensa-se que é, talvez, devido ao seu essencial papel na regulação de fatores endógenos, que o *CYP3A4* é um gene tão bem conservado e apresenta tão poucos alelos variantes, a avaliar pelo que se conhece até hoje. Vários investigadores procuraram alterações na zona codificante do gene e, até hoje, conhece-se pouco mais do que 20 variantes do *CYP3A4*, algumas delas representativas de uma capacidade metabolizadora menor (*CYP3A4\*6*, *CYP3A4\*17* e *CYP3A4\*20*). No entanto, a baixa frequência destes alelos, na população, não explica as diferentes taxas de metabolização dos diversos indivíduos, o que levou os investigadores a verificar, em outros locais do gene, que não as regiões codificantes (Hirota, *et al.*; 2004). De fato, estudos demonstram que o SNP, na região promotora do gene (-392A>G), *CYP3A4\*2B*, foi associado a uma diminuição significativa da atividade enzimática, quando comparado ao respetivo WT, derivado da diminuição da ligação de proteínas nucleares ao local da mutação (Rodriguez-Antona, *et al.*, 2005).

#### 4. INDUÇÃO ENZIMÁTICA DOS CITOCROMOS P450

---

A maior parte dos Citocromos P450 são indutíveis, o que significa que a sua expressão pode ser estimulada, com conseqüente aumento da sua quantidade e, ou, atividade. De todos os enzimas, os CYPs são os mais suscetíveis à indução e, por isso, também os mais estudados, nesta temática (Sonoda & Evans, 2003; Gonzalez & Yu, 2006).

Existem dois tipos de indução: a autoindução e a indução “gratuita”. A primeira é, normalmente, a mais bem compreendida. Por norma, a indução enzimática, ocorre como resposta, do organismo, a concentrações elevadas, de um determinado xenobiótico, que pretende eliminar. Sob este efeito, o organismo humano desenvolve um estado de tolerância. Isto porque, na presença de um substrato, seu agonista, o enzima induzido acelera o processo de eliminação da molécula em questão. Deste modo, podemos considerar que a indução é um mecanismo de resposta adaptativo e reversível, da célula, a uma exposição acentuada de substrato. Neste caso, o substrato é conhecido como autoindutor, uma vez que estimula o seu próprio metabolismo. No entanto, é possível, e comum, que determinado xenobiótico induza um enzima que não aquele que o catalisa. Neste caso, trata-se de um fenómeno de indução “gratuita” (Casarett & Doull, 2008).

Por norma, a indução enzimática é menos responsável, que a inibição, pela ocorrência de interações medicamentosas. Ao contrário da inibição, a indução não atrasa a eliminação dos fármacos, diminui a possibilidade de se atingirem concentrações mais elevadas no plasma, o que leva a uma menor probabilidade de efeitos adversos e tóxicos ao medicamento. Em vez, verifica-se, na grande maioria dos casos, a perda de efeito terapêutico (Fery, Mueller, & Schrenk, 2010).

Embora não seja uma resposta toxicológica ou patológica, a constante indução dos enzimas está frequentemente associado ao aumento de volume hepático. Contudo, por norma, não se verifica a formação de tumores derivada, única e exclusivamente, deste processo (Casarett & Doull, 2008).

O mecanismo de indução é mediado por recetores, designados por xenosensores, que são ativados pela união de ligandos específicos, como é o caso de alguns fármacos ou moléculas endógenas. Quando ativados, estes recetores tornam-se proteínas de

ligação às moléculas de DNA, que irão regular a transcrição de diversos genes codificantes dos enzimas (Xu, Li, & Kong, 2005).

Os principais recetores mediadores da indução dos Citocromos P450 são o AhR, o CAR, o PXR e o Recetor  $\alpha$  Ativado por Proliferadores do Peroxissoma (PPAR $\alpha$  – “*Peroxisome Proliferator Activated Receptor-Alpha*”).

Estruturalmente, os diferentes recetores apresentam algumas semelhanças. A título de exemplo, todos os xenosensores apresentam um domínio de ligação ao ligando (LBD – “*Ligand-Binding Domain*”) e um domínio de ligação ao ADN (DBD – “*DNA-Binding Domain*”) (Gonzalez & Yu, 2006). Contudo, a sua semelhante estrutura tem algumas desvantagens, nomeadamente as potenciais interações, não só entre os recetores de xenobióticos referidos, como também entre recetores responsáveis por outros processos endógenos, como o recetor dos estrogénios ou o recetor da hormona tiroidea (Zhang, *et al.*, 2008; Tolson & Wang, 2010).

À exceção do AhR, cujo processo apresenta algumas diferenças (alguns dos passos estão invertidos), os xenosensores apresentam um mecanismo de indução muito característico e semelhante e que envolve 6 fases. Numa primeira fase ocorre a ligação do ligando (xenobiótico) ao recetor, o que desencadeia uma alteração conformacional no complexo, que promove a dissociação de proteínas acessórias (tais como as chaperone, co-repressores e proteínas de retenção citoplasmática), inicialmente ligadas ao recetor. O recetor é, também, estimulado a ligar-se a proteínas co-ativadoras. Depois, o complexo ligando-recetor dimeriza com uma proteína parceira, de modo a formar um heterodímero, funcional, de ligação ao ADN. Numa terceira fase, desencadeia-se a translocação do heterodímero, funcional, do citoplasma para o núcleo da célula. O passo 4 envolve a ligação do heterodímero a regiões específicas do ADN (elementos de resposta), normalmente localizadas na região 5' do promotor, do gene. Dá-se, posteriormente, o recrutamento de outros fatores de transcrição e da Polimerase do Ácido Ribonucleico (ARN, ou RNA – “*Ribonucleic Acid*”) – ARN-Polimerase – formando-se um complexo de transcrição. Finalmente, a transcrição do gene desencadeia-se, com conseqüente aumento dos níveis do ARN Mensageiro (mARN, ou mRNA – “*Messenger RNA*”) da proteína, ou proteínas, em questão (Oinonen & Lindros, 1998; Gonzalez & Yu, 2006).

Os elementos de resposta (também conhecidas como sequências de consenso), aos quais os xenosensores se ligam, são geralmente um par de sequências de hexanucleótidos, cuja orientação pode ser de repetição direta (DR – “*Direct Repeat*”), repetição inversa (IR – “*Inverted Repeated*”) ou repetição evertida (ER – “*Everted Repeat*”) e que encontram separadas por um espaçamento de 0 a 8 nucleótidos (Tirona & Kim, 2005).

Existe uma grande diversidade de compostos capazes de estimular a produção dos Citocromos P450. Um dos grupos de indutores mais potentes são os Hidrocarbonetos Aromáticos Polihalogenados (PHAHs – “*Polyhalogenated Aromatic Hydrocarbons*”), tais como derivados do naftaleno que apresentem, na sua estrutura, grupos funcionais cloro. Por norma, os compostos que apresentam este grupo funcional, em elevada quantidade, são resistentes à metabolização, sendo, por isso, potentes e prolongados indutores enzimáticos (Oinonen & Lindros, 1998).

Torna-se, também, importante referir que a indução enzimática, nomeadamente a conseguida por agonistas endógenos, é essencial para a homeostasia do organismo humano. O metabolismo da vitamina D é um exemplo (Zhang, *et al.*, 2008).

Note-se que a indução dos CYP pode ser também conseguida através de processos não mediados por recetores. Por exemplo verifica-se, também, indução dos CYP1A2, 2E1 e 3A através do aumento da eficiência da tradução e da estabilização proteica.

Tal como na expressão enzimática, existem diferenças interindividuais na suscetibilidade e intensidade da indução enzimática. As diferenças nos LBDs, DBDs dos recetores e elementos de resposta do ADN, dos genomas, conduzem a uma diferente indução e, por isso, a uma atividade enzimática dos CYPs, também, divergente (Casarett & Doull, 2008).

Por norma, espera-se que a indução dos citocromos P450 responsáveis pela bioativação de substâncias pré-carcinogêneas, em metabolitos tóxicos, capazes de reagir com o DNA, leve ao aumento da predisposição para o cancro. No entanto, a verdade é que vários estudos têm revelado que, ao contrário do expectável, a indução de determinados CYPs, prévia ao tratamento com substâncias de conhecida toxicidade, como é o caso dos PAHs, aflatoxinas e nitrosaminas, leva à diminuição do efeito nocivo destas moléculas, com conseqüente diminuição da incidência tumoral (Parkinson & Hurwitz, 1991). No entanto, em ratos e murganhos, esta “proteção” só é conseguida

quando a indução é anterior ao contacto com o agente nocivo. Caso a indução seja posterior ao tratamento com o composto cancerígeno, o que se verifica é a exacerbação da incidência tumoral, uma vez que o indutor enzimático irá funcionar como um promotor do tumor (Casarett & Doull, 2008). Ainda nesta temática, os estudos de Nebert, *et al.* (2004), retificam que a via de administração de um agente carcinogénico afeta o impacto da indução enzimática. Estes investigadores conseguiram resultados consistentes de que moléculas que são inseridas no organismo pela via oral, apresentam um menor potencial carcinogénico que aquelas aplicadas diretamente no seu local de ação.

Neste texto, serão abordados os recetores AhR, CAR e PXR, cujas características básicas se encontram resumidas na tabela 4.1, uma vez que são estes os intervenientes no processo de indução dos enzimas envolvidos no trajeto metabólico e funcional do omeprazol.

Recetor Nuclear	Elementos de Resposta	Genes Regulados	Agonistas	Antagonistas
AhR	XRE	CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2S1, UGT1A1, UGT1A6	PAHs, PHAHs, TCDD, $\beta$ -naftoflavona, metabolitos do triptofano, omeprazol, lansoprazol	CH-223191, omeprazol sulfido, $\alpha$ -naftoflavona
CAR	DR-3 DR-4 ER-6	CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, UGT1A1, SULT1A1, ALAS, MRP2, MRP3	<p><u>Directos:</u> Yin Zhi Huang, CITCO</p>	Clotrimazol PK11195 TCPOBOP
			<p><u>Indirectos:</u> fenobarbital, fenitoína,</p> <p><u>Inversos:</u> clorpromazina, meclizina</p>	
PXR	DR-3 DR-4 ER-6 ER-8	CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A7, CYP7A1, SULT2A1, UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, PAPSS2, ALAS, MDR1, AhR	Amprenavir, artemisina, carbamazepine, clotrimazol, dexametasona, fenobarbital, hiperforina, nifedipina, rifampicina	Cetoconazol, trabectedina (ET-743)

**Tabela 4.1 – Principais características dos recetores mediadores de indução AhR, CAR e PXR humanos (Adaptado de Gonzalez & Yu, 2006; Casarett & Doull, 2008)**

#### 4.1. INDUÇÃO MEDIADA PELO AHR

---

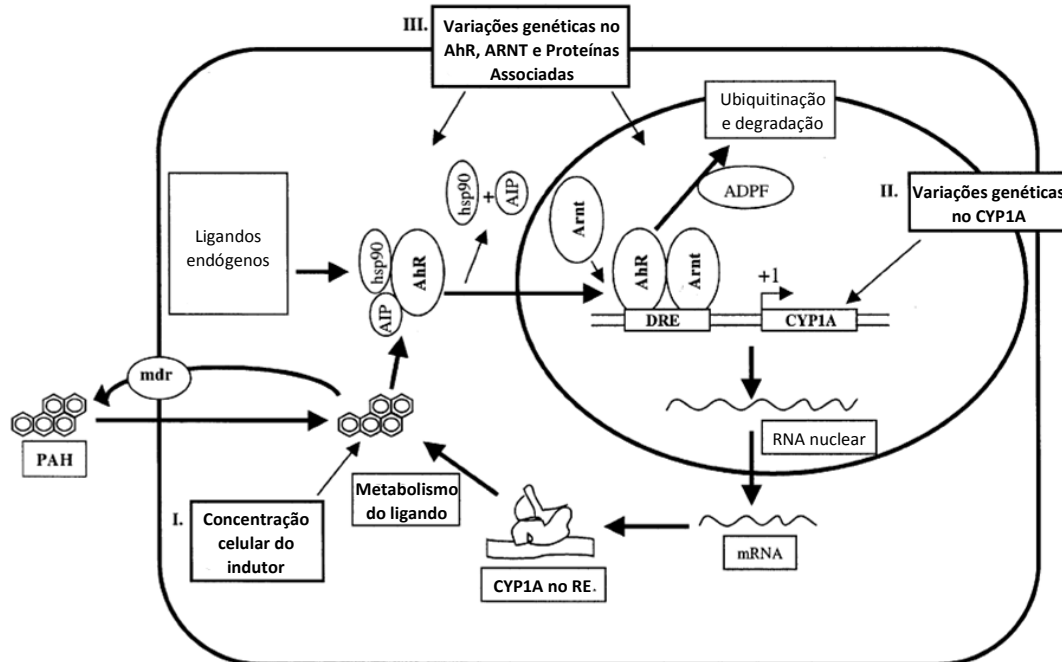
O Recetor dos Hidrocarbonetos Aromáticos, AhR, proteína citosólica, responsável pela indução da subfamília de Citocromos P450 1A e 1B (Yueh, *et al.*, 2003; Sugatani, *et al.*, 2004), assim como pela regulação de genes associados ao *stress* oxidativo, metabolismo e transporte das gorduras e proliferação celular (Urban, *et al.*, 2011), é expresso nos mais variados tecidos e linhas celulares, em especial no fígado, placenta, coração, pulmão e pâncreas (Dolwick, *et al.*, 1993a). Foi primeiro identificado como recetor de dioxinas, uma vez que o seu mais potente agonista é a 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (TCDD – “2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin”), um produto de combustão, gerado na produção de pesticidas ou na incineração (Rocas, *et al.*, 2011), e que, comparativamente com os, também agonistas, PAHs, tem 30.000 vezes mais capacidade para induzir o AhR (Nebert, *et al.*, 2004).

O gene *AhR* está localizado no cromossoma 7p15 e engloba 12 exões, incluindo um não-codificante (exão 12) (Micka, *et al.*, 1997). O AhR pertence a um grupo de proteínas que são, frequentemente, designadas por proteínas bHLH-PAS, uma vez que têm um domínio básico *helix-loop-helix* (bHLH), perto do seu terminal N, envolvido nas interações proteína-proteína e proteína-DNA, e um domínio *per-arnt-sim* (PAS), responsável pelas interações proteína-proteína e proteína-ligando (Mimura & Fujii-Kuriyama, 1998; Denison & Nagy, 2003; Ma & Lu, 2003).

Para além de responsável pela indução e regulação de diversos enzimas, o AhR desempenha, inclusivamente, funções no controlo do ciclo celular e apoptose (Nebert, *et al.*, 2004; Helmig, *et al.*, 2011).

Os agonistas do AhR incluem os PAHs, tais como o BaP e o 3-metilcolantreno (3MC), alguns flavonoides, como é o caso da  $\beta$ -naftoflavona (BNF), os PHAHs, como a TCDD, e os indoles (Song, *et al.*, 2002; Denison & Nagy, 2003). O omeprazol e o lansoprazol inserem-se, também, na lista de agonistas do AhR (Gonzalez & Yu, 2006). Certas moléculas endógenas, como os derivados do triptofano (indurrubina) ou os metabolitos do ácido araquidónico (lipoxina A4) também apresentam capacidade para funcionar como ligandos do AhR (Song, *et al.*, 2002; Denison & Nagy, 2003).

O mecanismo de indução pelo AhR, ilustrado na figura 4.1, inicia-se com a ligação do agonista ao recetor, situado no citoplasma da célula. Esta junção desencadeia uma



**Figura 4.1 – Esquema de indução dos CYP1A.** Mecanismo de ativação do AhR, com consequente indução dos CYP1A. Nos quadrados e a negrito estão listados os vários fatores físicos, patológicos e ambientais capazes de modular as várias etapas da indução e contribuir para a sua variabilidade (Adaptado de Ma & Lu, 2003).

série de alterações no recetor (desligamento das proteínas de choque térmico 90 (hsp90 – “*Heat-shock Protein 90*”) e outras proteínas chaperon, dissociação de proteínas que retêm o recetor, livre, no citoplasma e fosforilação por proteínas cinases, que culminam com a translocação do recetor para o núcleo. Já no compartimento nuclear, o AhR dimeriza com o Translocador Nuclear do Recetor dos Hidrocarbonetos Aromáticos (ARNT – “*Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator*”). Após o emparelhamento, o complexo AhR-ARNT liga-se aos elementos de resposta a xenobióticos (XRE - “*Xenobiotic Response Element*”), presente em múltiplas cópias antes do promotor, dos diferentes genes codificantes dos enzimas a induzir, tais como o CYP1A1, o CYP1A2 e outros, citados na tabela 4.1, procedendo à sua transcrição (Yueh, *et al.*, 2003; Sugatani, *et al.*, 2004; Helmig, *et al.*, 2011).

A indução dos enzimas regulados pelo AhR é, no geral, alcançada pelos diversos agonistas, em todos os mamíferos e, até, em alguns não mamíferos. (Hahn, 2002; Helmig, *et al.*, 2011). No entanto, já se conhecem algumas exceções, como é o caso do

omeprazol e do lansoprazol, que só parecem induzir os CYP1A no organismo humano e não no rato e murganho (Kikuchi, *et al.*, 1995). Esta particularidade será, novamente, abordada mais à frente.

Conhecem-se diversas moléculas capazes de bloquear a atividade do AhR, das mais variadas formas (Tabela 4.1). Os antagonistas, como é o caso do ácido 2-metil-2H-pirazole-3-carboxílico(2-metil-4-*o*-tolilazo-fenil)-amida, normalmente referido como CH-223191, da  $\alpha$ -naftoflavona (Kim, *et al.*, 2006) e do sulfureto de omeprazol (Gerbal-Chaloin, *et al.*, 2006), impedem a ativação do recetor, ligando-se a este, estabilizando-o numa conformação inativa. Estudos demonstram que o CH-223191 é, mesmo, capaz de bloquear os efeitos indutores e tóxicos do TCDD (Kim, *et al.*, 2006) e o sulfureto de omeprazol de impossibilitar a indução do CYP1A1. Para além disso, mesmo depois de ativado, há compostos capazes de impedir o prosseguimento da atividade normal do recetor. A molécula 3'-metoxi-4-nitroflavona, por exemplo, evita a translocação do AhR, ativo, do citosol para o núcleo da célula (Reiners Jr, *et al.*, 1999; Dertinger, *et al.*, 2000). Já o anti-inflamatório e analgésico salicilamida bloqueia a ligação do complexo recetor-ligando ao XRE (MacDonald, *et al.*, 2004) e o resveratrol, antioxidante presente no vinho tinto, impede o recrutamento de fatores de transcrição necessários para o normal funcionamento da transcrição (Ma & Lu, 2003). Os antagonistas endógenos ainda estão por descobrir, sendo que estes serão, provavelmente e em conjunto com os exógenos, responsáveis por, pelo menos, parte das variações interindividuais na estimulação nos CYP1A (Casarett & Doull, 2008).

A indução dos CYP1A, nos humanos, apresenta diferentes magnitudes, à semelhança de outros mecanismos reguladores. Conhece-se cerca de 30 diferenças interindividuais, no AhR, que conduzem a diferentes capacidades de ligação dos agonistas e, por isso, a diferentes indutibilidades (Catteau, *et al.*, 1995; Kawajiri, *et al.*, 1995b). Os estudos de Micka, *et al.* (1997), sugerem que estas variações devem-se a fenómenos envolvidos na região 7p15 cromossomal, uma vez que é aqui que o gene *AhR* se encontra codificado. De facto, apesar de o AhR humano não ser conhecido pela abundância de polimorfismos na sua região codificadora, ao contrário do PXR, já se conhecem vários polimorfismos nesta região que podem afectar a regulação do(s) gene(s) alvo, em questão (Koyano, *et al.*, 2005) e que se manifestam através de

mutações estruturais e nível de expressão do recetor, que variam consoante o fenótipo (Ma & Lu, 2003).

A mutação mais comum no gene *AhR* é uma troca de uma G por uma A, na posição 1661, também conhecida como R554K, que conduz à substituição de uma Arginina (Arg) por uma Lisina (Lis), na posição 554 da proteína (Kawajiri, *et al.*, 1995b). Este polimorfismo é comum na etnia Japonesa e Africana mas raro nos Caucasianos. Segundo os estudos de Smart & Daly (2000), os indivíduos portadores de pelo menos uma cópia deste alelo mutante, apresentam uma actividade CYP1A1 superior aos indivíduos WT. Por outro lado, estudos mais recentes, em população Caucásiana, sugerem que os indivíduos homocigóticos para esta mutação apresentam expressões mais baixas de ARNT, AhR e CYP1B1 (Helmig, *et al.*, 2011).

Contrariamente, a variante Val570Ile é relativamente rara e foi encontrada por Wong, *et al.* (2001), na população Africana. À semelhança, foi também reportado um alelo raro, presente na população Francesa (M786V, A2417G) que expressa um recetor com maior capacidade indutória dos CYP1A1 (Cauchi, *et al.*, 2001).

Os estudos de Fukushima-Uesaka, *et al.* (2004) deram, também a conhecer 4 variantes, K17T, K401R, N487D e I514T, presentes na população Japonesa, sendo que as K401R e N487D foram as mutações que apresentaram maiores consequências. As regiões do gene onde se encontram as variantes K401R e N487D mostraram-se cruciais na capacidade de ligação dos agonistas (Dolwick, *et al.*, 1993b). Verificou-se que os indivíduos portadores destas mutações têm menor expressão das suas proteínas, apesar do nível de mRNA expresso não se alterar. No entanto, a adição de um inibidor proteossómico, MG132, restaura os níveis normais das proteínas. Com isto, os investigadores concluíram que a redução da expressão não é causada diretamente pela mutação, mas sim pela proteína, codificada, ser mais facilmente degradada por proteossomas. Deste modo, uma vez que se encontra reduzida a atividade transcricional, dependente de ligando, estas variantes podem influenciar o metabolismo de diversos fármacos, por diminuição da indução dos CYP1A e outras enzimas reguladas por este mesmo recetor (Koyano, *et al.*, 2005).

Também as variações V570I e P571S foram encontradas no gene do *AhR*, ambas em indivíduos Africanos, que, apesar de permitirem que os ligandos se liguem ao recetor, falham na indução dos CYP1A1, mesmo na presença dos agonistas mais

potentes, como a TCDD (Wong, *et al.*, 2001; Harper, *et al.*, 2002). Por outro lado, os estudos de Micka, *et al.*, (1997) revelaram uma mutação no recetor, A381V, que reduz, *in vitro*, a capacidade dos substratos se ligarem ao AhR.

O AhR também desempenha um papel fundamental na regulação da proliferação de melanócitos, uma vez que intervem na modulação de genes envolvidos na melanogénese. Os estudos de Wang, *et al.* (2012) demonstram que uma mutação no promotor do gene *AhR* (Alelo T de rs10249788) está associada, na população Chinesa, a um efeito protector relativamente à doença dermatológica Vitiligo, responsável pela destruição selectiva de melanócitos e despigmentação.

As diferentes magnitudes na indução dos CYP1A, nos humanos, não se devem apenas a polimorfismos no gene codificante do AhR. A presença de mutações nos genes *ARNT* (que até à data tem relativamente poucas mutações capazes de comprometer a sua funcionalidade, descritas (Urban, *et al.*, 2011)) e *XRE* é outro dos fatores de predisposição para diferentes taxas de indução. Também a variação da concentração intracelular do substrato indutor, resultante do seu próprio metabolismo, é um fator determinante. Para além disso, variações nos níveis das proteínas acessórias e necessárias ao mecanismo de indução (que muitas vezes se encontram alteradas em situações inflamatórias ou patológicas) ou características intrínsecas, como o sexo do indivíduo, ditam a capacidade indutiva individual. A título de exemplo, alguns estudos indicam que a atividade do CYP1A2 é tendencialmente menor nas mulheres, comparativamente aos homens (Ma & Lu, 2003).

---

#### 4.1.1. PAPEL DO AHR NO RISCO À TOXICIDADE AMBIENTAL E CANCRO

---

Sabe-se que a exposição a PHAHs e HCAs tem consequências tóxicas e cancerígenas no organismo humano. Este risco depende não só da dose ao agente exposto, assim como da susceptibilidade de cada indivíduo. O AhR é um conhecido mediador do efeito nefasto destes contaminantes. A ativação do AhR por ligandos PHAHs e HCAs, com alta afinidade para o recetor, tal como a TCDD e o BaP, resultam em perturbações no ciclo celular, diminuição da capacidade replicativa do DNA e inibição da proliferação celular, uma vez o AhR modula a expressão de genes envolvidos na diferenciação e proliferação celular (Luo, *et al.*, 2012), para além dos

envolvidos na ativação tóxica destas moléculas. A perda de peso progressiva, imunossupressão, anomalias fetais, aumento de volume hepático e formação de tumores são alguns dos efeitos possíveis destas substâncias nocivas (Rocas, *et al.*, 2011).

Comparativamente, e dado o seu importante papel na toxicidade induzida por xenobióticos e desenvolvimento da patologia tumoral, assim como a sua importância no controlo do ciclo celular, tem sido sugerido que a existência de polimorfismos no gene AhR pode estar associada à suscetibilidade variável ao cancro, no humano (Helmig, *et al.*, 2011). No entanto, apesar de já diversos estudos epidemiológicos terem tentado provar a existência de uma relação directa, ou indirecta, dos polimorfismo deste recetor na susceptibilidade ao cancro, as diversas descobertas continuam a exibir resultados conflituosos (Luo, *et al.*, 2012).

Como já referido, de todas as variantes conhecidas, do gene *AhR*, o locus R554K (1661G>A) é o mais investigado. Está localizado no exão 10, domínio associado à transactivação de outros genes. A alteração de uma Arginina para uma Lisina leva à modificação da estrutura primária da proteína, o que pode, eventualmente, afetar o funcionamento do recetor. No geral, não há evidência suficiente que permita comprovar a hipótese de que este polimorfismo está associado ao desenvolvimento de cancro, nos humanos e, por isso, vários autores já começaram a descartar essa possibilidade (Luo, *et al.*, 2012). Os estudos de Zhang, *et al.* (2011) associaram este polimorfismo ao aumento do risco de cancro da mama, em mulheres, apesar de outro estudo epidemiológico não ter encontrado quaisquer evidências que suportem esta associação (Long, *et al.*, 2007). Dos mais variados estudos efectuados, a variante não foi também associada ao aumento da suscetibilidade ao cancro da bexiga, linfoma de Não-Hodgkin e cancro do pulmão (Kawajiri, *et al.*, 1995b; Zhang, *et al.*, 2002; Luo, *et al.*, 2012). Relativamente ao cancro coloretal, dois estudos obtiveram resultados inversos e ainda em um outro estudo, o R554K foi associado a um aumento do risco a pólipos no cólon, em indivíduos cuja alimentação fosse rica em carnes cozinhadas, contendo altos níveis de HCAs (Luo, *et al.*, 2012). Investigadores Brasileiros estudaram a região de transativação do gene *AhR* (exões 10 e 11 e intrão 10) de indivíduos saudáveis e de indivíduos com vários tipos de cancro (pulmão, mama, estômago, rim, fígado e outros) e concluíram que a estrutura primária do AhR está altamente

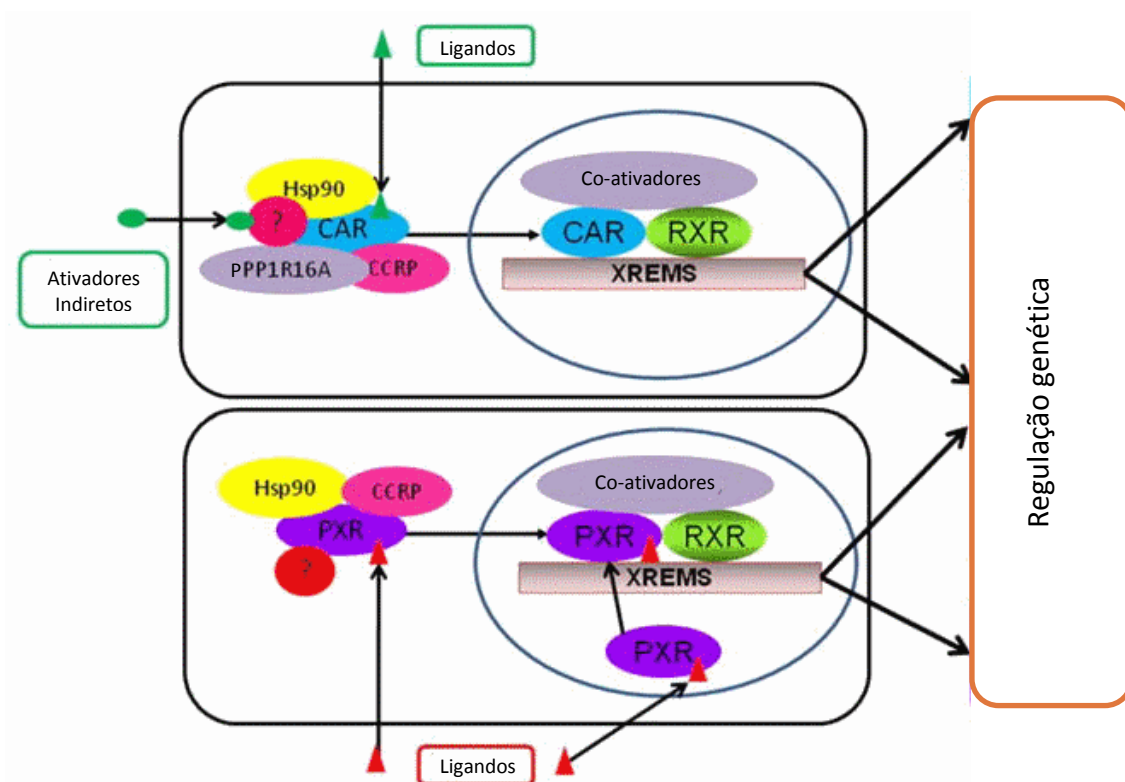
conservada nos tipos de cancro estudados e que a patologia não é devida a mutações nesta região do gene *AhR*, pelo que provavelmente o papel deste recetor na formação de tumores, em humanos, se existir, é indireto e cujo mecanismo continua por determinar (Rocas, *et al.*, 2011).

A exposição crónica à digoxina tem sido, também, associada a uma incidência aumentada de endometriose, em animais. No entanto, um estudo em mulheres Japonesas, que analisou dez polimorfismos, envolvidos na destoxificação da digoxina, não encontrou qualquer correlação entre a etiologia da doença e a exposição à digoxina (Matsuzaka, *et al.*, 2012) em mulheres com fenótipos mutantes.

Em termos da relação dos ligandos com o recetor, apesar de já se ter conseguido demonstrar que a variabilidade, dos mais potentes ligandos, na afinidade para o AhR humano (que leva a diferentes taxas de indução) estar envolvida na suscetibilidade a efeitos tóxicos pelos agonistas do AhR, as diferentes causas desta variabilidade continuam, à semelhança, por provar. Segundo Nebert, *et al.*, (2004), os ratinhos que possuem alta afinidade pelo AhR, e por isso, níveis mais altos de CYP1A em resposta a doses mais baixas de PAHs, ou outros ligandos tóxicos, exibem maior propensão para o cancro, mutagénese, defeitos congénitos, uroporfíria e toxicidade hepática, ocular e ovárica, que os ratinhos com menor afinidade, quando há contacto direto destas agonistas com os órgãos alvo. Pelo contrário, os ratinhos com menores taxas de afinidade pelo AhR, estão em risco superior de sofrer efeitos nefastos malignos ou tóxicos (imunossupressão, depressão da medula óssea), que os ratinhos com maior afinidade, quando o órgão alvo está distante do local de entrada dos agonistas. Comparativamente, nos indivíduos fumadores, há uma correlação direta entre a alta indutibilidade dos CYP1A e o cancro (pulmão, laringe e cavidade oral – tecidos em contacto directo com o fumo do tabaco) e nenhuma correlação entre um fenótipo de alta indutibilidade e o cancro do rim, pelvis, urétra e bexiga (tecido distantes do local de entrada do fumo do tabaco (Nebert, *et al.*, 2004). Deste modo, é possível que um indivíduo que consuma baixas quantidades de tabaco, mas que apresente uma taxa de afinidade para o AhR alta, desenvolva cancro oral ou pulmonar, enquanto que um doente com pouca afinidade nunca desenvolva qualquer tipo de cancro, mesmo esteja constantemente a fumar (Ma & Lu, 2003; Nebert, *et al.*, 2004).

## 4.2. INDUÇÃO MEDIADA PELO PXR E CAR

Também conhecidos como NR112 (Membro 2, do Grupo I, da Subfamília 1, dos Recetores Nucleares – “*Nuclear Receptor Subfamily 1, Group I, Member 2*”) e NR113, respetivamente, o PXR e o CAR são membros da subfamília 1 dos recetores nucleares. Ao contrário do AhR, estas duas proteínas são expressas em relativamente poucos tecidos (maioritariamente no fígado, intestino delgado e cólon) e linhas celulares. Ambos os recetores, que são ativados pela maioria dos mesmos compostos, dimerizam com o Recetor X Retinóide (RXR – “*Retinoid X Receptor*”)  $\alpha$  (RXR $\alpha$ ), de modo a formar o



**Figura 4.2 – Mecanismo indutor dos xenosensores CAR (em cima) e PXR (em baixo)**  
O recetor CAR pode ser ativado através de mecanismos diretos (ligação do ligando) ou indiretos, enquanto que a ativação do PXR é totalmente dependente da ligação de um agonista. Os genes induzidos por ambos PXR e CAR estão descritos na tabela 4.1 (Adaptado de Tolson & Wang, 2010).

complexo de ligação ao ADN, cuja função é reconhecer alguns dos mesmos Elementos de Resposta, descritos na tabela 4.1. Posto tudo isto, percebe-se facilmente que existe uma interação considerável entre estes dois xenosensores, pelo que é, por vezes, difícil

compreender se determinado mecanismo indutor é mediado pelo PXR, pelo CAR ou por ambos (Xie, *et al.*, 2000; Faucette, *et al.*, 2006).

O PXR e o CAR são os xenosensores humanos mais importantes no que se refere a interações medicamentosas (Xie, *et al.*, 2000; Fery, *et al.*, 2010). Este facto deve-se a 3 principais fatores. Primeiro, o PXR e o CAR são os responsáveis pela regulação de vários tipos de enzimas catalisadoras, como os CYP e as enzimas conjugadoras (UDP-Glucuronosiltransferase (UGT - “UDP-Glucuronosyltransferase”) e Sulfotransferase (SULT)) e transportadores (Glicoproteína-p (P-gp - “P-glycoprotein 1”), também conhecida como ABCB1 ou MDR-1)) (Maglich, *et al.*, 2002; Faucette, *et al.*, 2006). Por exemplo, quando o antiviral ritonavir induz o CYP3A4, estimula, à semelhança, muitos outros CYPs, enzimas conjugadoras e transportadores regulados pelo PXR/CAR (Casarett & Doull, 2008; Zhang, *et al.*, 2008). Segundo, vários xenobióticos e moléculas endógenas (como a bilirrubina e os ácidos biliares) são capazes de ativar o PXR e, ou, o CAR (Zhou, *et al.*, 2009). Finalmente, alguns dos genes regulados pelo PXR e pelo CAR codificam proteínas, como o CYP3A4 e a P-gp, que são responsáveis pelo metabolismo de um número muito variado e elevado de substratos, pelo que a indução mediada pelo CAR e PXR tem impacto sobre um grande número de moléculas, tanto exógenas quanto endógenas (Tirona & Kim, 2005; Rhodes, *et al.*, 2011). Sendo assim, em termos clínicos, o AhR é um recetor menos importante, no que diz respeito às interações entre moléculas, uma vez que este recetor é ativado por relativamente poucas moléculas, comparativamente ao PXR/CAR, e porque os enzimas regulados pelo AhR, em especial o CYP1A2, têm pouco impacto na biotransformação de moléculas farmacológicas, ao contrário das reguladas pelo CAR/PXR, nomeadamente os CYP2B6, 2C8, 2C9, 2C19 e 3A4.

Os estudos de Kohle & Bock (2009), verificaram que o AhR é outro dos alvos de indução do PXR, pelo que o metabolismo dos CYP1A é indiretamente regulado por este recetor. Verificou, à semelhança, que o CAR pode ser, na verdade, regulado pelo AhR (Kohle & Bock, 2009).

O PXR e o CAR possuem LBDs muito similares (mas não idênticos), o que leva a que, normalmente, uma molécula que induz um dos recetores, é capaz de ativar, também, o outro e vice-versa. O mesmo verifica-se para os DBDs dos 2 xenosensores (Kohle & Bock, 2009): Por serem tão semelhantes, quanto ativados, o PXR e o CAR

ligam-se a algumas dos mesmos elementos de resposta, do ADN, com consequente indução de muitos dos mesmos enzimas (Kodama & Negishi, 2006).

Ambos PXR e CAR são ativados por uma panóplia de substâncias farmacológicas, das quais se destacam o fenobarbital e a carbamazepina, responsáveis pela ativação de ambos os recetores (Tolson & Wang, 2010). Os estudos de Li, *et al.* (2009), desmonstraram que também os terpenoides e flavonóides, presentes no extrato de Ginkgo Biloba, muito utilizado nos dias de hoje, funcionam como ligandos dos principais xenosensores. Os Ginkgolidos A e B, por exemplo, são potentes indutores do PXR, enquanto que os flavonóides quercetina e *kaempferol* o são tanto no PXR como no CAR e AhR.

O PXR e o CAR estão altamente envolvidos em processos executados em prol da homeostase corporal e, por isso, mantêm uma ligação, muito próxima, com outros recetores celulares. Para além de serem ativados por certos substratos endógenos (Fery, *et al.*, 2010), os 2 xenosensores regulam muitas das enzimas envolvidas na atividade metabólica e hormonal destas moléculas intrínsecas, como é o caso da vitamina D, bilirrubina e ácidos biliares.

Alguns recetores de moléculas endógenas, como o Recetor da Vitamina D (VDR – “*Vitamin D Receptor*”) podem mimetizar o PXR ou o CAR e induzir o CYP3A4. Para além desta relação, os 2 xenosensores revelaram-se, inclusivamente, envolvidos no metabolito do osso. Pensa-se que os agonistas do PXR e CAR podem causar osteomalacia, uma vez que o seu papel na indução do CYP3A4 pode acelerar a inativação da forma ativa da Vitamina D e, conseqüentemente, prejudicar a absorção de cálcio (Xu, *et al.*, 2006; Zhou, *et al.*, 2006a).

O CAR e o PXR parecem, também, atuar como recetores *backup* na prevenção da acumulação de ácidos biliares quando o principal recetor responsável pela regulação destas moléculas, Recetor X de Farnesóides (FXR – “*Farnesoid X Receptor*”) está sobrecarregado. (Tirona & Kim, 2005; Zhou, *et al.*, 2009) O ácido cólico, à semelhança do litocólico, é ligando e ativador do PXR e o CAR, pelo que ambos os recetores desempenham um papel fundamental na atuação à toxicidade por ácidos biliares. (Zhang, *et al.*, 2008; Kohle & Bock, 2009). No entanto, este sistema de proteção pode ser afetado pela expressão de um outro recetor, SHP (Pequeno Parceiro Heterodimérico 1 - “*Small Heterodimer Partner-1*”) que reprime a atividade do PXR e

do CAR (Tirona & Kim, 2005). Os ácidos biliares, como o litocolato são agonistas do VDR, pelo que tem sido sugerido que estes compostos podem estar, também, envolvidos na regulação do CYP3A4 intestinal (Makishima, *et al.*, 2002).

Ambos os recetores estão envolvidos na relação entre o metabolismo e o sistema imunitário. A expressão e indução de enzimas biotransformadoras de xenobióticos, mediada pela maioria dos recetores, incluindo o PXR, CAR e AhR, são suprimidas por infeções e doenças inflamatórias, vacinação e tratamento com endotoxinas e citocinas inflamatórias. Esta atenuação envolve a supressão do PXR e CAR, por diminuição da atividade do Recetor dos Glucocorticóides (GR – “*Glucocorticoid Receptor*”), que tem um papel ativo na síntese dos 2 recetores. O resultado é a diminuição da atividade do GR, PXR, CAR, AhR e outros recetores, incluindo os envolvidos no metabolismo de moléculas endógenas e exógenas. A diminuição da atividade do GR deve-se ao Fator Nuclear  $\kappa$ -B (NF- $\kappa$ B – “*Nuclear Factor kappa-B*”), que é ativado durante a doença inflamatória e infecciosa. O NF- $\kappa$ B liga-se ao DBD do RXR $\alpha$  e conseqüentemente diminui a atividade transcricional de todos os recetores nucleares que formam heterodímeros com esta proteína (como o PXR, CAR e o GR). Assim, na doença inflamatória, a diminuição da atividade do PXR e CAR é conseguida de forma direta, através do aumento dos níveis do NF- $\kappa$ B e indiretamente, por diminuição do GR. Como já referido, observa-se, inclusivamente, a diminuição da atividade transcricional do AhR, apesar de este formar heterodímeros com o ARNT e não com RXR $\alpha$ . No final, da diminuição coletiva dos recetores nucleares, o NF- $\kappa$ B suprime, indiretamente, as enzimas biotransformadoras de xenobióticos associadas à infeção e inflamação. No entanto, o contrário também se verifica, ou seja certos recetores, quando ativados, podem complexar com o NF- $\kappa$ B e reprimir a expressão de genes regulados pelo recetor, genes estes que estão envolvidos na atividade e resposta inflamatória. Ou seja, verifica-se, pelo contrário, uma diminuição da resposta imunitária. Esta é a base, pelo menos em parte, do efeito imunossupressor dos corticosteróides, que ativam o GR, e do potencial imunossupressivo dos agonistas do PXR, tais como a rifampicina e o mifepristone (De Bosscher, *et al.*, 2006; Pascual & Glass, 2006; Zhou, *et al.*, 2006b).

À semelhança do AhR, as taxas de indução do PXR e CAR diferem nos diferentes indivíduos. Vários fatores contribuem para estes valores dispares, que podem ser

atribuídos a polimorfismos genéticos ou variação no splicing dos recetores, assim como variações nos elementos de resposta do DNA, níveis ou função alterada das proteínas acessórias (normalmente por causas patológicas e inflamatórias), diferenças na atividade basal dos enzimas consoante o sexo do indivíduo (o homem, por norma tem taxas de atividade do CYP3A4 inferiores às encontradas na mulher) e variação na concentração intracelular da substância indutora, por variação no metabolismo (Jones, et al., 2000; Tirona & Kim, 2005).

---

#### 4.2.1 PXR

---

O PXR, também conhecido como Recetor X de Esteróides (SXR – “Steroid X Receptor”) desempenha uma função extremamente importante no que se refere à regulação do metabolismo enzimático (Kliewer & Willson, 2002; Kliewer, 2005a).

O mecanismo de ativação do PXR, ilustrado na figura 4.2, é homólogo ao desenvolvido no início deste capítulo e inicia-se com a ligação de uma molécula agonista que estimula a dissociação, do recetor, de proteínas de retenção plasmáticas e co-repressores, como o Mediador Silenciador dos Recetores dos Retinóides e Hormonas Tiroideas (SMRT - “*Silencing Mediator for Retinoid or Thyroid-hormone Receptors*”, também conhecido como Co-repressor do Recetor Nuclear 2 (NCOR2 - “*Nuclear Receptor Co-repressor 2*”) e a associação com co-ativadores, como o Co-ativador Associado ao Recetor 3 (RAC3 – “*Receptor-Associated Coactivator 3*”). A dimerização com o RXR $\alpha$  é o passo seguinte, seguido da translocação, para o núcleo da célula, e da ligação a vários Elementos de Resposta da cadeia de ADN (Elementos de Resposta do PXR (PXREs – “*PXR Response Elements*”), tais como a Sequência Direta Separada por 3 Nucleótidos (DR-3 – “*Direct Repeat Separated by 3 Nucleotides*”), a DR-4, a Sequência Invertida Separada por 6 Nucleótidos (ER-6 – “*Everted Repeat Separated by 6 Nucleotides*”) e a ER-8) e que culmina com a ativação transcricional de diversos genes (Chang & Waxman, 2006; Stanley, et al., 2006), enumerados na tabela 4.1, sendo de especial importância os CYP3A.

O CYP3A4 é, como já referido, o responsável pela biotransformação da maioria dos fármacos existentes (Pascussi, et al., 2003). À semelhança deste enzima, também o PXR é uma proteína muito promíscua, isto é, com pouca especificidade,

uma vez que pode interagir com hormonas esteróides e com uma grande variedade de xenobióticos (Jones, et al., 2000; Kliewer, *et al.*, 2002; Tirona & Kim, 2005). Deste modo, a ativação ou bloqueio do PXR é de especial importância uma vez que ambas as possibilidades terão, inevitavelmente, uma grande influencia nos níveis basais dos enzimas que regula, com as possíveis consequencia que daí poderão advir (Bertilsson, et al., 1998; Kliewer, 2005b).

Consoante a espécie, a constituição do LBD do PXR é variável, o que constitui uma grande diferença no tipo de moléculas capazes de se ligar e ativar o recetor e, por isso, na indução dos CYP3A (Jones, et al., 2000). Tome-se como exemplo o caso da rifampicina, potente indutor nos humanos, mas inútil na ativação do PXR no rato e murganho (Tirona & Kim, 2005). No humano, os principais ligandos do PXR são, à semelhança da rifampicina, a artemisina, o clotrimazol, a nifedipina e outros, referidos na tabela 4.1. Certas moléculas têm maior afinidade para o PXR que outras, onde se destaca os casos da rifampicina e hiperforina, com as maiores potências de ligação (Gonzalez & Yu, 2006; Shukla, et al., 2011). No caso de misturas racémicas de moléculas, o PXR, à semelhança do CAR, possui muita pouca estereoseletividade e, por norma, é ativado por ambos os isómeros, R e S. A C-ciclopropilalquilamida (S20) é uma rara excepção: um dos isómeros ativa preferencialmente o PXR humano e o outro o PXR do ratinho (Mu, *et al.*, 2005).

O PXR parece, inclusivamente, desempenhar um importante papel na supressão da atividade do NF- $\kappa$ B, no intestino delgado (Ma, Idle, & Gonzalez, 2008) e, por isso, estar envolvido na etiologia das Patologias Inflamatórias do Intestino: Doença de *Crohn* e Colite Ulcerativa (Langmann, *et al.*, 2004; Martinez, *et al.*, 2007).

O PXR humano já conta com quase 300 SNPs descritos. As variantes genéticas deste recetor devem ser minuciosamente estudadas uma vez que aquelas com interferência na transativação da proteína, podem ter um drástico impacto na expressão dos enzimas que regula, em especial o CYP3A4, um vez que alberga 50% da atividade enzimática, no fígado, e é responsável pela metabolização de cerca 60% dos fármacos existentes (Hustert, *et al.*, 2001; Moreira, *et al.*, 2011).

No que se refere à região codificante do gene, os exões 2 e 4 são aqueles onde se verifica maior abundancia de polimorfismos (Zhang, *et al.*, 2008). As variantes P27S (PXR\*2) e G36R (PXR\*3) foram observadas no exão 2. A P27S é relativamente

frequente em indivíduos Americanos, com descendência Africana (15-20% da população) e, apesar de se tratar de uma mutação não-sinónima (induz a formação de uma cadeia polipeptídica diferente), não tem qualquer repercussão nos enzimas regulados pelo recetor, nomeadamente o CYP3A4. À semelhança, também não se detetaram diferenças na transativação do CYP3A4 nos indivíduos portadores da variante *PXR\*3*, comparativamente com os WT (*PXR\*1*) (Hustert, *et al.*, 2001; Zhang, *et al.*, 2001).

O exão 4, codificante da porções terminais dos LBD e DBD, é aquele onde se verifica uma maior contribuição de polimorfismos genéticos. A variante *PXR\*10* (V140M) codifica um recetor PXR menos indutível pelos seus agonistas. Pelo contrário, o alelo *PXR\*11* (D163G) perde a total transativação basal dos elementos de resposta do CYP3A4, apesar de ser mais facilmente estimulado, pelos seus ligandos, a fazê-lo (Hustert, *et al.*, 2001). A variante Q158K ainda só foi descrita em indivíduos Chineses e está associada a uma ativação diminuída do recetor (Lim, *et al.*, 2005). Também a variante *PXR\*9* (E18K) resulta numa expressão diminuída da proteína, apesar da resposta do recetor ser comparável ao WT (Hustert, *et al.*, 2001). Os estudos de Moreira, *et al.* (2011), demonstraram recentemente e pela primeira vez, que muitos destes polimorfismos são, também, frequentes na população Brasileira. Já a *PXR\*5* (R98S), extremamente rara e só descrita na população Japonesa, é a mais radical e codifica um recetor sem qualquer transativação basal ou indutibilidade. Para além disso, a capacidade de ligação aos elementos de resposta do DNA também é menor (Hustert, *et al.*, 2001; Koyano, *et al.*, 2004).

No promotor e outras regiões não codificantes do PXR humano, também já se conhecem alguns polimorfismos, apesar de em menor número que os descritos na região codificante do gene (Lamba, *et al.*, 2008). A título de exemplo, a variante A7635G, no intrão 5, está associada a maior expressão basal do CYP3A4, no intestino, assim como a uma maior suscetibilidade de indução deste mesmo enzima, pela rifampicina. Comparativamente, a variante C8055T, também se encontra associada a um aumento da indução intestinal do CYP3A4, pela rifampicina (Zhang, *et al.*, 2008). Por isto mesmo, nos últimos anos os investigadores têm se preocupado em investigar se existe alguma relação entre polimorfismos nos xenosensores e a propensão ao cancro colorretal. Os estudos de Andersen, *et al.* (2010), demonstraram que as

principais variantes conhecidas no PXR não estão, ao contrário de outros xenosensores, associadas ao risco de cancro colorectal.

---

#### 4.2.2 CAR

---

O gene codificador do CAR, também conhecido como Recetor Constitutivamente Ativo, está localizado no cromossoma 1 e consiste em 9 exões (Ikeda, *et al.*, 2003). O mecanismo indutor deste xenosensor é consideravelmente mais complexo que o do PXR (Chang & Waxman, 2006; Kodama & Negishi, 2006; Stanley, *et al.*, 2006). O CAR é constitutivamente ativo, o que significa que, na ausência de um ligando exógeno, pode ligar-se ao RXR $\alpha$  e migrar até ao núcleo, onde se liga a elementos de resposta do ADN, conhecidos como PBREM (Elementos de Resposta ao Fenobarbital - "*Phenobarbital Responsive Enhancer Module*") e ativa a transcrição genética (Xie, *et al.*, 2000). *In vitro*, é este o mecanismo que costuma ser adoptado pelo CAR. No entanto, na situação *in vivo*, o CAR é impedido de fazê-lo através da Proteína Citoplasmática de Retenção do CAR (CCRP - "*Cytoplasmic CAR-Retention Protein*"), que o retém no citoplasma (Tirona & Kim, 2005), de proteínas Chaperon, como as hsp90 e possivelmente através da sua ligação a agonistas reversos endógenos, como o androstanol (5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ -ol) e o androstenol (5 $\alpha$ -androst-16-en-3 $\alpha$ -ol), ou seja, os androstanos pelos quais o CAR é nomeado (Xie, *et al.*, 2000; Tolson & Wang, 2010). A libertação do CAR pelas CCRP pode ser desencadeada por agonistas diretos, que se ligam diretamente ao recetor, ou por agonistas indiretos, que fosforilam o recetor, por ação da Proteína Cinase Ativada pela Adenosina Monofosfato (AMPK - "*Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase*"), como é o caso do fenobarbital, que estimula a indução dos CYP2B e, em menor extensão, dos CYP3A (Chen, *et al.*, 2003; Tirona & Kim, 2005). Os genes alvo do CAR encontram-se enumerados na figura 4.2.

A fosforilação é necessária quer para a retenção do CAR no citoplasma, como para a sua libertação, pela CCRP. No entanto, esta reação ocorre em diferentes locais do recetor. Para reter o CAR, ocorre uma fosforilação da serina, na posição 192, enquanto que na ativação, o que se verifica é uma desfosforilação pela proteína fosfatase 2A. Para além da desfosforilação, a ativação requer uma posterior

fosforilação pela AMPK, num local da proteína que não a serina 192 (Rencurel, *et al.*, 2006).

Como o CAR é constitutivamente ativo, mas retido no citoplasma, os ligandos deste recetor podem funcionar, como já referido, como agonistas diretos, agonistas inversos/reversos, agonistas indiretos ou antagonistas. Os agonistas diretos, como o contaminante e inseticida TCPOBOP (1,4-bis[2(3,5-dicloropiridiloxi)]benzeno), agonista do CAR no ratinho (e antagonista no CAR humano), ativam o recetor através da ligação ao recetor e deslocamento dos ligandos reversos endógenos (como os androstanos) ou promovendo a dissociação de co-repressores (como os NCOR) e recrutamento de co-ativadores (Co-ativador 1 do Recetor Esteróide (SRC-1), Proteína Especificante 1 (Sp1), Co-integrador de Sinal Ativador (ASC-2) e Proteína de Ligação ao Recetor Ativado pela Proliferação de Peroxissoma (PBP)) (Moore, *et al.*, 2000). Os agonistas inversos possuem o efeito oposto: promovem a dissociação de co-ativadores e o recrutamento de co-repressores. Podem, também, diminuir a atividade transcricional do CAR. Os agonistas indiretos, ativam o recetor não através da direta ligação ao LBD, mas sim da fosforilação da proteína (Gonzalez & Yu, 2006; Kohle & Bock, 2009; Tolson & Wang, 2010). Os antagonistas ligam-se ao recetor no mesmo LBD que os agonistas mas não ativam, nem desativam o CAR humano, impedindo, apenas, a ligação de outros substratos. O clotrimazol, o TCPOBOP e o PK11195 (1-(2-clorofenilmetilpropil)-3-isoquinolina-carboxamida), ligando do recetor das benzodiazepinas, enquadram-se nesta categoria, no humano (Moore, *et al.*, 2000; Li, *et al.*, 2008). Os ligandos do CAR, assim como as suas principais características, encontram-se discriminados na tabela 4.1.

Nas diferentes espécies, os xenobióticos podem funcionar como agonistas, ou antagonistas, para o CAR. Por exemplo, a clorpromazina e a meclizina são agonistas se se tratar do CAR do murganho, e agonistas inversos no CAR humano (Gonzalez & Yu, 2006). O fenobarbital é um ativador indireto do CAR no humano e no murganho, apesar de, no caso do PXR, ser apenas ativador no humano (e não no rato ou murganho) (Casarett & Doull, 2008; Tolson & Wang, 2010). Também a erva chinesa *Yin Zhi Huang*, utilizada na icterícia neonatal, ativa tanto o CAR humano como o do ratinho (Huang, *et al.*, 2004). Por isto mesmo, e sendo o CAR, assim como o PXR, tão importantes no metabolismo dos fármacos, os estudos toxicológicos e epidemiológicos de novas moléculas farmacológicas não devem ser efetuadas em células animais, mas

sim humanas, ou em células animais geneticamente modificadas (“humanizadas”) (Gonzalez & Yu, 2006).

À semelhança do PXR, o CAR desfruta de especial importância na homeostase interna. Por exemplo, o CAR desempenha um importante papel na destoxificação da bilirrubina, sobretudo em concentrações elevadas desta molécula (Zhang, *et al.*, 2004; Kohle & Bock, 2009). A bilirrubina é um ativador indireto do CAR e por isso, quando ativado, este recetor induz as UDP-Glucuronosiltransferase (UGT - “*UDP-Glucuronosyltransferase*”) 1A1 (UGT1A1), enzimas responsáveis pela glucuronidação da bilirrubina livre, assim como transportadores da bilirrubina/bilirrubina conjugada (Chang & Waxman, 2006; Kodama & Negishi, 2006).

A AMPK é sensível ao potencial energético da célula e, por isso, é ativada pelo aumento dos níveis de conversão da Adenosina Monofosfato (AMP - “*Adenosine Monophosphate*”) em ATP. Consequentemente, a AMPK é ativada pelo jejum prolongado. Comparativamente, o anti-diabético metformina também ativa a AMPK e, por isso, mostrou estar envolvida na indução dos CYP2B6 e 3A4, no hepatócito humano. Curiosamente, os mesmos investigadores que o demonstraram, também verificaram que o fenobarbital, à semelhança da metformina, diminui os níveis plasmáticos de glucose, em doentes de Diabetes Tipo 2, o que levou a comunidade científica a questionar a associação entre o CAR e o metabolismo dos glícidos (Rencurel, *et al.*, 2006). Sabe-se, hoje, que o CAR, ativado pelo fenobarbital ou metformina, liga-se ao factor de transcrição FoxO1 (Proteína *Forkhead Box O1*), responsável pela interação com sequencias de resposta à insulina (IRS - “*Insulin-Response Sequences*”), do ADN, que estimulam enzimas envolvidos no metabolismo da glucose, com conseqüente diminuição da gluconeogénese, como resultado da repressão do FoxO1, pelo CAR. Assim sendo, o CAR e o FoxO1 têm efeitos opostos, em termos de atividade transcricional: o CAR é um co-repressor do FoxO1 e o FoxO1 é um co-ativador do CAR (Kodama & Negishi, 2006; Rencurel, *et al.*, 2006).

Por outro lado, o CAR está envolvido na hepatotoxicidade do paracetamol por permitir que este fármaco induza a sua própria ativação em um metabolito tóxico. Vários estudos demonstraram que ratinhos que não possuam expressão da proteína CAR (ratinhos CAR *knockout*), são resistentes à hepatotoxicidade por paracetamol e sugerem, por isso mesmo, que o tratamento prematuro com agonistas do CAR pode

ser útil como coadjuvante no tratamento da toxicidade pelo paracetamol (Gonzalez & Yu, 2006; Tirona & Kim, 2005).

No CAR, os polimorfismos que modificam a cadeia proteica do recetor são raros. Os SNPs “não-sinónimos” identificados estão localizados, maioritariamente, no LBD do recetor. Deste modo, estas variantes têm repercussões tanto na ligação do agonista ao CAR, assim como na dimerização com o RXR, na interação com co-ativadores e na localização celular do recetor (Schwabedissen & Kim, 2009). A variante His246Arg, por exemplo, revelou, em testes *in vitro*, levar a uma diminuição da transativação genética e resposta à ligação do agonista. A variante Leu308Pro, por outro lado, comprometeu apenas a atividade constitutiva do recetor. Pelo contrário, as células que expressam as variantes Val133Gli e Asn323Ser não modificaram, *in vitro*, a atividade e comportamento do CAR (Ikeda, *et al.*, 2005).

Ikeda, *et al.* (2003) analisou o CAR humano, na população Japonesa e descreveu 26 novos polimorfismos. Apesar do estudo não ter identificado a influência das variantes, na expressão do gene, os investigadores não encontraram quais diferenças significativas na frequência dos polimorfismos mais comuns, entre indivíduos saudáveis, ou portadores de cancro, asma, epilepsia e arritmia (Ikeda, *et al.*, 2003).

## 5. INDUÇÃO ENZIMÁTICA PELO OMEPRAZOL

---

O omeprazol, principal benzimidazol substituído utilizado na inibição da secreção gástrica (Kikuchi, *et al.*, 1995), é conhecido pelo seu efeito indutor sobre os enzimas CYP1A, através da ativação do Recetor dos Hidrocarbonetos Aromáticos, AhR (Diaz, *et al.*, 1990).

São conhecidos muito poucos fármacos capazes de induzir os Citocromos P450 1A1 e 1A2. Após a comercialização do omeprazol, a comunidade científica interessou-se bastante por este fármaco, por este demonstrar ser detentor de um comportamento estimulador de ambos os enzimas (Frotschl, *et al.*, 1998).

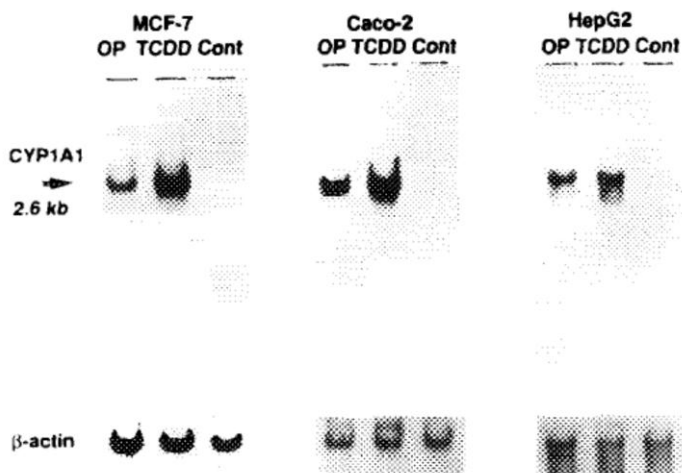
Os CYP1A estão envolvidos no metabolismo de xenobióticos e ativação de substâncias pré-carcinogénicas (Lesca, *et al.*, 1995) pelo que a sua expressão está altamente envolvida na capacidade teratogénica e carcinogénica (Stejskalova, *et al.*, 2011). Por isso mesmo, e praticamente desde a sua libertação para o mercado, o omeprazol tem sido alvo de diversos e extensivos estudos toxicológicos e epidemiológicos, dada a sua possível intromissão em mecanismos de conhecida inferência tóxica e cancerígena.

### 5.1 O OMEPRAZOL COMO INDUTOR DOS CYP1A – A HISTÓRIA DO MECANISMO DE ATIVAÇÃO INDIRETA DO AHR

---

O modo em como o omeprazol induz os CYP1A nem sempre foi claro. Na verdade, durante bastante tempo, foi bastante conflituoso. A primeira alusão ao omeprazol como indutor dos Citocromos P450 humanos data de 1990. Fármaco estreado da altura, o omeprazol foi alvo de estudos farmacoepidemiológicos de Diaz, *et al.* (1990), por se verificar, em diversos outros ensaios, uma diminuição da atividade de diversas enzimas CYP, *in vitro* e *in vivo*, na presença deste novo fármaco. Para surpresa dos investigadores, não foi isso que se verificou. Na verdade, estudos em células do fígado, humanas, apuraram que a presença do omeprazol provocou um aumento, proporcional à concentração e tempo, da acumulação de CYP1A2 no meio celular, sem qualquer distúrbio dos níveis de outras formas de Citocromos P450, nomeadamente 2D6, 2E1 e 3A. À semelhança, também vários mecanismos biotransformadores de diversas moléculas, como a fenacetina (dependente de

CYP1A2) e o BaP (dependente de CYP1A1) foram amplificados, assim como a síntese proteica de CYP1A2 e as concentrações de mRNA *CYP1A1* (Figura 5.1) e *CYP1A2*. Também estudos *in vivo*, efetuados em 5 pacientes sujeitos a biopsia, de modo a que fosse possível observar e quantificar, biologicamente, o seu tecido hepático, averiguaram o efeito do omeprazol antes e depois da administração repetida de 20 mg do fármaco, durante 4 dias. Em todos os indivíduos, verificou-se o aumento da



**Figura 5.1 – Indução do mRNA *CYP1A1*, em linhas celulares humanas.** As células humanas utilizadas no estudo foram as MCF-7 (Adenocarcinoma Mamário), Caco-2 (Adenocarcinoma do Cólon) e HepG2 (Hepatocarcinoma). Todas as linhagens foram tratadas, durante 24 horas, com 2 nM de TCDD ou 50 μM de Omeprazol (OP). Foi também mantido um Grupo Controlo (Cont) de células não tratadas. Utilizou-se a gene *β-actina* no controlo de quantificação. Observa-se, em todas as células humanas a indução do CYP1A1 por ambos os compostos omeprazol e TCDD, representado pelas bandas, identificadas com a seta (Adaptado de (Kikuchi, *et al.*, 1995).

atividade dos enzimas CYP1A, o que se mostrou coerente com os resultados obtidos na cultura celular. Logo, os investigadores concluíram que o omeprazol é, presumivelmente, responsável pela ativação do recetor AhR, em células hepáticas humanas, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, com consequente estimulação dos Citocromos P450 1A1 e 1A2 (Diaz, *et al.*, 1990).

Posteriormente, a comunidade científica tentou quantificar, em hepatócitos humanos, a capacidade de ligação do OME e do metabolito OME sulfona com o AhR, e compará-la à da TCDD. No entanto, o que os investigadores concluíram foi que tanto o OME como o OME sulfona não são ligandos do AhR (Daujat, *et al.*, 1992; Curi-Pedrosa, *et al.*, 1994; Lesca, *et al.*, 1995), nem de outros recetores, como a proteína 8 S, a que bastantes ligandos do AhR, como os PAHs, também se conseguem ligar (Lesca, *et al.*, 1993). Sendo assim, o modo em como os derivados benzimidazólicos induzem os CYP1A, via AhR, teria, se realmente ocorresse, que ser outro e independente da ligação

ao AhR (Lesca, *et al.*, 1995). Sendo os resultados controversos, desenvolveram-se novos estudos e em 1993, Quattrochi & Tukey (1993) voltaram a confirmar a indução do CYP1A1, através do aumento dos níveis de mRNA *CYP1A1*, tendo-se, inclusivamente observado, ligação específica do AhR aos Elementos de Reposta à Dioxina (DRE – “Dioxin-responsive Element”, ou XRE), o que demonstra que o OME inicia a ativação do AhR e que a indução do CYP1A1 humano, por este fármaco, é dependente do AhR (Quattrochi & Tukey, 1993).

O ano de 1995 ficou marcado pelos numerosos avanços positivos no que concerne ao mecanismo indutor do omeprazol e a comunidade científica conseguiu finalmente aproximar-se do verdadeiro mecanismo pelo qual este fármaco o executa. Para além de se ter descoberto que o omeprazol não induz os CYP1A, no ratinho, Kikuchi, *et al.* (1995) comparou as principais características dos mecanismo indutórios do CYP1A1 conseguida por ambos TCDD e OME. Com a TCDD, a indução máxima é conseguida em apenas uma hora após a exposição ao poluente enquanto que com o omeprazol, a intensidade da estimulação dependia do tempo de incubação com o fármaco. Sendo assim, os investigadores consideraram que, nos diferentes indutores, a ativação do AhR deveria ser conseguida por diferentes mecanismos e pôs-se a hipótese de, sendo o omeprazol um inibidor da ATPase da membrana, a ativação do AhR ser independente da ligação desta substância ao recetor, procedendo-se, em vez, por fosforilação deste mesmo, através da proteína cinase C (Kikuchi, *et al.*, 1995).

De acordo com as expectativas, demonstra-se que omeprazol se liga prematura e transientemente a uma proteína desconhecida, fazendo do mecanismo indutório uma transdução de sinais, similar aquele observado no caso dos recetores esteróides e que é independente da ligação de um agonista. Para além disso, a ideia de que a indução, mediada pelo omeprazol, é independentemente de um ligando começa finalmente a ganhar forma. A comunidade científica apercebe-se de que, realmente, os derivados bendimidazólicos não apresentam uma estrutura química que preencha os requisitos necessários para serem ligandos do AhR, uma vez que não são moléculas planares, aromáticas e policíclicas, como a TCDD ou o BaP. Para além disso, novos estudos demonstram que o omeprazol não compete com a TCDD na ligação específica ao AhR, o que torna cada vez mais real a hipótese de um mecanismo alternativo à ativação padrão do AhR. Não obstante, na presença de um inibidor da síntese proteica, a

indução do mRNA *CYP1A1*, pelo OME, ocorre de forma exacerbada, o que sugere que o AhR teria que estar envolvido, mesmo que não ocorresse ligação direta ao recetor, uma vez que tem sido demonstrado que a “super indução” requer o envolvimento deste recetor. Esta ideia também é comprovada pela acumulação nuclear da forma de ligação ao ADN do AhR, após tratamento com o OME (Lesca, *et al.*, 1995; Daujat, *et al.*, 1996).

Nesta altura, havia duas hipóteses para o mecanismo de indução dos CYP1A pelo omeprazol. Na primeira, o não ligando OME ativaria a transcrição dos CYP1A através da modificação AhR para um formato que permitiria a ligação ao DNA. Tal seria conseguido através do enfraquecimento das forças de interação para com o recetor que, na ausência de um ligando, mantém o complexo AhR num estado silencioso. Já tinha sido demonstrado, na altura, que a forma do recetor desligada da hsp90 consegue ligar-se ao XRE, do ADN, mesmo na ausência de ligando. Também um modelo de ativação independente de ligando, semelhante aquele que se verificava nos recetores esteróides seria outra das hipóteses. De acordo com este modelo, o omeprazol ligar-se-ia a recetores da membrana, o que estimularia a fosforilação intracelular, com consequente modificação dos níveis de ATP, na célula, fator essencial na estabilidade do recetor inativado. Este mecanismo apenas ativaria as formas de baixa afinidade do AhR, que são as presentes no humano e no coelho (Lesca, *et al.*, 1995; Daujat, *et al.*, 1996).

Kikuchi, *et al.* (1996) sugere a existência de um componente celular humano, sensível ao OME e que é o responsável pela ativação do AhR e volta a insistir na ideia de que a ativação endógena, através de sinais mediados por proteínas cinases ou condições celulares redox, podem ser a resposta. Justificam com o facto de a fosforilação ser crucial, a título de exemplo, na indução do HIF-1 $\alpha$  (Fator Induzido por Hipoxia 1, subunidade  $\alpha$  - “*Hypoxia-inducible factor 1, alpha subunit*”). Referem ainda outro exemplo: os estudos de Sadek & Allen-Hoffmann (1994), em queratinócitos humanos, em que se observou a indução do CYP1A1, independente de ligando. O que se sucede é que a libertação das células do seu substrato natural ou a quebra da adesão entre as células gera sinais celulares que conduzem à estimulação da expressão do CYP1A1 (Kikuchi, *et al.*, 1996).

Em 1997, os estudos de Lindros, *et al.* (1997), demonstraram que a indução dos CYP1A1 pelo omeprazol ocorre na mesma região hepática onde o AhR se encontra constitutivamente localizado, o que reforça a ideia de que o AhR está envolvido no processo de indução, apesar de este não envolver uma ligação direta ao recetor.

Os estudos de Dzeletovic, *et al.* (1997), por outro lado, vêm levantar novas dúvidas ao anteriormente pensado. Os autores sugerem que a ativação do AhR, pelo omeprazol, é feita através do reconhecimento do LBD do recetor, pelo ligando, uma vez que a ativação está dependente de um resíduo Valina, na posição 381 do LBD do AhR, essencial na ligação dos agonistas. Para ativar o recetor, o OME depende da sua habilidade em tornar-se um substrato de conformação planar, comum dos ligandos do AhR, onde o grupo sulfóxido do fármaco se mostra essencial (Dzeletovic, *et al.*, 1997).

Não obstante e regressando à ideia inicial, no mesmo ano, os estudos de Backlund, *et al.* (1997) voltam a confirmar o mecanismo indutório do OME via ativação do AhR, através da transdução de sinais intracelulares e não a partir da ligação direta ao recetor, nomeando as proteínas tirosina cinases como as principais e prováveis responsáveis pela mediação da indução pelo OME, processo este que não é inibido pelo antagonistas padrão do recetor, como é o caso da  $\alpha$ -Naftoflavona (Kikuchi, *et al.*, 1998; Kikuchi & Hossain, 1999). No mesmo ano demonstra-se, à semelhança, o aumento da expressão dos enzimas CYP3A, pela exposição ao OME (Backlund, *et al.*, 1997).

Voltam a surgir novas dúvidas em 1999, quando Denison & Nagy (2003) verificam competição na ligação ao AhR, por vários benzimidazois, incluindo o OME, fenómeno este que contraria muitos dos estudos anteriormente observados.

Já em 2004, Backlund & Ingelman-Sundberg (2004) identificam um novo resíduo, tirosina, presente no LBD do AhR, como crítico na ativação deste recetor pelo OME, mas não na ligação e ativação pela TCDD. No entanto, apesar de se compreender que este local é essencial na ativação do AhR, não se entende, ao certo, as implicações, desta descoberta, no mecanismo indutório do OME. Ainda no mesmo ano, os estudos de Lemaire, *et al.* (2004) voltam a considerar a indução dos CYP1A, pelo OME como um processo de ativação indireta do AhR, mediado pela fosforilação por proteínas tirosina cinases, mais concretamente pela tirosina cinase c-Src e que os autores comprovaram através da adição do inibidor específico da c-Src tirosina cinase, herbimicina A (que

apenas inibiu parcialmente a ativação pelo 3MC e totalmente a pelo OME). Os autores relembrou, ainda, que a fosforilação do AhR é essencial para que este recetor se ligue ao DNA e que a reação se verifica nos resíduos de tirosina. Para além disso, foi demonstrado que a proteína tirosina cinase c-Src está fisicamente associada ao AhR nos adipócitos do porquinho-da-índia e do ratinho. Segundo os autores, o mecanismo pelo qual o OME se rege, à semelhança de outros não ligandos do AhR, inicia-se com a ativação da c-src cinase, que leva à dissociação do seu complexo citosólico com o AhR. Esta dissociação ativa indiretamente o recetor, que fica livre para mediar a ativação dos genes que regula (Lemaire, *et al.*, 2004).

Estudos posteriores confirmam esta descoberta e elegem, novamente, as proteínas tirosina cinase (PTKs – “*Protein Tyrosine Kinases*”) como os componentes envolvidos na ativação, independente de ligando, do AhR, pelo omeprazol, em especial a c-Src, apesar de não se descartar a hipótese de existirem outras PTKs, adicionais, envolvidas na sinalização celular. Para além disso, identifica-se o resíduo tirosina 320, localizado no domínio PAS do LBD, como local de fosforilação da proteína. As proteínas cinases mostram-se, também, envolvidas no mecanismo, tóxico, induzido pela TCDD. De facto, tem sido demonstrado que o tratamento *in vivo* com a TCDD leva ao aumento da atividade da maioria das proteínas cinases, em especial da c-Src, de um modo dependente do AhR, que regula a sinalização do recetor. A c-Src fosforila diretamente o AhR, quer esteja presente, ou não, um ligando pelo que ambas as ativações (dependentes (TCDD) e independentes (sinalização pelo omeprazol) de um agonista) são moduladas pela atividade desta proteína. No entanto, o contributo da c-Src não é obrigatória no mecanismo de ativação do AhR, dependente de ligando. Na verdade, a S-src é apenas crucial na ativação do AhR, independente de ligando, como é o caso do omeprazol (Backlund & Ingelman-Sundberd, 2005).

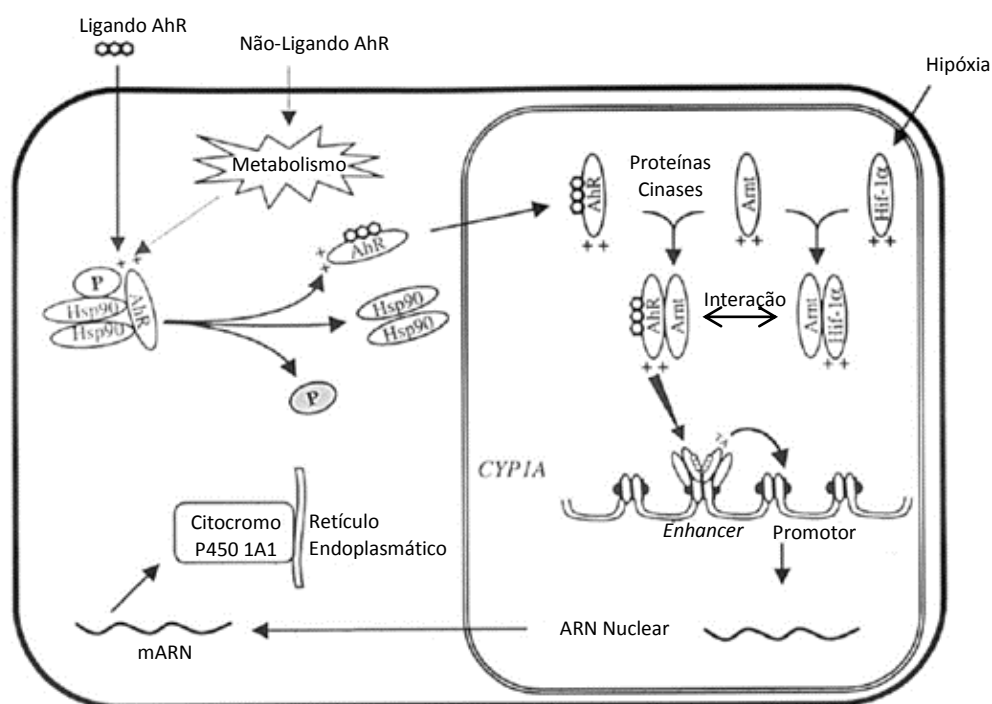
Sendo assim, em 2005, entende-se o mecanismo de ativação do AhR, pelo omeprazol como uma interação inicial do fármaco com moléculas presentes na superfície celular, que despoletam uma cascata de sinalização, que envolve as tirosina cinases e que leva a alterações conformacionais e consequente ativação do AhR. Pensa-se que este evento envolve a fosforilação do domínio PAS da proteína, uma região fundamental na modificação do formato inativo da proteína, complexado com as hsp90, no heterodímero AhR-ARNT ativo (Backlund & Ingelman-Sundberd, 2005).

Em 2006, a ativação do AhR pelo omeprazol incide em duas hipóteses: ativação do AhR através de um processo independente de ligando, que envolve a sinalização por proteínas cinase; ou a possibilidade de um dos metabolitos do OME ser a espécie ativa, que promove a ativação do AhR pelo processo padrão, que implica a ligação de um agonista (Dzeletovic, et al., 1997; Delescluse, Lemaire, Sousa, & Rahmani, 2000; Gerbal-Chaloin, et al., 2006).

Hoje em dia, acredita-se que o OME promove a indução dos CYP1A através de 2 mecanismos e que compreende a ativação do AhR quer pela ligação direta ao recetor, não ao LBD mas sim a um local secundário da proteína, quer indiretamente, mediante ativação de proteínas tirosina cinases, que fosforilam o AhR (Coe, et al., 2006; Casarett & Doull, 2008)

## 5.2 MECANISMO INDUTOR DO OMEPRAZOL

O omeprazol é responsável pela indução, em todas as linhas celulares, dos CYP1A1 e CYP1A2, no humano (Kikuchi, et al., 1995). De facto, estudos em seis



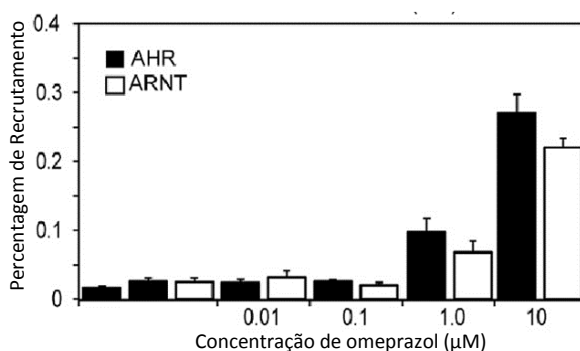
**Figura 5.2 –Modelo proposto como mecanismo geral de indução dos CYP1A.** Aquando da ativação do recetor, o complexo formado entre o AhR, hsp90 e outras proteínas dissocia-se, libertando o AhR que, deste modo, dimeriza com o ARNT. O heterodímero interage com o XRE, no ADN, com conseqüente transcrição dos CYP1A e outros genes regulados pelo AhR (Adaptado de Delescluse, et al., 2000).

voluntários humanos, verificam que a indução mediada pelo omeprazol (20 mg/dia, durante 10 dias) aumenta a atividade dos CYP1A duodenais de 19 para 167% (Kashfi, *et al.*, 1995). Em termos comparativos, se a taxa indutora dos CYP1A da TCDD, agonista potente do AhR, representar os 100%, a indução conseguida pelo omeprazol equivale a 32% desse valor (Backlund, *et al.*, 1999).

Como já referido, o omeprazol não é o típico agonista do AhR, uma vez que não se liga ao LBD do recetor. Na verdade, o OME ativa o AhR quer diretamente, através da ligação a um local secundário do AhR, quer indiretamente, mediante ativação de uma proteína tirosina cinase que fosforila o recetor (Coe, *et al.*, 2006; Casarett & Doull, 2008). Após a ativação do recetor, o mecanismo indutório, mediado pelo AhR, decorre homologamente ao percurso padrão, já anteriormente referido e ilustrado na figura 5.2 (Delescluse, *et al.*, 2000).

Assim como o fármaco “mãe”, também alguns dos metabolitos do omeprazol são capazes de mediar a indução dos CYP1A. O 5-OH OME, por exemplo, já demonstrou estimular os CYP1A1, que viram os seus níveis proteicos aumentados. Pelo contrário, o metabolito 5'-desmetil OME não o faz. Por normal, os benzimidazóis substituídos com um grupo nucleofílico, tiol ou amina, na posição 2 são agonistas ativos, enquanto que os metabolitos portadores de grupos metil ou hidroxil, nesta posição, não o são, o que demonstra a importância da posição 2, do benzimidazol, na indução dos CYP1A.

Pensa-se que a grande maioria das diferenças individuais na indução dos CYP1A esteja associada a polimorfismos genéticos no gene AhR e XRE (Casarett & Doull, 2008). Como já explicitado, o omeprazol ativa o AhR através da modulação do recetor por proteínas cinases. A fosforilação de resíduos tirosina, que altera a conformação do



**Figura 5.3 – Recrutamento das proteínas AhR e ARNT para indução dos CYP1A1, mediada pelo omeprazol.** Com a exposição ao omeprazol, observa-se o aumento do recrutamento dos fatores AhR e ARNT, envolvidos na transcrição do CYP1A1, gene regulado pelo AhR, o que demonstra a indução deste enzima na presença do fármaco (Adaptado de Powis, *et al.*, 2011).

recetor, com conseqüente alteração da função do mesmo, incluindo a sua ativação e ligação ao ADN, é essencial na modulação do AhR. A variante Y320F previne a indução mediada pelo OME mas não pela TCDD. Também o resíduo Y322 da proteína, é importante na ativação do recetor. Na ausência deste local, a ativação pela TCDD é alterada e a pelo OME completamente inibida, o que prova a importância deste resíduo na ativação do AhR, quer esta seja dependente, ou independente, de um ligando (Powis, Celius, & Matthews, 2011).

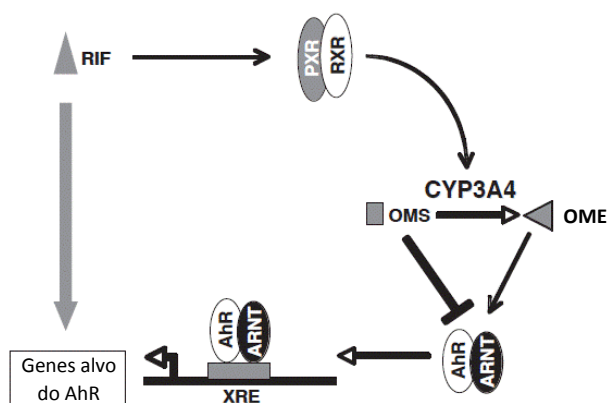
Para além do OME, também os fármacos Lansoprazol, Oxfendazol, Albendazol, Fenbendazol e Tiabendazol são responsáveis pela indução dos CYP1A1 e 1A2, cujo mecanismo indutor é homólogo verificado no OME (Lesca, *et al.*, 1995; Daujat, *et al.*, 1996; Lindros, *et al.*, 1997). Em termos de potência indutora, o OME é o fármaco mais potente e o lansoprazol o menos potente. O tiabendazol, por sua vez, tem um efeito intermédio (Kikuchi, *et al.*, 1996).

A indução dos CYP1A, pelo omeprazol, não se verifica em todas as espécies. De facto, as linhas celulares derivadas de murganhos não são passivas de serem estimuladas pelo omeprazol. Verifica-se que a habilidade do AhR se ligar ao XRE difere entre os hepatócitos humanos e as células homólogas, no ratinho (Kikuchi, *et al.*, 1995). Também no coelho, se verifica a indução dos CYP1A, pelo omeprazol, cujo mecanismo se acredita ser homólogo ao do humano (Lesca, *et al.*, 1995). Conforme a espécie, a sensibilidade à indução, pelo omeprazol, varia. Os hepatócitos humanos são as células mais sensíveis à atuação do omeprazol, enquanto que as células do fígado do rato são as menos sensíveis. As do coelho, por sua vez, são de sensibilidade intermédia. Devido a este facto, a espécie humana é a mais indicada na previsão dos efeitos indutórios do omeprazol (Shih, Pickwell, Guenette, Bilir, & Quattrochi, 1999).

### 5.3 PAPEL DO CYP3A4 NA REGULAÇÃO DO AHR, PELO SULFURETO DE OMEPRAZOL

---

O sulfureto de omeprazol é um dos metabolitos do OME, formado como produto final da degradação da molécula ativa do OME, um derivado sulfenamida, através da redução do grupo sulfóxido da molécula, principalmente, nas células parietais do estômago e sob condições ácidas. Este metabolito funciona como antagonista do AhR, ao contrário do omeprazol, por se ligar e estabilizar o recetor numa conformação



**Figura 5.4 – Mecanismo interativo entre o PXR/CYP3A4 e o AhR.** Na ausência do CYP3A4, o sulfureto de omeprazol comporta-se como um antagonista do recetor AhR. No entanto, em tecidos e linhas celulares onde o CYP3A4 e PXR são expressos, a adicção de rifampicina, agonista do PXR, o CYP3A4 é induzido, o que estimula a conversão do sulfureto de omeprazol no fármaco inicial, OME, ativador do AhR. Deste modo, a rifampicina detém um importante papel no controlo da expressão do gene que é normalmente induzido pelo AhR (Adapatado de Gerbal-Chaloin, *et al.*, 2006).

inativa. O sulfureto de omeprazol inibe a ativação do AhR, para além de induzir uma enzima tripsina que digere o recetor e impedir a translocação do mesmo até ao núcleo da célula. No entanto, em hepatócitos humanos, células altamente diferenciadas e com uma elevada taxa metabólica, tratados com rifampicina, um agonista do PXR, o sulfureto de omeprazol comporta-se como um agonista do AhR. Para tentar perceber este mecanismo, os investigadores utilizaram um inibidor do PXR, cetoconazol, que restaurou o efeito antagonista do sulfureto de omeprazol, que volta novamente a bloquear o AhR. O estudo comprova

que o sulfureto de omeprazol (antagonista do AhR) é eficientemente convertido em omeprazol (ativador do AhR) pelo enzima CYP3A4, um dos genes regulados pelo PXR, em hepatócitos, mas não em células menos diferenciadas, onde o PXR não é expresso. Sendo assim, espera-se que o sulfureto de omeprazol desempenhe diferentes papéis (antagonista *versus* agonista do AhR) nos diferentes tecidos, dependendo da expressão de ambos PXR e CYP3A4. O PXR e o CAR estão presentes no fígado, intestino delgado, cólon e rim, mas não são expressos (ou estão presentes em baixas concentrações) noutros tecidos e linhas celulares, ao contrário do AhR, que é ubiqüitário. Em condições normais, o papel do sulfureto de omeprazol como antagonista é pouco provável. Na verdade, o que se espera é que o CYP3A4, enzima principal na metabolização de fármacos, recicle eficientemente o sulfureto de omeprazol em OME (Gerbal-Chaloin, *et al.*, 2006).

#### 5.4 VANTAGENS DA UTILIZAÇÃO DO OMEPRAZOL COMO INDUTOR DOS CYP1A

---

Sabe-se que os indutores padrão dos CYP1A1 e CYP1A2, como a TCDD, o 3-MC e a BNF estão associados à diminuição dos níveis plasmáticos de bilirrubina e ao aumento da excreção biliar dos seus metabolitos hidroxilados. De facto, vários estudos evidenciam que ambos CYP1A1 e CYP1A2 podem estar envolvidos no catabolismo da bilirrubina. Desde modo, é provável que o OME possa ser uma efetiva mais valia no tratamento seguro e não tóxico dos doentes com Síndrome de *Crigler-Najjar* Tipo I, ou outro tipo de patologias associadas à icterícia (Kikuchi, *et al.*, 1995).

Tem sido sugerido que o omeprazol atenua o dano pulmonar provocado por condições de hiperóxia (Shivanna, *et al.*, 2011). Estudos indicam que o OME, através da ativação do AhR, estimula os CYP1A1 pulmonar e CYP1A2 hepático, a, curiosamente, destoxificar os peróxidos e hidroperóxidos lipídicos gerados por espécies reativas de oxigénio. Por isso mesmo, os investigadores sugerem que OME possa ser uma mais valia como fármaco adjunto no tratamento de patologias induzidas por condições de hiperóxia como a Displasia Broncopulmonar em bebés prematuros e Síndrome de Stress Respiratório Agudo em crianças e adultos (Shivanna, *et al.*, 2011).

O CYP1A2 catalisa a hidroxilação da aflatoxina B1, o que representa um mecanismo eficiente na destoxificação desta substância tóxica. A indução dos CYP1A2 aumentaria a taxa metabólica de destoxificação da aflatoxina B1, resultando numa diminuição da capacidade carcinogénea do composto. Deste modo, o tratamento, a longo-prazo, com o omeprazol pode fornecer um efeito protetivo contra a carcinogénese induzida pela aflotoxina B1 em certos países e regiões onde o cancro do fígado induzido por este composto é um problema de saúde pública (Ma & Lu, 2007).

## 6. RISCO DA UTILIZAÇÃO DO OMEPRAZOL A LONGO PRAZO

---

A atividade da família dos Citocromos P450 é de extrema significância na biotransformação dos mais diversificados substratos, quer estes sejam endógenos ou xenobióticos. O CYP1A, um dos muitos enzimas do grupo, encontra-se, entre outras funções, responsável pela catalisação de substâncias nocivas, como é o caso das PAHs e HCAs, presentes fumo do tabaco, carnes bem cozinhadas e alimentos processados. O mecanismo biotransformador destes enzimas serve como passo inicial na conversão destes substratos em epóxidos e outras espécies eletrofílicas, que formam adutos com o ADN e outras macromoléculas endógenas, o que resulta na concretização de fenómenos de elevada toxicidade. Algumas das exposições a estes compostos estão inegavelmente associadas à variação da incidência tumoral em alguns indivíduos, como é o caso dos fumadores, sujeitos a um maior risco de cancro do pulmão. Sendo assim, a bioativação, em metabolitos tóxicos, levada a cabo pelos CYP1A, constitui um passo crítico na suscetibilidade ao cancro humano (Harvey, *et al.*, 2000; Lemaire, *et al.*, 2004; Ma & Lu, 2007).

Dada a sua contribuição na execução de processos de claro envolvimento carcinogénico, espera-se que a indução destes enzimas tenha consequências nefastas em humanos expostos a altas concentrações de muitos dos substratos exógenos dos CYP1A. Na verdade, estudos, em animais, demonstram que os organismos que carecem do xenosensor AhR, mediador na indução dos CYP1A, estão protegidos do dano e teratogenicidade provocados pela TCDD e BaP, o que comprova o poder do AhR na determinação do cancro humano (Coe, *et al.*, 2006).

Por tudo o anteriormente referido, as implicações da indução destes enzimas na avaliação do risco humano tem sido, e continua a ser, uma constante fonte de preocupação e interesse na comunidade científica (McDonnell, *et al.*, 1992, Kawajiri, *et al.*, 1995a; Gerbal-Chaloin, *et al.*, 2006; Ma & Lu, 2007).

O OME é um conhecido indutor dos CYP1A. No entanto, é, também, um dos 10 fármacos mais prescritos do mundo (Chen, *et al.*, 2003). Sendo assim, é-nos impossível ignorar a hipótese de que a toma do omeprazol, nas proporções em que se processa, aliada à exorbitância de substratos nocivos, ativados pelos CYP1A, a que estamos inevitavelmente expostos, quer direta ou indiretamente, diariamente, se possa tornar

um fenómeno de grave deterioração da saúde pública, mundial. No entanto, tal como foi anteriormente relatado, o OME não é o típico ligando do AhR, nem desencadeia, inclusive, o mesmo mecanismo indutor que os agonistas padrão dos CYP1A. Na verdade, estudos indicam que a indução dos CYP1A1, mediada pelo OME, requer cerca de 12 horas, após a exposição ao fármaco, fenómeno consideravelmente mais lento, em comparação com outros indutores, como o BaP, do enzima (Shiizaki, *et al.*, 2008), o que pode, provavelmente, indicar, à semelhança, consequências da indução, pelo OME, dispares das que ocorrem na indução padrão e tóxica, pelos PAHs, HCAs e outros compostos.

Mesmo assim, apesar de se considerar o omeprazol um fármaco seguro (Kikuchi, *et al.*, 1995) e não haver qualquer evidência, laboratorial ou real, da capacidade genotóxica deste PPI, continua-se a especular a possibilidade de a terapêutica com este fármaco colocar os seres humanos, tratados com PPIs, numa situação de risco acrescido à toxicidade e carcinogénese, mediadas pelos mais variados ligandos do AhR (Petersen, 1995; Shiizaki, *et al.*, 2008).

Os estudos são escassos e os resultados concretos de que gostaríamos de estar cientes, ainda estão por vir. Não obstante, já começa a parecer ser possível desvendar o final desta história.

### 6.1. A TERAPÊUTICA COM O OMEPRAZOL E A VARIABILIDADE INTERINDIVIDUAL

---

A indução pelo OME pode, como qualquer outra, exibir uma elevada variabilidade interindividual (Ma & Lu, 2007). Desde modo, os diferentes fenótipos individuais podem implicar diferentes consequências na exposição ao OME.

Apesar de Buchtal, Grund, *et al.* (1995) demonstrar, em estudos efetuados em biopsias duodenais, em humanos, que a exposição ao omeprazol, em doses terapêuticas (20-60 mg/dia), durante pelo menos 1 semana, conduz à indução dos enzimas CYP1A, nas amostra analisadas, pensa-se de que a variabilidade metabólica, individual, está altamente relacionada com a capacidade indutora do omeprazol. De facto, diferenças na taxa de hidroxilação do OME, pelo CYP2C19, entre os indivíduos PM e EM, que resulta em diferentes concentrações de OME disponíveis para induzir os CYP1A (Tang, *et al.*, 2005), afeta o efeito indutor do omeprazol. Em concentrações

terapêuticas (40 mg), o omeprazol não demonstra induzir os CYP1A2, em metabolizadores rápidos. Nestes indivíduos, EM, seria necessária uma dose de 120 mg de OME para se conseguir verificar indução. Por outro lado, nos indivíduos PM, os 40 mg de OME são suficientes para se observar indução do CYP1A2. Pelo presente estudo, parece-me apropriado deduzir que, notoriamente, as variações individuais na taxa metabólica do OME, que afetam a concentração intracelular do agonista, contribuem para a variabilidade na indução dos CYP1A (Rost, *et al.*, 1992; Rost, *et al.*, 1994; Ma & Lu, 2007).

Também os polimorfismos no AhR fazem variar a capacidade indutora do OME. A variante Y320F, no AhR, por exemplo, é resistente à ativação pelo OME, mas não pela TCDD. Consequentemente, é provável que o resíduo tirosina 320 seja importante na ativação do AhR, pelo OME (Koyano, *et al.*, 2005).

As variantes K401R e N487D, por sua vez, mostraram diminuir a ativação do AhR, dependente e independente de ligando (Yueh, *et al.*, 2005). Assim, é provável que, nos indivíduos portadores deste polimorfismo, a indução pelo OME esteja dificultada e por isso, também, a expressão dos enzimas regulados CYP1A1 e CYP1A2 esteja diminuída.

## 6.2. A TERAPÊUTICA COM O OMEPRAZOL VERSUS ESTILOS DE VIDA

Questiona-se se o consumo de omeprazol, associado a comportamentos de risco que tenham influência nos níveis enzimáticos dos CYP1A, como fumar ou consumir alimentos processados e bem cozinhados, possa constituir um risco adicional na vida dos milhares de pessoas às quais o medicamento está prescrito. Até à data, e ao contrário dos ativadores típicos do AhR, o omeprazol não evidencia qualquer atividade carcinogénica (Shiizaki, *et al.*, 2008).

As carnes grelhadas e os alimentos processados são dois bons exemplos no que concerne à exposição às aminas heterocíclicas e aromáticas. Apesar de ainda não evidenciado, é possível que a ativação destes metabolitos, pelos CYP1A2 intestinais e hepáticos, aliada à indução que os próprios substratos mediam e à adicionada na terapêutica concomitante com o omeprazol, inclua um cenário de maior suscetibilidade ao cancro intestinal e coloretal, consequência da mais extensa bioativação destes compostos, no fenómeno de primeira passagem realizado no

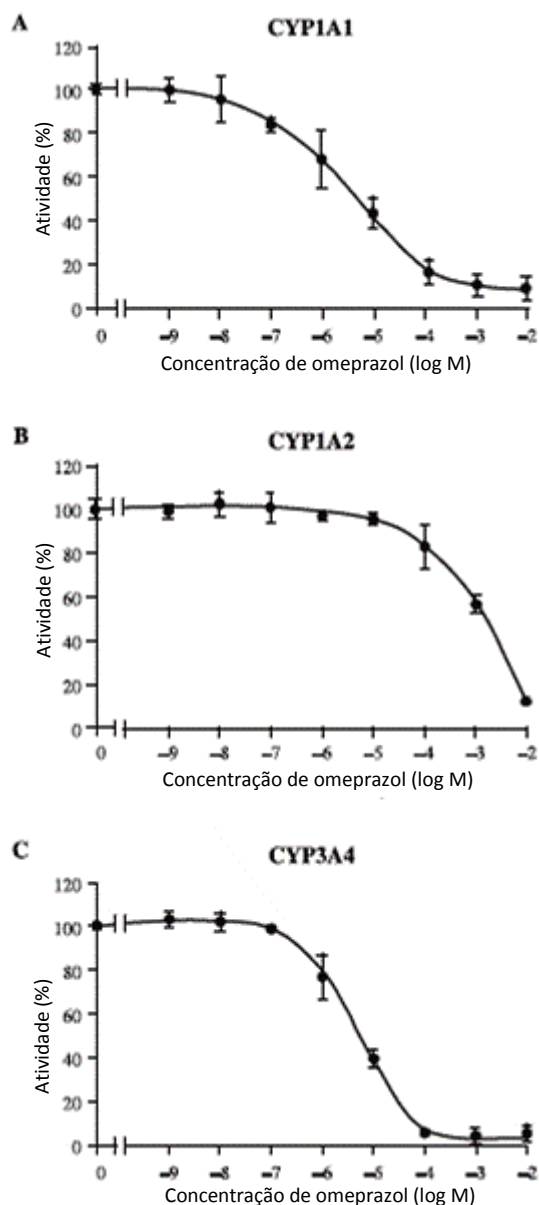
intestino, pelos CYP1A2, com consequentes danos genéticos, maioritariamente irreversíveis (Yueh, *et al.*, 2005).

O AhR influencia a ativação dos componentes do fumo do tabaco, como o BaP. A indução do CYP1A1, pelo OME, em indivíduos fumadores, pode aumentar a incidência

de cancro do pulmão, consequência do aumento da ativação metabólica de PAHs, pelo CYP1A1. Espera-se que os indivíduos com um fenótipo PM para o CYP2C19, comparativamente aos EM, estejam em risco superior de cancro do pulmão, uma vez que estarão sujeitos a uma maior concentração de metabolitos carcinogêneos do tabaco, devido à maior concentração de OME disponível para induzir os CYP1A, via AhR (Ma & Lu, 2007).

A exposição ao fumo do tabaco, simultânea à toma de omeprazol, estimula, à semelhança, o CYP1A1 intestinal, fenómeno este que já foi verificado em biopsias duodenais de indivíduos fumadores e doentes tratados com omeprazol. No entanto, o significado clínico encontra-se, ainda, por interpretar (Kohle & Bock, 2009).

Dado os resultados obtidos, também os estudos de Shiizaki, *et al.* (2008) pretenderam estudar os efeitos da exposição concomitante



**Figura 6.1 – Inibição dos Citocromos P450 1A1, 1A2 e 3A4 humanos, pelo omeprazol, em indivíduos expostos ao BaP.** A atividade dos CYP 1A1 (A) 1A2 (B) e 3A4 (C) foi diminuída com o aumento da concentração do fármaco omeprazol (Adaptado de Shiizaki, *et al.*, 2008).

ao BaP e omeprazol, em células humanas e em ratinhos, de modo a investigar o possível efeito sinérgico dos dois componentes. No entanto, e ao contrário de todas as previsões, a citotoxicidade do BaP foi inibida pela exposição ao omeprazol, cujo efeito foi dependente da dose. O OME não alterou os níveis de mRNA CYP1A1 e consequentes níveis proteicos do enzima, induzidos pelo BaP. Na verdade, o que os investigadores demonstraram foi uma inibição da atividade enzimática do CYP1A1, pelo OME (figura 6.1), que funcionou como um inibidor competitivo deste enzima. Por isso mesmo, concluíram que o efeito do OME, sobre o CYP1A1, envolveu não a indução, através da ativação do AhR, mas sim a inibição do enzima e que o o efeito protetor que o OME desenvolveu contra o BaP depende deste químico tóxico.

Como comprovado, todas as opções estão, ainda, em aberto no que concerne ao papel do omeprazol em fenómenos relacionados com o comportamento humano, nomeadamente com os estilos de vida cultural e alimentar, individuais. Mesmo assim, a verdade é que, apesar de se verificar, ou não, indução dos CYP1A, pelo OME, quer na presença, ou não, de outros agonistas do AhR, ainda não se demonstrou qual o impacto real que todo esse processo implica. Assim sendo, enquanto esperamos por novos desenvolvimentos e tendo em conta o que se sabe, atualmente, a terapêutica com o omeprazol durante um espaço de tempo prolongado, particularmente se aliada a uma alimentação proteica e a hábitos tabágicos regulares, deve ser devidamente considerada e ponderada de modo a que o que impere seja uma razão benefício/risco favorável.

### 6.3. A TERAPÊUTICA COM O OMEPRAZOL – PERSPETIVAS DE ESTUDOS FUTUROS

---

Como verificado, a atuação do OME, sob fenómenos de conhecida toxicidade ainda não foi completamente desvendada (Shiizaki, *et al.*, 2008). Em novos estudos, há ainda muitos viés a contabilizar, os quais se devem adaptar à verdadeira realidade dos indivíduos tratados com PPIs.

A terapêutica com o omeprazol é, por norma, de longo prazo, permanecendo, em muitos casos, até ao fim da vida dos indivíduos. Na maior parte dos estudos, até à data, efetuados, encontramos maioritariamente experiências cuja terapêutica das populações estudadas é de curto/médio prazo, o que não coincide com a realidade da

população que se pretende estudar e que estará, possivelmente, em risco. Para além disso, verifica-se uma utilização extensiva destes fármacos em doentes polimedicados, normalmente como forma de prevenir complicações gastrointestinais que possam advir da toma de terapêuticas simultâneas. Note-se, ainda, que há, hoje em dia, uma grande prevalência de patologias gastrointestinais nos países industrializados, associado a um elevado consumo de PPIs, consequência dos maus hábitos alimentares e comportamentais da população. A crescente prescrição de fármacos benzimidazólicos, inibidores da ATPase, deverá ser considerada com atenção, prescrição esta que irá, muito provavelmente, continuar a aumentar, dado o acentuado envelhecimento da população e alteração de estilo de vida, que privilegia hábitos alimentares duvidosos, para além da crescente preocupação da comunidade médica na prevenção de doenças gastrointestinais, à custa de substâncias farmacológicas que deveriam, no meu ponto de vista, ser utilizadas, apenas, em patologias agudas ou, se profilaticamente, exclusivamente em situações de esclarecida e fundamentada justificação clínica.

Outro dos fenómenos a ponderar incluir nos estudos futuros é a composição do ar respirado. A poluição atmosférica é um fenómeno inevitável, num mundo em constante desenvolvimento industrial e apesar de se unirem esforços no combate a estes químicos, a verdade é estamos, nos dias de hoje, expostos a químicos inacreditavelmente tóxicos e nocivos, muitos deles associados a fenómenos de indução e ativação pelos CYP1A. À semelhança, o papel dos constituintes do fumo do tabaco deve continuar a ser estudado ativamente.

Também a variabilidade étnica, na indução pelo OME, deve ser devidamente testada e estudada. Como já descrito, toda a diversidade genética contribui para diferentes resultados finais, em qualquer processo metabólico, quer esta esteja implicada na variabilidade dos enzimas metabolizadores, dos enzimas induzidos, dos recetores, ou mesmo das proteínas acessórias.

Por tudo isto, não esquecendo que os PPI são dos fármacos mais prescritos do mundo e enquanto se mantiver a possibilidade de o OME poder agravar os efeitos de químicos cancerígenos, através da já muito comprovada indução que este fármaco exerce sobre os CYP1A, novos estudos toxicoepidemiológicos devem continuar a ser desenvolvidos e financiados.

## 7. CONCLUSÃO

---

O omeprazol é, do ponto de vista farmacológico, um fármaco ideal. Para além de ser altamente seletivo, por se concentrar e ativar apenas no local onde é pretendido realizar o seu efeito farmacológico, desfruta de um comportamento cinético que é altamente benéfico para o organismo humano e que impede a maioria das interações e efeitos secundários que frequentemente encontramos nas terapias medicamentosas com outros fármacos. O OME é considerado um dos fármacos mais seguros do mundo e encontra-se, atualmente, entre os primeiros 10 fármacos mais prescritos, a nível mundial. Posto isto, o omeprazol tinha tudo, absolutamente tudo, para ser promissor, para ser o fármaco perfeito. Infelizmente, muitas vezes quando avaliamos um medicamento, vemos uma molécula com um trajeto delimitado, com determinadas características cinéticas e dinâmicas. Na verdade, tantas vezes nos esquecemos de realmente olhar e ver o organismo como um todo e, pior, ignoramos onde tudo começa: nos genes. Como futura profissional de saúde, tenho plena consciência de que é raro passar-nos pela mente, quando estamos a dispensar ou aconselhar um medicamento, o que vai acontecer farmacogeneticamente com aquele fármaco. Sem dúvida que avaliamos as potenciais interações com outros medicamentos, ou mesmo a possibilidade de uma contra-indicação no doente à nossa frente mas, na verdade, não me lembro de uma única vez em que nos meus estágios curriculares tenha parado para pensar em genética.

O omeprazol foi o primeiro fármaco a ser identificado, em 1990, como indutor dos CYP1A (Diaz, *et al.*, 1990). Estudos indicam que, no fígado humano, este medicamento pode levar a aumentos 2 a 50 vezes na concentração destes enzimas (Ma & Lu, 2007). Como muito discutido atualmente, os CYP1A detêm um papel crucial na suscetibilidade ao cancro, na medida em que são os enzimas responsáveis pela geração de substâncias de comprovada capacidade maligna, a partir de substratos como os PAHs, HCAs, PHAHs e as aminas aromáticas a que diariamente nos sujeitamos, ou estamos expostos. Apesar de o OME ser um comprovado ativador do AhR, ainda não há qualquer evidência experimental reportada que comprove um efeito carcinogénico, direto ou indireto, do fármaco. No entanto, a possibilidade de que o OME agrava o

efeito de pré-carcinogêneos, através da indução dos CYP1A, ainda permanece (Shiizaki, *et al.*, 2008).

Penso que devem ser muito poucos aqueles que, em idade adulta, nunca foram submetidos ao efeitos terapêuticos do OME. Atualmente, o omeprazol e os seus homólogos PPIs melhoram a qualidade de vida dos milhões de pessoas que sofrem de patologias gastrointestinais, cada vez mais prevalentes na nossa sociedade. Não obstante, sejamos sinceros, não são apenas os doentes que sofrem de patologias gastrointestinais que são medicados com omeprazol. Cada vez mais, os inibidores da bomba de prótons são utilizados como matéria profilática, nomeadamente em doentes polimedicados e hospitalizados. Não estou com isto, no entanto, a desencorajar a terapêutica com o omeprazol, nestes doentes. Acredito que, principalmente nos doentes polimedicados, o indivíduo tratado com omeprazol desfruta de uma mais-valia, profilática, superior ao risco de qualquer uma das possíveis e remotas desvantagens que o OME pode promover. Não obstante, sinto que o facto de o omeprazol ser tão conhecido como inócuo, levou a que a prescrição, deste medicamento, deixasse de ser, muitas vezes, verdadeiramente fundamentada. Apesar de todas as potencialidades que o OME apresenta, numa nos podemos esquecer de que se trata de um medicamento, como outro qualquer, do qual não sabemos tudo e de que a exposição a um fármaco deve ser sempre com “conta, peso e medida”.

Posto tudo isto, a ideia de que o OME pode, eventualmente, levar a qualquer fenómeno toxicológico e, ou, cancerígeno é assustadora. No entanto, até à data, ainda não há quaisquer indícios de que aquilo que se desconfiava possa constituir a realidade. Não obstante, existem alguns fenómenos que é necessário salientar. A variabilidade na metabolização do omeprazol é uma das razões para as diferenças na concentração plasmática do fármaco. Nos indivíduos PM para o CYP2C19, existe uma maior concentração de fármaco disponível para induzir os CYP1A e já se demonstrou, que na exposição a concentrações terapêuticas de omeprazol, estes indivíduos experimentam ativação do AhR e consequente transcrição dos enzimas CYP1A (Rost, *et al.*, 1992; Rost, *et al.*, 1994; Ma & Lu, 2007). Os Orientais, apresentam frequentemente um fenótipo CYP2C19 lento, pelo que a terapêutica com o omeprazol, nestes indivíduos, deve ter este facto em conta (Desta, *et al.*, 2002). Outro dos pormenores a ter em atenção é o caso dos fumadores, uma vez que existe uma exposição constante

aos substratos pré-mutagénicos do tabaco, que são ativados pelos enzimas que o omeprazol estará a estimular. Também os indivíduos que desfrutam de uma dieta rica em alimentos, nomeadamente a carne, bem cozinhados, ou alimentos processados, estão em potencial risco.

Finalmente, importa, também, referir que o omeprazol tem um tempo de semi-vida muito curto, cerca de 1 hora, o que diminui o tempo disponível para ativar o AhR e induzir os CYP1A. Não obstante, existe a possibilidade de os indivíduos que apresentam uma expressão do PXR/CYP3A4 aumentada, tenham a capacidade de reciclar ativamente as moléculas de sulfureto de OME, novamente em omeprazol, renovando e aumentando o tempo em que este último se encontra disponível, na circulação, para se dirigir às células.

Apesar de tudo, penso que podemos todos descansar ao saber que, apesar das desconfianças, nunca se observou qualquer efeito genotóxico no tratamento com o OME. No entanto, acredito que, bem no fundo da consciência de cada leitor deste texto e tendo em conta toda a evidência apresentada, esta possibilidade, apesar de diminuta, ainda permanece presente.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- Andersen, V., Christensen, J., Overvad, K., Tjonneland, A., & Vogel, U. (2010). Polymorphisms in NFkB, PXR, LXR and risk of colorectal cancer in a prospective study of Danes. *BMC Cancer*, 10, 484.
- Aranda da Silva, J. A., & Olivença, P. (1997). *Medicamentos - Farmacoterapia*. Tribuna Médica Press, 19-21
- AstraZeneca. (2012). *Prilosec, Highlights of Prescribing Information*. Obtido em 30 de Julho de 2012, de <http://www1.astrazeneca-us.com/pi/Prilosec.pdf>
- Backlund, M., & Ingelman-Sundberd, M. (2005). Regulation of aryl hydrocarbon receptor signal transduction by protein tyrosine kinases. *Cellular Signalling*, 17, 39-48.
- Backlund, M., & Ingelman-Sundberg, M. (2004). Different Structural Requirements of the Ligand Binding Domain of the Aryl Hydrocarbon Receptor for High- and Low-Affinity Ligand Binding and Receptor Activation. *Molecular Pharmacology*, 65, 416-425.
- Backlund, M., Johansson, I., Mkrtchian, S., & Ingelman-Sundberg, M. (1997). Signal Transduction-mediated Activation of the Aryl Hydrocarbon Receptor in Rat Hepatoma H4IIE Cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 272, 31755-31763.
- Backlund, M., Weidolf, L., & Ingelman-Sundberg, M. (1999). Structural and mechanistic aspects of transcriptional induction of cytochrome P450 1A1 benzimidazole derivatives in rat hepatoma H4IIE cells. *European Journal of Biochemistry*, 261, 66-71.
- Bertilsson, G., Heidrich, J., Svensson, K., Asman, M., Jendeberg, L., Sydow-Backman, M., et al. (1998). Identification of a human nuclear receptor defines a new signaling pathway for CYP3A induction. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 95, 12208-12213.
- Brunton, L., Lazo, J., & Parker, K. (2006). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics* (11<sup>a</sup> ed.). McGraw-Hill Companies, 663-670
- Buchthal, J., Grund, K., Buchmann, A., Schrenk, D., Beaune, P., & Bock, K. (1995). Induction of cytochrome P4501A by smoking or omeprazole in comparison with UDP-glucuronosyltransferase in biopsies of human duodenal mucosa. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 47, 431-435.
- Buchthal, J., Grund, K. E., Buchmann, A., Schrenk, D., Beaune, P., & Bock, K. W. (1995). Induction of cytochrome P4501A by smoking or omeprazole in comparison with UDP-glucuronosyltransferase in biopsies of human duodenal mucosa. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 47, 431-435.
- Casarett, & Doull. (2008). *Toxicology: The Basic Science of Poisons* (7<sup>a</sup> ed.). The McGraw-Hill Companies, Cap. 6, 221-255

- Catteau, A., Douriez, E., Beaune, P., Poisson, N., Bonaiti-Pellie, C., & Laurent, P. (1995). Genetic polymorphism of induction of CYP1A1 (EROD) activity. *Pharmacogenetics*, *5*, 110-119.
- Cauchi, S., Stucker, I., Solas, C., Laurent-Puig, P., Cenee, S., Hemon, D., et al. (2001). Polymorphisms of human aryl hydrocarbon receptor (AhR) gene in a French population: relationship with P4501A1 inducibility and lung cancer. *Carcinogenesis*, *22*, 1819-1824.
- CenterWatch. (2012). *Drug Information, FDA Approved Drugs*. Obtido em 30 de Julho de 2012, de <http://www.centerwatch.com/drug-information/fda-approvals/>
- Chang, T., & Waxman, D. (2006). Synthetic drugs and natural products as modulators of constitutive androstane receptor (CAR) and pregnane X receptor (PXR). *Drug Metabolism Reviews*, *38*, 51-73.
- Chen, Y., Ferguson, S., Negishi, M., & Goldstein, J. (2003). Identification of Constitutive Androstane Receptor and Glucocorticoid Receptor Binding Sites in the CYP2C19 Promoter. *Molecular Pharmacology*, *64*, 316-324.
- Chong, E., & Ensom, M. H. (2003). Pharmacogenetics of the proton pump inhibitors: a systematic review. *Pharmacotherapy*, *23*, 460-471.
- Coe, K., Nelson, S., Ulrich, R., He, Y., Dai, X., Cheng, O., et al. (2006). Profiling the hepatic effects of flutamide in rats: a microarray comparison with classical aryl hydrocarbon receptor ligands and atypical CYP1A inducers. *Drug Metabolism and Disposition*, *34*, 1266-1275.
- Curi-Pedrosa, R., Daujat, M., Pichard, L., Ourlin, J., Clair, P., Gervot, L., et al. (1994). Omeprazole and lansoprazole are mixed inducers of CYP1A and CYP3A in human hepatocytes in primary culture. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *269*, 384-392.
- Dalmady-Israel, C., & Hernandez, A. (1995). *Manual de Enseñanza de Medicamentos en Español: A Guide to Patient Drug Information in Spanish* (6ª ed.). American Society of Health-System Pharmacists (ASHP).
- Damiani, D. (2005). *Sistema Nervoso*. Obtido em 19 de Julho de 2012, de [http://www.sistemanervoso.com/pagina.php?secao=6&materia\\_id=47&materia\\_aver=1](http://www.sistemanervoso.com/pagina.php?secao=6&materia_id=47&materia_aver=1)
- Daujat, M., Charrasse, S., Fabre, I., Lesca, P., Jounaidi, Y., Larroque, C., et al. (1996). Induction of CYP1A1 gene by benzimidazole derivatives during Caco-2 cell differentiation: Evidence for an aryl-hydrocarbon receptor-mediated mechanism. *European Journal of Biochemistry*, *237*, 642-652.
- Daujat, M., Peryt, B., Lesca, P., Fourtanier, G., Domergue, J., & Maurel, P. (1992). Omeprazole, an inducer of human CYP1A1 and 1A2, is not a ligand for the Ah receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *188*, 820-825.

- De Bosscher, K., Vanden, B. W., & Haegeman, G. (2006). Cross-talk between nuclear receptors and nuclear factor kappaB. *Oncogene*, *25*, 6868-6886.
- Delescluse, C., Lemaire, G., Sousa, G., & Rahmani, R. (2000). Is CYP1A1 induction always related to AHR signaling pathway? *Toxicology*, *153*, 73-82.
- Denison, M. S., & Nagy, S. R. (2003). Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *43*, 309-334.
- Dertinger, S. D., Lantum, H. B., Silverstone, A. E., & Gasiewicz, T. A. (2000). Effect of 39-Methoxy-49-nitroflavone on Benzo[a]pyrene Toxicity. *Biochemical Pharmacology*, 189-196.
- Desta, Z., Zhao, X., Shin, J. G., & Flockhart, D. A. (2002). Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clinical Pharmacokinetics*, *41*, 913-958.
- Diaz, D., Fabre, I., Daujat, M., Saint, A. B., Bories, P., Michel, H., et al. (1990). Omeprazole is an aryl hydrocarbon-like inducer of human hepatic cytochrome P450. *Gastroenterology*, *99*, 737-747.
- Dolwick, K. M., Schmidt, J. V., Carver, L. A., Swanson, H. I., & Bradfield, C. A. (1993a). Cloning and expression of a human Ah receptor cDNA. *Molecular Pharmacology*, *44*, 911-917.
- Dolwick, K. M., Swanson, H. I., & Bradfield, C. A. (1993b). In vitro analysis of Ah receptor domains involved in ligand-activated DNA recognition. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, *90*, 8566-8570.
- Dzeletovic, N., McGuire, J., Daujat, M., Tholander, J., Ema, M., Fujii-Kuriyama, Y., et al. (1997). Regulation of Dioxin Receptor Function by Omeprazole. *The Journal of Biological Chemistry*, *272*, 12705-12713.
- Ekroos, M., & Sjogren, T. (2006). Structural basis for ligand promiscuity in cytochrome P450 3A4. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*, 13682-13687.
- EMA. (2011). *Resumo das Características do Medicamento: VIRACEPT 50 mg/g pó oral (Nelfinavir)*. Obtido em 2012 de Setembro de 28, de [http://www.ema.europa.eu/docs/pt\\_PT/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/000164/WC500050679.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000164/WC500050679.pdf)
- EMA. (2012). *Resumo das Características do Medicamento: REYATAZ 100 mg cápsulas (Atazanavir)*. Obtido em 28 de Setembro de 2012, de [http://www.ema.europa.eu/docs/pt\\_PT/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/000494/WC500056380.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000494/WC500056380.pdf)
- Faucette, S. R., Sueyoshi, T., Smith, C. M., Negishi, M., LeCluyse, E. L., & Wang, H. (2006). Differential Regulation of Hepatic CYP2B6 and CYP3A4 Genes by Constitutive Androstane Receptor but Not Pregnane X Receptor. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *317*, 1200-1209.

- Fery, Y., Mueller, S. O., & Schrenk, D. (2010). Development of stably transfected human and rat hepatoma cell lines for the species-specific assessment of xenobiotic response enhancer module (XREM)-dependent induction of drug metabolism. *Toxicology*, *277*, 11-19.
- Frandsen, H., & Alexander, J. (2000). N-acetyltransferase-dependent activation of 2-hydroxyamino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine: formation of 2-amino-1-methyl-6-(5-hydroxy)phenylimidazo[5,5-b]pyridine, a possible biomarker for the reactive dose of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine. *Carcinogenesis*, *21*, 1197-1203.
- Frotschl, R., Chichmanov, L., Kleeberg, U., Hildebrandt, A. G., Roots, I., & Brockmoller, J. (1998). Prediction of Aryl Hydrocarbon Receptor-Mediated Enzyme Induction of Drugs and Chemicals by mRNA Quantification. *Chemical Research in Toxicology*, *11*, 1447-1452.
- Fukushima-Uesaka, H., Sai, K., Maekawa, K., Koyano, S., Kaniwa, N., Ozawa, S., et al. (2004). Genetic variations of the AHR gene encoding aryl hydrocarbon receptor in a Japanese population. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, *19*, 320-326.
- Furuta, T., Ohashi, K., Kamata, T., Takashima, M., Kosuge, K., Kawasaki, T., et al. (1998). Effect of genetic differences in omeprazole on cure rates for helicobacter pylori infection and peptic ulcer. *Annals of Internal Medicine*, *129*, 1027-1030.
- Furuta, T., Ohashi, K., Kosuge, K., Zhao, X. J., Takashima, M., & Kimura, M. (1999). CYP2C19 genotype status and effect of omeprazole on intragastric pH in humans. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *65*, 552-561.
- Furuta, T., Shirai, N., Sugimoto, M., Nakamura, A., Hishida, A., & Ishizaki, T. (2005). Influence of CYP2C19 pharmacogenetic polymorphism on proton pump inhibitor-based therapies. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, *20*, 153-167.
- Furuta, T., Shirai, N., Watanabe, F., Honda, S., Takeuchi, K., & Iida, T. (2002). Effect of cytochrome P450C19 genotypic differences on cure rates for gastroesophageal reflux disease by lansoprazole. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *72*, 453-460.
- Gelboin, H. (1980). Benzo(a)pyrene metabolism, activation and carcinogenesis: Role and regulation of mixed-function oxidases and related enzymes. *Physiol. Rev.*, *60*, 1107-1166.
- Gerbal-Chaloin, S., Chavanieu, M., Cunha, A., Fabre, J. M., Garcia, L., Maurel, P., et al. (2006). Role of CYP3A4 in the regulation of aryl hydrocarbon receptor by omeprazole sulphide. *Cellular Signalling*, *18*, 740-750.
- Gonçalves, L. (2010). *Periódicos Portugueses de Química: As Aminas Aromáticas no Contexto da Carcinogénese Química*. Obtido de [http://www.spq.pt/boletim/docs/BoletimSPQ\\_085\\_054\\_09.pdf](http://www.spq.pt/boletim/docs/BoletimSPQ_085_054_09.pdf)

- Gonzalez, F., & Yu, A.M. (2006). Cytochrome P450 and Xenobiotic Receptor Humanized Mice. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 46, 41-64.
- Gooderham, N., Murray, S., Lynch, A., Edwards, R., Yadollahi-Farsani, M., Bratt, C., et al. (1996). Heterocyclic amines: evaluation of their role in diet associated human cancer. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 42, 91-98.
- Guengerich, P. (1991). Reactions and Significance of Cytochrome P-450 Enzymes. *The Journal of Biological Chemistry*, 266, 10019-10022.
- Guengerich, P. (2000). Common and Uncommon Cytochrome P450 Reactions Related to Metabolism and Chemical Toxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 14, 611-650.
- Hahn, M. (2002). Aryl hydrocarbon receptors: diversity and evolution. *Chemico-Biological Interactions*, 141, 131-160.
- Harper, P., Wong, J., Lam, M., & Okey, A. (2002). Polymorphisms in the human AH receptor. *Chemico-Biological Interactions*, 141, 161.
- Harvey, J., Paine, A., Maurel, P., & Wright, M. (2000). Effect of the adrenal 11-B-hydroxylase inhibitor metyrapone on human hepatic cytochrome P-450 expression: induction of cytochrome P-450 3A4. *Drug Metabolism and Disposition*, 28, 96-101.
- Helmig, S., Seelinger, J. U., Dohrel, J., & Schneider, J. (2011). RNA expressions of AHR, ARNT and CYP1B1 are influenced by AHR Arg554Lys polymorphism. *Molecular Genetics and Metabolism*, 104, 180-184.
- Hirota, T., Ieiri, I., Takene, H., Maegawa, S., Hosokawa, M., & Kobayashi, K. (2004). Allelic expression imbalance of the human CYP3A4 gene and individual phenotypic status. *Human Molecular Genetics*, 13, 2959-2969.
- Huang, W., Zhang, J., & Moore, D. D. (2004). A traditional herbal medicine enhances bilirubin clearance by activating the nuclear receptor CAR. *Journal of Clinical Investigation*, 113, 137-143.
- Hustert, E., Zibat, A., Presecan-Siedel, E., et al. (2001). Natural protein variants of pregnane X receptor with altered transactivation activity toward CYP3A4. *Drug Metabolism and Disposition*, 29, 1454-1459.
- Ikeda, S., Kurose, K., Jinno, H., Sai, K., Ozawa, S., Hasegawa, R., et al. (2005). Functional Analysis of Four Naturally Occurring Variants of Human Constitutive Androstane Receptor. *Molecular Genetics and Metabolism*, 86, 314-319.
- Ikeda, S., Kurose, K., Ozawa, S., Sai, K., Hasegawa, R., Komamura, K., et al. (2003). Twenty-Six Novel Single Nucleotide Polymorphisms and Their Frequencies of the NR13 (CAR) Gene in a Japanese Population. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 18, 413-418.

- Infarmed. (2010). *Resumo das Característica do Medicamento: Losec 20 mg cápsulas*. Obtido em 12 de Abril de 2012, de [http://www.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=5220&tipo\\_doc=rcm](http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=5220&tipo_doc=rcm)
- Ingelman-Sundberg, M., Oscarson, M., & McLellan, R. (1999). Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment. *Trends in Pharmacological Sciences*, 20, 342-349.
- Ingelman-Sundberg, M., Sim, S., Gomez, A., & Rodriguez-Antona, C. (2007). Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: Pharmacogenetic, pharmacoeigenetic and clinical aspects. *Pharmacology & Therapeutics*, 116, 496-526.
- Ishii, G., Suzuki, A., Oshino, S., Shiraishi, H., & Otani, K. (2007). CYP2C19 polymorphism affects personality traits of Japanese females. *Neuroscience Letters*, 411, 77-80.
- Jones, S. A., Moore, L. B., Shenk, J. L., Wisley, G. B., Hamilton, G. A., McKee, D. D., et al. (2000). The pregnane X receptor: a promiscuous xenobiotic receptor that has diverged during evolution. *Molecular Endocrinology*, 14, 27-39.
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2004). *Histologia Básica* (10ª ed.). Guanabara Koogan, 292-299
- Kashfi, K., McDougall, C. J., & Dannenberg, A. J. (1995). Comparative effects of omeprazole on xenobiotic metabolizing enzymes in the rat and human. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 58, 625-630.
- Katzung, B., Masters, S., & Trevor, A. (2009). *Basic and Clinical Pharmacology* (11ª ed.). McGraw-Hill Companies, Cap. 62
- Kawajiri, K., Watanabe, J., Eguchi, H., & Hayashi, S. (1995a). Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and lung cancer susceptibility. *Pharmacogenetics*, 5, S70-S73.
- Kawajiri, K., Watanabe, J., Eguchi, H., Nakachi, K., Kiyohara, C., & Hayashi, S. (1995b). Polymorphisms of human Ah receptor gene are not involved in lung cancer. *Pharmacogenetics*, 5, 151-158.
- Kawamura, M., Ohara, S., Koike, T., Iijima, K., Suzuki, H., & Kayaba, S. (2007). Cytochrome P450 2C19 polymorphism influences the preventive effect of lansoprazole on the recurrence of erosive reflux esophagitis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 22, 222-226.
- Kawamura, M., Ohara, S., Koike, T., Iijima, K., Suzuki, J., & Kayaba, S. (2003). The effects of lansoprazole on erosive reflux esophagitis are influenced by CYP2C19 polymorphism. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 17, 965-973.

- Kikuchi, H., & Hossain, A. (1999). Signal transduction-mediated CYP1A1 induction by omeprazole in human HepG2 cells. *Experimental and Toxicologic Pathology*, *51*, 342-346.
- Kikuchi, H., Hossain, A., Sagami, I., Ikawa, S., & Watanabe, M. (1995). Different Inducibility of Cytochrome P-4501A1 mRNA of Human and Mouse by Omeprazole in Culture Cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *316*, 649-652.
- Kikuchi, H., Hossain, A., Yoshida, H., & Kobayashi, S. (1998). Induction of Cytochrome P-450 1A1 by Omeprazole in Human HepG2 Cells is Protein Tyrosine Kinase-Dependent and is not inhibited by alpha-Naphthoflavone. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *358*, 351-358.
- Kikuchi, H., Kato, H., Mizuno, M., Hossain, A., Ikawa, S., Miyazaki, J., et al. (1996). Differences in Inducibility of CYP1A1-mRNA by Benzimidazole Compounds between Human and Mouse Cells: Evidences of a Human-Specific Signal Transduction Pathway for CYP1A1 Induction. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *334*, 235-240.
- Kim, S., Henry, E., Kim, D., Kim, Y., Shin, K., Han, M., et al. (2006). Novel Compound 2-Methyl-2H-pyrazole-3-carboxylic Acid (2-methyl-4-o-tolylazo-phenyl)-amide (CH-223191) Prevents 2,3,7,8-TCDD-Induced Toxicity by Antagonizing the Aryl Hydrocarbon Receptor. *Molecular Pharmacology*, *69*, 1871-1878.
- Kliewer, S. A. (2005a). Cholesterol detoxification by the nuclear pregnane X receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, *22*, 2675-2676.
- Kliewer, S. A. (2005b). Pregnane X receptor: predicting and preventing drug interactions. *Thrombosis Research*, *117*, 133-136.
- Kliewer, S. A., & Willson, T. M. (2002). Regulation of xenobiotic and bile acid metabolism by the nuclear pregnane X receptor. *The Journal of Lipid Research*, *43*, 359-364.
- Kliewer, S. A., Goodwin, B., & Willson, T. (2002). The Nuclear Pregnane X Receptor: A Key Regulator of Xenobiotic Metabolism. *Endocrine Reviews*, *23*, 687-702.
- Klotz, U. (2006). Clinical impact of CYP2C19 polymorphism on the action of proton pump inhibitors: a review of a special problem. *The International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, *44*, 297-302.
- Kodama, S., & Negishi, M. (2006). Phenobarbital confers its diverse effects by activating the orphan nuclear receptor CAR. *Drug Metabolism Reviews*, *38*, 75-87.
- Kohle, C., & Bock, K. W. (2009). Coordinate regulation of human drug-metabolizing enzymes, and conjugate transporters by the Ah receptor, pregnane X receptor and constitutive androstane receptor. *Biochemical Pharmacology*, *77*, 689-699.

- Koyano, S., Kurose, K., Saito, Y., et al. (2004). Functional characterization of four naturally occurring variants of human pregnane X receptor (PXR): one variant causes dramatic loss of both DNA binding activity and the transactivation of the CYP3A4 promoter/enhancer region. *Drug Metabolism and Disposition*, 32, 149-154.
- Koyano, S., Saito, Y., Fukushima-Uesaka, H., Ishida, S., Ozawa, S., Kamatani, N., et al. (2005). Functional analysis of six human aryl hydrocarbon receptor variants in a Japanese population. *Drug Metabolism and Disposition*, 33, 1254-1260.
- Kurzawski, M., Gawronska-Szklarz, B., Wrzesniewska, J., Siuda, A., Starzynska, T., & Drozdik, M. (2006). Effect of CYP2C19\*17 gene variant on Helicobacter pylori eradication in peptic ulcer patients. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 62, 877-880.
- Lamba, J., Lamba, V., Strom, S., Venkataramanan, R., & Schuetz, E. (2008). Novel Single Nucleotide Polymorphisms in the Promoter and Intron 1 of Human Pregnane X Receptor/NR1H2 and Their Association with CYP3A4 Expression. *Drug Metabolism and Disposition*, 36, 169-181.
- Langmann, T., Moehle, C., Maurer, R., et al. (2004). Loss of detoxification in inflammatory bowel disease: dysregulation of pregnane X receptor target genes. *Gastroenterology*, 127, 26-40.
- Lemaire, G., Delescluse, C., Pralavorio, M., Ledirac, N., Lesca, P., & Rahmani, R. (2004). The role of protein tyrosine kinases in CYP1A1 induction by omeprazole and thiabendazole in rat hepatocytes. *Life Sciences*, 74, 2265-2278.
- Lesca, P., Peryt, B., Larrieu, G., Alvinerie, M., Galtier, P., Daujat, M., et al. (1995). Evidence for the ligand-independent activation of the Ah Receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 209, 474-482.
- Lesca, P., Peryt, B., Soues, S., Maurel, P., & Cravedi, J. (1993). Detection and characterization of a novel hepatic 8 S binding protein for benzo[a]pyrene distinct from the Ah receptor. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 303, 114-124.
- Li, L., Chen, T., Stanton, J. D., Sueyoshi, T., Negishi, M., & Wang, H. (2008). The Peripheral Benzodiazepine Receptor Ligand 1-(2-Chlorophenyl-methylpropyl)-3-isoquinoline-carboxamide Is a Novel Antagonist of Human Constitutive Androstane Receptor. *Molecular Pharmacology*, 74, 443-453.
- Li, L., Stanton, J. D., Tolson, A. H., Luo, Y., & Wang, H. (2009). Bioactive terpenoids and flavonoids from ginkgo biloba extract induce the expression of hepatic drug-metabolizing enzymes through Pregnane X receptor, Constitutive androstane receptor, and Aryl hydrocarbon receptor-mediated pathways. *Pharmaceutical Research*, 26, 872-882.
- Li, X. Q., Andersson, T. B., Ahlstrom, M., & Weidolf, L. (2004). Comparison of inhibitory effects of the proton pump-inhibiting drugs omeprazole, esomeprazole,

- lansoprazole, pantoprazole, and rabeprazole on human cytochrome P450 activities. *Drug Metabolism and Disposition*, 32, 821-827.
- Lim, Y. P., Liu, C. H., Shyu, L. J., & Huang, J. D. (2005). Functional characterization of a novel polymorphism of pregnane X receptor, Q158K, in Chinese subjects. *Pharmacogenetics and Genomics*, 15, 337-341.
- Lindros, K., Oinonen, T., Johansson, I., & Ingelman-Sundberg, M. (1997). Selective centrilobular expression of the aryl hydrocarbon receptor in rat liver. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 280, 506-511.
- Long, J. R., Cai, Q., Shu, X. O., Cai, H., Gao, Y. T., & Zheng, W. (2007). Genetic polymorphisms in estrogen-metabolizing genes and breast cancer survival. *Pharmacogenetics and Genomics*, 17, 331-338.
- Luo, C., Ji, G., Gu, A., Zhao, P., & Zhao, C. (2012). The aryl hydrocarbon receptor (AhR) 1661G>A polymorphism in human cancer: A meta-analysis. *Gene*, Artigo em impressão (<http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2012.09.050>).
- Ma, Q., & Lu, A. (2003). Origins of Individual Variability in P4501A Induction. *Chemical Research in Toxicology*, 16, 249-260.
- Ma, Q., & Lu, A. (2007). CYP1A induction and human risk assessment: an evolving tale of in vitro and in vivo studies. *Drug Metabolism and Disposition*, 35, 1009-1016.
- Ma, X., Idle, J. R., & Gonzalez, F. J. (2008). The pregnaneXreceptor: from bench to bedside. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, 4, 895-908.
- MacDonald, C. J., Ciolino, H. P., & Yeh, G. C. (2004). The Drug Salicylamide Is an Antagonist of the Aryl Hydrocarbon Receptor That Inhibits Signal Transduction Induced by 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Cancer Research*, 64, 429-434.
- MacLeod, S., Tang, Y., & Yokoi. (1998). The role of recently discovered genetic polymorphism in the regulation of the human CYP1A2 gene. *Proceedings of the American Association for Cancer Research*, 39, 396.
- Maglich, J. M., Stoltz, C. M., Goodwin, B., Hawkins-Brown, D., Moore, J. T., & Kliewer, S. A. (2002). Nuclear pregnane x receptor and constitutive androstane receptor regulate overlapping but distinct sets of genes involved in xenobiotic detoxification. *Molecular Pharmacology*, 62, 638-646.
- Makishima, M., Lu, T. T., Xie, W., Whitfield, G. K., Domoto, H., Evans, R. M., et al. (2002). Vitamin D receptor as an intestinal bile acid sensor. *Science*, 296, 1313-1316.
- Marchand, L., Hankin, J., Wilkens, L., Pierce, L., Franke, A., Kolonel, L., et al. (2001). Combined Effects of Well-done Red Meat, Smoking, and Rapid N-Acetyltransferase 2 and CYP1A2 Phenotypes in Increasing Colorectal Cancer Risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 10, 1259-1266.

- Martinez, A., Marquez, A., Mendoza, J., et al. (2007). Role of the PXR gene locus in inflammatory bowel diseases. *Inflammatory Bowel Diseases*, *13*, 1484-1487.
- Matsuzaka, Y., Kikuti, Y., Goya, K., Suzuki, T., Cai, L., Oka, A., et al. (2012). Lack of an association human dioxin detoxification gene polymorphisms with endometriosis in Japanese women: results of a pilot study. *Environmental Health and Preventive Medicine*, Publicação Online, DOI 10.1007/s12199-012-0281-y.
- McDonnell, W. M., Scheiman, J. M., & Traber, P. G. (1992). Induction of cytochrome P450IA genes (CYP1A) by omeprazole in the human alimentary tract. *Gastroenterology*, *103*, 1509-1516.
- Micka, J., Milatovich, A., Menon, A., Grabowski, G. A., Puga, A., & Nebert, D. W. (1997). Human Ah receptor (AHR) gene: localization to 7p15 and suggestive correlation of polymorphism with CYP1A1 inducibility. *Pharmacogenetics*, *7*, 95-101.
- Mimura, J., & Fujii-Kuriyama, Y. (1998). Functional role of AHR in the expression of toxic effects by TCDD. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1619*, 263-268.
- Misodor. (2009). *Estômago Cirurgical*. Obtido em 16 de Julho de 2012, de <http://www.misodor.com/ESTOMAGO%20CIRURGICAL.html>
- Moonen, H., Engels, L., Kleinjans, J., & Kok, T. (2005). The CYP1A2-165A-->C polymorphism (CYP1A2\*1F) is associated with the risk for colorectal adenomas in humans. *Cancer Letters*, *229*, 25-31.
- Moore, L. B., Parks, D. J., Jones, S. A., Bledsoe, R. K., Consler, T. G., Stimmel, J. B., et al. (2000). Orphan Nuclear Receptors Constitutive Androstane Receptor and Pregnane X Receptor Share Xenobiotic and Steroid Ligands. *The Journal of Biological Chemistry*, *275*, 15122-15127.
- Moreira, R. P., Jorge, A. A., Mendonca, B. B., & Bachega, T. A. (2011). Frequency of genetic polymorphisms of PXR gene in the Brazilian population. *Clinics*, *66*, 1041-1044.
- Mu, Y., Stephenson, C., Kendall, C., Saini, S., Toma, D., Ren, S., et al. (2005). A pregnane X receptor agonist with unique species-dependent stereoselectivity and its implications in drug development. *Molecular Pharmacology*, *68*, 403-413.
- Nebert, D., Dalton, T., Okey, A., & Gonzalez, F. (2004). Role of Aryl Hydrocarbon Receptor-mediated Induction of the CYP1 Enzymes in Environmental Toxicity and Cancer. *The Journal of Biological Chemistry*, *279*, 23847-23850.
- NTP. (2011). *National Toxicology Program: Report on Carcinogens - Heterocyclic Amines*. Obtido em 12 de Outubro de 2012, de <http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/twelfth/profiles/Heterocyclicamines.pdf>
- Oinonen, T., & Lindros, K. (1998). Zonation of hepatic cytochrome P-450 expression and regulation. *Biochemical Journal*, *329*, 17-35.

- Olbe, L., Carlsson, E., & Lindberg, P. (2003). A Proton-Pump Inhibitor Expedition: The case histories of Omeprazole and Esomeprazole. *Nature Reviews: Drug Discovery*, 2, 132-139.
- Ozdemir, V., Kalowa, W., Tang, B. K., Paterson, A. D., Walker, S. E., & Endrenyi, L. (2000). Evaluation of the genetic component of variability in CYP3A4 activity: a repeated drug administration method. *Pharmacogenetics*, 10, 373-388.
- Paine, M. F., Widmer, W. W., & Hart, H. L. (2006). A furanocoumarin-free grapefruit juice establishes furanocoumarins as the mediators of the grapefruit juice-felodipine interaction. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83, 1097-1105.
- Parkinson, A., & Hurwitz, A. (1991). Omeprazole and the induction of human cytochrome P-450: A response to concerns about potential adverse effects. *Gastroenterology*, 100, 1157-1164.
- Pascual, G., & Glass, C. K. (2006). Nuclear receptors versus inflammation: Mechanisms of transrepression. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 17, 321-327.
- Pascussi, J. M., Gerbal-Chaloin, S., Drocourt, L., Maurel, P., & Vilarem, M. J. (2003). The expression of CYP2B6, CYP2C9, CYP3A4 genes: a tangle of networks of nuclear and steroid receptors. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1619, 243-253.
- Petersen, K. (1995). Review article: omeprazole and the cytochrome P450 system. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 9, 1-9.
- PharmGKB. (2011). *Pharmacogenomics Knowledge Base*. Obtido em 24 de Setembro de 2012, de <http://www.pharmgkb.org/pathway/PA152530846#tabview=tab0&subtab=>
- Pineau, T., Fernandez-Salguero, P., Lee, S., McPhail, T., Ward, J., & Gonzalez, F. (1995). Neonatal lethality associated with respiratory distress in mice lacking cytochrome P450 1A2. *Biochemistry*, 92, 5134-5138.
- Potrich, F. B. (2009). Atividade Gastroprotetora do Extrato Bruto Hidroalcoólico da *Achillea millefolium* L.: Envolvimento do Sistema Antioxidante.
- Powis, M., Celius, T., & Matthews, J. (2011). Differential ligand-dependent activation and a role for Y322 in aryl hydrocarbon receptor-mediated regulation of gene expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 410, 859-865.
- Proctor, R. N. (2001). Tobacco and the global lung cancer epidemic. *Nat. Rev. Cancer*, 1, 82-86.
- Quattrochi, L., & Tukey, R. (1993). Nuclear uptake of the Ah (dioxin) receptor in response to omeprazole: transcriptional activation of the human CYP1A1 gene. *Molecular Pharmacology*, 43, 504-508.

- Rasmussen, B., Brix, T., & Brosen, K. (2002). The interindividual differences in the 3-demethylation of caffeine alias CYP1A2 is determined by both genetic and environmental factors. *Pharmacogenetics*, *12*, 473-478.
- Reiners Jr, J. J., Russell, C., & Mathieu, P. (1999). Suppression of cell cycle progression by flavonoids: dependence on the aryl hydrocarbon receptor. *Carcinogenesis*, *20*, 1561-1566.
- Rencurel, F., Foretz, M., & Kaufmann, M. R. (2006). Stimulation of AMP-activated protein kinase is essential for the induction of drug metabolizing enzymes by phenobarbital in human and mouse liver. *Molecular Pharmacology*, *70*, 1925-1934.
- Rhodes, S., Otten, J., Hingorani, G., Hartley, D., & Franklin, R. (2011). Simultaneous assessment of cytochrome P450 activity in cultured human hepatocytes for compound-mediated induction of CYP3A4, CYP2B6, and CYP1A2. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, *63*, 223-226.
- Rocas, M., Jakubauskiene, E., & Kanopka, A. (2011). Polymorphism of the aryl-hydrocarbon receptor gene in intron 10 of human cancers. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *44*, 1112-1117.
- Rodriguez-Antona, C., Sayi, J. G., Gustafsson, L. L., Bertilsson, L., & Ingelman-Sundberg, M. (2005). Phenotype-genotype variability in the human CYP3A locus as assessed by the probe drug quinine and analyses of variant CYP3A4 alleles. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *338*, 299-305.
- Rost, K., Brosicke, H., Brockmoller, J., Scheffler, M., Helge, H., & Roots, I. (1992). Increase of cytochrome P450IA2 activity by omeprazole: evidence by the 13C-[N-3-methyl]-caffeine breath test in poor and extensive metabolizers of S-mephenytoin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *52*, 170-180.
- Rost, K., Brosicke, H., Heinemeyer, G., & Roots, I. (1994). Specific and dose-dependent enzyme induction by omeprazole in human beings. *Hepatology*, *20*, 1204-1212.
- Sachse, C., Brockmoller, J., Bauer, S., & Roots, I. (1999). Functional significance of a C->A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine. *British Journal of Clinical Pharmacology*, *47*, 445-449.
- Sadek, C. M., & Allen-Hoffmann, B. L. (1994). Cytochrome P450IA1 is rapidly induced in normal human keratinocytes in the absence of xenobiotics. *The Journal of Biological Chemistry*, *269*, 16067-16074.
- Schwabedissen, H. E., & Kim, R. B. (2009). Hepatic OATP1B Transporters and Nuclear Receptors PXR and CAR: Interplay, Regulation of Drug Disposition Genes, and Single Nucleotide Polymorphisms. *Molecular Pharmaceutics*, *6*, 1644-1661.
- Seeley, R., Stephens, T., & Tate, P. (2003). *Anatomia e Fisiologia* (6ª ed.). McGraw-Hill Companies, Cap. 24, 886-892

- Shih, H., Pickwell, G., Guenette, D., Bilir, B., & Quattrochi, L. (1999). Species differences in hepatocyte induction of CYP1A1 and CYP1A2 by omeprazole. *Human & Experimental Toxicology*, 18, 95-105.
- Shiizaki, K., Ohsako, S., Kawanishi, M., & Yagi, T. (2008). Omeprazole Alleviates Benzo[a]pyrene Cytotoxicity by Inhibition of CYP1A1 Activity in Human and Mouse Hepatoma Cells. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 103, 468-475.
- Shimatani, T., Inoue, M., Kuroiwa, T., Horikawa, Y., Mienos, H., & Nakamura, M. (2003). Effect of omeprazole 10 mg on intragastric pH in three different CYP2C19 genotypes, compared with omeprazole 20 mg and lafutidine 20 mg, a new H<sub>2</sub>-receptor antagonist. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 18, 1149-1157.
- Shivanna, B., Chu, C., Welty, S., Jiang, W., Wang, L., Couroucli, X., et al. (2011). Omeprazole attenuates hyperoxic injury in H441 cells via the aryl hydrocarbon receptor. *Free Radical Biology & Medicine*, 51, 1910-1017.
- Shivanna, B., Jiang, W., Wang, L., Couroucli, X., & Moorthy, B. (2011). Omeprazole attenuates hyperoxic lung injury in mice via aryl hydrocarbon receptor activation and is associated with increased expression of cytochrome P4501A enzymes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 339, 106-114.
- Shukla, S. J., Sakamuru, S., Huang, R., Moeller, T. A., Shinn, P., VanLeer, D., et al. (2011). Identification of Clinically Used Drugs That Activate Pregnane X Receptors. *Drug Metabolism and Disposition*, 39, 151-159.
- Silva, M. J. (2011). *Mapa Terapêutico 2011*. Guia de Saúde, Edição e Comunicação Audio-Visual, 319-322
- Sim, S. C., Risinger, C., Dahl, M. L., Aklillu, E., Christensen, M., & Bertilsson, L. (2006). A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 79, 103-113.
- Smart, J., & Daly, A. K. (2000). Variation in induced CYP1A1 levels: relationship to CYP1A1, Ah receptor and GSTM1 polymorphisms. *Pharmacogenetics*, 10, 11-24.
- Song, J., Clagett-Dame, M., Peterson, R. E., Hahn, M. E., Westler, W. M., Sicinski, R. R., et al. (2002). A ligand for the aryl hydrocarbon receptor isolated from lung. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 99, 14694-14699.
- Sonoda, J., & Evans, R. M. (2003). Biological function and mode of action of nuclear xenobiotic receptors. *Pure and Applied Chemistry*, 75, 1722-1742.
- Stanley, L., Horsburgh, B., Ross, J., Scheer, N., & Roland Wolf, C. (2006). PXR and CAR: Nuclear receptors which play a pivotal role in drug disposition and chemical toxicity. *Drug Metabolism Reviews*, 38, 515-597.

- Steimer, W., Zopf, K., von Amelunxen, S., Pfeiffer, H., Bachofer, J., & Popp, J. (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. *Clinical Chemistry*, *51*, 376-385.
- Stejskalova, L., Vecerova, L., Pérez, L., Vrzal, R., Dvorak, Z., Nachtigal, P., et al. (2011). Aryl hydrocarbon receptor and aryl hydrocarbon nuclear translocator expression in human and rat placentas and transcription activity in human trophoblast cultures. *Toxicological Sciences*, *123*, 26-36.
- Sugatani, J., Yamakawa, K., Tonda, E., Nishitani, S., Yoshinari, K., Degawa, M., et al. (2004). The induction of human UDP-glucuronosyltransferase 1A1 mediated through a distal enhancer module by flavonoids and xenobiotics. *Biochemical Pharmacology*, *67*, 989-1000.
- Tang, C., Lin, J. H., & Lu, A. Y. (2005). Metabolism-based drug-drug interactions: What determines individual variability in cytochrome P450 induction? *Drug Metabolism and Disposition*, *33*, 603-613.
- Tirona, R. G., & Kim, R. B. (2005). Nuclear Receptors and Drug Disposition Gene Regulation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *94*, 1169-1186.
- Tolson, A. H., & Wang, H. (2010). Regulation of drug-metabolizing enzymes by xenobiotic receptors: PXR and CAR. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *62*, 1238-1249.
- Urban, J., Budinsky, R., & Rowlands, J. (2011). Single Nucleotide Polymorphisms in the Human Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator (ARNT) Gene. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, *26*, 637-645.
- Vollhardt, P., & Schore, N. (2004). *Química Orgânica: Estrutura e Função* (4ª ed.). Bookman, Cap. 16, 758-760
- Walker, R., & Edwards, C. (2003). *Clinical Pharmacy and Therapeutics* (3ª ed.). Churchill Livingstone, Cap. 10, 153-155
- Wang, X., Li, K., Guo, S., Qiang, H., Liu, L., Song, P., et al. (2012). The association of functional polymorphisms in the aryl hydrocarbon receptor (AHR) gene with the risk of vitiligo in Han Chinese populations. *British Journal of Dermatology*, *166*, 1081-1087.
- Wong, J. M., Okey, A. B., & Harper, P. A. (2001). Human aryl hydrocarbon receptor polymorphisms that result in loss of CYP1A1 induction. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *288*, 990-996.
- Xie, H. G., Kim, R. B., Wood, A. J., & Stein, C. M. (2001). Molecular basis of ethnic differences in drug disposition and response. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *41*, 815-850.

- Xie, W., Barwick, J. L., Simon, C. M., Pierce, A. M., Safe, S., Blumberg, B., et al. (2000). Reciprocal activation of Xenobiotic response genes by nuclear receptors SXR/PXR and CAR. *Genes & Development*, *14*, 3014-3023.
- Xu, C., Li, C. Y., & Kong, A. N. (2005). Induction of phase I, II and II drug metabolism/transport by xenobiotics. *Archives of Pharmacal Research*, *28*, 249-268.
- Xu, Y., Hashizume, T., & Shuhart, M. C. (2006). Intestinal and hepatic CYP3A4 catalyze hydroxylation of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3: Implications for drug-induced osteomalacia. *Molecular Pharmacology*, *69*, 56-65.
- Yueh, M. F., Huang, Y. H., Hiller, A., Chen, S., Nguyen, N., & Tukey, R. H. (2003). Involvement of the xenobiotic response element (XRE) in Ah receptor-mediated induction of human UDP-glucuronosyltransferase 1A1. *The Journal of Biological Chemistry*, *278*, 15001-15006.
- Yueh, M.-F., Kawahara, M., & Raucy, J. (2005). Cell-based high-throughput bioassays to assess induction and inhibition of CYP1A1 enzymes. *Toxicology in Vitro*, *19*, 275-287.
- Zhang, B., et al. (2011). Evaluation of functional genetic variants for breast cancer risk: results from the Shanghai breast cancer study. *American Journal of Epidemiology*, *173*, 1159-1170.
- Zhang, B., Xie, W., & Krasowski, M. D. (2008). PXR: a xenobiotic receptor of diverse function implicated in pharmacogenetics. *Pharmacogenomics*, *9*, 1695-1709.
- Zhang, J., Huang, W., Qatanani, M., Evans, R. M., & Moore, D. D. (2004). The constitutive androstane receptor and pregnane X receptor function coordinately to prevent bile acid-induced hepatotoxicity. *The Journal of Biological Chemistry*, *279*, 49517-49522.
- Zhang, J., Kuehl, P., Green, E. D., & et al. (2001). The human pregnane X receptor: genomic structure and identification and functional characterization of natural allelic variants. *Pharmacogenetics*, *11*, 55-572.
- Zhang, L., Savas, U., Alexander, D. L., & Jefcoate, C. R. (2002). Nonassociation of aryl hydrocarbon receptor genotypes with susceptibility to bladder cancer in Shanghai population. *Acta Pharmacologica Sinica*, *23*, 188-192.
- Zhang, W., Purchio, A., Chen, K., Wu, J., Lu, L., Coffee, R., et al. (2003). A transgenic mouse model with a luciferase reporter for studying in vivo transcriptional regulation of the human CYP3A4 gene. *Drug Metabolism and Disposition*, *31*, 1054-1064.
- Zhou, C., Assem, M., & Tay, J. C. (2006a). Steroid and xenobiotic receptor and vitamin D receptor crosstalk mediates CYP24 expression and drug-induced osteomalacia. *The Journal of Clinical Investigation*, *116*, 1703-1712.

Zhou, C., Tabb, M. M., & Nelson, E. L. (2006b). Mutual repression between steroid and xenobiotic receptor and NF-kappaB signaling pathways links xenobiotic metabolism and inflammation. *The Journal of Clinical Investigation*, *116*, 2280-2289.

Zhou, C., Verma, S., & Blumberg, B. (2009). The steroid and xenobiotic receptor (SXR), beyond xenobiotic metabolism. *Nuclear Receptor Signaling Atlas*, *7*, e001.