



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE PESQUISAS EM ONCOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA E CIÊNCIAS MÉDICAS

VARIABILIDADE DO GENE *CYP2D6* EM POPULAÇÕES AMERÍNDIAS

LUCIANA PEREIRA COLARES LEITÃO

BELÉM – PA

2018

LUCIANA PEREIRA COLARES LEITÃO

VARIABILIDADE DO GENE *CYP2D6* EM POPULAÇÕES AMERÍNDIAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Oncologia e Ciências Médicas, área de concentração: Medicina I, do Núcleo de Pesquisas em Oncologia da Universidade Federal do Pará como requisito para a obtenção do título de Mestre em Oncologia e Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Ney Pereira Carneiro dos Santos.

BELÉM – PA

2018

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

P436v Pereira Colares Leitão, Luciana.
 VARIABILIDADE DO GENE CYP2D6 EM POPULAÇÕES AMERÍNDIAS / Luciana Pereira Colares
Leitão, . — 2018.
 88 f. : il. color.

 Orientador(a): Prof. Dr. Ney Pereira Colares Leitão
 Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas, Núcleo de
Pesquisas em Oncologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2018.

 1. Farmacogenética. 2. CYP2D6. 3. Ameríndios. 4. Ameríndios. I. Título.

CDD 576.54

“O saber se aprende com os mestres. A sabedoria, só com o corriqueiro da vida.”

Cora Coralina

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*

Madre Teresa de Calcutá

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me proporcionou seguir esse caminho com saúde e perseverança, sempre o iluminando e me guiando.

Agradeço a minha família, meus tios, tias, primos e primas, que sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos que precisei durante esses anos do mestrado.

À minha mãe que é minha melhor amiga, meu porto seguro e minha guia, não mediu esforços pra que minha formação fosse concluída, sempre esteve ao meu lado com palavras sábias nos momentos em que pensei que não ia conseguir.

Ao meu pai que apesar de todas as dificuldades me fortaleceu e me incentivou a continuar nesta caminhada, mesmo não estando mais aqui sei que estará muito feliz por mais essa conquista.

Aos meus companheiros de laboratório, obrigada por fazerem os dias de pesquisa serem incansáveis e por me ajudarem a completar essa fase.

Aos chiquititXs mais lindos que a Iniciação Científica poderia nos beneficiar, ter participado da seleção de vocês e ver como vocês estão crescendo no meio da pesquisa me enche de orgulho

Aos meus amigos e irmãos que a Biomedicina me deu e que eu levarei para a vida inteira, Gisely Silva, Flávia Silva, Sandro Pereira, Manuela Genú, Monyque Ribeiro, Andreza Carvalho, vocês foram mais do que essenciais nesse caminho, a cada um de vocês o meu mais sincero obrigada.

À minha irmã de coração, onde, mesmo distante, a tua amizade continua a ser essencial para o meu crescimento. Ellen Moreno obrigada, pelas palavras, pelos sermões, e pelas risadas mais verdadeiras, que a tua alegria conquistou o mundo.

À minha amiga de intercâmbio, de laboratório, de sala de aula, Juliana Rodrigues, que nossa amizade persista durante muitos e muitos anos, para futuras viagens e conquistas.

Ao meu companheiro, amigo, conselheiro, Igor, obrigada meu bem pelo companheirismo de sempre, o teu carinho e afeto foram cruciais para a etapa final desta fase.

Porque não agradecer a minha companheira das madrugadas, ter um animal de estimação torna tudo isso mais fácil de ser realizado. Obrigada Margo 🐱.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ney Santos, obrigada pela oportunidade, pela paciência e pela ótima orientação.

Ao Prof. João Guerreiro, pelo auxílio na coleta das amostras e todo conhecimento prestado sobre essa população.

A Universidade Federal do Pará, seu corpo docente, direção e administração, que me proporcionaram a realização do curso com mérito e dedicação.

Ao Núcleo de Pesquisas em Oncologia e toda a equipe de pesquisadores, onde pude concluir as pesquisas em ambiente criativo e amigável.

Ao programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas o qual tive a oportunidade de continuar no meio acadêmico através desta oportunidade de mestrado.

A Fundação Amazônia Paraense de Amparo à Pesquisa, pela bolsa concedida para a realização desta pesquisa.

As populações que consentiram com o uso do seu material genético para a realização desta pesquisa.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

A superfamília gênica Citocromo P450 é de significativa relevância para o processo de metabolização de diversos fármacos no fígado humano. O gene *CYP2D6*, um dos genes mais estudados devido sua vasta quantidade de variações genômicas e a baixa suscetibilidade à influência de fatores externos não genéticos que afetam o processo metabolização de mais de 20% dos fármacos comercializados. O perfil molecular do gene *CYP2D6* influencia no metabolismo de diversas classes de fármacos: antidepressivos, antipsicóticos, antiarrítmicos, analgésicos opioides, agentes anticancerígenos entre outros fármacos. Entretanto, esses protocolos são desenhados, principalmente, para populações de origem europeia, não sendo adequadamente empregados em populações brasileiras, já que está é resultante de um complexo processo de miscigenação envolvendo a contribuição, principalmente, de europeus, africanos e ameríndios. Estudos farmacogenômicos em populações ameríndias são escassos. Sendo assim, na falta de dados consistentes, o estabelecimento de políticas públicas de saúde voltadas para a implementação da medicina de precisão nestas populações, e em povos miscigenados com estes grupos étnicos, fica prejudicado. Estudos genômicos capazes de analisar a heterogeneidade genética de biomarcadores associados ao processo de metabolização de diversos fármacos em populações ameríndias e miscigenadas são de grande impacto científico. Baseado nisto, o presente trabalho avaliou o perfil molecular de 22 importantes polimorfismos preditores de terapia no gene *CYP2D6* em amostras de indivíduos Ameríndios Amazônicos de três tribos: Asurini do Trocará, Asurini do Koatinemo e Kayapó-Xikrin. O DNA foi extraído a partir de sangue periférico dos indivíduos estudados. As genotipagens dos polimorfismos foram realizadas por ensaios Taqman® em OpenArray®, no QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR System. As análises estatísticas foram realizadas nos programas Arlequin v. 3.5.2.2, SPSS v. 12.0 e pacote estatístico do R. Além deste trabalho original foi realizada uma revisão para agrupar os dados do gene *CYP2D6* em outras populações ameríndias. A partir dos resultados foi possível observar que o perfil de metabolização extensiva, normal, é o mais frequente na população ameríndia da revisão e na população ameríndia amazônica brasileira. Os perfis de importância clínica, lento e ultrarrápido, apresentou baixa frequência nas populações da revisão e não foi observado na população amazônica. Estes dados podem inferir que a população ameríndia pode ter certa proteção aos efeitos adversos e falha terapêutica relacionados a fármacos que são metabolizados pela *CYP2D6*.

Palavras-chave: Farmacogenética, *CYP2D6*, Ameríndios, Metabolização

ABSTRACT

The genetic cytochrome P450 superfamily is of significant relevance to the process of metabolizing drugs in the human liver. The *CYP2D6* gene, one of the most studied genes due to its vast amount of genomic variations and the low influence of external non-genetic factors that affect the metabolization process of more than 20% of the drugs marketed. The molecular profile of the *CYP2D6* gene influences several classes of drugs: antidepressants, antipsychotics, antiarrhythmics, opioid analgesics, anticancer agents among other drugs. However, these protocols are designed mainly for populations of European origin, not being properly employed in Brazilian populations, as are results from a complex process of miscegenation involving the contribution mainly from European, African and Amerindian. Pharmacogenomic studies in Amerindian populations are scarce. Thus, in the absence of consistent data, the establishment of public health policies aimed at the implementation of precision medicine in these populations, and in peoples mixed with these ethnic groups, is impaired. Genomic studies capable of analyzing the genetic heterogeneity of biomarkers associated with the metabolism process of several drugs in Amerindian and mixed populations are of great scientific impact. Based on this study evaluated the molecular profile 22 therapy important predictors of the *CYP2D6* gene polymorphisms in individuals in American Indians Amazon samples from three tribes: the Asurini Trocará, Asurini Koatinemo and the Kayapo-Xikrin. The DNA was extracted from the peripheral blood of the individuals studied. Polymorphism genotypes were performed by Taqman® assays in OpenArray® on the QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR System. The statistical analyses was due in the programs Arlequin v. 3.5.2.2, SPSS v. 12.0 and the statistical package of R. In addition to this original work, a review was carried out to group *CYP2D6* gene data in other Amerindian populations. From the results it was possible to observe that the normal extensive metabolism profile is the most frequent in the Amerindian population of the review and in the Brazilian Amazon Amerindian population. The profiles of clinical importance, slow and ultrafast, presented low frequency in the populations of the review and was not observed in the Amazonian population. These data may infer that the Amerindian population may have some protection from drug-related adverse effects and drug failure that are metabolized by *CYP2D6*.

Keywords: Pharmacogenomic, Amerindian, *CYP2D6*, metabolization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fração dos Farmácos que são clinicamente usados e metabolizados pelas isoformas da CYP450 e os fatores que influenciam a variabilidade de resposta	13
Figura 2 - Principais alelos do gene CYP2D6 em diferentes regiões geográficas	15
Figura 3 - A variabilidade genética e suas consequências funcionais dos principais genes do Citocromo P450 (CYP) e entre as populações	30
Figura 4 - Distribuição total, rural e urbana da população indígena no Brasil	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais diplótipos e seu respectivo perfil metabolizadores do gene <i>CYP2D6</i>	18
---	----

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
1.1.	FARMACOGENÉTICA	10
1.2.	CITOCROMO P450	12
1.3.	CITOCROMO P450 2D6 (CYP2D6)	14
1.3.1.	O <i>CYP2D6</i> E SUA IMPLICÂNCIA TERAPÊUTICA	17
1.3.1.1.	Fármacos Antidepressivos	17
1.3.1.2.	Fármacos Antipsicóticos	20
1.3.1.3.	Fármacos Antiarrítmicos	22
1.3.1.4.	Analgésicos Opioides	2Ç
1.3.1.5.	Agentes Anticancerígenos	26
1.4.	INFLUÊNCIA ÉTNICA EM ESTUDOS FARMACOGENÔMICOS	29
1.5.	GRUPOS INDÍGENAS BRASILEIROS	31
1.5.1.	ASURINI	32
1.5.1.1.	Trocará	32
1.5.1.2.	Koatinemo	33
1.5.1.3.	Kayapó-Xikrins	34
1.6.	ESTUDOS GENÔMICOS NOS GRUPOS INDÍGENAS	34
1.7.	APLICABILIDADE CLÍNICA	35
2.	OBJETIVOS	38
2.1.	OBJETIVO GERAL	38
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
3.	CAPÍTULO I. Manuscrito em Processo de Submissão (Pharmacogenomics) Perfil Genético e Fenotípico do <i>CYP2D6</i> em Tribos Amazônicas Brasileiras	39
4.	CAPÍTULO II. Artigo de Revisão em Processo de Submissão (European Journal of Clinical Pharmacology). O Perfil de Metabolização do Gene <i>CYP2D6</i> nas Populações Ameríndias: uma revisão	51
5.	DISCUSSÃO	71
6.	CONCLUSÕES	74
7.	REFERÊNCIAS	76
	ANEXO	90

1. INTRODUÇÃO

1.1. FARMACOGENÉTICA

A variação genômica descreve as diferenças naturais existentes entre indivíduos da mesma espécie que são resultado do acasalamento não aleatório, deriva genética, distribuição física ou migração. O sequenciamento de genomas individuais e a comparação de leituras com um genoma humano de referência é o mecanismo utilizado para a descoberta da variação genômica (GIBSON, 2011). Atualmente, existem mais de 80 milhões de variantes que foram descobertas (NATIONAL HUMAN GENOME, 2016), que incluem polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNP), inserções e deleções (INDELS) e outras variações estruturais. Para tanto, os traços quantitativos e as correlações de genótipo e fenótipo podem ser oriundas de variações de grande efeito ou pequenas variações do genoma humano (LAKIOTAKI et al., 2017). Nesse contexto, variações genômicas em genes codificadores de enzimas metabolizadoras e transportadoras de fármacos estão interligadas as diferenças interindividuais relacionadas à eficácia e toxicidade de vários medicamentos, demonstrando a necessidade de estudos farmacogenéticos sob este aspecto (PADMANABHAN, 2014).

A farmacogenética é baseada no processo de identificação de variantes genéticas que influenciam os efeitos dos fármacos, normalmente por alterações na farmacocinética, que é como o composto é absorvido, distribuído, metabolizado e eliminado ou na farmacodinâmica, pela modificação dos seus alvos ou pela alteração das vias biológicas responsáveis pela resposta do indivíduo aos efeitos farmacológicos (RELLING & EVANS, 2015). O estudo da farmacogenética fundamenta-se na pesquisa de polimorfismos na sequência de DNA de genes que, provavelmente, afetam a resposta aos medicamentos, objetivando a busca por uma terapia individualizada que possa maximizar a eficácia dos medicamentos e minimizar os efeitos adversos associados aos fármacos (WANG et al., 2011).

A população brasileira é uma das mais heterogêneas do mundo, em consequência de cinco séculos de miscigenação entre três grupos geográficos ancestrais: os ameríndios, os europeus e os africanos. Essa heterogeneidade tem implicações importantes no desenho e interpretação de ensaios clínicos farmacogenéticos, na implementação dos princípios de farmacogenética/farmacogenômica (PGx), na prescrição de medicamentos e, ainda, em relação à extrapolação de dados farmacogenéticos obtidos de outras populações (SANTOS et al., 2010).

O paradigma populacional da PGx se baseia na observação das frequências de inúmeros polimorfismos em farmacogenes (genes envolvidos na farmacodinâmica e farmacocinética dos fármacos) que varia amplamente entre as populações (SUAREZ-KURTZ & PENA, 2006). Desta forma, investigações farmacogenéticas em diferentes grupos humanos podem identificar populações que podem se beneficiar de mais de um fármaco ou identificar efeitos adversos que não são vistos em outras populações (SUAREZ-KURTZ, 2005). Compreendendo-se a importância da PGx como guia para a tomada de decisão na clínica.

Vários estudos demonstram a grande variabilidade de genes que estão envolvidos na metabolização dos fármacos e que podem ser associados à resposta do paciente para a terapia. Variantes do gene *TPMT* estão associadas à susceptibilidade à toxicidade hematopoiética na terapia com a 6-mercaptopurina (6-M) em pacientes com Leucemia Linfóide Aguda (CHEOK et al., 2009), de tal forma que pacientes que apresentam mutações do gene *TPMT* que resultam em déficits na atividade da proteína têm um maior risco de suscetibilidade à toxicidade grave associada ao tratamento, devido ao acúmulo de metabólitos intracelulares ativos da 6-MP (RELLING et al., 1999; ABAJI & KRAJINOVIC, 2017). Para esses pacientes, é recomendada uma redução de mais de 90% da dose inicial de 6-MP desde o início do tratamento para evitar complicações toxicológicas (CHEOK et al., 2009).

Ainda exemplificando a importância de alterações em farmacogenes, alguns pacientes com tumores sólidos que são tratados com fluoropirimidinas, apresentam toxicidades graves e até mesmo fatais devido a deficiências no gene *DPYD*, responsável pelo processo de catabolização desta classe de fármacos (THORN et al., 2011). O estudo de variantes no gene *DPYD* é recomendado por diferentes agências internacionais para o manejo clínico de fluoropirimidinas. Outros exemplos se destacam no contexto farmacogenético, como o anticoagulante Varfarina, utilizado na prevenção e tratamento de distúrbios trombóticos, possui uma resposta terapêutica divergente entre os pacientes devido às variantes genótípicas dos genes que metabolizam este fármaco (*CYP2C9* e *VKORC*), sendo necessário a genotipagem destes genes para a pesquisa destas variações antes do início do tratamento com este fármaco (PIRMOHAMED et al., 2014).

Diante da abrangente quantidade de variações genômicas entre os indivíduos, alguns farmacogenes se destacam devido à vasta quantidade de fármacos que podem metabolizar, como os membros da família CYP450. Dentre estes, o gene *CYP2D6* que está relacionado com o metabolismo de 40% de todos os antipsicóticos disponíveis para terapias (CACABELOS, 2011). De fato, as constantes descobertas da interação das variantes

genômicas e a resposta terapêutica buscam biomarcadores moleculares preditivos de eficácia terapêutica para vários tratamentos através do uso de metodologias de sequenciamento de nova geração (NGS) (GILLIS et al., 2014).

1.2. CITOCROMO P450

O impacto clínico dos polimorfismos em uma enzima metabolizadora de fármaco, como o Citocromo P450, deve ser considerado dentro do seu contexto farmacológico, onde as diferentes variantes genéticas levarão a resultados divergentes na metabolização do fármaco. As variantes de perda de função levarão a uma diminuição do processo de depuração e ao aumento das concentrações plasmáticas, enquanto as variantes de ganho de função levarão a uma maior depuração e a baixas concentrações de fármaco. Quando o fármaco é farmacologicamente ativo, este resultará em um aumento do efeito da droga em indivíduos que apresentam variantes de perda de função e diminuição deste efeito em indivíduos com variantes de ganho de função, além de uma potencial toxicidade relacionada ao fármaco devido à alta dosagem. Se o fármaco é ativado metabolicamente (pró-fármaco), o contrário é esperado, e a atividade farmacológica ou a toxicidade do(s) metabólito(s) devem ser consideradas (ZANGER & SCHWAB, 2013).

A superfamília gênica do Citocromo P450 (CYP) é responsável pela oxidação de substâncias endógenas e xenobióticos em compostos mais hidrofílicos e correspondem a 80% das enzimas metabolizadoras de fase I dos fármacos, realizando cerca de 70% do processo de depuração (ZHOU et al., 2017; ZHOU, 2009). A superfamília CYP é composta por 57 genes, onde 12 destes genes codificam enzimas que são responsáveis por mais de 75% das reações de fase I de oxidação dos fármacos (EVANS & RELLING, 1999). Independentemente da especificidade dos substratos dessas enzimas, vários são os fármacos que podem ser metabolizados por poucas ou até somente uma enzima, limitando assim a redundância do sistema de fase I de oxidação de fármacos (ZANGER & SCHWAB, 2013). Os genes da família CYP são altamente polimórficos, vários estudos demonstraram que esses genes possuem, em sua maioria, variantes de nucleotídeo único (SNVs) e variações no número de cópias (STRANGER et al., 2007).

A importância desta família para predição de terapias recomendadas por agências internacionais é de significativa importância para a clínica, onde os testes farmacogenéticos são realizados em variantes que são validadas e possuam características experimentais que fundamentam a sua predição, além de terem características fenotípicas conhecidas. A maioria

dessas variantes possui uma Frequência de Menor Alelo (MAFs) <1%, o que não exclui a sua importância para a clínica (FUJIKURA et al., 2015). Alguns membros da família CYP450, como a CYP2D6, possuem uma variabilidade de resposta terapêutica baseada somente em seus polimorfismos gênicos, enquanto que grande parte dos membros desta família agregam inúmeros fatores que os controlam, como polimorfismos adicionais em genes regulatórios e fatores não genéticos do indivíduo incluindo sexo, idade, influências hormonais, dentre outros (INGELMAN-SUNDBERG et al., 2007). Para demonstrar a grande variabilidade dessas enzimas e dos fatores que as regulam, a Figura 1, construída por Zanger & Schwab (2013), apresenta cerca de 250 vias de fármacos que são clinicamente utilizados e metabolizados por genes da família CYP450, assim como os fatores que influenciam na variabilidade.

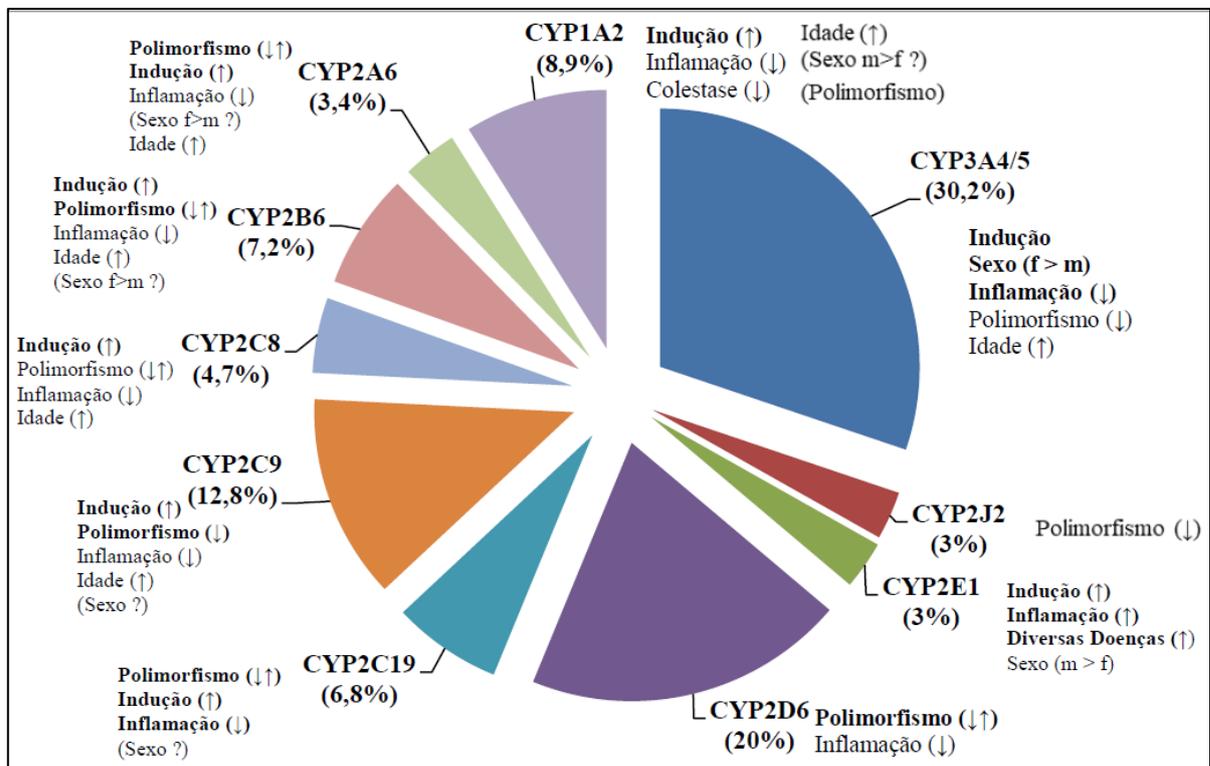


Figura 1 - Fração dos Fármacos que são clinicamente usados e metabolizados pelas isoformas da CYP450 e os fatores que influenciam a variabilidade de resposta. Fatores de variabilidade importantes são indicados em negrito com possíveis direções de influência indicadas (↑, aumento da atividade; ↓, diminuição da atividade; ↑ ↓, aumento e diminuição da atividade). Fatores controversos são mostrados entre parênteses. Adaptado de ZANGER & SCHWAB (2013).

Devido a grande diferença interindividual das enzimas da superfamília CYP e a abrangente variabilidade de expressão dos seus genes codificadores, alguns fenótipos foram adotados para a categorização desses metabolizadores: conhecidos como Metabolizadores Ultrarrápidos (UM), Metabolizadores Extensivos (EM), Metabolizadores Pobres (PM) e

Metabolizadores Intermediários (IM), sendo os metabolizadores ultrarrápidos presentes somente nos *CYP2D6* e *2C19* (INGELMAN-SUNDBERG et al., 2007). É abundante a presença desses fenótipos em indivíduos que utilizam os mais diversos fármacos que são metabolizados pelo Citocromo P450. Entre os regimes terapêuticos particularmente importantes afetados por esses polimorfismos estão terapias com vários antidepressivos, antipsicóticos, analgésicos, anticoagulantes, antidiabéticos e agentes anticancerígenos. A partir das características apresentadas sob a ótica do Citocromo P450 mostra-se o abrangente leque de caminhos que podem ainda ser avaliados sobre a interação dos polimorfismos presentes nestas enzimas e a sua variabilidade no processo de metabolização desses medicamentos.

1.3. CITOCROMO P450 2D6 (CYP2D6)

Mais de 80% dos fármacos são metabolizados pelos membros 1, 2 e 3 da superfamília CYP, entre essas enzimas o Citocromo P450 2D6 (CYP2D6) é intensamente investigado (INGELMAN-SUNDBERG, 2005). Essa enzima representa apenas uma pequena porcentagem de todos os CYP hepáticos (1,3 - 4,3%), entretanto, metaboliza mais de 20% de todos os fármacos no fígado humano, sendo conhecidos pelo menos 160 alvos terapêuticos que são metabolizados por esta enzima (ZHOU et al., 2009; ZANGER & SCHWAB, 2013;).

O gene *CYP2D6* está localizado no Chr22q13.1 e próximo a dois pseudogenes não funcionais (*CYP2D7* e *CYP2D8*); desde a sua descoberta em 1989, várias pesquisas foram realizadas sobre o metabolismo deste gene, principalmente devido a vasta quantidade de polimorfismos nele presente (KIMURA et al., 1989). Até a presente data foi documentado que o *CYP2D6* possui mais de 100 variantes alélicas (PHARMVAR, 2018). Geralmente, essas variantes podem resultar em uma atividade aumentada, diminuída ou nula em variações no fenótipo de forma interindividual e interétnica, mostrando que a relação genótipo e fenótipo do *CYP2D6* são de extrema importância para a medicina de precisão na prática clínica (HE et al., 2015).

Como consequência da grande quantidade de polimorfismos presentes no gene, o genótipo caracterizado do *CYP2D6* decorre da interação entre diversos polimorfismos que são definidos pelos haplótipos. A frequência dos alelos no gene *CYP2D6* difere entre as populações mundiais. Em 2014, uma equipe de pesquisadores da Espanha analisou 172 trabalhos de pesquisa originais incluindo 44.572 indivíduos em um estudo sobre a variabilidade dos alelos de *CYP2D6* por grupo étnico e região geográfica (LLERENA et al.,

2014), a partir dos resultados apresentados pelo grupo Espanhol foi possível confirmar a variabilidade das frequências alélicas do gene, os alelos mais frequentes por grupo étnico foram: CYP2D6*10 nos asiáticos, CYP2D6*17 e *29 na África e CYP2D6*4 na Europa e nos caucasianos. Nas populações do Oriente Médio, CYP2D6*41 e as duplicações/multiplicações do gene *CYP2D6* ativo possuem as maiores frequências (Figura 2), comprovando a diversidade das frequências desses alelos nas populações mundiais (GAO et al., 2017). Os resultados avaliados como exames preditivos para determinar o perfil de metabolização individual utilizam uma associação do haplótipo materno e paternos herdados, sendo definidos como um diplótipo (PERRY et al., 1994).

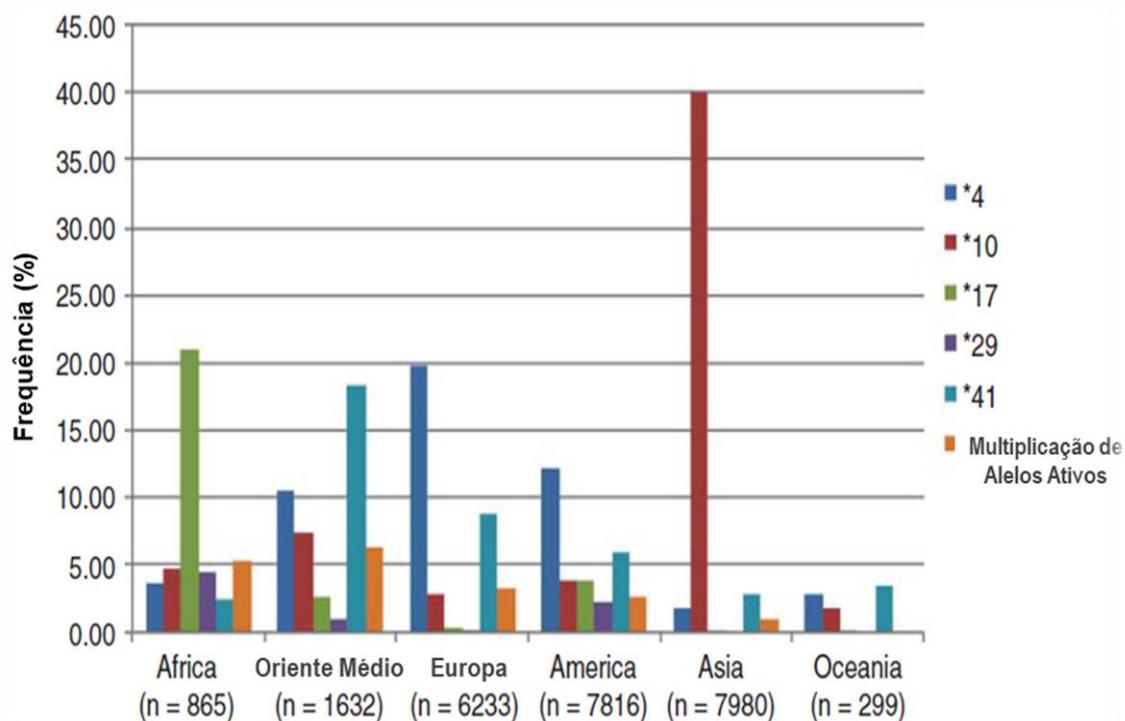


Figura 2 - Principais alelos do gene CYP2D6 em diferentes regiões geográficas. Dados da literatura sobre a frequência dos principais alelos (CYP2D6 *4, *10, *17, *29, *41) nas populações mundiais. Número de indivíduos analisados (n). Fonte: Adaptado de LLERENA et al., 2014.

Os diplótipos do gene *CYP2D6* são variáveis e resultam em fenótipos diferentes que permitem classificar seus portadores em quatro tipos de metabolizadores: Metabolizadores Intermediários (IM), Metabolizadores Extensivos (EM), Metabolizadores Pobres (PM) e Metabolizadores Ultrarrápidos (UM) (YU et al., 2017). Os indivíduos que carregam o fenótipo de IM possuem a combinação de dois alelos com função enzimática diminuída ou a presença de um alelo sem função acompanhado de outro com função diminuída. Os EM não resultam em uma atividade enzimática significativamente alterada, podem carregar, por

exemplo, dois alelos com função enzimática normal ou a combinação de um alelo com função normal e outro com função diminuída. Os PM são caracterizados pela combinação de dois alelos com completa perda de função – alelo nulo, devido a genes mutados ou deletados. E por fim os UM que carregam pelo menos um alelo de função enzimática aumentada além de um alelo de função normal. (ZHOU et al., 2009; GAEDIGK et al., 2017; YU et al., 2017).

As frequências desses fenótipos de metabolização do gene *CYP2D6* apresentam uma grande diferença entre as populações do mundo. O fenótipo PM e UM são os mais importantes para a clínica. Um estudo realizado em 2014 mostrou que as populações caucasianas, exceto os europeus do sul do Mediterrâneo, apresentaram a maior frequência de PM, enquanto a menor frequência está presente em populações do leste asiático. Quando este fenótipo é demonstrado por região geográfica a Europa apresentou uma maior distribuição do metabolizador lento (LLERENA et al., 2014). São escassos os dados de literatura que apresentam informações sobre a frequência desses metabolizadores em populações mais isoladas, como os ameríndios, dificultando a caracterização dessas populações em relação ao perfil de metabolização dos fármacos.

A enzima *CYP2D6* possui importante papel no metabolismo dos fármacos com sua via metabólica sendo a via predominante de ação central no processo de depuração e bioativação de diversas classes, como analgésicos, antiarrítmicos, antipsicóticos, entre outras (GAEDIGK, et al., 2017). A variabilidade no fenótipo de metabolização é abundante, os indivíduos que portam genótipos de metabolizadores pobres e ultrarrápidos, por exemplo, apresentam um maior risco de experimentar eventos adversos relacionados à dose ou falha no tratamento, dependendo do substrato particular envolvido (DE ANDRÉS et al., 2017).

Para adversidades de resposta ao fármaco, agências regulamentadoras como a FDA (Food and Drug Administration), nos Estados Unidos, e a EMA (European Medicines Agency), na Europa, aconselham a restrição ou o ajuste de dose para alguns medicamentos, a exemplo da codeína (opioide utilizado no tratamento de dor leve a moderada) que é um pró-fármaco metabolizado pela *CYP2D6* e possui administração restrita para os indivíduos que apresentam fenótipo UM devido a potenciais reações adversas fatais (NARANJO et al., 2016).

Diante das características individuais oriundas dos diferentes tipos de fenótipos de metabolização dos fármacos, compreende-se a necessidade de estudos que possam descrever

as particularidades destes fenótipos e dos polimorfismos presentes em genes de metabolização para o direcionamento das terapias em um abrangente grupo de fármacos.

1.3.1. O *CYP2D6* E SUA IMPLICÂNCIA TERAPÊUTICA

O perfil molecular de *CYP2D6* pode alterar a conduta terapêutica de diferentes fármacos, desta forma, diversas agências internacionais (EMA e FDA) recomendam o emprego de polimorfismos neste gene como biomarcadores de predição de terapia em antidepressivos, antipsicóticos, antiarrítmicos, analgésicos opioides, agentes anticancerígenos e outras classes de fármacos (GARDINER & BEGG, 2006).

1.3.1.1. Fármacos Antidepressivos

Caracterizam-se por fármacos utilizados no tratamento do transtorno depressivo maior, além de outras condições como transtornos de ansiedade, dor crônica, distímia entre outros. Divididos em classes, sendo os antidepressivos tricíclicos - ATC (inibidores da recaptação da serotonina-norepinefrina) os que possuem maior variabilidade de resposta (CIRAULO et al., 2011). Os ATC ainda são recorrentes para o tratamento da depressão, contudo, estes fármacos também são empregados no contexto do gerenciamento da dor (GELENBERG et al., 2010). As diferenças interindividuais nos efeitos colaterais e na resposta ao tratamento têm sido associadas à variabilidade das concentrações plasmáticas tricíclicas (HICKS et al., 2017).

Amitriptilina

É um antidepressivo pertencente à classe dos tricíclicos, sendo utilizado para o tratamento de transtornos psiquiátricos como a depressão, ataques de pânico, transtorno obsessivo-compulsivo, bulimia, transtorno de estresse pós-traumático e transtorno de ansiedade. Este fármaco também pode ser utilizado para outras disfunções como prevenção de enxaqueca, manejo de dor neuropática e fibromialgia (ACCORD HEALTHCARE, 2016).

A amitriptilina tem sua metabolização realizada pelas vias dos genes *CYP2C19* e *CYP2D6*. O *CYP2C19* metaboliza o fármaco em seu metabólito ativo, a nortriptilina, um ATC com uma ação duas vezes mais potente que outros antidepressivos. O metabolismo catalisado pelo *CYP2D6* resulta na formação de metabólitos hidroxílicos (HICKS et al., 2013). Como tanto o fármaco primário (amitriptilina) e o metabólito nortriptilina são compostos farmacologicamente ativos, os níveis plasmáticos de ambos os fármacos devem ser monitorados. Devido à variabilidade de polimorfismos nos genes que metabolizam este

fármaco, alguns indivíduos podem apresentar níveis plasmáticos fora do intervalo terapêutico após tratamento com doses padrão, por apresentarem determinadas variantes de *CYP2C19* e *CYP2D6*, resultando em um maior risco de toxicidade ou a falha no tratamento (HICKS et al., 2013).

Indivíduos que apresentam o fenótipo de metabolizador lento do gene *CYP2D6* possuem um maior risco de sofrer com efeitos adversos com a administração de dose padrão da amitripilina, desta maneira, o Consórcio de Implementação Clínica de Farmacogenética (CPIC) orienta a restrição do uso deste fármaco e outros ATC e recomenda a substituição para uma droga que não seja metabolizada pelo *CYP2D6* (HICKS et al., 2017). A Tabela 1 resume os metabolizadores e os principais diplótipos que afetam a metabolização deste fármaco. Para os PM do gene *CYP2D6* o CPIC recomenda a uma redução de 50% da dose inicial e que seja utilizado o monitoramento de medicamentos terapêuticos para orientar os ajustes de dose (HICKS et al., 2013).

As agências internacionais que regulamentam o uso dos fármacos orientam aos pacientes que utilizam a amitriptilina a realizarem o teste genético para que o aconselhamento terapêutico seja elaborado de acordo com genótipo do paciente, e quando necessário, é recomendado o ajuste de dose ou substituição da amitripilina por outro fármaco que não seja metabolizado pelos genes relatados (HICKS et al., 2015).

Tabela 1 - Principais diplótipos e seu respectivo perfil metabolizadores do gene *CYP2D6*.

FENÓTIPO do <i>CYP2D6</i>	MÉDIA de ATIVIDADE*	EXEMPLOS de DIPLÓTIPOS
Metabolizador Ultrarrápido (aproximadamente 1–20% dos pacientes)	< 2.0	(*1/*1)xN
		(*1/*2)xN
		(*2/*2)xN
		(continuação)
FENÓTIPO do <i>CYP2D6</i>	MÉDIA de ATIVIDADE*	EXEMPLOS de DIPLÓTIPOS
Metabolizador Extensivo (aproximadamente 72–88% dos pacientes)	1.0 – 2.0	*1/*1
		*1/*2
		*2/*2
		*1/*9
		*1/*41

		*41/*41
		*1/*5
		*1/*4
		*4/*41
Metabolizador Intermediário	0.5	*5/*9
(aproximadamente 1–13% dos pacientes)		*4/*10
		*4/*4
		*4/*4xN
Metabolizador lento	0	*3/*4
(aproximadamente 1–10% dos pacientes)		*5/*5
		*5/*6

*O genótipo é traduzido para um fenótipo, com base na soma de uma média de atividade (AS) atribuída a cada alelo (fenótipo baseado em genótipos). Fonte: Adaptado de HICKS et al., 2017.

Imipramina

Foi o primeiro ATC a ser utilizado no tratamento da depressão na década de 50. Embora ainda seja utilizado para este fim, também pode ser útil na terapia adjuvante temporária para a redução da enurese em crianças com idade igual ou superior a 6 anos (PAR PHARMACEUTICAL, 2016). Assim como a amitripilina, a imipramina também é metabolizada pelos genes *CYP2C19* e *CYP2D6*, sendo o *CYP2C19* responsável pela metabolização em desipramina, outro ATC, porém com características clínicas que o distinguem da imipramine. Subsequentemente, a desipramine é metabolizada pelo *CYP2D6* em uma hidroxí-imipramina menos ativa (HICKS et al., 2013).

O alcance terapêutico ideal para a imipramina é bem definido. Grande parte dos pacientes que fazem o uso deste ATC possuem uma ótima resposta quando os níveis séricos da imipramina e desipramina estão entre 175 e 300 ng/mL (HIEMKE et al., 2011). Contudo, alguns indivíduos que apresentam variações genéticas no *CYP2C19* e/ou *CYP2D6* podem apresentar aumento no risco a toxicidade ou até mesmo falha no tratamento. Os pacientes que apresentam genótipo de metabolizadores ultrarrápidos do gene *CYP2D6* (Tabela 1), são recomendados pela CPIC a terem doses mais elevadas de imipramina para estar dentro do intervalo terapêutico em comparação com os indivíduos que são metabolizadores normais (SCHENK et al., 2008).

FDA e EMA são algumas das agências internacionais regulamentadoras de fármacos que orientam à realização de teste genético e o acompanhamento dos pacientes que apresentarem variações nos genes que metabolizam estes fármacos antidepressivos, mostrando a importância da compreensão e conhecimento desses metabolizadores e das variantes genéticas que atuam sobre eles.

1.3.1.2. Fármacos Antipsicóticos

São fármacos psicoativos usados para tratar psicose¹ (independentemente da causa subjacente), assim como transtornos psicóticos crônicos (por exemplo, esquizofrenia) e outras condições psiquiátricas. Na década de 1950 foram descobertos os primeiros antipsicóticos, que são conhecidos como antipsicóticos de “primeira geração” ou “típicos”, tendo como mecanismo de ação o bloqueio do receptor dopamina do tipo 2 (D2) no sistema límbico do cérebro. Porém, esses fármacos também bloqueiam os receptores de dopamina na via nigroestriatal, causando efeitos colaterais conhecidos como extrapiramidais, que são distúrbios do movimento (FINKEL et al., 2009). Nos anos seguintes surgiram os antipsicóticos “de segunda geração” ou “atípicos”, que apresentam menor risco de efeitos colaterais extrapiramidais. Espera-se que esses antipsicóticos ocupem temporariamente os receptores D2 e se dissociem rapidamente, para permitir a neurotransmissão normal da dopamina (SEEMAN, 2002).

Risperidona

É um antipsicótico atípico, sendo o mais prescrito nos Estados Unidos, é utilizado para o tratamento de esquizofrenia e episódios maníacos ou mistos do transtorno bipolar. Após o alívio dos sintomas, a risperidona é usada como método para o processo de manutenção dos distúrbios controlados e também pode ser prescrita para compor o tratamento para o manejo da agressão e/ou psicose em casos de demência grave e irritabilidade associada ao transtorno autista que pode ser apresentado por crianças e adolescentes (JANSSEN PHARMACEUTICALS, 2017).

Por ser um antipsicótico de segunda geração, possui uma alta afinidade pelos receptores de serotonina 5-HT do tipo 2 (5-HT_{2A}), α -1 adrenérgicos e receptores D2, porém

¹ “Psicose é a característica definidora dos transtornos do espectro da esquizofrenia, uma característica comum, mas variável, dos transtornos do uso de humor e de substâncias, e uma característica relativamente comum de muitas condições neurológicas e médicas de desenvolvimento, adquiridas e degenerativas” (ARCINIEGASA, 2015, p. 715).

tem uma ligação “lenta” com o receptor D2, a risperidona acaba por não bloquear os receptores de dopamina na via nigroestriatal e os efeitos colaterais extrapiramidais são menos prováveis (MOLDEN et al., 2016).

A risperidona sofre um intenso processo de metabolização hepática através da enzima *CYP2D6*, que a transforma no metabólito ativo a 9-hidroxisperidona. Ainda que a risperidona e a 9-hidroxisperidona sejam consideradas equipotentes, elas podem apresentar diferentes afinidades por dois receptores, o 5-HT_{2A} e o D2, mostrando que a risperidona pode apresentar uma atividade aproximadamente duas vezes mais potente do que a 9-hidroxisperidona. Essas divergências de atividade farmacológica, devido a afinidade por esses receptores, podem explicar as variações na resposta clínica observada entre os indivíduos que apresentam diferentes fenótipos do *CYP2D6* (CARTWRIGHT et al., 2013).

Os PM podem apresentar um maior risco de efeitos adversos devido ao aumento da exposição ao fármaco, já que doses padrões de risperidona levam a um aumento de seus níveis plasmáticos e níveis reduzidos de 9-hidroxisperidona (LISBETH et al., 2016). Para os UM o nível plasmático de risperidona pode estar diminuído, devido ao aumento da atividade da *CYP2D6*, gerando uma resposta diminuída à terapia (GANOCI et al., 2016). A FDA recomenda o teste genético para o acompanhamento dos pacientes que possuem o fenótipo de metabolizadores ultrarrápidos e pobres, devido aos diferentes níveis plasmáticos (de risperidona e 9-hidroxisperidona) que estes pacientes podem apresentar, e assim ocasionar diferentes eventos adversos ou até mesmo a falha terapêutica.

Clozapina

É um antipsicótico atípico utilizado para o tratamento da esquizofrenia, foi introduzido nos Estados Unidos em 1971, porém quatro anos depois a Novartis®, voluntariamente retirou o fármaco de circulação devido ao perigo de segurança para seus consumidores que apresentavam efeitos adversos, como uma intensa neutropenia. Entretanto, em 1989, a FDA reaprova o uso da clozapina para o tratamento da esquizofrenia, por este fármaco ter sido o mais efetivo no manejo da esquizofrenia resistente ao tratamento (BREIER et al., 1994 e NOVARTIS PHARMACEUTICALS CORPORATION, 2014).

A clozapina, por ser um antipsicótico de segunda geração, possui um mecanismo de ação que bloqueia os receptores D2 no sistema límbico do cérebro, favorecendo assim os sintomas "positivos" da esquizofrenia. O processo de metabolização deste fármaco é realizado

no fígado por enzimas da superfamília CYP, principalmente a CYP1A2, que é um determinante importante da dose de clozapina a ser administrada. Outras enzimas também estão envolvidas no metabolismo deste fármaco, como a CYP2D6 e CYP3A4 (RAJJI et al., 2015).

Devido à abrangência de polimorfismos presentes nos genes da família *CYP450* que podem resultar em uma atividade enzimática reduzida, ausente ou aumentada, é necessário um controle de dosagem nos indivíduos que apresentam diferentes fenótipos. Desta maneira, a FDA indica uma redução de dose para pacientes que apresentam o fenótipo PM da enzima CYP2D6, pois estes podem desenvolver concentrações plasmáticas acima do esperado de clozapina com doses padrões. Outro ajuste de dose pode ser necessário quando a clozapina é administrada com outros fármacos que podem inibir ou induzir as enzimas de metabolização, como por exemplo, o antibiótico ciprofloxacino (inibidor da CYP1A2) e o antidepressivo fluvoxamina (inibidor da CYP3A4 e CYP2D6) (NOVARTIS PHARMACEUTICALS CORPORATION, 2014).

1.3.1.3. Fármacos Antiarrítmicos

Os fármacos antiarrítmicos são utilizados com o objetivo de restaurar o ritmo e a condução cardíaca normal. Esses fármacos podem ser administrados para evitar a ocorrência de arritmias mais graves e, possivelmente, letais. Em 1970, Miles Vaughan Williams introduziu uma classificação para estes fármacos que é atualmente utilizada, onde os fármacos antiarrítmicos são divididos em cinco classes: Classe I, são os bloqueadores dos canais de sódio; Classe II, são os bloqueadores dos receptores beta adrenérgicos; Classe III, são os agentes que interferem nos canais de recaptação do potássio; Classe IV, são os bloqueadores de canais de Cálcio e a Classe V, são os demais agentes (VAUGHAN, 1970).

Propafenona

É um fármaco antiarrítmico de Classe I, que atua nos canais cardíacos de sódio (Na^+) para inibir os potenciais de ação, e subclasse C por não afetar significativamente o potencial de ação. É administrado com o objetivo de prevenir a recorrência da fibrilação atrial em pacientes que apresentam fibrilação atrial episódica, porém, possuem doença cardíaca estrutural subjacente. Pode ser considerado um beta bloqueador fraco e geralmente possui um grau de tolerabilidade aceitável entre os pacientes (GLAXOSMITHKLINE LLC, 2016).

A propafenona possui dois metabólitos ativos, 5-hidroxiopropafenona, que é metabolizada pela CYP2D6, e a norpropafenona, que é formada por CYP3A4 e CYP1A2. Devido aos polimorfismos presentes no gene *CYP2D6*, as variações plasmáticas da propafenona e de seus metabólitos é observada em alguns pacientes. Aqueles que possuem o fenótipo PM da CYP2D6 apresentam um metabolismo mais lento do fármaco, de tal forma que o metabólito 5-hidroxiopropafenona não é formado em taxas muito lentas, de modo que altas doses da droga (850mg/dia) induzem a uma concentração plasmática de propafenona até duas vezes maiores que um indivíduo que possui fenótipo de metabolizador normal da CYP2D6 (SU et al., 2016).

Agências regulamentadoras de fármacos, como a FDA, recomendam que o regime de dosagem de propafenona seja o mesmo para todos os pacientes, embora eles possuam níveis de atividade da CYP2D6 diferentes. Esta recomendação é baseada no fato de que, ainda em altas doses, os efeitos de altos níveis de propafenona no organismo são reduzidos pela carência do metabólito 5-hidroxiopropafenona ativo nos metabolizadores lentos, e também devido as taxas de condições estáveis que são alcançadas após quatro a cinco dias de titulação da dose em todos os pacientes, independentes do fenótipo de *CYP2D6*. No entanto, em razão da grande variação nos níveis plasmáticos do fármaco entre os indivíduos, a FDA orienta a titulação individual da dose de propafenona com base em sua resposta e tolerância, com grande atenção dada à evidência clínica e ao eletrocardiograma de toxicidade (GLAXOSMITHKLINE LLC, 2016).

Metoprolol

O metoprolol é um beta bloqueador beta (antiarrítmico de classe II) prescrito para o tratamento da hipertensão, angina e insuficiência cardíaca. Este fármaco antagoniza os receptores beta-adrenérgicos-1 (β_1) no miocárdio, reduzindo a taxa e a força da contração do miocárdio e, conseqüentemente, diminui a força das contrações cardíacas (ASTRA ZENECA, 2016).

A ligação de um agonista, como adrenalina e a noradrenalina (catecolaminas) aos receptores beta induz um aumento da concentração intracelular de cAMP, o que desencadeia vias de sinalização. A estimulação do receptor β_1 , expressa no tecido cardíaco, leva ao aumento da frequência cardíaca e ao aumento da contratilidade dos átrios e dos ventrículos. O objetivo do fármaco é proteger o coração do aumento da estimulação das catecolaminas, através do bloqueio desses receptores com agentes antagonistas (BRISTOW, 2000).

O metoprolol é metabolizado no fígado pelas enzimas da família CYP450, sendo a CYP2D6 a mais importante nesse processo. Em virtude da vasta quantidade de polimorfismos no gene *CYP2D6*, indivíduos que apresentam alguma alteração fenotípica na enzima, como a falta de atividade, terão concentrações plasmáticas de metoprolol, quase cinco vezes maiores do que as encontradas em indivíduos com fenótipo de atividade normal, além de poderem apresentar maior risco de manifestação de efeitos colaterais. Além disso, quando em altas concentrações plasmáticas, este fármaco se torna menos seletivo (BLAKE et al., 2013). Essas alterações podem influenciar na proporção de enantiômeros, dose e a titulação do metoprolol, onde os PM apresentam um risco aumentado de bradicardia. Desta maneira, a FDA recomenda o ajuste de dose para os indivíduos que são PM, IM e UM (HAMADEH et al., 2014; ASTRA ZENECA, 2016).

1.3.1.4. Analgésicos Opioides

É uma ampla classe de fármacos, que incluem agentes alcaloides extraídos de sementes de papoula (morfina e codeína) e seus derivados semissintéticos (oxicodona, hidromorfona, oximorfona), assim como as fenilpiperidinas sintéticas (meperidina, fentanil) e pseudopiperidinas sintéticas como a metadona. Esses fármacos são atuantes em três classes principais de receptores: Mu (μ), Kappa (κ) e Gama (δ) e cada uma das classes possui o seu ligante endógeno característico (JAMISON & MAO, 2015).

Codeína

É um dos analgésicos opioides mais prescritos no mundo, utilizada no tratamento de dor leve a moderadamente grave, exercendo seus efeitos através dos receptores opioides encontrados em todo o corpo, incluindo o sistema nervoso central e o sistema gastrointestinal. A codeína é um pró-fármaco, que em seu estado inativo se liga fracamente ao receptor Mu-opioide (μ), sendo necessária a conversão em morfina, que possui afinidade 200 vezes maior que a codeína por este receptor (VOLPE et al., 2011 e ROXANE LABORATORIES, 2010).

Para que a analgesia da codeína seja eficaz, é realizada a desmetilação deste pró-fármaco em morfina, através da *CYP2D6*, onde apenas ~5-10% da codeína é metabolizada nesta via, sendo que em uma dose de codeína administrada, aproximadamente 80% é convertida em metabólitos inativos e excretada (HAUFROID & HANTSON, 2015). Entretanto, em indivíduos que apresentam fenótipos de UM da *CYP2D6* a porcentagem de

codeína convertida em morfina pode ser muito maior. Enquanto que indivíduos que são PM têm níveis mais baixos de morfina (CREWS et al., 2014).

Os indivíduos que são UM possuem um maior risco de apresentar dependência e “overdose” de morfina, levando a efeitos colaterais e menor duração do controle da dor, onde mesmo em baixas doses de codeína acabam por resultar em níveis tóxicos de morfina (CREWS et al., 2014). Há vários relatos de casos de efeitos adversos graves ou fatais que ocorreram em pacientes que eram UM e foram tratados com doses padrão de codeína, além de casos de aumento do risco de sobredosagem de morfina lactentes UM cujas mães fazem uso de codeína (CISZKOWSKI et al., 2009; KOREN et al., 2006).

Devido às diversidades de resposta à codeína devido as variantes genéticas do *CYP2D6*, a FDA adverte na bula do fármaco os riscos que UM e PM apresentam quando recebem doses padrões de codeína, sendo recomendado que esses indivíduos recebam opioides que não são metabolizados pelo *CYP2D6*.

Tramadol

É um analgésico usado para tratar a dor moderada à moderadamente grave, é utilizado para a dor aguda e crônica. O tramadol é um opioide sintético relacionado à codeína, e é administrado como uma mistura racêmica de dois enantiômeros: tramadol (+) e tramadol (-) (ACCORD HEALTHCARE, 2014). O mecanismo de ação exato do tramadol não é conhecido, mas sugere-se que os enantiômeros contribuem para seu efeito analgésico de diferentes maneiras. Possui atividade no receptor μ (menor que a codeína) e também inibe a recaptação sináptica de serotonina e de norepinefrina que acaba por reprimir a transmissão da dor na medula espinhal (REEVES & BURKE, 2008).

A metabolização do tramadol é realizada no fígado, principalmente, pela enzima *CYP2D6*, que o catalisa no O-desmetiltramadol, principal metabólito ativo do Tramadol, conhecido como M1. O Tramadol e o M1 contribuem para o efeito analgésico, porém a afinidade do M1 para os receptores opioides é maior que a do Tramadol (HAUFROID & HANTSON, 2015). Pacientes que possuem o fenótipo PM da *CYP2D6* têm maiores concentrações plasmáticas de tramadol em comparação com indivíduos que possuem atividade normal (ACCORD HEALTHCARE, 2014).

A FDA afirma que os níveis de tramadol são aproximadamente 20% maiores em PM em comparação com EM, enquanto as concentrações de M1 são 40% menores. Essas

informações constam na bula do fármaco que foi aprovada por esta agência, outra informação é referente ao uso concomitante de inibidores da CYP2D6 (fluoxetina e seu metabólito norfluoxetina, amitriptilina e quinidina) que pode resultar em aumentos nas concentrações de tramadol e na diminuição das concentrações de M1 (ACCORD HEALTHCARE, 2014). Um grupo de estudos farmacogenéticos da Holanda orienta que esses indivíduos com fenótipo PM troquem o regime terapêutico ou que os profissionais estejam atentos aos sintomas de alívio insuficiente da dor (SWEN et al., 2011).

1.3.1.5. Agentes Anticancerígenos

Atualmente esta classe de fármacos possui diferentes mecanismos de ação que podem ter seus efeitos variáveis em diferentes tipos de células normais e cancerígenas. São realizadas abordagens terapêuticas de acordo com tipo de tumor que o paciente apresenta, onde a maioria dos cânceres é tratada com um combinado de cirurgia, quimioterapia e radioterapia (MILLER et al., 2016). O principal mecanismo de ação destes agentes é a inibição de síntese de ácidos nucleicos, assim como a inibição de fatores de transcrição e de enzimas associadas a estes mecanismos. A busca por fármacos que possuam baixa toxicidade e alta eficácia está em constante desenvolvimento (KUMAR et al., 2015).

Gefitinibe

É um inibidor de tirosina quinase indicado para o tratamento de primeira linha de pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas, que apresentam variações genômicas no receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR). Este agente atua como competidor da ligação de ATP ao domínio da tirosina quinase do EGFR, inibindo assim a autofosforilação do receptor e resultando na inibição da transdução do sinal (ASTRA ZENECA, 2015).

O gefinibe é metabolizado no fígado por enzimas da família CYP450. A enzima CYP2D6 metaboliza o fármaco em O-desmetil que inibe a tirosina quinase de EGFR intracelular através de um mecanismo semelhante ao do gefitinibe, com maior concentração inibitória. No entanto, este metabólito possui uma baixa transição tecidual tendo menores efeitos no crescimento tumoral. Adicionalmente, o gefitinibe também pode ser metabolizado em morfolina (metabólito de anel aberto) em uma via alternativa, que envolve as enzimas CYP3A4 e CYP3A5 (KOBAYASHI et al., 2016).

As agências regulamentadoras de fármacos não aconselham o ajuste de dose para pacientes que apresentam variações genéticas que alteram o fenótipo dos metabolizadores do gene *CYP2D6*, porém para pacientes que apresentam o fenótipo de metabolizadores pobres recomenda-se o monitoramento durante o tratamento para reações adversas, pois estes pacientes apresentam maior propensão a desenvolvê-las devido à maior exposição ao gefinibe (ASTRA ZENECA, 2015).

Tamoxifeno

É um modulador seletivo do receptor de estrogênio. O tamoxifeno é utilizado tanto em homens como em mulheres para tratar câncer de mama metastático, sendo o tratamento padrão para mulheres pré-menopáusicas com câncer de mama positivo ao receptor de estrogênio (ER⁺). Este fármaco também é usado para prevenir o câncer de mama em mulheres com risco aumentado e para reduzir o potencial de invasão de células cancerígenas em mulheres com carcinoma ductal *in situ* (MYLAN PHARMACEUTICALS, 2013).

O mecanismo de ação do tamoxifeno envolve metabólitos que impedem a ligação de estrogênio ao ER para inibir a expressão de genes que respondem a este hormônio, prevenindo assim o crescimento de células tumorais e angiogênese. Também é provável que o tamoxifeno interaja com outros cofatores de proteínas (tanto ativadores quanto repressores) e se ligue a diferentes receptores de estrogênio (ER- α ou ER- β), para produzir efeitos estrogênicos e antiestrogênicos em diferentes tecidos (JORDAN, 2014). Apesar de apresentarem um mecanismo de ação conhecido, as respostas dos pacientes ao tamoxifeno variam, e cerca de 20-30% dos pacientes que recebem terapia com tamoxifeno, de acordo com as diretrizes, sofrem recorrência de câncer de mama (HACKSHAW et al., 2011).

O tamoxifeno é um pró-fármaco que é metabolizado através das enzimas CYP em metabólitos ativos no fígado. Os metabólitos 4-hidroxitoxififeno e 4-hidroxi-N-desmetiltamoxifeno (endoxifeno) são considerados os principais metabólitos do fármaco. O endoxifeno é central para o mecanismo de ação e eficácia do tamoxifeno, e suas concentrações variam substancialmente entre pacientes. A CYP2D6 é a principal enzima envolvida na conversão de tamoxifeno em seus mais eficazes metabólitos antiestrogênicos, e os polimorfismos genéticos da CYP2D6 podem influenciar o metabolismo do tamoxifeno (DAMKIER et al., 2017). Níveis plasmáticos elevados de endoxifeno requerem a presença de alelos CYP2D6 totalmente funcionais, portanto em PM, os níveis de endoxifeno são diminuídos (SALADORES et al., 2015).

Agências regulamentadoras de fármacos, como a FDA e EMA, ainda não recomendam o teste genético para o CYP2D6 em pacientes que são passíveis do uso de Tamoxifeno, mas aconselham o monitoramento e a farmacovigilância durante o tratamento. O grupo de estudo farmacogenético da Holanda recomenda a terapia com tamoxifeno com base em genótipos de *CYP2D6* (MYLAN PHARMACEUTICALS, 2013). Para os metabolizadores pobres e intermediários, é orientado o uso de inibidores de aromatase para mulheres pós-menopáusicas devido a um risco aumentado de recaída de câncer de mama com o fármaco. O grupo também recomenda que os EM evitem o uso concomitante de inibidores da CYP2D6 (SWEN et al., 2011).

1.4. INFLUÊNCIA ÉTNICA EM ESTUDOS FARMACOGENÔMICOS

A heterogeneidade da população brasileira, resultante da miscigenação entre ameríndios, europeus e africanos, proporciona grandes implicações na aplicação de ensaios clínicos de resposta farmacológica. A frequência alélica de importantes *loci* farmacogenéticos varia entre diferentes populações geográficas. Essas variações entre populações provavelmente são o resultado de deriva genética, mas podem também refletir na adaptação ao local e a fatores seletivos como condições climáticas e dieta alimentar (JOBILING et al., 2004; BALARESQUE et al., 2007; PENA et al., 2011).

Baseado nisso, a resposta a alguns medicamentos, cujos polimorfismos farmacogenéticos já estão descritos em resposta aos mesmos, tem algumas indicações para determinadas populações. Entre os exemplos mais proeminentes está o fármaco varfarina. . Neste contexto, a frequência de polimorfismos no gene *VKORC1* (crucial para a metabolização do fármaco) varia muito em todo mundo, sendo extremamente alta em populações asiáticas (89%), o que gerou a recomendação da redução da dose administrada deste fármaco nestas populações (JONAS & MCLEOD, 2009; PENA et al., 2011). Para o tratamento oncológico, diferenças étnicas na sobrevivência de pacientes com Leucemia Linfóide Aguda (LLA) infantil foram relatadas em vários estudos com resultados mais desfavoráveis observados para as crianças de origem africana em comparação com crianças de origem europeia (POLLOCK et al., 2000; BHATIA et al., 2002; PUI et al., 2003).

Adicionalmente, poucos estudos relatam resultados do tratamento na LLA infantil entre outros grupos étnicos, como ameríndios ou asiáticos (YANG et al., 2011; CARVALHO et al., 2015). Em 2011, Yang e colaboradores relataram piores resultados terapêuticos em crianças com LLA com maior ascendência ameríndia. No ano de 2015, Carvalho et al.

demonstraram que pacientes diagnosticados com LLA tratados com quimioterapia convencional com alta contribuição de ancestralidade nativa ameríndia apresentaram maior frequência de episódios de toxicidades e recorrência no tratamento.

Nas últimas décadas, uma grande quantidade de estudos analisou as ligações entre as variantes genéticas nos genes CYP e as respostas farmacogenéticas. Seguindo este padrão, a recente disseminação de tecnologias de sequenciamento de nova geração e a implementação de projetos de sequenciamento em escala populacional vem mostrando uma abrangente e consolidada diversidade genética e variabilidade interétnica dos alelos CYP em todas as populações mundiais (MCGRAW & WALLER, 2012). Uma recente revisão, realizada por Zhou et al. (2017), integrou dados de sequenciamento de genoma completo e de exoma (disponíveis em bancos online) de 566.945 indivíduos, não relacionados, das principais populações humanas. Os resultados do estudo demonstraram a abrangente diferença de frequências das variantes dos genes CYP, que são clinicamente importantes, nas populações analisadas (Figura 3).

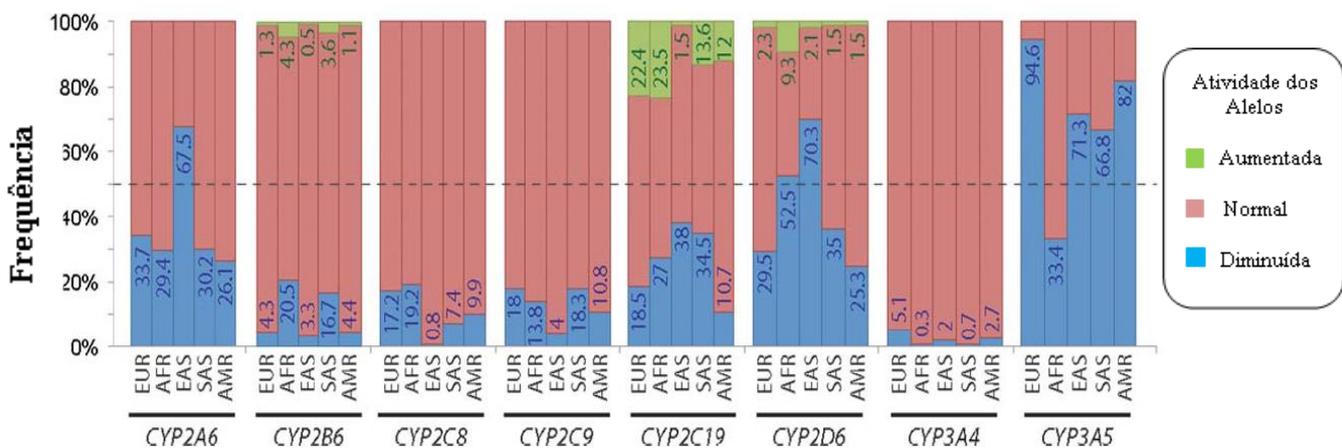


Figura 3 - A variabilidade genética e suas consequências funcionais dos principais genes do Citocromo P450 (CYP) e entre as populações. As consequências funcionais esperadas das distribuições alélicas em todas as populações mundiais são mostradas. As frequências de haplótipos com funcionalidade diminuída (azul), aumentada (verde) e normal (vermelha), foram agregadas para cada gene e população, revelando o espectro de variabilidade funcional nas principais populações mundiais - Europeus (EUR), Africanos (AFR), Leste Asiático (EAS), Sul Asiático (SAS) e Americanos Misturados (AMR). Adaptado de Zhou et al. (2017).

As variantes genômicas presentes no gene *CYP2D6* que podem ocasionar um aumento da atividade metabólica da *CYP2D6* observadas principalmente em africanos (ZHOU et al. 2017), foram ligados à diminuição da resposta ao tratamento observada no tratamento com ATC (KAWANISHI et al., 2004), aumento da incidência de depressão respiratória após o tratamento com tramadol (STAMER et al., 2008), intoxicações opiáceas após tratamento com

codeína com inibição da atividade enzimática CYP3A4 e redução transitória da funcionalidade renal (GASCHE et al, 2004). Por outro lado, os pacientes com alelos *CYP2D6* de funcionalidade reduzida, que são encontrados com maior frequência no leste asiático (70,3%) e populações africanas (52,5%) (ZHOU et al. 2017), apresentam maior risco de desenvolver reações distônicas agudas induzidas por metoclopramida (fármaco utilizado no tratamento de distúrbios na motilidade gastrointestinal) e reações adversas causadas pela ação antipsicótica da risperidona (VAN DER PATC et al, 2006; CARTWRIGHT et al., 2013).

Outro exemplo importante é a implementação do esquema S-1, baseado na administração oral da fluoropirimidina, utilizada para o tratamento de câncer no trato gastrointestinal (JONAS & MCLEOD, 2009; PENA et al., 2011). A dose máxima tolerada de S-1 é substancialmente menor em pacientes ocidentais do que em pacientes japoneses (AJANI et al., 2005). Essa diferença de tolerância pode estar associada a polimorfismos presentes no gene *CYP2A6*, cuja atividade mostra variabilidade interindividual considerável (FUJITA, 2006). Neste contexto, segundo Chuah et al. (2011), o esquema S-1 foi considerado etnicamente dependente, o que significa que pacientes de diferentes grupos populacionais apresentam padrões divergentes de toxicidade à terapia.

No entanto, a maioria dos dados apresentados em plataformas públicas apresenta as frequências das variantes genômicas das principais populações mundiais e a maioria dos estudos realizados revelam as diferentes particularidades dessas populações ressaltando a necessidade de considerar os antecedentes genéticos específicos de cada população ao realizar análises farmacogenéticas e ensaios clínicos.

1.5. GRUPOS INDÍGENAS BRASILEIROS

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) a população brasileira possui, aproximadamente, 209.041.100 milhões de pessoas, no ano de 2018. No censo realizado em 2010 pelo IBGE, foi relatado que existem 817.963 mil indígenas no território brasileiro (Figura 4). Do total das populações indígenas vivendo no Brasil, 61% vivem na zona rural do país. Foram registradas 305 diferentes etnias e 274 línguas indígenas diferentes e ainda existem 69 referências de índios ainda não contatados, além de existirem grupos que estão requerendo o reconhecimento de sua condição indígena junto ao órgão federal indigenista (IBGE, 2010).

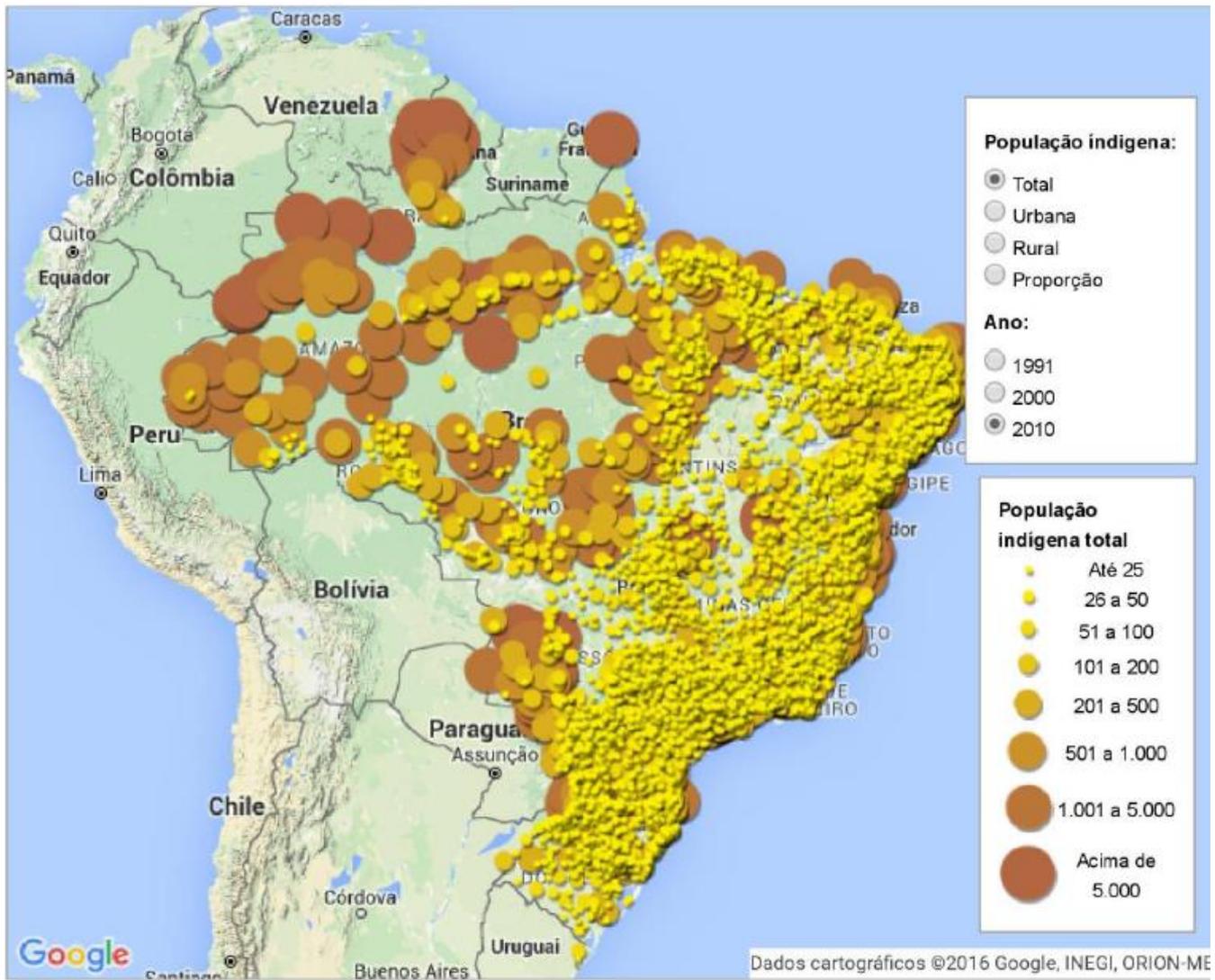


Figura 4 - Distribuição total, rural e urbana da população indígena no Brasil. FONTE: IBGE, 2010.

A origem e expansão das populações ameríndias da Amazônia tem sido alvo de inúmeras discussões acadêmicas. Evidências históricas apontam que as primeiras populações primitivas a chegar à Amazônia foram os Paleoíndios, vindos do norte e oeste do continente americano, entre 16.000 a 20.000 anos. Esta população, que originalmente saiu da Ásia, sofreu uma redução drástica no seu tamanho populacional, diminuindo a variabilidade genética existente nestes primeiros povos que migraram para o continente americano (WALLACE et al., 1985; SCHURR et al., 1990; HORAI et al., 1993; SANTOS et al., 1999).

Estudos epidemiológicos em indígenas ainda representam um campo pouco explorado no mundo, particularmente no Brasil. Estudos em genética do Sistema de histocompatibilidade antígeno leucocitário humano (HLA) demonstram diferenças neste conjunto de genes em relação a outros grupos étnicos, fato de importante impacto em infecções ocorridas em ameríndios (LINDENAU et al., 2016; ARNAIZ-VILLENA et al.,

2014). Estudos com diferentes tribos nas américas têm relatado que a incorporação de hábitos da vida moderna a este grupo, como exemplo a alimentação e uso de bebidas alcoólicas se correlaciona com aumento de obesidade e diabetes (DE OLIVEIRA ALVIM et al., 2014; ARNAIZ et al., 2013).

Neste contexto, as populações ameríndias apresentam poucos dados epidemiológicos em relação a doenças. Os ameríndios apresentam diversidade genética diferenciada e poucas informações em relação à incorporação de hábitos modernos no seu estilo de vida, que podem ser prejudiciais a estas populações. Dessa forma, podemos pressupor que a introdução de terapias farmacológicas a este grupo étnico pode ter um padrão divergente de toxicidade e resposta quando comparado a outros grupos étnicos, e que esta população deve apresentar índices de letalidade e internações similares ou maiores.

1.5.1. ASURINI

O termo Asurini tem sua origem na língua Juruna e, desde o século XX, vem sendo utilizado para designar diferentes grupos Tupis da região entre os rios Xingu e Tocantins.

1.5.1.1. Trocará

Os Asurini do Trocará (nome da área indígena) são conhecidos também por Asurini do Tocantins, e por Akuáwa-Asuriní. Há vários anos, porém, este povo assumiu o termo Asurini como sua autodenominação. Segundo dados do Instituto Socio Ambiental (ISA) o grupo indígena dos Asurini do Trocará contam com aproximadamente 516 índios na sua tribo (ISA, 2016). Adicionalmente, esta tribo indígena adota o Tupi-Guarani como língua nativa (ANDRADE, 1999).

Quanto à localização, estima-se que, nas primeiras décadas deste século, uma parte dos Asurini abandonaram a região do Xingu, devido a diversas cisões internas e conflitos com outros povos indígenas, e foram deslocando-se para leste, ocupando as cabeceiras do Rio Pacajá e, posteriormente, para as proximidades do Rio Trocará, aonde se encontram até os dias atuais (ANDRADE, 1999).

Do ponto de vista cultural, os Asurini do Trocará valorizam muito as práticas de caça e pesca; Embora sejam práticas majoritariamente masculinas, é comum que as mulheres da aldeia também a exerçam. Além do mais, este grupo indígena também tem uma forte ideologia espiritual e atividade xamanística (ANDRADE, 1999).

1.5.1.2. Koatinemo

Após o contato com a sociedade, por volta de 1971, os Asurini do Koatinemo (também denominados Asurini do Xingu) sofreram uma drástica baixa populacional. Na mais recente contagem populacional, o grupo indígena dos Asurini era composto por um total de 165 índios, e sua única aldeia atual se localiza a margem direita do Rio Xingu, onde fica a Terra Indígena Koatinemo, homologada em 1986 (ISA, 2016).

A língua dos Asurini do Koatinemo, assim como os Asurini do Trocará, também pertence à família linguística Tupi-Guarani, classificada no subconjunto V, ao qual pertence também à língua Kayabi (MULLER, 2002). Este grupo indígena possui uma extrema vitalidade cultural, manifestada na realização de extensos rituais, práticas de xamanismo e um elaborado sistema de arte gráfica que envolve desenhos geométricos de estilizações de elementos de natureza, bem como representações de seres sobrenaturais ou elementos simbólicos, os quais são frequentemente encontrados na decoração do corpo, na produção de cerâmica, tecelagem e outros bens de produção manual (MULLER, 2002).

Alguns trabalhos da literatura especializada da área de genética geral utilizaram indígenas da tribo Asurini do Koatinemo. Um dos principais trabalhos nesta área foi realizado em 1993 por Aguiar e colaboradores; neste estudo, os autores investigaram a diversidade genética de 18 tribos da região Amazônica, dentre elas, os Asurini, a fim de elucidar o perfil genético de cada uma e caracterizar as diferenças entre as mesmas baseando-se em eventos históricos, tais como: mudanças demográficas, movimentos geográficos, relações intertribais entre outros (AGUIAR, 1993).

Outra investigação realizada recentemente, em 2016, é a de Barbosa e colaboradores que avaliaram a morfologia facial de indígenas não miscigenados da área do Xingu, dentre o grupo investigados havia 27 indígenas da tribo Asurini. Neste estudo, os autores identificaram que as características morfológicas faciais dos grupos indígenas são fortemente diferentes entre os grupos estudados. Estes resultados reforçam a existência da diversidade genética existente entre os ameríndios brasileiros (BARBOSA et al., 2016).

1.5.1.3. Kayapó-Xikrin

Os Kayapó vivem em aldeias dispersas ao longo do curso superior dos rios Iriri, Bacajá, Fresco e de outros afluentes do rio Xingu. São encontrados no território do Pará e Mato Grosso. Além disso, compõem uma das maiores comunidades indígenas atualmente,

contando atualmente com 8.638 indivíduos (IBGE, 2010). Um dos principais subgrupos de índios Kayapó é o grupo Xikrin, que vive nas Terras Indígenas Cateté e Trincheira Bacajá no estado do Pará e são compostos por uma população de aproximadamente 1.800 indivíduos. Este grupo fala a língua Kayapó (ou Mebengokré), da família linguística Jê, tronco linguístico Macro-Jê (GIANNINI, 2001).

Culturalmente, os Xikrin enaltecem a audição e a palavra. A fim de aguçar estas qualidades, eles perfuram, ainda crianças, os órgãos correspondentes (orelhas e lábios). Na sabedoria local, o ouvir está diretamente relacionado ao saber, à aquisição do conhecimento. A oratória, por sua vez, é uma prática social muito valorizada, como para os grupos Kayapós em geral, que se definem como aqueles que falam bem e bonito em relação a todos os outros povos que não falam sua língua (GIANNINI, 2001).

1.6. ESTUDOS GENÔMICOS NOS GRUPOS INDÍGENAS

Estudos envolvendo técnicas de associação genômica ampla em populações ameríndias são escassos. A maioria dos estudos genômicos relatados na literatura envolvem marcadores moleculares usados na genética de populações. Em 2012, Kuhn e colaboradores, realizaram um estudo de genômico em 53 indígenas da tribo Xavante, com o objetivo de caracterizar a estrutura genética desta população em comparação com outras já conhecidas. Os resultados obtidos na investigação asseguram o baixo grau de mistura interétnica desta população ressaltando a importância da realização de estudos envolvendo etnias como esta, que permanecem seguramente isoladas geneticamente das demais, podendo oferecer vantagens em estudos de associação genômica ampla do mapeamento de doenças hereditárias.

Um estudo realizado por Ribeiro-dos-Santos et al. (2013), realizou o sequenciamento completo do genoma de um indivíduo de uma tribo sul-americana, estudo este pioneiro na área para aprofundar a compreensão da variabilidade genética dos ameríndios. Neste estudo foi sequenciado um total de 36,8 giga pares de bases (GBP) que foram alinhados com o genoma humano já conhecido, que correspondem a 95,92% do genoma humano completo. Foi possível identificar 502.017 polimorfismos, dos quais 32.275 eram potencialmente novos polimorfismos de base única (SNP) de alta confiança e 33.795 novos polimorfismos de inserção e/ou deleção (INDEL) específicos das populações nativas da América do Sul. Sendo assim, o trabalho contribuiu para a compreensão da variabilidade genética das populações sul-americanas nativas e da história das populações humanas.

Investigações genômicas que envolvam biomarcadores moleculares clínicos já descritos na literatura especializada em outros grupos étnicos ou ainda marcadores genéticos ainda não descobertos que seriam específicos dos ameríndios são estudos extremamente raros. O conhecimento obtido até o momento nas populações ameríndias é limitado a genes específicos, não alcançando um contexto mais amplo do genoma que envolve patologias ou mesmo uma terapia (SUAREZ-KURTZ, 2010; CUATLE-RODRIGUEZ et al., 2014).

Desta forma, compreender a variabilidade genética de ameríndios em estudos genômicos que sejam capazes de investigar marcadores moleculares importantes para a prática clínica, são estudos de grande impacto científico e na saúde pública destes povos e de populações miscigenadas com este grupo étnico.

1.7. APLICABILIDADE CLÍNICA

Devido ao grande avanço nas pesquisas em farmacogenômica, as agências regulamentadoras de fármacos, FDA e EMA, têm estabelecido protocolos de tratamento para diversos tipos de terapias com o uso de biomarcadores moleculares definidores de conduta no tratamento, com intuito de estabelecer uma medicina personalizada.

Vários genes que estão envolvidos nas vias de metabolização de diversos fármacos são alvos de estudos farmacogenômicos. O conjunto de genes que compõe a família CYP450 codificam enzimas que correspondem a 80% do processo de metabolização de fase I dos fármacos (ZHOU et al., 2017). O gene *CYP2D6*, membro da família CYP450, atua na metabolização de mais de 20% dos fármacos disponibilizados no mercado (GARDINER & BEGG, 2006). Uma abrangente quantidade de variantes genômicas no gene *CYP2D6* são clinicamente importante na predição de terapia, dependendo do perfil genômico que o paciente apresentar ele pode ter um elevado risco de reações adversas ou até mesmo falha terapêutica. O perfil molecular do gene *CYP2D6* apresenta grande divergência entre populações mundiais (LLERENA et al., 2014).

As populações ancestrais humanas, representadas principalmente pelos grupos de europeus, asiáticos, ameríndios e africanos, apresentam grande diversidade genética entre si, que implica em elevadas flutuações nas frequências de importantes polimorfismos farmacogenéticos (JITTIKOON et al., 2016). A população brasileira é uma das mais miscigenadas do mundo, resultado de miscigenação entre os grupos: europeu, africano e

ameríndio. Possuindo um alto grau de miscigenação que proporciona implicações na implementação de ensaios clínicos voltados para medicina de precisão.

Os resultados de protocolos de medicina personalizada desenhados para populações de origem europeia não poderiam ser totalmente aplicáveis em populações brasileiras, sem antes ter uma investigação do perfil farmacogenômico em populações ancestrais nunca estudadas, como a ameríndia. As populações tradicionais da América do Sul apresentam uma longa história de isolamento geográfico humano e componente genético diferenciado de outras populações mundiais (LAZALDE-RAMOS et al., 2014).

A farmacogenética tem como objetivo atingir o ideal da medicina personalizada, a fim de garantir que "cada paciente receba o medicamento certo, na hora certa, na dose certa para a doença certa". Apesar da reconhecida importância de saúde deste tipo de investigação, existem poucos estudos sobre biomarcadores moleculares em populações ameríndias. O banco de dados de variabilidade humana, 1000 Genomas, que mantém os registros do sequenciamento completo do genoma de 2504 indivíduos, distribuídos por todos os continentes geográficos, não apresenta resultados de indivíduos de tribos indígenas, confirmando a escassez de estudos genômicos nessas populações

Desta forma estudos que forneçam informações a respeito de marcadores moleculares já recomendados na prática clínica, em diversas agências mundiais regulamentadoras de fármacos, em populações nunca estudadas como os ameríndios, poderia fornecer importantes dados de epidemiologia molecular capazes de avaliar a resposta individual e do determinado grupo étnico a diferentes classes de fármacos.

Adicionalmente, registros da literatura que envolva pesquisa de variantes preditoras de terapia no gene *CYP2D6* na população ameríndia amazônica não existem. Sendo assim, compreender a variabilidade do gene *CYP2D6* nos ameríndios em estudos genômicos que sejam capazes de investigar marcadores moleculares importantes para a prática clínica são estudos de grande impacto científico e de extrema importância para a saúde pública destes povos e de populações miscigenadas com este grupo étnico.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Investigar e descrever o perfil molecular do gene *CYP2D6* em populações ameríndias amazônicas, comparando os dados obtidos com diferentes populações mundiais.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Genotipar 23 polimorfismos do gene *CYP2D6*, recomendados por agências internacionais (FDA e EMA), como biomarcadores preditivos de conduta terapêutica nas amostras de indivíduos da população ameríndia da Amazônia;
- Investigar os dados de genotipagem dos 23 polimorfismos no gene *CYP2D6* envolvidos na metabolização de diversos fármacos referentes a cinco populações continentais descritas na plataforma 1000 genomas: africanos, europeus, americanos e populações do Leste e Sul Asiático;
- Descrever as frequências alélicas, genotípicas e haplotípica dos marcadores farmacogenômicos do gene *CYP2D6* na população ameríndia investigada e comparar com as demais populações mundiais descritas na plataforma 1000 genomas;
- Realizar estudos de epidemiologia molecular determinando a presença de importantes marcadores moleculares no gene *CYP2D6* preditores de conduta terapêutica em diferentes fármacos nas populações ameríndias, contribuindo, desta forma, para o estabelecimento de políticas públicas de saúde voltadas para as necessidades destas populações e das populações miscigenadas entre elas.

3. CAPÍTULO I. Manuscrito Original

Perfil Genético e Fenotípico do *CYP2D6* em Tribos Amazônicas Brasileiras

Luciana Pereira Colares Leitão¹; Marianne Rodrigues Fernandes¹; Ana Latorre Pellicer³; Olalla Maroñas³; Raquel Cruz-Guerrero³; Juliana Carla Gomes Rodrigues¹; Tatiane Piedade de Souza¹; Antonio André Conde Modesto¹; Sidney Emanuel Batista dos Santos¹; João Farias Guerreiro²; Ángel María Carracedo³; Ney Pereira Carneiro dos Santos¹.

¹Núcleo de Pesquisas em Oncologia, Universidade Federal do Pará

²Laboratório de Genética Humana e Médica, Universidade Federal do Pará

³Center for Research in Molecular Medicine and Chronic Diseases (CiMUS), Universidade de Santiago de Compostela

RESUMO

Introdução: O gene *CYP2D6* é um farmacogene bastante investigado e metaboliza mais de 20% de todos os fármacos no fígado humano. As variantes deste gene possuem diferentes frequências nas populações mundiais. Devido à maioria dos estudos serem realizados na região europeia, populações mais isoladas como os nativos americanos são pouco documentadas. O objetivo deste trabalho foi identificar as frequências das principais mutações do gene *CYP2D6* e determinar o perfil de metabolização deste gene na população ameríndia amazônica. **Métodos:** 109 indivíduos de três populações Ameríndias Amazônicas: Asurini do Trocará, Asurini do Koatinemo e Kayapó-Xikrin foram avaliadas. O material genético foi extraído a partir de sangue periférico. As genotipagens dos 23 polimorfismos foram realizadas por ensaios Taqman® em OpenArray®, no aparelho QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR System. A ancestralidade foi determinada com o uso de 61 Marcadores Informativos de Ancestralidade. As análises estatísticas foram realizadas pelos programas Arlequin v. 3.5.2.2, SPSS v. 12.0 e pacote estatístico do R.. **Resultados:** foi observado 11 diferentes diplótipos nas 3 populações indígenas estudadas. O homocigoto selvagem (*1/*1) foi o mais frequente nas populações, e apresentou frequência genotípica de 17% nos Assurini do Trocara, 14% nos Kayapo-Xikrin, e 4% em Kuatinemo. O *active score* relacionado ao perfil de metabolização extensiva foi o mais frequente nas tribos avaliadas. **Conclusão:** A prevalência do perfil de metabolização extensiva nesta população pode indicar um perfil de proteção aos efeitos adversos e as falhas terapêuticas dos fármacos.

Palavras-chave: *CYP2D6*, metabolização, ameríndios.

INTRODUÇÃO

A farmacogenética caracteriza-se pelo processo de identificação de variantes genéticas que influenciam os efeitos dos fármacos, normalmente por alterações na farmacocinética (absorção, distribuição, metabolização e eliminação do fármaco) ou na farmacodinâmica, através da modificação dos seus alvos ou pela alteração das vias biológicas responsáveis pela resposta do indivíduo aos efeitos farmacológicos [1]. O estudo da farmacogenética objetiva a busca por uma terapia individualizada que possa maximizar a eficácia dos medicamentos e minimizar os efeitos adversos associados aos fármacos [2].

Diante de diversos farmacogenes, a superfamília gênica CYP450 destaca-se por codificar enzimas responsáveis pela oxidação de substâncias endógenas e xenobióticos em compostos mais hidrofílicos. De fato, estas enzimas correspondem a 80% das enzimas metabolizadoras de fase I dos fármacos, realizando cerca de 70% do processo de depuração [3,4]. Dentre os membros desta superfamília, o *CYP2D6* é intensamente investigado [5] e representa apenas uma pequena porcentagem de todos os CYP hepáticos (1,3 - 4,3%), entretanto, metaboliza mais de 20% de todos os fármacos no fígado humano [6, 7].

Os diplótipos do gene *CYP2D6* são variáveis e resultam em fenótipos diferentes que podem ser divididos em quatro tipos de metabolizadores: Metabolizadores Intermediários (IM), Metabolizadores Extensivos (EM), Metabolizadores Lentos (PM) e Metabolizadores Ultrarrápidos (UM) [8]. Os fenótipos PM e UM são os mais importantes para a clínica, pois os pacientes que apresentam esses fenótipos são mais propensos a apresentarem efeitos adversos graves. Esses fenótipos possuem uma intensa diferença de frequência entre as populações do mundo. O PM apresenta uma maior frequência nas regiões europeias enquanto as populações asiáticas demonstram uma menor frequência [9]. São escassos os dados de literatura que apresentam informações sobre a frequência desses metabolizadores em populações mais isoladas, como os ameríndios, dificultando a caracterização dessas populações em relação ao perfil de metabolização dos fármacos.

As populações ancestrais humanas representadas principalmente pelos grupos de europeus, asiáticos, ameríndios e africanos, apresentam grande diversidade genética entre si, que implica em elevadas flutuações nas frequências de importantes polimorfismos farmacogenéticos [10]. As populações tradicionais da América do Sul apresentam uma longa história de isolamento geográfico humano e componente genético diferenciado de outras populações mundiais [11]. A população brasileira é uma das mais miscigenadas do mundo, o que proporciona grandes implicações na implementação de ensaios clínicos voltados para medicina de precisão [12].

É notável observar que a maioria dos estudos sobre alelos, genótipos e frequências fenotípicas do CYP450, apresenta a população na etnia autorreferida, que baseia-se na percepção de características culturais e morfológicas, que levam o indivíduo a se considerar parte de um grupo étnico particular: caucasiano, africano, nativo americano ou qualquer outro. No entanto, atualmente, existem marcadores de ancestralidade mais objetivos, como os marcadores informativos de ancestralidade (MIAs) baseados em polimorfismos genéticos, que identificam as populações de acordo com o seu perfil ancestral e exibem diferenças nas frequências entre as populações continentais. São vários os trabalhos que já utilizam esses marcadores, a fim de identificar possíveis influências da ancestralidade em diversas condições [13, 14].

Os resultados de protocolos de medicina personalizada desenhados para populações de origem europeia não poderiam ser totalmente aplicáveis em populações brasileiras, sem antes ter uma investigação do perfil farmacogenômico em populações ancestrais, como a ameríndia. A importância do estudo de farmacogenes, como o *CYP2D6*, nesse grupo étnico pode beneficiar também populações miscigenadas a partir dele. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi o de investigar as principais variantes do gene *CYP2D6* em três tribos indígenas pertencentes à Amazônia Brasileira, a fim de auxiliar na composição do perfil de metabolização deste grupo.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras populacionais

Foram estudadas 109 amostras de populações nativo americanas da Amazônia selecionadas aleatoriamente a partir do banco de amostras de um estudo de perfil epidemiológico de populações indígenas do Pará. Foram selecionados 25 amostras da tribo Kuatinemo (K), 41 da tribo Asurini do Trocará (A_T) e 43 da tribo Kayapo-Xicrin(K_X) para a realização do estudo.

Extração de DNA e Genotipagem

O material genético foi extraído a partir do sangue periférico dos pacientes utilizando o kit comercial BiopurKit Mini Spin Plus – 250 (Biopur, Brasil), de acordo com as recomendações do fabricante. Foram medidas a concentração e pureza do DNA com o NanoDrop 1000 Spectrophotometer (Termo Fisher Scientific, Wilmington, DE).

A genotipagem dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) foi realizada por discriminação alélica utilizando a tecnologia TaqMan OpenArray Genotyping, com um painel

de 120 ensaios customizados, no equipamento QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR System (Applied Biosystem, Life Technologies, Carlsbad, EUA) de acordo com o protocolo recomendado por Applied Biosystem. O software Taqman Genotyper foi utilizado para a análise dos dados das placas e precisão de leitura dos genótipos, além do controle de qualidade da genotipagem. Os polimorfismos avaliados do gene *CYP2D6* estão na tabela 1.

Comitê de ética

O projeto recebeu a aprovação prévia pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos do Núcleo de Medicina Tropical da UFPA, parecer 761.350, e do Conep, CAAE: 20654313.6.0000.5172. O consentimento para realização da pesquisa foi feito pelas lideranças indígenas, considerando aspectos culturais e linguísticos que dificultaram o entendimento e a assinatura do TCLE individual.

Análise estatística

Os cálculos estatísticos foram feitos utilizando o software R, na versão para Windows (SNPassoc library) [16]. Inicialmente, antes da análise estatística os dados de genotipagem foram filtrados usando taxa de genotipagem (call rate) superiores a 90% completos, o teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (p valor > 0,001) e o critério de alelo menos frequente superior a 1% (MAF) para garantir a qualidade adequada dos dados no estudo de PGx.

Análise da Ancestralidade Genética

A análise da ancestralidade genética foi realizada usando um painel de 61 Marcadores Informativos de Ancestralidade (MIA), conforme descrito por [12, 15]. A amplificação foi realizada utilizando duas reações de PCR multiplex. A separação e análise de PCR foi realizada por eletroforese capilar utilizando a sequenciador ABI PRISM 3130 e GeneMapper ID Software v3.2. As proporções individuais assumindo três populações parentais (europeias, africanas e ameríndias) foram estimadas usando o software STRUCTURE v2.3.3.

RESULTADOS

Distribuição dos diplótipos do gene *CYP2D6*

Para uma melhor definição dos perfis de metabolização do gene *CYP2D6* foram analisados 23 polimorfismos, os quais foram agrupados em diplótipos para a caracterização genotípica. Dessa forma, foi observado 11 diferentes diplótipos nas 3 populações indígenas estudadas. Onde, os diplótipos *1/*1, *2A/*2A, *1/*4 e *1/*2A foram observados em todas as 3 populações. O homocigoto selvagem (*1/*1) foi o mais frequente nas populações de

forma geral, e apresentou frequência de 17% na tribo Assurini do Trocara, 14% nos Kayapo-Xikrin, e enquanto que a população Kuatinemo apresentou a menor frequência deste genótipo (4%). Alguns diplótipos apresentaram baixas frequências e foram observados em somente uma das três populações avaliadas: *2A/*9 e *1/*5 que ocorreram apenas em A_T; *1/*1xN apenas em K_X; *4/*29 e *2A/*29 apenas em K. O haplótipo *9 (presente no genótipo *2A/*9) e a deleção representada pelo *5 (presente em *1/*5) foram observados somente na tribo Asurini do Trocará, A amplificação do gene representada pelo haplótipo 1xN foi observada nos Kayapós-Xikrin; e por fim, foi identificado, especificamente nos Kuatinemo, a presença dos genótipos *4/*29 e *2A/*29. Além disso, é possível observar que a diferença destas frequências entre as tribos avaliadas foi significativa estatisticamente com um p valor de 0,0047. Todas essas informações podem ser observadas na figura 1.

Perfil de metabolização do gene *CYP2D6*

O *Active Score* (AS) foi introduzido com o objetivo de facilitar a tradução genotípica em fenotípica do *CYP2D6*. A cada alelo do gene é atribuído um valor de 0, 0,5 ou 1, categorizando-o como sem função, diminuído ou normal, respectivamente, para alelos com duas ou mais cópias de genes, o valor do alelo é multiplicado pelo número de cópias do gene (por exemplo, uma duplicação do gene *CYP2D6* *1x2 recebe um valor de 2 para calcular o AS). A soma dos valores de ambos os alelos fornece o AS de um genótipo [17]. Assim, na Figura 2, é possível observar que o AS de 1,5 a 2 foram os mais frequentes em todas as populações estudadas, o AS de valor 3 foi observado somente na tribo Kayapó-Xikrin, enquanto o de 0,5 na tribo Kuatinemo.

De acordo com a combinação dos genótipos do *CYP2D6* podemos determinar o perfil de metabolização da enzima e classificá-los em grupos metabólicos associados à eficácia das drogas ou reações adversas durante a terapia farmacológica [18]. Nesse presente estudo, a análise do gene *CYP2D6* mostrou que ocorrem perfis genotípicos de metabolização distintos entre as tribos estudadas. A figura 3 demonstra como os perfis de metabolização foram distribuídos entre as populações: o perfil PM não foi observado em nenhuma das tribos, o perfil UM foi representado por dois indivíduos na tribo Kayapó-Xikrin, enquanto os perfis IM e EM foram os com maiores frequências em todas as tribos, em destaque o EM por ser presente em quase que 50 indivíduos das tribos.

DISCUSSÃO

O gene *CYP2D6* desempenha um papel importante no metabolismo de aproximadamente 25% dos medicamentos clinicamente importantes, incluindo

antidepressivos, antipsicóticos, antiarrítmicos, anti-histamínicos, β -bloqueadores e antineoplásicos [19]. Os polimorfismos de genes *CYP2D6* foram amplamente estudados em vários grupos étnicos; no entanto, eles são pouco conhecidos na população indígena [11]. O perfil da atividade metabólica da enzima *CYP2D6* observados nas populações deste estudo se assemelhou aqueles de diferentes populações mundiais, já descritos por diferentes trabalhos, onde foi mostrada uma elevada frequência do EM e uma baixa frequência de PM e UM [9, 18, 20, 21].

Alelos que caracterizam uma atividade normal do gene foram os mais frequentes na população indígena avaliada, alelos *1 e *2 (incluindo *2A) com frequência de 58% e 32%, respectivamente, que, por conseguinte elevou a frequência dos EM (97%), já que estes alelos compõem este perfil. Estes dados são similares aos encontrados em outras populações do projeto 1000genomas, exceto as populações africanas e do Leste da Ásia que possuem frequências menores deste perfil metabólico [17, <http://www.internationalgenome.org/1000-genomes-browsers/>]. Os alelos que são associados à atividade enzimática nula, como *4 e *5, foram encontrando com baixa frequência na população investigada, 8% e <1%, respectivamente. O perfil que caracteriza uma metabolização lenta dos fármacos não foi observado em nenhuma das três tribos avaliadas, o que condiz com a baixa frequência deste perfil observada na população mundial, exceto em populações europeias [17, 22]. Em 2008, Kohlrausch et al, descreveram a frequência dos perfis de metabolização do *CYP2D6* em pacientes psiquiátricos brasileiros, e demonstraram que esta população também apresentou uma baixa frequência do fenótipo PM (4%) [23].

Estudos relatam que outras populações nativas americanas possuem frequências reduzidas dos alelos não funcionais. Na Venezuela e México foram relatadas frequências com média de 3% do alelo *4 [19, 24] enquanto que na Costa Rica a média observada foi de 7% [18]. Houve exceções em nativos americanos: nas populações Bribri e Cabébar da Costa Rica, Bari da Venezuela e Seris do México, as quais apresentaram frequências elevadas (31, 27, 42 e 21%). [11, 19].

Os IM são definidos pela presença de genótipos com alelos de função reduzida (*9 e *29). Dados estimados pelo projeto 1000genomas referenciam baixas frequências destes alelos em populações mundiais com exceção de africanos e Asiáticos [17]. Este perfil foi observado em todas as tribos, mesmo que com baixas frequências (média de 1%). Nossos resultados diferem de outros estudos realizados com ameríndios que determinaram elevadas frequências destes alelos em: Seris (41,2%) e Mayos (22,7%) do México; Bari (35%) da Venezuela. O processo de seleção alimentar e o estilo de vida das populações ameríndias pode

ser um importante fator para este cenário diferenciado da representação destes perfis que essas populações apresentam [25].

O perfil ultrarrápido é determinado pela presença de duplicações de alelos funcionais, aumentando a ação da atividade enzimática metabólica. Na investigação dos ameríndios amazônicos, o perfil UM foi encontrado especificamente na população K_X em baixas frequências (2%). Na população miscigenada do Brasil foram relatadas frequências semelhantes a dos indígenas (5%) [17]. Altas porcentagens de UM foram descritas nas populações nativas mexicanas (20%) e Guatuso, da Costa Rica (18,8%) [18]. A causa provável para a duplicação e amplificação de genes ativos nestas populações indígenas, segundo Lazalde-Ramos, poderia ser a seleção natural. Os fatores ambientais, como a dieta, poderiam ter exercido uma vantagem seletiva nos genes duplicados de *CYP2D6*, aumentando a taxa de sobrevivência desses indivíduos. Acredita-se que ocorreu um fenômeno semelhante na Etiópia e na Arábia Saudita, onde a maior frequência de múltiplos genes ativos da *CYP2D6* foi descrita [11].

A grande maioria dos estudos com populações ameríndias caracterizaram essas populações somente por auto declaração, o nosso estudo avaliou 61 MIA para a identificação do componente de ancestralidade genética na população, e foi possível observar uma frequência de mais de 95% do ancestral ameríndio quando comparado ao europeu e africano em todas as três tribos avaliadas. O isolamento dessas populações pode explicar a homogeneidade observada dentre as frequências apresentadas, porém é importante destacar que o perfil genético apresentado pode ajudar a auxiliar as pesquisas em populações que são miscigenadas as populações ameríndias, como a população da América Latina.

Quando aplicado à clínica, os perfis de metabolização lento e ultrarrápido são os mais importantes, pois os pacientes apresentam um maior risco de experimentar eventos adversos relacionados à dose ou falha no tratamento, dependendo do substrato particular envolvido [26]. A baixa frequência de UM e a ausência PM nos indígenas avaliados pode apresentar um cenário de proteção a esses efeitos adversos ou a falha terapêutica de diferentes fármacos, como antipsicóticos e antiarrítmicos [11].

Embora este seja um dos estudos pioneiros em avaliar ameríndios brasileiros, com a confirmação de sua ancestralidade genética, para o gene *CYP2D6*, podemos inferir que os ameríndios da Amazônia brasileira apresentaram frequências elevadas de fenótipos EM (97%), ausência de PM e baixas frequências de IM (1%) e UM (2%), constando que, de modo geral, a população apresenta um perfil de metabolização normal da enzima *CYP2D6*, o que de certa forma resulta, em reduzidas reações adversas e obtenção de concentrações adequadas dos fármacos, atingindo o efeito terapêutico desejado.

REFERÊNCIAS

- [1] Relling MV, Evans WE. Pharmacogenomics in the clinic. *Nature*, Oct 15;526(7573):343. (2015).
- [2] Wang L, Mcleod HL, Weinshilboum, RM. Genomics and drug response. *N Engl J Med* Mar 24;364(12):1144-53. (2011).
- [3] Zhou SF. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance. *Clin Pharmacokinet*, v. 48, n. 12, p. 761-804, (2009).
- [4] Zhou Y; Ingelman–Sundberg M, Lauschke VM. Worldwide Distribution of Cytochrome P450 Alleles: A Meta-analysis of Population-scale Sequencing Projects. *Clin Pharmacol Ther.* (2017).
- [5] Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J.* 5, (1), 6-13. (2005).
- [6] Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther*, 138(1), 103-141. (2013).
- [7] Zhou ZW, ZHOU SF. Application of mechanism-based CYP inhibition for predicting drug–drug interactions. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 5(6), pp.579-605. (2009).
- [8] Yu CY. et al. Inference of the Genetic Polymorphisms of CYP2D6 in Six Subtribes of the Malaysian Orang Asli from Whole-Genome Sequencing Data. *Genet Test Mol Biomarkers.* (2017).
- [9] LLerena A, Naranjo MEG, Rodrigues-Soares F, Penas-LLedó EM, Farinas H, Tarazona-Santos E. Interethnic variability of CYP2D6 alleles and of predicted and measured metabolic phenotypes across world populations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, v. 10, n. 11, p. 1569-1583, (2014).
- [10] Jittikoon J, Mahasirimongkol S, Charoenyingwattana, A et al. Comparison of genetic variation in drug ADME-related genes in Thais with Caucasian, African and Asian HapMap populations. *J Hum Genet*, v. 61, n. 2, p. 119, (2016).
- [11] Lazalde-Ramos BP, Martínez-Fierro MDLL, Galaviz-Hernández C et al. CYP2D6 gene polymorphisms and predicted phenotypes in eight indigenous groups from northwestern Mexico. *Pharmacogenomics*, 15(3), 339-348 (2014).

- [12] Santos NP, Ribeiro-Rodrigues EM, Ribeiro-Dos-Santos AK, et al. Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48-insertion-deletion (INSEL) ancestry-informative marker (AIM) panel. *Hum Mutat.* Feb;31(2):184-90 (2010)
- [13] de Carvalho DC, Wanderley AV, dos Santos, AMR, et al. Pharmacogenomics and variations in the risk of toxicity during the consolidation/maintenance phases of the treatment of pediatric b-cell leukemia patients from an admixed population in the Brazilian Amazon. *Leuk Res*, (2018).
- [14] Silva EM, Fernandes MR, Carvalho DC, et al. Effect of genetic ancestry to the risk of susceptibility to gastric cancer in a mixed population of the Brazilian Amazon. *BMC Res Notes*, v. 10, n. 1, p. 646, (2017).
- [15] Ramos BR, D'Elia MP, Amador MA, Santos NP, Santos SE, da Cruz Castelli E, Witkin SS, Miot HA, Miot LD, da Silva MG. Neither self-reported ethnicity nor declared family origin are reliable indicators of genomic ancestry. *Genetica.* Jun;144 (3):259-65 (2016).
- [16] GONZÁLEZ, Juan R. et al. SNPassoc: an R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics*, v. 23, n. 5, p. 654-655, (2007).
- [17] Gaedigk A, Sangkuhl K, Whirl-Carrillo M, Klein T, Leeder JS. Prediction of CYP2D6 phenotype from genotype across world populations. *Genet Med.*, 19(1), p.69. (2017).
- [18] Céspedes-Garro C, Fricke-Galindo I, Naranjo M-EG, et al. Worldwide interethnic variability and geographical distribution of CYP2C9 genotypes and phenotypes. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 11, 1893–1905 (2015).
- [19] Moreno, N., Flores-Angulo, C., Villegas, C., & Mora, Y. CYP2D6 variability in populations from Venezuela. *Drug Metab Pers Ther*, 31(4), 181-189 (2016)
- [20] Fricke-Galindo I, Céspedes-Garro C, Rodrigues-Soares F, et al. Interethnic variation of CYP2C19 alleles, “predicted” phenotypes and “measured” metabolic phenotypes across world populations. *Pharmacogenomics J* 16, 113–123 (2016).
- [21] Naranjo MEG, De Andrés F, Delgado A, Cobaleda J, Peñas-Lledó EM, Llerena A. High frequency of CYP2D6 ultrarapid metabolizers in Spain: controversy about their misclassification in worldwide population studies. *Pharmacogenomics J*, 16 (5), pp.485-490. (2016).
- [22] Dean L. Codeine therapy and CYP2D6 genotype. In: *Medical Genetics Summaries [Internet]*. National Center for Biotechnology Information (US), (2017).

[23] Kohlrausch FB, Gama CS, Lobato MI et al. Naturalistic pharmacogenetic study of treatment resistance to typical neuroleptics in European–Brazilian schizophrenics. *Pharmacogenet Genom.* 18(7), 599-609 (2008).

[24] Cuautle-Rodríguez P, Llerena A, Molina-Guarneros J. Present status and perspective of pharmacogenetics in Mexico. *Drug Metabol Drug Interact* 29(1), 37-45 (2014).

[25] Fuselli S, de Filippo C, Mona S, Sistonen J, Fariselli P, Destro-Bisol G, et al. Evolution of detoxifying system: the role of environment and population history in shaping genetic diversity at human CYP2D6 locus. *Pharmacogenet Genomics* 20:485–99 (2010).

[26] de Andrés F, Sosa-Macías M, Ramos BPL, Naranjo MEG, Llerena A. CYP450 Genotype/Phenotype Concordance in Mexican Amerindian Indigenous Populations—Where to from Here for Global Precision Medicine? *OMICS* 21(9), 509-519 (2017).

ANEXOS

Tabela 1. Polimorfismos e os alelos do gene *CYP2D6* investigados

Gene <i>CYP2D6</i>	dbSNP	rs1080985, rs1065852, rs201377835, rs28371706, rs5030655, rs5030865, rs5030865, rs3892097, rs35742686, rs5030656, rs16947, rs5030867, rs28371725, rs59421388, rs1135840, rs769258, rs5030862, rs72549349, rs72549351, rs72549353, rs72549346, rs147960066 e rs72549354
	Alelos	*1, *1XN, *2, *2XN, *2A, *2AXN, *3, *4, *4XN, *4J, *4K, *5, *6, *6C, *7, *8, *9, *9XN, *10, *10XN, *11, *12, *14A, *14B, *17, *17XN, *19, *20, *29, *29XN, *35, *35XN, *35A, *35AXN, *38, *41, *41XN, *42, *44, *56 e *70

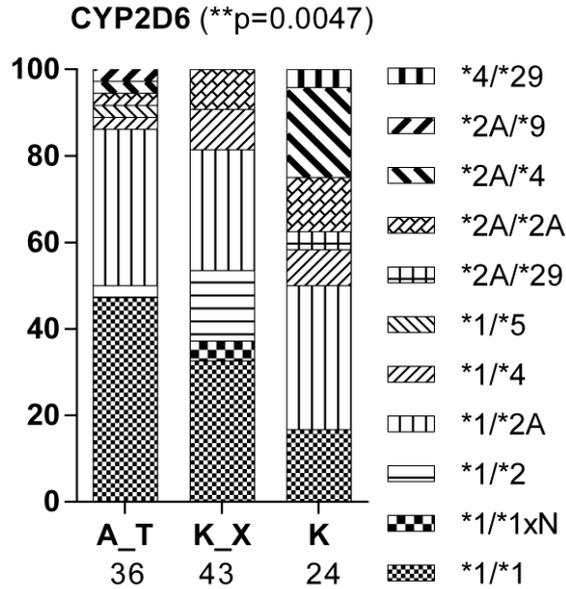


Figura 1. Distribuição de diplótipos do gene *CYP2D6* nas três populações nativo americanas do Brasil, A_T: Asurini do Trocará; K_X: Kayapó-Xikrin; K: Asurini do Kuatimemo.

*Frequências calculadas pelo Teste Exato de Fisher.

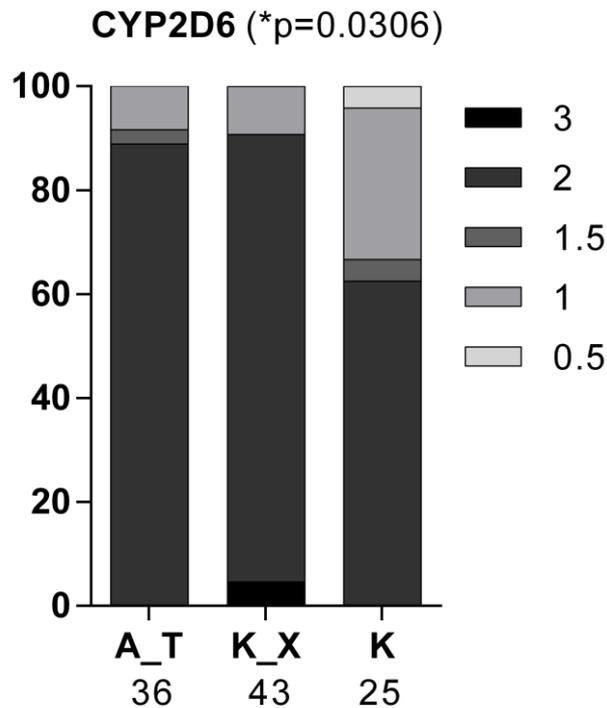


Figura 2. Active Score do gene *CYP2D6* nas populações nas populações nativo americanas brasileiras. A_T: Asurini do Trocará; K_X: Kayapó-Xikrin; K: Asurini do Kuatimemo.

*Frequências calculadas pelo Teste Exato de Fisher.

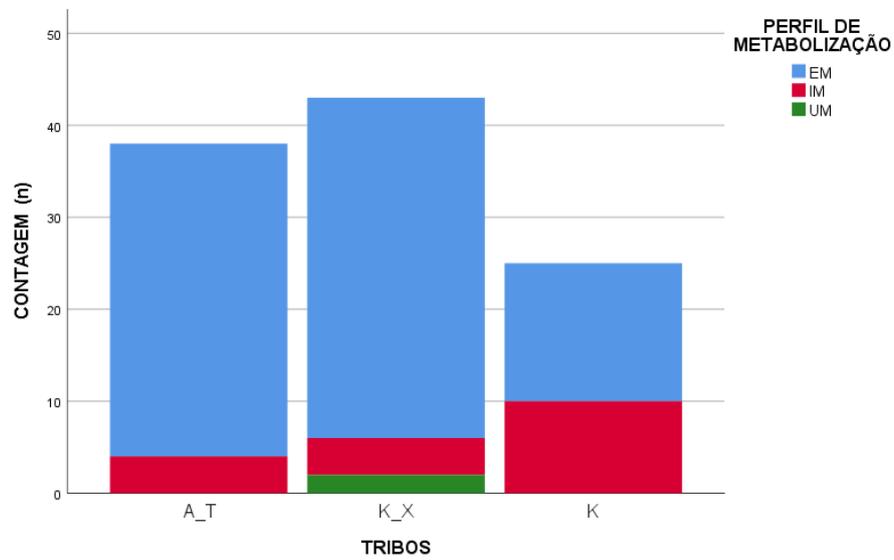


Figura 3. Distribuição dos Perfis de Metabolização do gene *CYP2D6* nas três tribos da Amazônia Brasileira. A_T: Asurini do Trocará; K_X: Kayapó-Xikrin; K: Asurini do Kuatimemo.

4. CAPÍTULO II. Artigo de Revisão

O Perfil de Metabolização do Gene *CYP2D6* nas Populações Ameríndias: uma revisão sistemática.

Luciana Pereira Colares Leitão¹, Tatiane Piedade de Souza¹, Juliana Carla Gomes Rodrigues¹, Sidney Emanuel Batista dos Santos¹ e Ney Pereira Carneiro dos Santos¹.

¹ Núcleo de Pesquisas em Oncologia, Universidade Federal do Pará

RESUMO

Introdução: O *CYP2D6* é um importante gene utilizado na prática clínica, conhecido pelas diversas variantes genéticas já descritas. Possui quatro tipos de perfis de metabolização que são determinados a partir diferentes formas alélicas presentes no indivíduo. A frequência destes perfis varia entre as populações mundiais. Populações de regiões mais isoladas ainda são pouco descritas na literatura, como os nativos americanos. Mesmo assim o avanço de técnicas de genotipagem e o interesse no estudo desses povos vêm aumentando a taxa de publicações. Desta maneira, o objetivo desta revisão foi agrupar os principais artigos sobre o gene *CYP2D6* em populações ameríndias para compor o perfil de metabolização deste grupo.

Métodos: realizamos uma revisão sistemática em 4 plataformas para a pesquisa de artigos científicos (Periódicos Capes, Google Acadêmico, Science Direct e Pubmed). A pesquisa foi realizada utilizando as palavras chave “*CYP2D6* ameríndians”, “*CYP2D6* native americans”

Resultados: Foram incluídos 13 artigos originais que atenderam que atenderam os critérios de inclusão estabelecidos para a realização deste estudo. Todos os artigos abordavam as frequências de diferentes alelos do gene *CYP2D6* em populações ameríndias. 8 artigos possuíam populações ameríndias do México, 2 da Costa Rica, os outros artigos possuíam populações de diferentes países (Venezuela, Chile, Argentina, Paraguai, EUA e Peru). A partir do agrupamento dos resultados dos artigos inferimos que o perfil de metabolização extensiva foi o mais prevalente em todas as populações ameríndias observadas, seguido pelo de metabolização intermediária, lenta e ultrarrápida em menor quantidade. **Conclusão:** as populações ameríndias agrupadas nesta revisão não possuem grandes diferenças na frequência dos perfis de metabolização quando comparadas as outras populações mundiais, mais estudos devem ser realizados a fim de conseguir uma melhor caracterização desta população para o auxílio na terapêutica.

INTRODUÇÃO

O Citocromo P450 2D6 (*CYP2D6*) é um dos componentes da grande família de CYP responsáveis por uma porção substancial do metabolismo hepático de fase I de compostos e toxinas endógenas [1]. O *CYP2D6* é um dos genes mais investigados na pesquisa clínica [2] e representa apenas uma pequena porcentagem de todos os CYP hepáticos (1,3 - 4,3%), entretanto, metaboliza mais de 20% de todos os fármacos no fígado humano onde são conhecidos pelo menos 160 alvos terapêuticos que são metabolizados por esta enzima, dentre eles antidepressivos, antipsicóticos, antiarrítmicos, analgésicos opioides, agentes anticancerígenos e outras classes de fármacos [3].

O *CYP2D6* está localizado no Chr22q13.1 e próximo a dois pseudogenes não funcionais (*CYP2D7* e *CYP2D8*), e apresenta uma vasta quantidade de polimorfismos [4]. Atualmente foram documentados mais de 125 variantes alélicas do gene (PHARMVAR - <https://www.pharmvar.org/gene/CYP2D6>). Geralmente, essas variantes podem resultar em uma atividade enzimática alterada, aumentada ou diminuída e em alguns casos nula, que podem ser classificadas em quatro grupos fenotípicos: metabolizador fraco (PM), metabolizador intermediário (IM), metabolizador extenso (EM) e metabolizador rápido (UM) [5]. Estas diferenças de atividade enzimática podem resultar em variações interindividuais e interétnicas, mostrando que a relação genótipo e fenótipo do *CYP2D6* são de extrema importância para a medicina de precisão na prática clínica [6].

O perfil étnico de uma população é um importante fator responsável pela diferença na capacidade de metabolização de drogas entre seus indivíduos. As diferentes populações mundiais carregam alelos que caracterizam diferentes fenótipos do gene *CYP2D6*, podendo haver variações entre grupos étnicos e, portanto, entre regiões geográficas. Em 2014, LLerena et al. realizaram uma revisão que avaliou a variabilidade alélica do *CYP2D6* nos principais territórios geográficos e observaram que o *CYP2D6**4 (alelo com atividade enzimática inativa presente em fenótipos PM) é mais frequente na Europa e nos caucasianos. Os alelos que caracterizam uma atividade enzimática diminuída foram frequentes na Ásia e Leste Asiático (*CYP2D6**10), na África e em populações negras (*CYP2D6**17 e o *29), e o *CYP2D6**41 e as amplificações nas populações do Oriente Médio [7]. Zhou et al (2017), a partir de uma análise dos dados presentes na plataforma 1000genomas, demonstraram a grande variabilidade de vários membros da família *CYP450*, destacando o *CYP2D6* pela diferenciação na distribuição dos alelos entre as populações disponíveis na plataforma, confirmando a grande variabilidade interétnica do gene [8].

Embora os genótipos e os fenótipos metabólicos da família *CYP450* tenham sido amplamente estudados em todo o mundo [9,10], essas informações ainda são escassas em

algumas populações, como nativos americanos (ou ameríndios). Somente nos Estados Unidos (EUA), de acordo como censo Bureau de 2010 [11], existem cerca de 6,6 milhões de Nativo Americanos em seu território estadunidense. Hispânicos (incluindo latino-americanos, caribenhos e hispânicos dos EUA) compreendem mais de 600 milhões de pessoas (<http://data.worldbank.org/region/LAC>), cobrindo 8,4% da população mundial. Além desses dados, cerca de 45 milhões de ameríndios vivem na América Latina, representando 8,3% do total da população latino-americana (www.cepal.org/en/infografias/los-pueblos-indigenas-enamerica-latina).

Vários estudos sobre a composição das populações americanas mostram que as populações ameríndias apresentam uma heterogeneidade genética quando comparada a outras populações ancestrais, como europeias e africanas, que também contribuíram para a formação das Américas [12,13,14]. Dados destes estudos podem auxiliar no entendimento da variabilidade interétnica de polimorfismos genéticos também em outras populações, contribuindo para a compreensão de diferentes respostas a fármacos clinicamente relevantes. Nos últimos anos, tem havido grande interesse de trabalhos científicos na diversidade de genótipos e fenótipos de enzimas metabolizadoras de fármacos, particularmente a *CYP2D6*, em diferentes populações, principalmente as de origem europeia [15,16]. Outros grupos populacionais também foram estudados; contudo, em menor escala. Desta forma, pesquisas foram realizadas em populações ameríndias que investigaram importantes genes envolvidos no processo de absorção, distribuição, metabolismo e excreção dos fármacos.

Desta maneira, o objetivo desta revisão é correlacionar diferentes dados da literatura mundial com relação a epidemiologia molecular dos perfis de metabolização do gene *CYP2D6* nas populações ameríndias e comparar com outros grupos étnicos no mundo a partir de artigos originais disponíveis em plataformas de pesquisas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma revisão sistemática em quatro plataformas para a pesquisa de artigos científicos (Periódicos Capes², Google Acadêmico, Science Diretc e Pubmed). A pesquisa foi realizada utilizando as palavras chave “CYP2D6 amerindians”, “CYP2D6 native americans” em todas as plataformas informadas. Os critérios de inclusão foram:

² *O Portal de Periódicos, da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), é uma biblioteca virtual que reúne e disponibiliza a instituições de ensino e pesquisa no Brasil o melhor da produção científica internacional.

artigos em inglês, artigos originais, estudos em populações ameríndias e que tenham sido publicados em um intervalo de 20 anos (1998-2018). A figura 1 apresenta a quantidade de artigos identificados e incluídos ou excluídos a partir dos critérios mencionados.

A partir dos artigos selecionados foram extraídos os seguintes dados: número de indivíduos, população estudada, polimorfismos avaliados do gene *CYP2D6*, frequências alélicas e genóticas. Nos artigos selecionados, as populações ameríndias foram identificadas por auto declaração. Para comparação das frequências alélicas de importantes mutações do gene, utilizamos a plataforma 100genomas como fonte de dados para as informações de frequências de outras populações mundiais.

RESULTADOS

Foram incluídos nesta revisão 13 artigos originais que atenderam os nossos critérios de inclusão e exclusão. Todos os artigos abordavam as frequências de diferentes alelos do gene *CYP2D6* em populações ameríndias. 8 artigos possuíam populações ameríndias do México, 2 da Costa Rica, os outros artigos possuíam populações de diferentes países (Venezuela, Chile, Argentina, Paraguai, EUA e Peru). A tabela 1 mostra quais foram os artigos selecionados, quais populações nativas americanas que foram avaliadas e os países que elas pertencem e quais os alelos do *CYP2D6* que foram observados. As populações ameríndias observadas foram agrupadas por países para a melhor discussão e observação dos resultados obtidos.

Alguns artigos não apresentavam o perfil genotípico de classificação para perfis de metabolização e somente a classificação pelo sistema de Active Score (AS), que funciona da seguinte forma: a cada alelo é atribuído um valor de 0, 0,5 ou 1, categorizando-o como sem função, diminuído ou normal, respectivamente, para alelos com duas ou mais cópias de genes, o valor do alelo é multiplicado pelo número de cópias do gene (por exemplo, uma duplicação do gene *CYP2D6* *1x2 recebe um valor de 2 para calcular o AS). A soma dos valores de ambos os alelos fornece o AS de um genótipo. Desta maneira, foi considerado que o AS = 0 eram PM, 0,5-1 = IM, 1,5 – 2= EM e >2 = UM [17].

***CYP2D6* Metabolizador Lento (PM)**

Como consequência da grande quantidade de polimorfismos presentes no gene *CYP2D6*, um genótipo é caracterizado em decorrência da interação entre diversos polimorfismos que são definidos como haplótipos. As principais variantes presentes no gene *CYP2D6* que caracterizam os possíveis fenótipos de metabolização no gene podem ser observadas na tabela 2. As variantes possuem diferentes consequências funcionais e

assim, indivíduos que carregam essas variações possuem uma atividade enzimática normal, aumentada, diminuída ou até mesmo inativada.

Os perfis metabolizadores são classificados pela combinação dos alelos do gene. O PM é caracterizado pela combinação de dois alelos com completa perda de função – alelo nulo, devido a genes mutados ou deletados, ou seja, alelos que possuem atividade enzimática inativada [8,18]. Na figura 2B é possível observar que a média da frequência deste marcador é de 4% na população ameríndia investigada. Em relação a frequência por países, Costa Rica, Argentina/Paraguai, Venezuela e EUA foram os países que apresentaram as maiores frequências desse perfil de metabolização com 30%, 13%, 6% e 6%, respectivamente (Figura 2A).

O perfil PM pode ocasionar baixos níveis de metabólitos ativos de alguns medicamentos, como analgésicos opioides, resultando em uma menor probabilidade de apresentar alívio da dor [19,20]. Deste modo, é sugerido que indivíduos com este perfil de metabolização troquem o regime terapêutico ou que um acompanhamento seja realizado junto ao paciente para a verificação dos sintomas de alívio insuficiente da dor [21].

***CYP2D6* Metabolizador Intermediário (IM)**

Os indivíduos que carregam o fenótipo de IM possuem a combinação de dois alelos com função enzimática diminuída ou a presença de um alelo sem função acompanhado de outro com função diminuída [8,17]. O perfil IM é o segundo mais frequente nas populações ameríndias observadas (19%). O México (22%) é o país onde foi observada a maior frequência deste perfil metabolizador entre os avaliados, seguido da Costa Rica (18%), Chile (15%), Venezuela (14%), Peru (13%), EUA (3%) e Argentina/Paraguai (1%), essas frequências podem ser observadas na Figura 2.

As implicações terapêuticas diferem entre os medicamentos, para analgésicos opioides como a codeína, indivíduos que possuem este perfil tem uma redução na formação da morfina a partir da codeína levando a necessidade de um acompanhamento durante o tratamento, porém não é necessário a troca do medicamento [22]. Mesmo apresentando alelos com função enzimática diminuída, há poucos dados sobre o impacto clínico no tratamento medicamentoso, na resposta à terapia e nos efeitos colaterais de pacientes que apresentam este perfil de metabolização.

***CYP2D6* Metabolizador Extensivo (EM)**

Os EM não resultam em uma atividade enzimática significativamente alterada. Podem carregar, por exemplo, dois alelos com função enzimática normal ou a combinação de um alelo com função normal e outro com função diminuída [8,17].

Dentre as populações observadas no estudo o perfil de metabolização extensiva foi o que teve a maior frequência em todos os países 70% (Figura 2b). As populações ameríndias observadas nos países mantiveram um padrão relativamente homogêneo entre as tribos investigadas para a frequência de EM. Os EUA foi o país que apresentou a maior frequência desse perfil em suas populações (90%), seguido do Peru (87%), Argentina/Paraguai (86%), Chile (85%) e Venezuela (80%). Contudo, México e Costa Rica apresentaram frequências menores quando comparado aos outros países, 69% e 45%, respectivamente.

É importante destacar que mesmo que este fenótipo EM possua uma atividade enzimática quase normal, ainda é necessária a realização de testes que possam descrever uma previsão mais precisa da atividade catalítica dentro deste perfil de metabolização [23].

***CYP2D6* Metabolizador Ultrarrápido (UM)**

Os indivíduos que apresentam o perfil UM carregam pelo menos um alelo de função enzimática aumentada além de um alelo de função normal [24,17,25].

Foi possível observar com os dados obtidos nesta revisão que três países apresentam populações ameríndias com alelos que compõe o perfil UM. México, Costa Rica e EUA possuem uma frequência de 9%, 7% e 1%, respectivamente. A maior frequência deste tipo de metabolizador foi observada em um estudo etíope (28,7%). Frequências similares as populações mexicanas ameríndias relatadas neste estudo foram observadas em populações do oriente médio (10,5%) [26,7].

Mesmo com uma frequência relativamente baixa entre as populações, os efeitos adversos que pacientes com perfil UM sofrem são diversos. Vários relatos de casos registraram os efeitos potencialmente fatais que ocorreram em pacientes com fenótipo UM que foram tratados com doses padrão de codeína [27,28]. Para esses pacientes, a troca do fármaco é estritamente recomendada [29].

Frequências dos alelos

As frequências dos principais alelos, que alteram a funcionalidade da enzima CYP2D6 nas populações ameríndias avaliadas da revisão, foram comparadas com as frequências desses alelos em populações mundiais (dados coletados da plataforma 1000genomas). As frequências das amplificações e deleções não foram apresentadas, já

que não estão descritas no banco de dados do 1000genomas. Os gráficos foram divididos pela consequência funcional dos alelos (normal, diminuída e inativado) e comparados com as populações Europeias, Africanas, do Leste e Sul da Ásia e Americanas (Figura 3).

A figura 3A apresenta as frequências de alelos com função normal. É possível observar que a média das frequências nas populações ameríndias, avaliadas nesta revisão, possuem uma alta frequência destas variantes em relação a outras populações mundiais (principalmente, *1 e *2). Devemos destacar também que para estes alelos, as populações miscigenadas com grupos étnicos nativos americanos (AMR) apresentaram frequências similares quando comparadas as populações desta revisão. Essa frequência segue um padrão mundial, onde cerca de 77-92% dos indivíduos têm pelo menos uma cópia de um alelo de função normal (* 1 ou * 2) ou dois alelos parcialmente funcionais [22].

Os alelos com função diminuída são observados na Figura 3B. As populações da revisão apresentaram frequências próximas de 0% para todas as variantes. É possível observar que o alelo *CYP2D6*10* foi altamente frequente em populações do Sul asiático. O alelo *CYP2D6*17* caracterizado pela presença de duas mutações *missense* apresentou uma frequência de 20% nas populações da África, enquanto que o *CYP2D6*29*, que apresenta quatro mutações *missense* teve uma frequência de 10% nessas populações. As populações sul-asiáticas apresentaram uma frequência <10% do *CYP2D6*41*, que causa um defeito de *splicing*.

A variante *CYP2D6*4* que ocasiona um defeito no *splicing* e, assim, a inativação do produto gênico do *CYP2D6*, apresentou uma frequência que variou de 11,6% a 15,7% na maioria das populações mundiais, exceto em populações do Leste Asiático, e para as populações observadas nesta revisão nos quais a frequência do alelo foi de <1%. As outras variantes, que também ocasionam uma inativação do produto gênico, não apresentaram frequências com grande divergência entre as populações, podendo ser destacadas as populações europeias com uma frequência de 4% e 2% para os alelos *CYP2D6*3* e *CYP2D6*14*, respectivamente, e do leste asiático que apresentou com um percentual >1 para a variante, *CYP2D6*6* (Figura 3C).

DISCUSSÃO

O gene *CYP2D6* possui uma grande quantidade de polimorfismos, o que ocasiona em elevada variação interindividual [24]. O perfil molecular de *CYP2D6* pode alterar a conduta terapêutica de diferentes fármacos, desta forma diversas agências internacionais recomendam o emprego de polimorfismos neste gene como biomarcadores de predição de terapia em antidepressivos, antipsicóticos, antiarrítmicos, analgésicos opioides, agentes

anticancerígenos e outras classes de medicamentos [30]. Uma abrangente quantidade de variantes genômicas no gene *CYP2D6* são clinicamente importantes na predição de terapia, dependendo do perfil genômico que o paciente apresentar, ele pode ter um elevado risco de reações adversas ou até mesmo falha terapêutica. O perfil molecular do gene *CYP2D6* apresenta grande divergência entre populações mundiais [7].

As populações ancestrais humanas representadas principalmente pelos grupos de europeus, asiáticos, ameríndios e africanos, apresentam grande diversidade genética entre si, o que implica em elevadas flutuações nas frequências de importantes polimorfismos farmacogenéticos [31]. As populações tradicionais da América apresentam uma longa história de isolamento geográfico humano e componente genético diferenciado de outras populações mundiais [32]. A origem comum dos nativos americanos e sua evolução autóctone biológica e cultural fazem do continente americano um excelente modelo para estudos sobre a co-evolução entre genes e culturas [33]. A partir dos artigos selecionados para esta revisão conseguimos compor o perfil de metabolização do gene *CYP2D6* nas populações ameríndias em diferentes países das Américas. Foram observados os quatro tipos de perfis metabolizadores (PM, IM, EM e UM) com diferentes frequências em cada país (Figura 2).

Os perfis de metabolização EM e IM foram os mais frequentes em todos os países reunidos na revisão. Algumas agências regulamentadoras de fármacos orientam o acompanhamento de pacientes que possuem o perfil IM e fazem o consumo de medicamentos que são metabolizados pela *CYP2D6*. Para a codeína, por exemplo, existem evidências de que alguns efeitos adversos não diferem entre metabolizadores fracos e extensos, confirmando a necessidade de testes que possam prever a atividade catalítica de indivíduos que apresentam estes perfis para uma melhor conduta terapêutica [19,22]. Um fator que deve ser destacado é que perfis de metabolização extensiva e intermediária podem ser “transformados” em perfis de metabolizadores lentos se ocorrer a exposição a outros xenobióticos, tais como drogas e/ou medicamentos fitoterápicos com componentes alcaloides, que são conhecidos por serem potentes inibidores da *CYP2D6* e são tradicionais de populações ameríndias [34]. Este fato é importante pela elevada frequência destes perfis e a grande interação destas populações tradicionais com estes xenobióticos.

O perfil de metabolização ultrarrápida apresentou uma frequência relativamente baixa na população ameríndia geral (7%). Observamos que a frequência do perfil UM é maior em populações mexicanas (9%) do que os outros países, provavelmente devido ao isolamento dos mestiços mexicanos [32,35]. A Costa Rica também apresentou certa

frequência deste perfil (7%). Essas frequências se assemelham às de outras populações já estudadas, como a espanhola (6,1%) [36]. Os indivíduos com este fenótipo metabolizam drogas mais rapidamente; portanto, o efeito terapêutico de uma droga em doses padrão não é alcançado. Esses indivíduos também podem desenvolver reações adversas devido à formação de 10 a 30 vezes maiores quantidades de metabólitos [37].

Foi observado que o perfil PM não foi tão presente entre a população ameríndia geral (4%), um pouco semelhante à frequência apresentada em regiões europeias (6,52%), no estudo de Llerena et al. (2014) [7]. A baixa frequência dos metabolizadores lentos em populações nativas americanas mexicanas foi elucidada por diferentes autores [32, 34, 38, 39]. Sosa-Macías e colaboradores (2010) destacaram que as populações ameríndias mexicanas, principalmente da comunidade de Tapehuanos, apresentou uma distribuição do perfil de metabolismo lento mais homogêneo quando comparada aos mestiços mexicanos avaliados [40]. Isto é, provavelmente, devido ao isolamento do grupo Tapehuano que teve pouca mistura com os mexicanos mestiços. Indivíduos que apresentam fenótipo de metabolização lenta possuem um risco potencial de toxicidade acumulada para analgésicos opiáceos como morfina e tramadol, e para terapias de longo prazo com antipsicóticos e agentes anti-hipertensivos. Além disso, são propensos à falta de efeito farmacêutico no caso de pró-fármacos metabolizados por esta enzima, como a codeína e o fármaco antineoplásico tamoxifeno [41]. Conseqüentemente, indivíduos pertencentes ao grupo étnico ameríndio mexicano apresentam menor risco de desenvolver reações adversas às drogas quando tratados com este grupo de fármacos.

Costa Rica, Argentina/Paraguai, EUA e Venezuela foram os países que apresentaram certa frequência de alelos relacionados ao perfil PM (média de 13,75%), com variações nas porcentagens destas frequências dentre as populações ameríndias destes países. Naranjo e colaboradores (2018) demonstraram que na população costarriquenha indígena estudada, 10,2% eram metabolizadores lentos [35], porcentagem similar ao estudo de Céspedes-Garro et al. (2014) que também avaliou populações da Costa Rica [42]. O estudo de Grimam et al. (2012) que avaliou populações ameríndias venezuelanas observou este tipo de metabolizador em somente uma das 5 populações estudadas [43]. O estudo das populações de Argentina/Paraguai de Bailliet et al. (2007) apresentou dados que sugerem que algumas mutações que compõem o genótipo PM são variantes fundadoras trazidas para a América pelos primeiros colonos asiáticos [44]. Os dados de alelos que compõem o perfil de metabolizadores lentos foram apresentados como importantes preditores de terapia no estudo de Fohner e colaboradores (2013), que avaliou populações nativas dos EUA, e sugeriram que a atividade de CYP2D6 pode estar

diminuída (com elevada frequência do alelo *CYP2D6**4 não funcional e a redução da atividade *CYP2D6**41) em 9,09% dos pacientes oriundos das tribos Salish e Kootenai [45].

Foi possível observar, a partir dos dados apresentados na revisão, que alguns alelos presentes nas populações ameríndias possuíam uma frequência semelhante às das populações mundiais mais estudadas (Figura 3). Grande parte dos alelos de *CYP2D6* é compartilhada pela maioria das populações do mundo. Ainda que seja possível a identificação de gradientes geográficos para distribuição de alguns alelos que podem apresentar altas frequências em regiões geográficas específicas, fatores evolutivos podem ter sido relevantes para o processo de contribuição da determinação dessas altas frequências em diferentes regiões do globo [46]. Ainda devemos considerar que em um processo de expansão da população geográfica, especificamente na onda frontal da expansão, alguns alelos/haplótipos raros podem por acaso tornarem-se particularmente comuns [47].

Sobre as enzimas que metabolizam drogas, como a *CYP2D6*, alguns fatores podem estar relacionados a esta diferença na frequência alélica, e conseqüentemente, nos perfis de metabolização das populações ameríndias de outras populações mundiais. Nebert [47] elucida que essas diferenças podem ser o resultado de duas possíveis pressões seletivas, sendo a primeira diferença na dieta que evoluíram ao longo de milhares de anos e a segunda sendo a evolução de polimorfismos balanceados, como em alelos que influenciam resistência às infecções bacterianas ou virais.

De maneira geral, vários trabalhos estão sendo desenvolvidos com o objetivo de identificar marcadores preditivos de conduta terapêutica para um tratamento personalizado com os pacientes. As populações ameríndias possuem um padrão genético diferente de outras populações mundiais, tornando necessário o estudo destas populações para a descoberta de novos marcadores ou a padronização individual das terapias. Esta revisão teve como objetivo reunir as principais publicações acerca do gene *CYP2D6* em populações nativo americanas. É necessário que mais populações sejam estudadas em nível de genótipos deste gene, pois ainda é escassa a pesquisa nessas comunidades.

É notável destacar que a especificidade do substrato e a dosagem do fármaco parecem ser apenas dois de diversos outros fatores que contribuem para a resposta do indivíduo ao medicamento. Alguns grupos de pesquisa, como o consórcio RIBEF (Ibero-American Network of Pharmacogenetics and Pharmacogenomics), foram desenvolvidos com o objetivo de estudar genes farmacologicamente importantes em populações Latino Americanas. Este presente estudo foi pioneiro em agrupar os resultados de diferentes

publicações sobre o gene *CYP2D6* em populações ameríndias, demonstrando a importância desta pesquisa para o auxílio no direcionamento da conduta terapêutica nessas populações.

REFERÊNCIAS

- [1] Wendt FR, et al (2017) Full-gene haplotypes refine CYP2D6 metabolizer phenotype inferences. *Int J Legal Med* 132:1007-1024. <https://doi.org/10.1007/s00414-017-1709-0>
- [2] M Ingelman-Sundberg (2005) Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J* 5:6-13. doi:10.1038/sj.tpj.6500285
- [3] Zanger, UM, Schwab M. (2013) Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther* 138(1):103-141.
- [4] Kimura S et al (1989) The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. *Am J Hum Genet* 45(6):889.
- [5] Henderson LM, Claw KG, Woodahl EL, et al (2018) P450 Pharmacogenetics in Indigenous North American Populations. *J Pers Med* 8(1):9. doi:10.3390/jpm8010009
- [6] He ZX et al (2015) Impact of physiological, pathological and environmental factors on the expression and activity of human cytochrome P450 2D6 and implications in precision medicine. *Drug Metab Rev* 47(4):470-519.
- [7] Llerena A, et al (2014) Interethnic variability of CYP2D6 alleles and of predicted and measured metabolic phenotypes across world populations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 10(11):1569-1583.
- [8] Zhou Y, Ingelman-Sundberg M, Lauschke VM (2017) Worldwide Distribution of Cytochrome P450 Alleles: A Meta-analysis of Population-scale Sequencing Projects. *Clin Pharmacol Ther* 102(4):688-700. doi: 10.1002/cpt.690
- [9] McGraw J, and Waller D (2012) Cytochrome P450 variations in different ethnic populations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 8:371–382.

- [10] Sistonen J, Fuselli S, Palo JU, et al (2009). Pharmacogenetic variation at CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 at global and microgeographic scales. *Pharmacogenet Genomics* 19:170–179. doi: 10.1097/FPC.0b013e32831ebb30.
- [11] "Native Americans By the Numbers." Infoplease.© 2000-2017 Sandbox Networks, Inc., publishing as Infoplease. 12 Sep. 2018 <<https://www.infoplease.com/american-indians-numbers-1/>>.
- [12] Salzano FM, and Sans M (2014) Interethnic admixture and the evolution of Latin American populations. *Genet Mol Biol* 37:151–170.
- [13] Pena SDJ, Di Pietro G, Fuchshuber-Moraes M, et al (2011) The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. *PLoS* 6:e17063. doi: 10.1371/journal.pone.0017063.
- [14] Wang S, Ray N, Rojas W, et al (2008) Geographic Patterns of Genome Admixture in Latin American Mestizos. *PLoS Genet* 4:e1000037. doi: 10.1371/journal.pgen.1000037.
- [15] Céspedes-Garro C, Fricke-Galindo I, Naranjo M-EG, et al (2015) Worldwide interethnic variability and geographical distribution of CYP2C9 genotypes and phenotypes. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 11:1893–1905. doi: 10.1517/17425255.2015.1111871
- [16] Fricke-Galindo I, Céspedes-Garro C, Rodrigues-Soares F, et al (2016) Interethnic variation of CYP2C19 alleles, “predicted” phenotypes and “measured” metabolic phenotypes across world populations. *Pharmacogenomics J* 16:113–123. doi: 10.1038/tpj.2015.70
- [17] Gaedigk A, Dinh JC, Jeong, H, et al (2018) Ten years’ experience with the CYP2D6 activity score: a perspective on future investigations to improve clinical predictions for precision therapeutics. *J Pers Med* 8(2):15. doi: 10.3390/jpm8020015.
- [18] Gaedigk A, Sangkuhl K, Whirl-Carrillo M, et al (2017) Prediction of CYP2D6 phenotype from genotype across world populations. *Genet Med* 19(1):69-76. doi: 10.1038/gim.2016.80.
- [19] Eckhardt K, Li S, Ammon S, et al (1998) Same incidence of adverse drug events after codeine administration irrespective of the genetically determined differences in morphine formation. *Pain* 76:27–33.

- [20] Slanar O, Dupal P, Matouskova O, et al (2012) Tramadol efficacy in patients with postoperative pain in relation to CYP2D6 and MDR1 polymorphisms. *Bratisl Lek Listy* 113(3):152–155.
- [21] Swen JJ. et al (2011) Pharmacogenetics: from bench to byte—an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther* 89(5):662-73. doi:10.1038/clpt.2011.34
- [22] Crews KR., Gaedigk A, Dunnenberger HM., et al (2014) Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450 2D6 genotype and codeine therapy: 2014 update. *Clin Pharmacol Ther* 95(4):376–382.
- [23] Bertilsson, L, Dahl ML, Dalén P, et al (2002) Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *Br J Clin Pharmacol* 53(2):111-22.
- [24] Zhou, Shu-Feng (2009) Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance. *Clin Pharmacokinet* 48:761-804. doi: 10.2165/11318070-000000000-00000
- [25] Yu CY, Ang GY, Subramaniam V, et al (2017) Inference of the Genetic Polymorphisms of CYP2D6 in Six Subtribes of the Malaysian Orang Asli from Whole-Genome Sequencing Data. *Genet Test Mol Biomarkers* 21(7):409-415. doi: 10.1089/gtmb.2016.0235
- [26] Aklillu E, Persson I, Bertilsson L, et al (1996) Frequent distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an Ethiopian population carrying duplicated and multiduplicated functional CYP2D6 alleles. *J Pharmacol Exp Ther* 278:441–446.
- [27] Gasche Y, Daali Y, Fathi M, et al (2004) Codeine intoxication associated with ultrarapid CYP2D6 metabolism. *N Engl J Med* 351(27):2827–31.
- [28] Ciszkowski C, Madadi P, Phillips MS, et al (2009) Codeine, ultrarapid-metabolism genotype, and postoperative death. *N Engl J Med* 361(8):827–8.
- [29] Dean L. (2017) Codeine therapy and CYP2D6 genotype. In: *Medical Genetics Summaries* [Internet]. National Center for Biotechnology Information (US),
- [30] Gardiner SJ, Begg EJ (2006) Pharmacogenetics, drug-metabolizing enzymes, and clinical practice. *Pharmacol rev* 58(3):521-90.
- [31] Jittikoon J, et al (2016) Comparison of genetic variation in drug ADME-related genes in Thais with Caucasian, African and Asian HapMap populations. *J Hum Genet* 61(2):119-127. doi: 10.1038/jhg.2015.115.

- [32] Lazalde-Ramos BP, Martínez-Fierro MDLL, Galaviz-Hernández C, et al (2014) CYP2D6 gene polymorphisms and predicted phenotypes in eight indigenous groups from northwestern Mexico. *Pharmacogenomics* 15(3):339-348.
- [33] Salzano FM, Bortolini MC (2002) *Evolution and Genetics of Latin American Populations*. Cambridge University Press: Cambridge.
- [34] López-López M, Peñas-Lledó E, Dorado P, et al (2014). CYP2D6 genetic polymorphisms in Southern Mexican Mayan Lacandones and mestizos from Chiapas. *Pharmacogenomics*, 15(15):1859-1865.
- [35] Naranjo MEG, Rodrigues-Soares F, Peñas-Lledó EM, et al (2018) Interethnic Variability in CYP2D6, CYP2C9, and CYP2C19 Genes and Predicted Drug Metabolism Phenotypes Among 6060 Ibero-and Native Americans: RIBEF-CEIBA Consortium Report on Population Pharmacogenomics. *Omic* 22(9):575-588. doi: 10.1089/omi.2018.0114
- [36] Peñas-Lledó EM, Dorado P, Agüera Z, et al (2012). CYP2D6 polymorphism in patients with eating disorders. *The Pharmacogenomics J* 12(2):173-175. doi: 10.1038/tpj.2010.78.
- [37] Dalen P, Frengell C, Dahl ML, et al (1997) Quick onset of severe abdominal pain after codeine in an ultrarapid metabolizer of debrisoquine. *Ther Drug Monit.* 19(5):543–544.
- [38] Sosa-Macías M, Elizondo G, Flores-Pérez C, et al (2006) CYP2D6 genotype and phenotype in Amerindians of Tepehuano origin and Mestizos of Durango, Mexico. *J Pharmacol Clin Toxicol* 46(5):527-536.
- [39] Salazar-Flores J, Torres-Reyes LA, Martínez-Cortés G, et al (2012) Distribution of CYP2D6 and CYP2C19 polymorphisms associated with poor metabolizer phenotype in five Amerindian groups and western Mestizos from Mexico. *Genet Test Mol Biomarkers* 16(9):1098-1104.
- [40] Sosa-Macías M, Dorado P, Alanis-Bañuelos RE, et al (2010) Influence of CYP2D6 deletion, multiplication, -1584C→ G, 31G→ A and 2988G→ a gene polymorphisms on dextromethorphan metabolism among Mexican tepehuanos and mestizos. *Pharmacology* 86(1):30-36.
- [41] Perez-Paramo YX, Hernandez-Cabrera F, Dorado P, et al (2015) Interethnic relationships of CYP2D6 variants in native and Mestizo populations sharing the same ecosystem. *Pharmacogenomics* 16(7):703-712.

- [42] Céspedes-Garro, C., Jiménez-Arce, G., G Naranjo, M. E., Barrantes, R., & LLerena, A. (2014). Ethnic background and CYP2D6 genetic polymorphisms in Costa Ricans. *Revista de biologia tropical*, 62(4), 1659-1671.
- [43] Griman, P, Moran Y, Valero G, et al (2012) CYP2D6 gene variants in urban/admixed and Amerindian populations of Venezuela: pharmacogenetics and anthropological implications. *Ann Hum Biol* 39(2):137-142.
- [44] Bailliet G, Santos MR, Alfaro EL, et al (2007) Allele and genotype frequencies of metabolic genes in Native Americans from Argentina and Paraguay. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 627(2):171-177.
- [45] Fohner A, Muzquiz LI, Austin MA, et al (2013) Pharmacogenetics in American Indian populations: analysis of CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, and CYP2C9 in the Confederated Salish and Kootenai Tribes. *Pharmacogenet Genom* 23(8):403.
- [46] Sistonen J, Sajantila A, Lao O, et al (2007) CYP2D6 worldwide genetic variation shows high frequency of altered activity variants and no continental structure. *Pharmacogenet Genom* 17:93-101.
- [47] Excoffier L, Ray N (2008) Surfing during population expansions promotes genetic revolutions and structuration. *Trends Ecol Evol* 23:347-51.
- [48] Nebert DW (1997) Polymorphisms in drug-metabolizing enzymes: what is their clinical relevance and why do they exist? *Am J Hum Genet* 60:265-271.
- [49] de Andrés F, Sosa-Macías M, Ramos BPL, Naranjo MEG, LLerena, A. (2017). CYP450 Genotype/Phenotype Concordance in Mexican Amerindian Indigenous Populations—Where to from Here for Global Precision Medicine? *Omics*, 21(9), 509-519.
- [50] Sosa-Macías M, Elizondo G, Flores-Pérez C, et al. (2006). CYP2D6 genotype and phenotype in Amerindians of Tepehuano origin and Mestizos of Durango, Mexico. *J Clin Pharmacol*, 46(5), 527-536.
- [51] Griman P, Moran Y, Valero G et al. (2012). CYP2D6 gene variants in urban/admixed and Amerindian populations of Venezuela: pharmacogenetics and anthropological implications. *Ann Hum Biol*, 39(2), 137-142.

[52] Muñoz S, Vollrath V, Vallejos MP et al. (1998). Genetic polymorphisms of CYP2D6, CYP1A1 and CYP2E1 in the South-Amerindian population of Chile. *Pharmacogenetics*, 8(4), 343-351.

ANEXOS

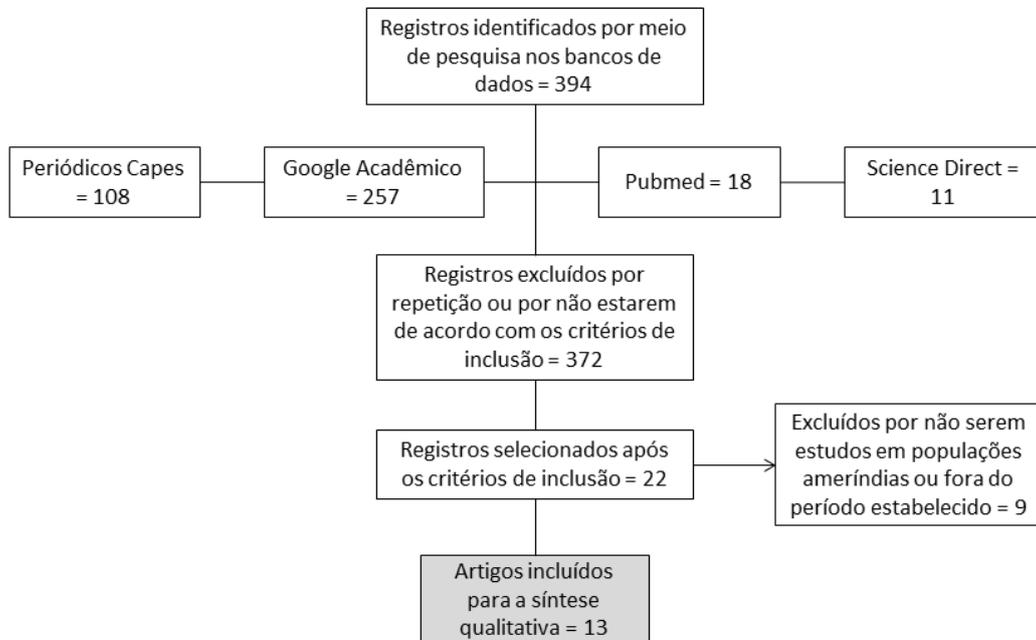


Figura 1. Diagrama de fluxo que descreve o número de registros identificados, incluídos e excluídos nesta revisão.

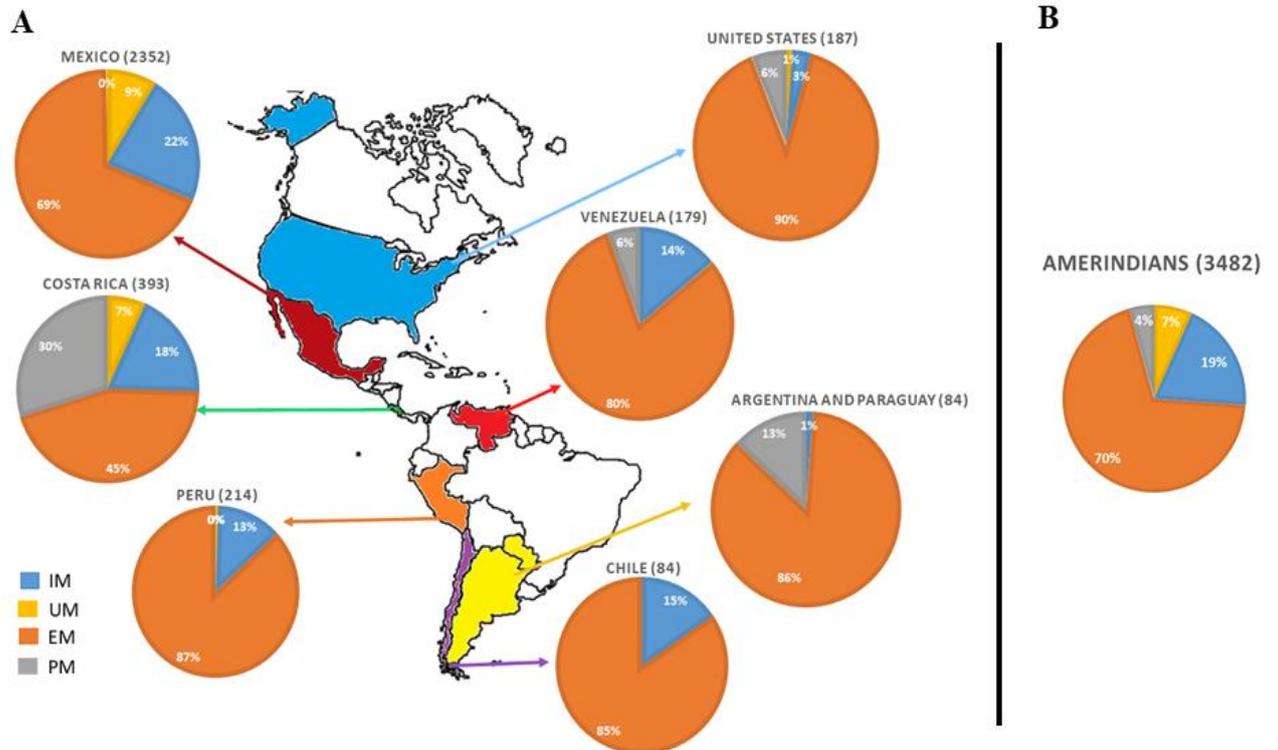


Figura 2. Perfil de metabolização do gene *CYP2D6* em populações ameríndias agrupadas por países. **A)** Países da América e as frequências dos metabolizadores do *CYP2D6* em populações ameríndias. **B)** Percentual das frequências dos metabolizadores agrupando todas as populações ameríndias obtidas na revisão. IM: Metabolizador Intermediário; UM: Metabolizador Ultrarrápido; EM: Metabolizador Extensivo; PM: Metabolizador Lento.

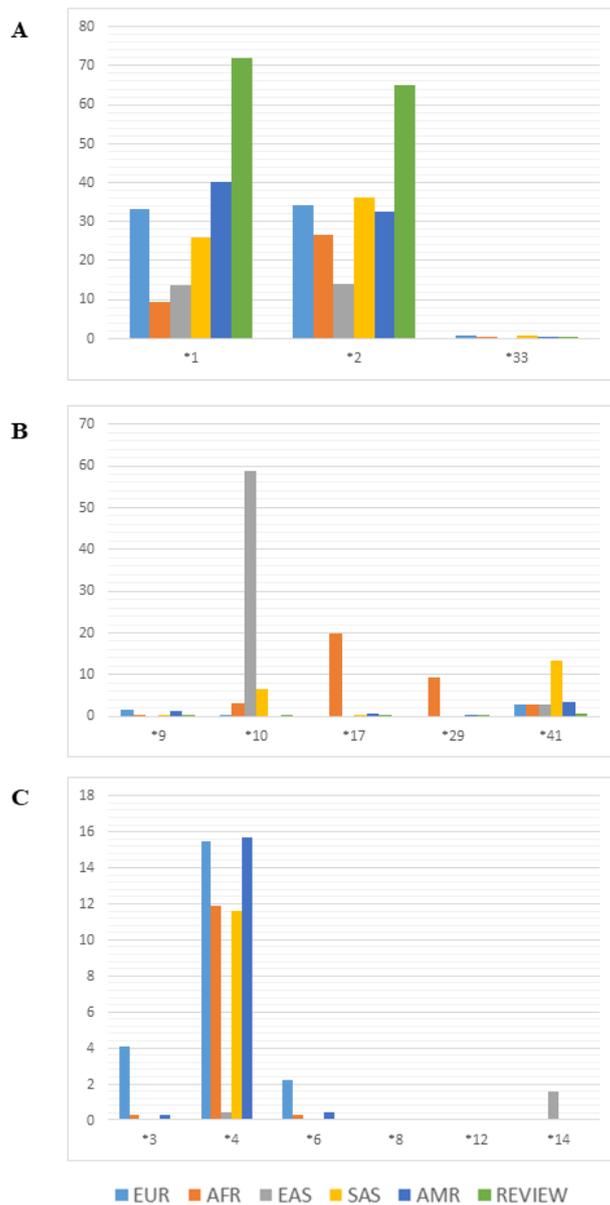


Figura 3. Frequência alélica das principais variantes do *CYP2D6* em populações mundiais e nas populações da revisão. **A)** Variantes com consequência funcional normal. **B)** Variantes com consequência funcional diminuída. **C)** Variantes com consequência funcional inativada. EUR: populações europeias; AFR: populações africanas; EAS: populações do Leste asiático; SAS: populações do Sul asiático; AMR: populações miscigenadas americanas; REVIEW: populações ameríndias oriundas da revisão.

Tabela 1. Estudos do gene *CYP2D6* em populações Ameríndias

Referência	Variantes	População (Tribo ou Afiliação)	País
Salazar-Flores et al., 2012. [39]	*1 *3 *4 *6, *7 e *8	Tarahumaras, Purépechas, Tojolabales, Tzotziles e Tzeltales	México
Lazalde-Ramos et al., 2013. [32]	*1, *2, *4, *5, *6, *10, *3, *17, *35 e *29, *41	Mexicaneros, Seris, Guarijós, Tepehuanos, Mayos, Huicholes, Tarahumaras e Coras	México
de Andrés et al., 2017. [49]	*2, *3, *4, *6, *10, *17, *29, *35, *41	Tarahumara, Tepehuana, Mexicanera, Huichol, Cora, Seri, Mayo, Guarijía	México
Sosa-Macías et al., 2006. [50]	*3, *4, *6 e *10	Tepehuano	México
López-López et al., 2014. [34]	*2, *3, *4, *5, *6, *10, *17, *35 e *41	Lacandones	México
Sosa-Macías et al., 2010. [40]	*5, *2A, *35 e *41	Tepehuanos	México
Perez-Paramo et al., 2015. [41]	*2, *3, *4, *6, *10, *17, *35 e *41	Nativos Tzotzil e Tzeltal	México
Naranjo et al., 2018. [35]	*2, *3, *4, *5, *6, *10, *17, *29, *35, *41	Bri bri, Cabecar, Chorotega, Guatuso, Guaymi e Huetar; Chol, Huichol, Lacandon, Mayo, Mexicanero, Seri, Tarahumara, Tepehuano, Tzeltal, Tzoltzil, Yaqui e Zoque; Ashaninka, Aymara e Shima.	Costa Rica, México e Peru
Céspedes-Garro et al., 2014. [15]	*1, *2, *3, *4, *5, *6, *10, *17, *29, *35, *41	Bribri, Guaymi, Cabecar, Guatuso, Chorotega, Huetar	Costa Rica
Fohner et al., 2013. [45]	*1, *2, *3, *4, *5, *9, *10, *28, *33, *35 e *41	Salish e Kootenai	Estados Unidos da América
Griman et al., 2012. [51]	*2, *3, *4, *5, *6 e *10	Bari, Panare, Pemón, Warao e Wayuu	Venezuela
Bailliet et al., 2006. [44]	*1, *2, *3, *4, *5, *6, *8, *10, *12, *14, e *15	Jujuy province, Wichi, Chorote, Toba, Mapuche, e Tehuelche. Ayoreo, Lengua.	Argentina e Paraguai
Munõz et al., 1998. [52]	*1, *2, *3, *4, *5, *9 e *10	Mapuches	Chile

Tabela 2. Distribuição dos alelos do gene *CYP2D6* de acordo com a consequência funcional da atividade enzimática, as variantes que definem os alelos e o tipo de variação

Consequência Funcional	Variante Definidora	Tipo da Variação
Normal		
*1	Nenhuma	
*2	rs16947, rs1135840	Missense (R296C, S486T)
*33	rs28371717	Missense (A237S)
Aumentada		
*1xN	Amplificação do *1	
*2xN	Amplificação do *2	
*53	rs1135822, rs1135823	Missense (F120I, A122S)
Diminuída		
*9	rs5030656	Deleção inframe (K281del)
*10	rs1065852, rs1135840	Missense (P34S, S486T)
*17	rs16947, rs28371706	Missense (R296C, T107I)
*29	rs16947, rs1135840, rs61736512 e rs59421388	Missense (R296C, S486T, V136I e V338M)
*41	rs28371725	Defeito no Splicing
Inativada		
*3	rs35742686	Frameshift
*4	rs3892097	Defeito no Splicing
*5	Deleção do <i>CYP2D6</i>	
*6	rs5030655	Frameshift
*7	rs5030867	Missense (H324P)
*8	rs5030865	Stop gain (G169X)
*11	rs201377835	Splicing defect
*12	rs5030862	Missense (G42R)
*14	rs5030865	Missense (G169R)
*42	rs72549346	Frameshift
*62	rs730882171	Missense (R441C)

5. DISCUSSÃO

O avanço dos estudos genômicos auxiliou para o advento da farmacogenética e para a melhor compreensão do metabolismo dos fármacos no organismo humano. O conjunto de genes que compõe a família CYP450 está envolvido na via metabólica primária para o metabolismo de drogas (TATE & GOLDSTEIN, 2004; GARDINER & BEGG, 2006), sendo um dos genes mais estudados desta família, o *CYP2D6*, possui uma vasta quantidade de polimorfismos genéticos que influenciam na variabilidade interindividual de resposta ao tratamento farmacológico, que também pode ser atribuída a outros fatores como meio ambiente, epigenética, fisiologia e patologia. (SOSA-MACÍAS & LLERENA 2015). As diversas variantes do *CYP2D6* podem atribuir à enzima diferentes funções, que estão associadas a uma atividade normal, aumentada, diminuída, prejudicada e até mesmo na ausência de atividade enzimática (SAKUYAMA et al., 2008). A composição genotípica de *CYP2D6* é decorrente de combinações de haplótipos que dependendo dos alelos que carregam compõe os diferentes perfis de metabolização (PM, IM, EM e UM).

A frequência desses perfis de metabolização varia entre as populações mundiais, o que caracteriza uma diferença na resposta terapêutica dos medicamentos entre os indivíduos destas populações (SISTONEN et al., 2007). Desta maneira, a genotipagem deste gene (principalmente das variantes que compõe esses perfis) se tornou importante para a identificação de pacientes, que podem apresentar reações adversas ou até mesmo falha terapêutica a fármacos que são metabolizados pela enzima *CYP2D6*.

Vários fármacos já possuem um delineamento da conduta terapêutica a ser aplicada para pacientes que apresentam, principalmente, os perfis de metabolização lento e ultrarrápido, o que pode ocasionar em um acompanhamento do paciente durante o uso dessas drogas, que podem variar entre diversas classes (de analgésicos a antidepressivos), ou na troca do medicamento por outro que não seja metabolizado pela *CYP2D6* (GASCHE, Y. et al., 2004; GELENBERG et al., 2010). Como foi dito anteriormente, a frequência desses perfis varia entre as populações mundiais, sendo então de suma relevância o estudo destas variantes em diferentes populações para aplicação da uma melhor conduta terapêutica no paciente.

A maioria dos estudos farmacogenéticos do *CYP2D6* é realizada em populações caucasianas (LLERENA et al., 2014). Embora, o avanço da tecnologia genômica venha auxiliando outros grupos a estudarem populações mais isoladas, como as populações tradicionais das Américas, principalmente a América do Sul, que apresentam uma longa história de isolamento geográfico humano e componente genético diferenciado de outras populações mundiais, fazendo com que essas populações sejam um excelente modelo para a

interpretação da interação genética e farmacológica (LAZALDE-RAMOS et al., 2014; BISSO-MACHADO, et al., 2016).

Algumas populações ameríndias, principalmente na Amazônia, vivem relativamente isoladas (<http://www.survivalinternational.org/tribes/uncontacted-brazil>), e acabam por serem subrepresentadas na literatura científica (BISSO-MACHADO, et al., 2016). Portanto, neste trabalho investigamos variantes no gene *CYP2D6*, que compõem os perfis de metabolização, em três tribos da Amazônia Brasileira.

Com o desenvolver da pesquisa bibliográfica foi possível observar que uma relativa quantidade de produções sobre o gene *CYP2D6* foi desenvolvida em outras populações ameríndias. Por isso, realizamos uma revisão sistemática destas produções para compor, de maneira geral, a frequência dos perfis de metabolização do gene *CYP2D6* nas populações ameríndias de diferentes países.

De maneira geral, a população nativa americana brasileira apresentou frequências semelhantes, de alguns tipos de metabolizadores do *CYP2D6*, quando comparada às outras populações ameríndias, com elevadas frequências do metabolizador extensivo e baixas frequências dos metabolizadores lento e ultrarrápido. Quando comparadas com a população mundial já descrita foi possível observar algumas diferenças, principalmente em relação aos marcadores clinicamente relevantes (PM e UM).

O perfil de metabolização extensivo foi o mais observado em todas as populações ameríndias agrupadas na revisão, com uma média de 70%, frequência próxima à encontrada nos índios brasileiros (97%). Este perfil de metabolização, que apresenta uma atividade normal da enzima *CYP2D6*, é o mais comum nas populações mundiais (GAEDIGK et al., 2017). Por serem metabolizadores normais da enzima, as agências regulamentadoras de fármacos – FDA e EMA, aconselham a um acompanhamento do paciente durante o tratamento com drogas que sejam metabolizadas pela *CYP2D6*, porém não há necessidade de troca ou interrupção de terapia (HICKS et al., 2015).

A metabolização intermediária da enzima *CYP2D6* foi o segundo perfil mais frequente nas populações ameríndias da revisão (19%), e não foi observada em nenhuma das 3 tribos amazônicas brasileiras. Podemos destacar que pacientes que apresentam este perfil de metabolização e fazem uso de medicamentos metabolizados pela *CYP2D6*, já podem receber uma conduta terapêutica diferenciada. Para pacientes tratados com o Tamoxifeno, por exemplo, é orientado o uso de inibidores de aromatase para mulheres pós-menopáusicas devido a um risco aumentado de recaída de câncer de mama com o fármaco e também evitar o uso concomitante de inibidores da *CYP2D6* (SWEN et al., 2011; MYLAN PHARMACEUTICALS, 2013).

O perfil de metabolização lenta é um dos mais importantes na prática clínica, pois os pacientes que carregam este tipo de metabolizador pode não responder as terapias ou apresentar efeitos adversos sendo necessária a troca ou interrupção do tratamento em alguns casos (FRANK, D, JAEHDE, U. & FUHR, U, 2007). A frequência deste perfil foi baixa nas populações ameríndias observadas na revisão (4%), sendo a população ameríndia costarriquenha a que apresentou o maior percentual quando comparada aos outros países (30%) (Naranjo et al., 2018; Céspedes-Garro et al., 2014). Nas tribos brasileiras avaliadas não foi observado este perfil. FDA e EMA orientam a restrição ao uso de antidepressivos tricíclicos, antipsicóticos, antiarrítmicos e analgésicos opioides, pois pacientes que apresentam este perfil podem apresentar reações adversas graves devido à exposição prolongada aos metabólitos desses fármacos (SCHENK et al., 2008; ACCORD HEALTHCARE, 2014; HAMADEH et al., 2014; NOVARTIS PHARMACEUTICALS CORPORATION, 2014).

A metabolização ultrarrápida dos fármacos pode ocasionar a falha terapêutica ou reações adversas graves dependendo do medicamento (PENAS-LLEDO et al., 2013). Os resultados da revisão apresentaram uma frequência média de 7% do perfil de metabolização ultrarrápida entre as populações ameríndias, enquanto que na população ameríndia brasileira esta frequência foi de 2%, observada somente em uma das três tribos avaliadas (Kayapó-Xikrin). Para alguns fármacos, como a codeína, um pró-fármaco metabolizado pelo CYP2D6, o uso por UM é restrito pela FDA e EMA devido a potenciais reações adversas fatais (ROXANE LABORATORIES, 2010), além de que pacientes com este perfil relatam uma história de tentativa de suicídio ao longo da vida ou fazem uma tentativa grave de suicídio (PEÑAS-LLEDÓ et al., 2012; PENAS-LLEDO et al., 2015).

As mutações que categorizam esses perfis possuem diferentes frequências nas populações mundiais (ZHOU et al., 2017). Os ameríndios apresentados na revisão possuem uma elevada frequência de haplótipos que caracterizam o perfil extensivo do *CYP2D6* (*1 e *2), frequência também observada nos indígenas brasileiros. Demonstrando que a população ameríndia como um todo apresenta uma maior prevalência do perfil EM. Sobre a presença de mutações que compõe o genótipo PM em algumas populações ameríndias, alguns autores afirmam que podem ser variantes fundadoras trazidas para a América pelos primeiros colonos asiáticos (Bailliet et al., 2007). Essas diferentes frequências também podem ser causadas por hábitos alimentares que evoluíram ao longo de milhares de anos e a evolução de polimorfismos balanceados, como em alelos que influenciam resistência às infecções bacterianas ou virais (NEBERT, 1997).

De maneira geral, as pesquisas que utilizam as populações ameríndias como alvo de estudo caracterizaram essas populações somente por auto declaração, característica que foi

observada nos artigos selecionados para a composição da revisão, o nosso estudo avaliou 61 MIAs para a identificação do componente de ancestralidade genética na população ameríndia brasileira, e foi possível observar uma frequência de mais de 95% do ancestral ameríndio quando comparado ao europeu e africano em todas as três tribos avaliadas. O isolamento dessas populações pode explicar a homogeneidade observada dentre as frequências apresentadas, porém é importante destacar que o perfil genético apresentado pode ajudar a auxiliar as pesquisas em populações que são miscigenadas as populações ameríndias, como a população da América Latina.

6. CONCLUSÃO

Este presente estudo foi pioneiro em avaliar as variantes do gene *CYP2D6* em populações ameríndias da Amazônia brasileira e na construção de uma revisão que reuniu as principais publicações sobre este gene em outras populações nativo americanas. Sendo apresentado então, um estudo que demonstrou como essa população pode ser caracterizada pelos perfis de metabolização do gene *CYP2D6*.

De modo geral, a partir dos dados mostrados nos dois artigos apresentados podemos observar que o perfil de metabolização extensiva do gene *CYP2D6* foi o mais frequente nas populações ameríndias como um todo (incluindo as tribos brasileiras). Estas características genótípicas podem prover a estas populações uma proteção aos efeitos adversos e falha terapêutica aos tratamentos que utilizem drogas metabolizadas pela *CYP2D6*, pois esta apresenta, em sua grande maioria, o perfil normal de metabolização. Porém, devemos destacar que perfis de metabolização extensiva e intermediária podem ser “transformados” em perfis de metabolizadores lentos se ocorrer a exposição a outros xenobióticos, tais como drogas e/ou medicamentos fitoterápicos com componentes alcaloides, que são conhecidos por serem potentes inibidores da *CYP2D6* e são tradicionais de populações ameríndias.

O uso de MIA em estudos farmacogenéticos é uma importante ferramenta para uma melhor definição do perfil genético da população a ser estudada, e que deve ser aplicado em estudos com populações miscigenadas e naquelas mais isoladas, para a determinação da ancestralidade do grupo avaliado e a confiabilidade dos dados. Este estudo foi um dos poucos a utilizar este painel de marcadores em populações ameríndias.

Em conclusão, podemos destacar a importância do estudo em populações ameríndias para compreensão da composição genética de populações das Américas, assim como para

uma melhor caracterização desta população em estudos farmacogenômicos. O gene *CYP2D6* é um importante marcador para o direcionamento da terapia de diferentes fármacos; portanto, o estudo deste gene em populações isoladas, como a população ameríndia, pode auxiliar na decisão de conduta terapêutica nesta população, aumentando a eficácia medicamentosa para estes indivíduos e para grupos miscigenados, como grande parte da população Latino Americana.

7. REFERÊNCIAS

ABAJI, R.; KRAJINOVIC, M. Thiopurine S-methyltransferase polymorphisms in acute lymphoblastic leukemia, inflammatory bowel disease and autoimmune disorders: influence on treatment response. **Pharmacogenomics and personalized medicine**; 10:143. 2017.

ACCORD HEALTHCARE. Amitriptyline Hydrochloride - tablet, film coated. Durham, NC, 2016. Disponível em: <<https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=1e6d2c80-fbc8-444e-bdd3-6a91fe1b95bd>>. Acesso em: 04 out. 2017.

ACCORD HEALTHCARE. Tramadol- tramadol hydrochloride tablet [package insert]. North Carolina, USA, I, 2014. Disponível em: <<http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=052d06ef-4186-4ac1-9099-af05fa37c2f8>> Acesso em: 06 out. 2017.

AGUIAR, G. F. S.; GUERREIRO, J. F.; SANTOS, S.E.B. Interindividual genetic relationships in an Amazonian indian village. **Boletim do MPEG**. Série Antropologia, Belém : MPEG, v. 9, n. 2, p. 171-97. 1993.

AJANI, J.A. et al. Phase I pharmacokinetic study of S-1 plus cisplatin in patients with advanced gastric carcinoma. **JournalOfClinicalOncology**. Oct 1;23(28):6957-65. 2005

ANDRADE, L. Povos Indígenas no Brasil. 1999. Disponível em: <<https://pib.socioambiental.org/pt/povo/asurini-do-tocantins/22>> Acesso em: 15 out. 2017.

ARCINIEGAS, David B. Psychosis. *Continuum: Lifelong Learning in Neurology*, v. 21, n. 3 Behavioral Neurology and Neuropsychiatry, p. 715 – 736. 2015.

ARNAIZ-VILLENA, A. et al. Amerindians show association to obesity with adiponectin gene SNP45 and SNP276: population genetics of a food intake control and “thrifty” gene. **Molecular biology reports**. v. 40, n. 2, p. 1819-1826. 2013.

ARNAIZ-VILLENA, A. et al. Mixtec Mexican Amerindians: an HLA alleles study for America peopling, pharmacogenomics and transplantation. **Immunological investigations**. v. 43, n. 8, p. 738-755. 2014.

ASTRA ZENECA. ToprolXL- metoprolol succinate tablet, extended release [Package insert]. Wilmington. 2016. Disponível em: <<https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=4a5762c6-d7a2-4e4c-10b7-8832b36fa5f4>>.

Acesso em: 04 out. 2017.

ASTRAZENECA. IRESSA- Gefitinib Tablet, Coated. [packageinsert]. Macclesfield, UK, 2015. Disponível em: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=827d60e8-7e07-41b7-c28b-49ef1c4a5a41#ID_880fe9af-b50a-4610-8c04-e22eb76bbdbd>. Acesso em: 06 out. 2017.

BALARESQUE, P.L.; BALLEREAU, S.J.; JOBLING, M.A. Challenges in human genetic diversity: demographic history and adaptation. **Human molecular genetics**. Oct 15;16(R2):R134-9. 2007.

BARBOSA, M. et al. Facial biometry of Amazon indigenous people of the Xingu River— Perspectives on genetic and environmental contributions to variation in human facial morphology. **Orthodontics & craniofacial research**. Aug 1;19(3):169-79. 2016.

Bhatia, S. et al. Racial and ethnic differences in survival of children with acute lymphoblastic leukemia. **Blood**. Sep 15;100(6):1957-64. 2002.

BISSO-MACHADO, R. et al. NAT2 gene diversity and its evolutionary trajectory in the Americas. **The pharmacogenomics journal**, v. 16, n. 6, p. 559, 2016.

BLAKE, C.M. et al. A Meta-Analysis of CYP2D6 Metabolizer Phenotype and Metoprolol Pharmacokinetics. **Clinical pharmacology & Therapeutics**. Sep 1;94(3):394-9. 2013.

BREIER, A, et al. Effects of clozapine on positive and negative symptoms in outpatients with schizophrenia. **American Journal of Psychiatry**. Jan 1;151(1):20-6. 1994.

BRISTOW, M.R. β -Adrenergic receptor blockade in chronic heart failure. **Circulation**. Feb 8;101(5):558-69. 2000.

CACABELOS, R.; HASHIMOTO, R.; TAKEDA, M. Pharmacogenomics of antipsychotics efficacy for schizophrenia. **Psychiatry and clinical neurosciences**. Feb 1;65(1):3-19. 2011.

CARTWRIGHT, A.L. et al. Pharmacogenetics of risperidone: a systematic review of the clinical effects of CYP2D6 polymorphisms. *Annals of Pharmacotherapy*, 47(3), pp.350-360. 2013.

CARVALHO, D.C. et al. Amerindian genetic ancestry and INDEL polymorphisms associated with susceptibility of childhood B-cell Leukemia in an admixed population from the Brazilian Amazon. **Leukemia research**. Nov 30;39(11):1239-45. 2015.

CÉSPEDES-GARRO, Carolina et al. Ethnic background and CYP2D6 genetic polymorphisms in Costa Ricans. **Revista de biologia tropical**, v. 62, n. 4, p. 1659-1671, 2014.

CÉSPEDES-GARRO, Carolina et al. Pharmacogenetics in Central American healthy volunteers: interethnic variability. *Drug metabolism and personalized therapy*, v. 30, n. 1, p. 19-31, 2015.

CHEOK, M.H. et al. Pharmacogenetics in acute lymphoblastic leukemia. **Seminars in hematology**. Jan., Vol. 46, No. 1, pp. 39-51. 2009.

CHUAH, B. Comparison of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of S-1 between Caucasian and East Asian patients. **Cancer science**. Feb 1;102(2):478-83. 2011.

CIRAULO, D. A.; RICHARD I.S.; DAVID J. G. Clinical Pharmacology and Therapeutics of Antidepressants. *Pharmacotherapy of Depression*. **Humana Press**. 33-124. 2011.

CISZKOWSKI, C. et al. Codeine, ultrarapid-metabolism genotype, and postoperative death. **New England Journal of Medicine**. Aug 20;361(8):827-8. 2009.

CREWS, K. R. et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450 2D6 genotype and codeine therapy: 2014 update. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**. Apr 1;95(4):376-82. 2014.

CUAUTLE-RODRÍGUEZ, P.; LLERENA, A.; MOLINA-GUARNEROS, J. Present status and perspective of pharmacogenetics in Mexico. **Drug metabolism and drug interactions**, 29(1), 37-45. 2014.

DAMKIER, P. et al. CYP2C19* 2 and CYP2C19* 17 variants and effect of tamoxifen on breast cancer recurrence: Analysis of the International Tamoxifen Pharmacogenomics Consortium dataset. **Scientific Reports**. Aug 10;7(1):7727. 2017.

DE ANDRÉS, F. et al. CYP450 Genotype/Phenotype Concordance in Mexican Amerindian Indigenous Populations—Where to from Here for Global Precision Medicine? **OMICS: A Journal of Integrative Biology**. 2017.

DE OLIVEIRA, A.R. et al. Body mass index, waist circumference, body adiposity index, and risk for type 2 diabetes in two populations in Brazil: general and Amerindian. **PLOS ONE**, v. 9, n. 6, p. E100223. 2014.

EVANS, W.E.; RELLING, M.V. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. **Science** 286, 487–491. 1999.

FINKEL, R.; CLARK, M.A.; CUBEDDU, L. X. **Pharmacology**. Lippincott Williams & Wilkins. 2009.

FRANK, D.; JAEHDE, U.; FUHR, U. Evaluation of probe drugs and pharmacokinetic metrics for CYP2D6 phenotyping. **European journal of clinical pharmacology**, v. 63, n. 4, p. 321-333, 2007.

FUJIKURA, K.; INGELMAN-SUNDBERG, M.; LAUSCHKE, V.M. Genetic variation in the human cytochrome P450 supergene family. **Pharmacogenetics and genomics**, 25(12), pp.584-594. 2015.

FUJITA, K.I. Cytochrome P450 and anticancer drugs. **Current drug metabolism**. Jan 1;7(1):23-37. 2006.

GAEDIGK, A. et al. Prediction of CYP2D6 phenotype from genotype across world populations. **Genetics in Medicine**, 19(1), p.69. 2017.

GANOCCI, L. et al. The role of CYP2D6, CYP3A4/5, and ABCB1 polymorphisms in patients using long-acting injectable risperidone. **Clinical therapeutics**. Oct 6;38(10):e10-1. 2016.

GAO, J. et al. From Genotype to Phenotype: Cytochrome P450 2D6-Mediated Drug Clearance in Humans. **Molecular Pharmaceutics**. Feb 24;14(3):649-57. 2017.

GARDINER, S.J.; BEGG, E.J. Pharmacogenetics, drug-metabolizing enzymes, and clinical practice. **Pharmacological reviews**. Sep 1;58(3):521-90. 2006.

GARDINER, Sharon J.; BEGG, Evan J. Pharmacogenetics, drug-metabolizing enzymes, and clinical practice. **Pharmacological reviews**, v. 58, n. 3, p. 521-590, 2006.

GASCHE, Y. et al. Codeine intoxication associated with ultrarapid CYP2D6 metabolism. **New England Journal of Medicine**. Dec 30;351(27):2827-31. 2004.

GELENBERG, A.J. et al. Practice guideline for the treatment of patients with major depressive disorder third edition. **The American Journal of Psychiatry**, 167(10), p.1. 2010.

GIANNINI, I. V. Povos Indígenas no Brasil. 1993. Disponível em: <<https://pib.socioambiental.org/pt/povo/kayapo-xikrin>> Acesso em: 17 out. 2017.

GIBSON G. Rare and common variants: twenty arguments. **Nature reviews - Genetics**. Feb;13(2):135. 2011.

GILLIS, N.K.; PATEL, J.N.; INNOCENTI, F. Clinical Implementation of Germ Line Cancer Pharmacogenetic Variants During the Next-Generation Sequencing Era. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**. Mar 1;95(3):269-80. 2014.

GLAXOSMITHKLINE LLC. Rythmol - propafenone hydrochloride capsule, extended release [Package insert]. Germany. 2016. Disponível em: <<https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=8bb1bc4a-a019-49c8-af81-be899822428f>> Acesso em: 04 out. 2017.

HACKSHAW, A. et al. Long-term benefits of 5 years of tamoxifen: 10-year follow-up of a large randomized trial in women at least 50 years of age with early breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**. 29, 1657–63. 2011.

HAMADEH, I.S. et al. Impact of CYP2D6 polymorphisms on clinical efficacy and tolerability of metoprolol tartrate. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**. Aug 1;96(2):175-81. 2014.

HAUFROID, V.; HANTSON, P. CYP2D6 genetic polymorphisms and their relevance for poisoning due to amfetamines, opioid analgesics and antidepressants. **Clinical Toxicology**. Jul 3;53(6):501-10. 2015.

HE, Z.X. et al. Impact of physiological, pathological and environmental factors on the expression and activity of human cytochrome P450 2D6 and implications in precision medicine. **Drug metabolism reviews**, 47(4), pp.470-519. 2015.

HICKS, J.K. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guideline (CPIC) for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants: 2016 Update. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**. Feb 1. 2017.

HICKS, J.K. et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of selective serotonin reuptake inhibitors. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**. Aug 1;98(2):127-34. 2015.

HICKS, J.K. et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guideline (CPIC) for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants: 2016 Update. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**. 2017.

HICKS, J.K. et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guideline for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, 93(5), pp.402-408. 2013.

HIEMKE, C. et al. AGNP consensus guidelines for therapeutic drug monitoring in psychiatry: update 2011. **Pharmacopsychiatry**. Dec;21(06):195-235. 2011.

HORAI, S. et al. Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution*, 10:23-47. 1993.

INGELMAN-SUNDBERG, M. et al. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeconomic and clinical aspects. **Pharmacology & therapeutics**, 116(3), pp.496-526. 2007.

INGELMAN-SUNDBERG, M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. **Pharmacogenomics Journal**. 5, (1), 6-13. 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Os indígenas no Censo Demográfico. 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/indigenas/indigena_censo2010.pdf> Acesso em: 2 out 2017.

INSTITUTO SÓCIO AMBIENTAL- ISA. Povos Indígenas no Brasil. 2016. Disponível em: <<https://pib.socioambiental.org/.pt>>. Acesso em: 2 out. 2017.

JAMISON, R.N.;MAO, J. "Opioid analgesics." Em **Mayo Clinic Proceedings**, vol. 90, no. 7, pp. 957-968. Elsevier, 2015.

JANSSEN PHARMACEUTICALS.Risperidone [Package Insert].Titusville, NJ, 2017.Disponível em: <<https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=bb34ee82-d2c2-43b8-ba21-2825c0954691>> Acesso em: 04 out. 2017.

JITTIKOON, J. et al. Comparison of genetic variation in drug ADME-related genes in Thais with Caucasian, African and Asian HapMap populations. **Journal of human genetics**, v. 61, n. 2, p. 119, 2016.

JOBLING, M.;HURLES, M.; TYLER-SMITH, C. Human evolutionary genetics: origins, peoples & disease. **Garland Science**. Jun 25. 2013.

JONAS, D.E.; MCLEOD, H. L. Genetic and clinical factors relating to warfarin dosing. **Trends in pharmacological sciences**. Jul 31;30(7):375-86. 2009.

JORDAN, V.C. Tamoxifen as the first targeted long-term adjuvant therapy for breast cancer. **Endocrine-related cancer**. Jun 1;21(3):R235-46. 2014.

KAWANISHI, C. et al. Increased incidence of CYP2D6 gene duplication in patients with persistent mood disorders: ultrarapid metabolism of antidepressants as a cause of nonresponse. A pilot study. **European journal of clinical pharmacology**. Jan 1;59(11):803-7. 2004.

KIMURA, S. et al. The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. **American journal of human genetics**,45(6), p.889. 1989.

KOBAYASHI, H. et al. Effects of polymorphisms in CYP2D6 and ABC transporters and side effects induced by gefitinib on the pharmacokinetics of the gefitinib metabolite, O-desmethylgefitinib. **Medical Oncology**. Jun 1;33(6):57. 2016

KOREN, G. et al. Pharmacogenetics of morphine poisoning in a breastfed neonate of a codeine-prescribed mother. **The Lancet**. Aug 25;368(9536):704. 2006.

KUHN, P. C. et al. Genome-wide analysis in Brazilian Xavante Indians reveals low degree of admixture. **Plos One**; 7(8):e42702. 2012.

KUMAR, S. Drug targets for cancer treatment: an overview. **Medicina chemistry**.5:115-23. 2015.

LAKIOTAKI, K. et al. Exploring public genomics data for population pharmacogenomics. *PloS one*. Aug 3;12(8):e0182138. 2017.

LAZALDE-RAMOS, B. P. et al. CYP2D6 gene polymorphisms and predicted phenotypes in eight indigenous groups from northwestern Mexico. **Pharmacogenomics**, v. 15, n. 3, p. 339-348, 2014.

LIFE TECHNOLOGIES. Applied BiosystemEM QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR System – User Guide. California, EUA. 2012.

LINDENAU, J. Dal-Ri. et al. Variability of innate immune system genes in Native American populations—relationship with history and epidemiology. **American journal of physical anthropology**. v. 159, n. 4, p. 722-728, 2016.

LISBETH, P. et al. Genotype and co-medication dependent CYP2D6 metabolic activity: effects on serum concentrations of aripiprazole, haloperidol, risperidone, paliperidone and zuclopenthixol. **European journal of clinical pharmacology**. Feb 1;72(2):175-84. 2016

LLERENA, A. et al. Interethnic variability of CYP2D6 alleles and of predicted and measured metabolic phenotypes across world populations. **Expert opinion on drug metabolism & toxicology**, v. 10, n. 11, p. 1569-1583, 2014.

MCGRAW, J.; WALLER, D. Cytochrome P450 variations in different ethnic populations. **Expert opinion on drug metabolism & toxicology**. Mar 1;8(3):371-82. 2012.

MILLER, D. et al., Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 66, n. 4, p. 271-289. 2016.

MOLDEN, E. et al. Impact of Ageing on Serum Concentrations of Risperidone and Its Active Metabolite in Patients with Known CYP2D6 Genotype. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**. Nov 1;119(5):470-5. 2016.

MULLER, R.P. Povos Indígenas no Brasil. 2002. Disponível em: <<https://pib.socioambiental.org/pt/povo/asurini-do-xingu>>. Acesso em: 15 out. 2017.

MYLAN PHARMACEUTICALS. Tamoxifen Citrate [package insert]. Morgantown, WV, 2013. Disponível em: <<http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=7ee3d3d2-85d1-4018-8e70-5ed8a64ae1f0>> Acesso em: 06 out. 2017.

NARANJO, M.E. et al. High frequency of CYP2D6 ultrarapid metabolizers in Spain: controversy about their misclassification in worldwide population studies. **Pharmacogenomics J**,16(5), pp.485-490. 2016.

NARANJO, Maria-Eugenia G. et al. Interethnic Variability in CYP2D6, CYP2C9, and CYP2C19 Genes and Predicted Drug Metabolism Phenotypes Among 6060 Ibero-and Native Americans: RIBEF-CEIBA Consortium Report on Population Pharmacogenomics. *Omics: a journal of integrative biology*, v. 22, n. 9, p. 575-588, 2018.

NATIONAL HUMAN GENOME; Research Institute.2016.Disponível em: <<https://www.genome.gov/10001551/>>. Acesso em: 20 out. 2017.

NEBERT, Daniel W. Polymorphisms in drug-metabolizing enzymes: what is their clinical relevance and why do they exist?. **American journal of human genetics**, v. 60, n. 2, p. 265, 1997.

NOVARTIS PHARMACEUTICALS CORPORATION. Clozaril- clozapine tablet [packet insert]. EastHanover. 2014. Disponível em: <<http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=5f0c6f5f-b906-4c8f-8580-3939a476a1c1>> Acesso em: 04 out. 2017.

PADMANABHAN, S. Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine. **Academic Press**. Apr 28. 2014.

PAR PHARMACEUTICAL. Imipramine Hydrochloride - tablet, film coated Princeton, NJ. 2016. Disponível em: <<https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=7d52c40c-bbcb-4698-9879-d40136301d31>>. Acesso em: 04 out. 2017.

PENA, S.D. et al. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. **Plos One**. Feb 16;6(2):e17063. 2011.

PEÑAS-LLEDÓ, E. et al. A combined high CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity is associated with the severity of suicide attempt as measured by objective circumstances. *The pharmacogenomics journal*, v. 15, n. 2, p. 172, 2015.

PENAS-LLEDO, E. M. et al. CYP2D6 ultrarapid metabolism and early dropout from fluoxetine or amitriptyline monotherapy treatment in major depressive patients. *Molecular psychiatry*, v. 18, n. 1, p. 8, 2013.

PEÑAS-LLEDÓ, Eva M. et al. CYP2D6 and the severity of suicide attempts. *Pharmacogenomics*, v. 13, n. 2, p. 179-184, 2012.

PERRY, P. J.; ZEILMANN, C.; ARNDT, S. Tricyclic antidepressant concentrations in plasma: an estimate of their sensitivity and specificity as a predictor of response. *Journal of clinical psychopharmacology*. Aug 1;14(4):230-40. 1994.

PHARMVAR.CYP2D6 allele nomenclature. Disponível em: www.pharmvar.org/gene/CYP2D6. Acesso em: 20 out. 2017.

PIRMOHAMED, M.; BURNSIDE, G.; ERIKSSON, N. A randomized trial of genotype-guided dosing of warfarin. *Journal of Vascular Surgery*. Apr 1;59(4):1176. 2014.

POLLOCK, B.H. Racial differences in the survival of childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group Study. *Journal of Clinical Oncology*. Feb 14;18(4):813-. 2000.

PUI, C. H. et al. Results of therapy for acute lymphoblastic leukemia in black and white children. *Jama*. Oct 15;290(15):2001-7. 2003.

RAJJI, T. K. et al. Prediction of working memory performance in schizophrenia by plasma ratio of clozapine to N-desmethylclozapine. *American Journal of Psychiatry*. Apr 10;172(6):579-85. 2015.

REEVES, R.R.; BURKE, R.S. Tramadol: basic pharmacology and emerging concepts. *Drugs of today*. Nov;44(11):827-36. 2008.

RELLING, M. V.; EVANS, W.E. Pharmacogenomics in the clinic. *Nature*. Oct 15;526(7573):343. 2015.

RELLING, M.V. et al. Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus. **Journal of the National Cancer Institute**. Dec 1;91(23):2001-8. 1999.

RIBEIRO-DOS-SANTOS, A. M. High-Throughput Sequencing of a South American Amerindian. **Plos One**; 8: p.e83340. 2013.

ROXANE LABORATORIES. Codeine sulfate tablets for oral use [package insert]. Columbus, OH. 2010. Disponível em: <<http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=fa3ed180-298a-4f9d-9d05-15182d7218bf>> Acesso em: 04 out. 2017.

SAKUYAMA, Kanako et al. Functional characterization of 17 CYP2D6 allelic variants (CYP2D6. 2, 10, 14A-B, 18, 27, 36, 39, 47-51, 53-55, and 57). *Drug Metabolism and Disposition*, 2008.

SALADORES, P. et al. Tamoxifen metabolism predicts drug concentrations and outcome in premenopausal patients with early breast cancer. **Pharmacogenomics Journal**. 15(1):84–94. 2015.

SANTOS, N.P. et al. Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48–insertion-deletion (INSEL) ancestry-informative marker (AIM) panel. **Human mutation**. Feb 1;31(2):184-90. 2010.

SANTOS, S. E. B. et al. The Amazonian Microcosm. **Ciência & Cultura**. 51:181-190. 1999.

SCHENK, P. W. et al. Association of graded allele-specific changes in CYP2D6 function with imipramine dose requirement in a large group of depressed patients. **Molecular psychiatry**. Jun 1;13(6):597. 2008.

SCHURR, T.G. et al. Amerindian mitochondrial DNAs have rare asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *American Journal of Human Genetics* 46: 613-623. 1990.

SEEMAN, P. Atypical antipsychotics: mechanism of action. **The Canadian Journal of Psychiatry**. Feb;47(1):29-40. 2002.

SISTONEN, Johanna et al. CYP2D6 worldwide genetic variation shows high frequency of altered activity variants and no continental structure. *Pharmacogenetics and genomics*, v. 17, n. 2, p. 93-101, 2007.

SOSA-MACÍAS, Martha; LLERENA, Adrián. Cytochrome P450 genetic polymorphisms of Mexican indigenous populations. *Drug metabolism and drug interactions*, v. 28, n. 4, p. 193-208, 2013.

STAMER, U. M. Respiratory depression with tramadol in a patient with renal impairment and CYP2D6 gene duplication. *Anesthesia & Analgesia*. Sep 1;107(3):926-9. 2008.

STRANGER, B. E. et al. Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. *Science* 315, 848–853. 2007.

SU, Y. et al. Assessment of 25 CYP2D6 alleles found in the Chinese population on propafenone metabolism in vitro. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. Mar 17;94(08):895-9. 2016.

SUAREZ-KURTZ, G. Pharmacogenetics in the Brazilian population. *Frontiers in Pharmacology*. 1(118), 1 – 10. 2010.

SUAREZ-KURTZ, G. Pharmacogenomics in admixed populations. *Trends of Pharmacology Science*. 26(4):196-201. 2005.

SUAREZ-KURTZ, G.; PENA, S. D. Pharmacogenomics in the Americas: The Impact of Genetic Admixture. *Current Drug Targets*. 7(12):1649-58. 2006.

SWEN, J.J. et al. Pharmacogenetics: from bench to byte—an update of guidelines. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. May 1;89(5):662-73. 2011.

TATE, Sarah K.; GOLDSTEIN, David B. Will tomorrow's medicines work for everyone?. *Nature genetics*, v. 36, n. 11s, p. S34, 2004.

THORN, C. F. Pharmgkb summary: fluoropyrimidine pathways. *Pharmacogenetics and genomics*. 21(4), 237. 2011.

VALLINOTO, A. C. et al. Heterogeneity of Y chromosome markers among Brazilian Amerindians. *American journal of human biology*. Jan 1;11(4):481-7. 1999.

VAN DER PATC, A.; VAN SCHAİK, R.; SONNEVELD, P. Acute dystonic reaction to metoclopramide in patients carrying homozygous cytochrome P450 2D6 genetic polymorphisms. **The Netherlands journal of medicine**. Jan 1. 2006

VAUGHAN, W. E. M. Classification of antiarrhythmic drugs. **Symposium on Cardiac Arrhythmias**. Astra, Elsinore. Denmark. 1970.

VOLPE, D. A. et al. Uniform assessment and ranking of opioid mu receptor binding constants for selected opioid drugs. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**. Apr 30;59(3):385-90. 2011.

WALLACE, D.C.; GARRISON, K.; KNOWLER, W.C. Dramatic founder effects in Amerindian mitochondrial DNAs. **American Journal of Physical Anthropology**. 68:149-155. 1985.

WANG, L., MCLEOD, H.L., WEINSHILBOUM, R.M. Genomics and drug response. **New England Journal of Medicine**. Mar 24;364(12):1144-53. 2011.

YU, C.Y. et al. Inference of the Genetic Polymorphisms of CYP2D6 in Six Subtribes of the Malaysian Orang Asli from Whole-Genome Sequencing Data. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers**. 2017.

ZANGER, U. M.; SCHWAB, M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. **Pharmacology & therapeutics**, 138(1), 103-141. 2013.

ZHOU, S. F. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance. **Clinical pharmacokinetics**, v. 48, n. 12, p. 761-804, 2009.

ZHOU, Y.; INGELMAN-SUNDBERG, M.; LAUSCHKE, V.M. Worldwide Distribution of Cytochrome P450 Alleles: A Meta-analysis of Population-scale Sequencing Projects. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**. 2017.

ZHOU, Z.W.; ZHOU, S.F. Application of mechanism-based CYP inhibition for predicting drug-drug interactions. **Expert opinion on drug metabolism & toxicology**, 5(6), pp.579-605. 2009.

ANEXO**TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA****COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA****PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA****Título da Pesquisa:** Perfil epidemiológico de populações indígenas do Pará**Pesquisador:** JOÃO GUERREIRO**Área Temática:** Estudos com populações indígenas;**Versão:** 5**CAAE:** 20654313.6.0000.5172**Instituição Proponente:** Instituto de Ciências Biológicas**Patrocinador Principal:** Ministério da Saúde

FUNDACAO AMAZONIA PARAENSE DE AMPARO A PESQUISA - FAPESPA

DADOS DO PARECER**Número do Parecer:** 961.451**Data da Relatoria:** 27/01/2015**Situação do Parecer:**

Aprovado com Recomendação

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, devendo o CEP verificar o cumprimento das questões acima, antes do início do estudo.

Situação: Protocolo aprovado com recomendação.

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br