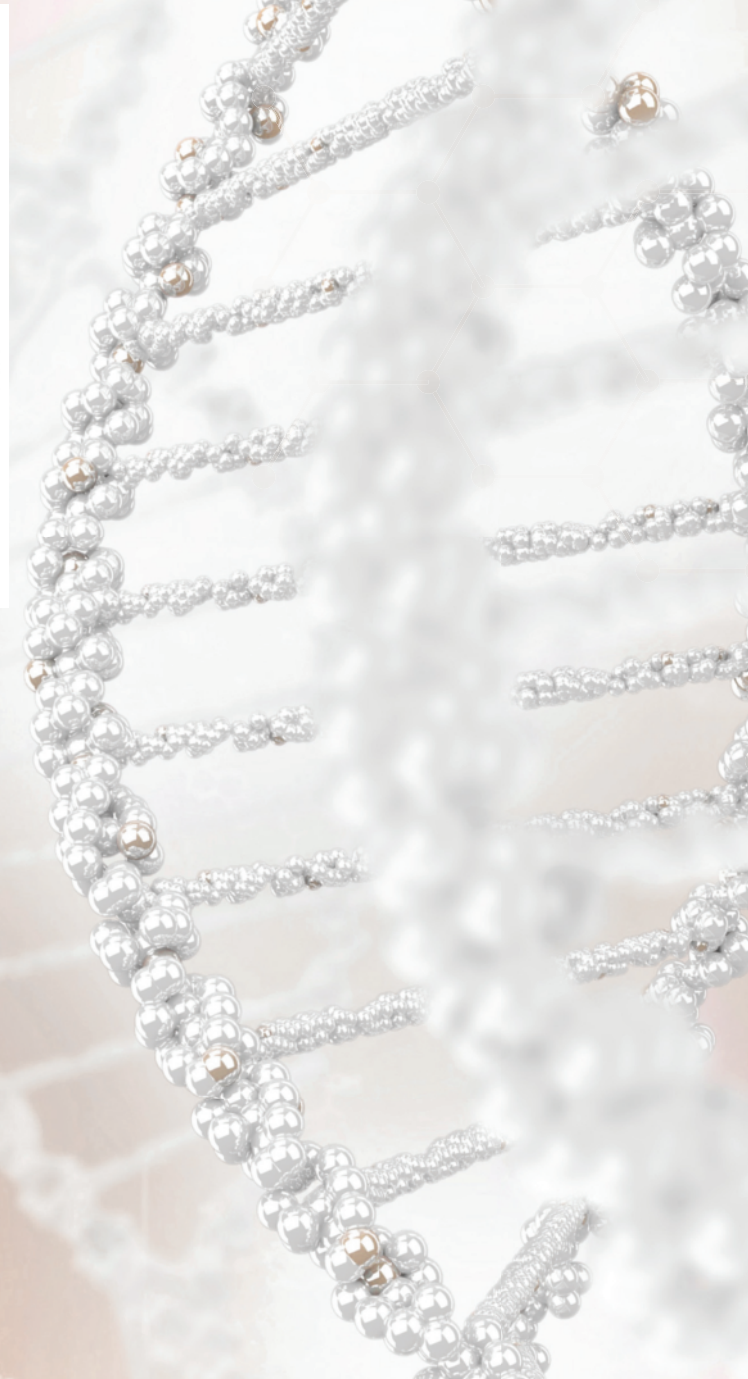




Farmacogenética dos Psicofármacos
Ferramenta para personalização do tratamento em psiquiatria

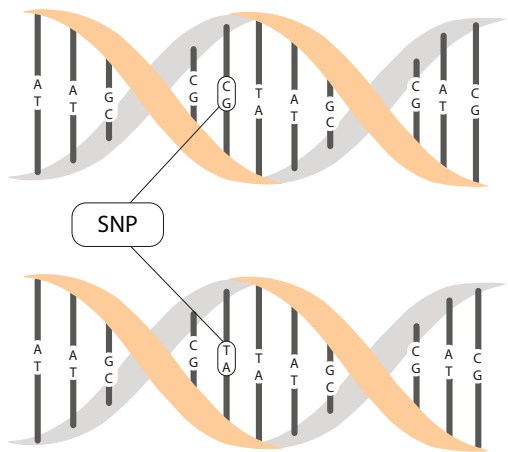
DO LABORATORIO PARA O CONSULTÓRIO

A Medicina Personalizada se utiliza dos novos métodos de análise molecular do genoma humano permitindo que tanto critérios diagnósticos quanto a terapia medicamentosa assumam um caráter individualizado. Desta forma, a sequência genômica de cada paciente torna-se determinante para a tomada de decisões clínicas.¹

Farmacogenética é o estudo das diferentes respostas farmacológicas, dada a uma característica genotípica individual de cada organismo, ou seja, estuda as variações nas respostas aos fármacos. Como a farmacogenética estuda a variabilidade genética na resposta aos medicamentos, a farmacogenômica avalia a resposta conjunta de vários genes a um determinado fármaco e qual a influência das variações do DNA nos efeitos do mesmo.^{2,3}

A partir de dados do sequenciamento do DNA humano, constatou-se que, apesar das profundas diferenças existentes entre os indivíduos quanto a seus fenótipos (cor da pele, peso, altura), seus genomas apresentam similaridade de cerca de 99,9%. A pequena variação interindividual de 0,1% se dá, principalmente, por meio de variações na sequência do DNA conhecidas como polimorfismos de nucleotídeo único (single nucleotide polymorphism; SNP), que existem aos milhões no genoma humano. Muitas vezes, os SNPs podem levar a mudanças na estrutura, função, quantidade ou localização das proteínas codificadas, alterando inúmeros processos fisiológicos. Além de interferirem em características físicas, os SNPs também podem influenciar o risco para doenças crônicas não-transmissíveis, necessidades de nutrientes e resposta aos alimentos.⁴





Duas sequências de fragmentos do DNA de diferentes indivíduos demonstrando uma variação na localização de um nucleotídeo único (polimorfismo C-T).⁴

Figura 1. Polimorfismo de nucleotídeo único (single nucleotide polymorphism; SNP).⁴

Com relação à terminologia, SNP descreve uma variação genética que existe na população humana em frequência $\geq 1\%$, enquanto que o termo MUTAÇÕES corresponde às variações genéticas existentes em $< 1\%$ da população humana.⁴

TESTES GENÉTICOS EM AMOSTRA DE SALIVA POSSUEM SENSIBILIDADE E PRECISÃO SEMELHANTES AO TESTE PADRÃO COM AMOSTRA DE SANGUE

Os testes genéticos são realizados em uma variedade de amostras biológicas, incluindo sangue, saliva, fezes, tecidos corpóreos, ossos ou cabelos.⁵

Estudos epidemiológicos para desenvolvimento de biobancos de DNA tem utilizado métodos de coleta menos invasivos, como as células epiteliais bucais coletadas da saliva.⁵⁻⁹

O DNA isolado de amostras da saliva em comparação ao DNA isolado do sangue não apresenta quantidade e pureza significativamente diferentes. Entretanto, o rendimento do DNA extraído da saliva é significativamente menor quando comparado ao extraído do sangue. Isto ocorre por conta do maior volume de sangue coletado (8.5 ml) em comparação com o volume de saliva (0.5 ml).⁸

DNA	Pureza (A260/A280)	Rendimento (µg)
Sangue (n = 45)	1.85 ± 0.004	253.63 ± 26.6
Saliva (n= 42)	1.85 ± 0.02	21.09 ± 3.64
T-test P-value	0.709	1.32142 x 10 ⁻¹¹

Tabela 1. Pureza e rendimento do DNA coletado de amostras de sangue em comparação com amostras de saliva.⁸

Apesar do menor rendimento do DNA extraído da saliva, a concordância genotípica para todos os marcadores analisados por Microarray é alta, com concordância de 98,7% em ambos os tecidos.⁸ No estudo de comparação do desempenho genotípico entre DNA extraído da saliva e o extraído do sangue, a maioria das amostras de saliva (90%), contendo 31,3% de DNA humano amplificável, tiveram uma porcentagem de genótipos válidos (genotyping call rate) superior a 96%.⁸

Um outro estudo comparativo demonstrou que a porcentagem de genótipos válidos (genotyping call rate) para o DNA extraído do sangue foi de 99%, comparável com a porcentagem de genótipos válidos para o DNA extraído da saliva, de 97%.⁹

FIGURA 2. Associação entre a porcentagem de DNA humano na saliva e a porcentagem de genótipos válidos.⁸

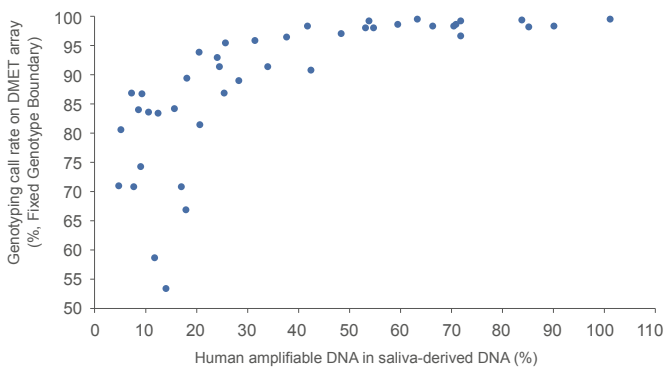
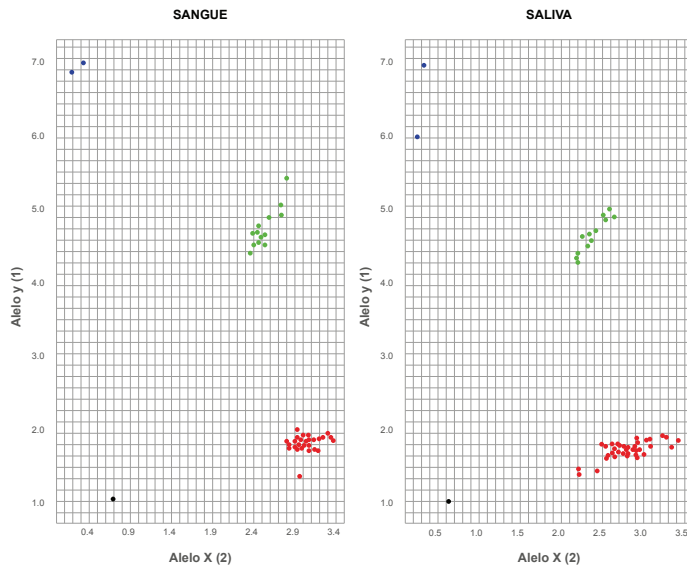


FIGURA 3. Plot Taqman da amplificação representativa para SNP (polimorfismos de nucleotídeo único) ilustrando a correspondência da força do sinal e da definição dos clusters para o DNA de ambas as fontes, sangue e saliva.⁹



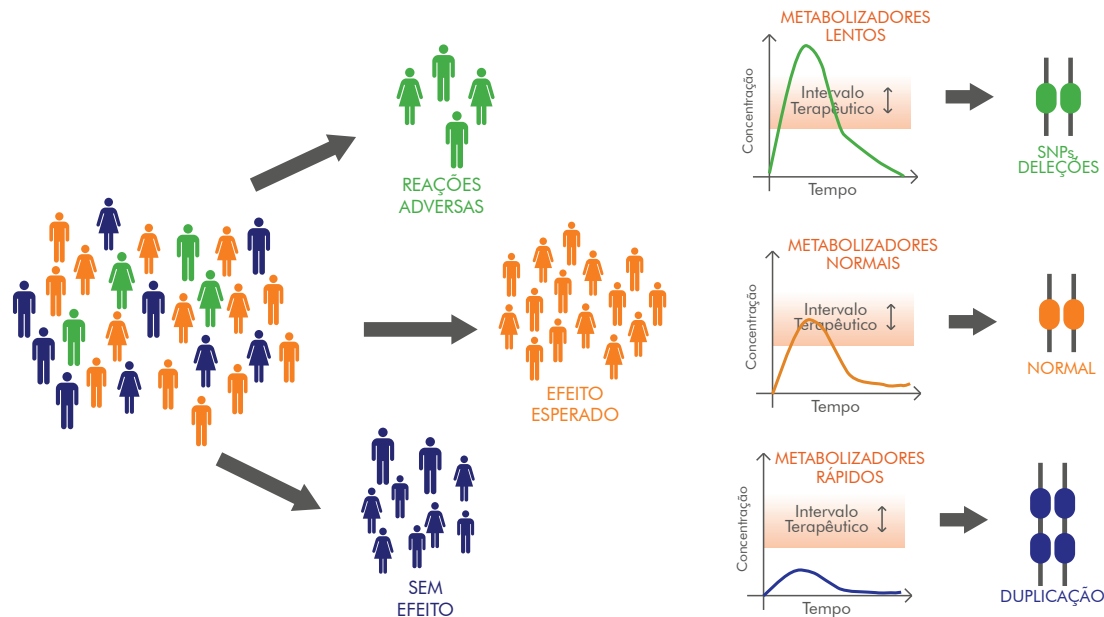
A análise do DNA extraído da saliva possui várias vantagens em relação ao padrão ouro de coleta em sangue, dentre elas: menor custo, facilidade da coleta, facilidade de manuseio das amostras, estabilidade das amostras cole-tadas em temperatura ambiente, procedimento não invasivo.⁵⁻⁹

FARMACOGENÉTICA EM SAÚDE MENTAL

A resposta aos psicofármacos possui uma variação extrema de paciente para paciente, apenas 30-75% dos pacientes respondem ao tratamento, enquanto que 65-75% apresentam reações adversas.¹⁰

As diferenças quanto às respostas terapêuticas entre os indivíduos geralmente estão associadas com polimorfismos genéticos presentes em genes que afetam a farmacocinética ou a farmacodinâmica.¹⁰⁻¹²

Figura 4. Exemplo esquemático das possíveis alterações de perfil metabólico de indivíduos com diferentes características genéticas (polimorfismos) em enzimas metabolizadoras.¹¹



As enzimas do citocromo P-450 estão envolvidas no metabolismo de uma grande variedade de compostos endógenos e exógenos, incluindo os psicofármacos.¹⁰⁻¹²

Polimorfismos genéticos das enzimas do CYP450

Dentre os polimorfismos genéticos das enzimas do CYP450, o mais frequente é o SNP do gene CYP2D6 que codifica uma enzima de mesmo nome e que é responsável pelo metabolismo de mais de 65 fármacos comumente utilizados como antidepressivos tricíclicos, neurolépticos, inibidores seletivos da recaptação de serotonina, antagonistas β -adrenérgicos, e outros.¹⁰⁻¹²

Os SNPs do gene CYP2D6 que resultam na inativação da enzima CYP2D6 ou na redução da sua atividade catalítica. Por este motivo, acredita-se que existam quatro subpopulações fenotípicas de metabolizadores que são: lentos, intermediários, extensivos e ultrarrápidos.^{2,10,12-14}

TABELA 2. Correlação fenotípica aos SNPs do gene CYP2D6¹⁴.

Fenótipo	% pacientes	Genótipo
Metabolizadores ultrarrápidos	8%	Indivíduos com duplicação de alelos funcionais. Nestes indivíduos, o medicamento é inativado e eliminado tão rapidamente que, em doses normais, praticamente não tem tempo de exercer o seu efeito terapêutico completo. Nesta categoria incluem-se muitos pacientes que não melhoram com nenhum medicamento em doses convencionais. Eles eram chamados de resistentes à terapia. Nestes casos, orientados pela monitorização sérica do medicamento, pode-se aumentar gradativamente a dose, atingindo ou mesmo ultrapassando a dose máxima recomendada para metabolizadores normais. O ajuste da dose tem transformado muitos desses pacientes resistentes em bons respondedores ao tratamento personalizado.
Metabolizadores Extensivos (função enzimática normal)	63%	Possuem dois alelos funcionais. Para estas pessoas são determinadas e recomendadas doses médias a serem usadas de cada medicamento. Assim prescritas, essas doses farão o efeito esperado em seu organismo.
Metabolizadores intermediários	12%	Apresentam variações das CYPs que metabolizam os medicamentos mais lentamente que os normais; eles são heterozigotos para um alelo deficiente ou carregam dois alelos que causam redução da atividade da enzima. Nestes casos, doses médias dos medicamentos poderão fazer seu efeito terapêutico. Todavia com o tempo, por ser eliminado mais lentamente, o medicamento se acumula no corpo e poderá causar efeitos colaterais. Nesses casos, pode-se fazer o controle das concentrações dos medicamentos no sangue (monitorização) para evitar eventos adversos.
Metabolizadores lentos ou pobres	17%	Indivíduos com 2 alelos não funcionais que causam deficiência funcional da enzima, levando a um acúmulo do medicamento no organismo em concentrações muito acima do desejável. São indivíduos extremamente sensíveis e apresentam sérios efeitos colaterais e principalmente efeitos tóxicos, mesmo com o uso de doses baixas ou médias dos medicamentos. Nestes casos, a monitorização do medicamento permite um ajuste para doses mais baixas, aproveitando ao máximo os efeitos terapêuticos, mas evitando-se os efeitos tóxicos e colaterais.

O **gene CYP2C19** codifica enzima de mesmo nome para a qual são conhecidos três fenótipos principais: METABOLIZADOR NORMAL, o qual possui dois alelos normais e corresponde a aproximadamente 60% da população. O segundo tipo é o METABOLIZADOR LENTO, o qual há deficiência funcional da enzima e corresponde a aproximadamente 16% da população. O último tipo, o METABOLIZADOR RÁPIDO, apresenta atividade aumentada da enzima e corresponde a cerca de 20% da população estudada em São Paulo.¹⁴

Medicamentos metabolizados pelas CYP2D6 e CYP2C19¹⁴

A enzima codificada pelo **gene CYP2D6** desempenha papel fundamental no metabolismo de muitos medicamentos usados na Depressão maior, Esquizofrenia, Transtorno bipolar, doenças cardiovasculares, controle da dor, controle hormonal de reincidência de câncer de mama, entre outros. Os antidepressivos metabolizados por essa enzima são os seguintes:¹⁴

Imipramina	Amitriptilina	Clomipramina	Desipramina
Nortriptilina	Trimipramina	Maprotilina	Fluoxetina
Paroxetina	Fluvoxamina	Trazodona	Venlafaxina

A enzima codificada pelo **gene CYP2C19** metaboliza muitos fármacos benzodiazepínicos, antiepilépticos, inibidores de bomba de prótons (usados no tratamento de úlceras e esofagites), antidepressivos tricíclicos, quimioterápicos, entre outros. Os antidepressivos metabolizados por essa enzima são os seguintes:¹⁴

Imipramina	Amitriptilina	Clomipramina	Desipramina
Trimipramina	Doxepina	Moclobemida	Fluoxetina
Sertralina	Citalopram	Escitalopram	

O **gene CYP3A4** está presente nas células intestinais e hepáticas, codifica enzima de mesmo nome que corresponde a 30% das enzimas CYP450 e metaboliza mais de 50% dos medicamentos, incluindo: antidepressivos, diazepínicos, neurolépticos, hormônios, além de carbamazepina, etosuximida, tiagbina e zonisamida. Indivíduos com alelo selvagem A produzem a enzima CYP3A4 em quantidade normal e são comuns (selvagens) na população. Já os portadores do alelo variante G codificam enzima com atividade

reduzida ou nula. Indivíduos com genótipo homozigoto variante GG são considerados metabolizadores lentos e os com genótipo heterozigoto AG são considerados metabolizadores intermediários. Aqueles com o genótipo homozigoto selvagem AA são denominados metabolizadores ultrarrápidos.¹⁵

Além desses fatores, a atividade das enzimas CYP2D6, CYP2C19 e CYP3A4 também pode ser influenciada pelo uso de drogas inibidoras ou indutoras.^{14,15}

ANÁLISE DE MUTAÇÃO DO DNA POR PCR E SEQUENCIAMENTO DE NUCLEOTÍDEOS

O teste consiste do isolamento do DNA genômico de células da mucosa bucal, o DNA é submetido à amplificação por PCR com iniciadores dirigidos às sequências-alvo dos genes CYP2D6, CYP2C19 e CYP3A4. As variantes alélicas são investigadas por discriminação alélica usando ensaios TaqMan. O número de cópias do gene CYP2D6 é determinado por PCR em tempo real e comparado a um gene referência. A sensibilidade da determinação do número de cópias é 99%.

REEMBOLSO PLANOS DE SAÚDE

A tabela TUSS (Terminologia Unificada da Saúde Suplementar) foi instituída pela Agência Nacional de Saúde Suplementar (ANS), através de sua Instrução Normativa nº 38, de 13 de novembro de 2009 e tem por objetivo padronizar os códigos e nomenclaturas dos procedimentos médicos.¹⁶

A tabela TUSS inclui o procedimento de testes genéticos, como os EXAMES DNALIFE, e os classifica pela doença que se pretende diagnosticar ou pela tecnologia de análise genética utilizada.

Assim, é possível orientar o paciente para que ele solicite o reembolso dos EXAMES DNALIFE facilitando assim o acesso a esta nova tecnologia.

Orientações solicitar reembolso

Colocar no pedido de exames:

- Os dados necessários do paciente;
- Especificação do EXAME solicitado;
- O código e a descrição da Tabela TUSS.

Solicite que o paciente entre em contato com o seu plano de saúde e confirme a cobertura destes códigos e o valor do reembolso, podendo estas informações facilitar o pedido de reembolso por parte do paciente. Informe que o reembolso, contudo, continuará seguindo as mesmas normas (de acordo com a modalidade e regulamento do plano), **não significando que o usuário terá as despesas reembolsadas integralmente.**

TABELA 3. Tabela de codificação dos Exames

Nome Comercial DNALIFE ®	Cód TUSS	Variantes Analisadas	Descrição TUSS
Farmacogenética, Metabolização de Psicofármacos – GENE CYP2D6	40503054	CYP2D6*2	Análise de DNA pela técnica multiplex por locus, por amostra
	40503046	CYP2D6*2XN	Análise de DNA pela técnica multiplex por locus EXTRA, por amostra.
	40503046	CYP2D6*3	Análise de DNA pela técnica multiplex por locus EXTRA, por amostra.
	40503046	CYP2D6*4	Análise de DNA pela técnica multiplex por locus EXTRA, por amostra.
	40503100	CYP2D6*5	Sequenciamento Gênico por Sequências de até 500 pares de bases
	40503046	CYP2D6*6	Análise de DNA pela técnica multiplex por locus EXTRA, por amostra.
	40503046	CYP2D6*9	Análise de DNA pela técnica multiplex por locus EXTRA, por amostra.
	40503046	CYP2D6*10	Análise de DNA pela técnica multiplex por locus EXTRA, por amostra.
Farmacogenética, Metabolização de Psicofármacos – GENE CYP2C19	40503046	CYP2DC19*2	Análise de DNA pela técnica multiplex por locus EXTRA, por amostra.
	40503046	CYP2DC19*3	Análise de DNA pela técnica multiplex por locus EXTRA, por amostra.
	40503046	CYP2DC19*17	Análise de DNA pela técnica multiplex por locus EXTRA, por amostra.
Farmacogenética, Metabolização de Psicofármacos – GENE CYP3A4	40503046	CYP3A4*22	Análise de DNA pela técnica multiplex por locus EXTRA, por amostra.

Referências:

1. B S Shastri. Pharmacogenetics and the concept of individualized medicine. The Pharmacogenomics Journal (2006) 6, 16–21.
2. Stuart A. Scott. Personalizing medicine with clinical pharmacogenetics. Genetics on Medicine 2011 Dec;13(12):987-95.
3. Gardner KR, et al. The Potential Utility of Pharmacogenetic Testing in Psychiatry. Psychiatry Journal Volume 2014, Article ID 730956.
4. Miae Doo and Yangha Kim. Obesity: Interactions of Genome and Nutrients Intake. Prev. Nutr. Food Sci. 2015;20(1):1-7.
5. Fanyue Sun, Ernst J Reichenberger. Saliva as a Source of Genomic DNA for Genetic Studies: Review of Current Methods and Applications. Oral Health Dent Manag 2014 Jun;13(2):217-22.
6. Ana P Nunes, et al. Quality of DNA extracted from saliva samples collected with the Oragene™ DNA self-collection kit. BMC Medical Research Methodology 2012, 12:65.
7. Hu Y, Ehli EA, Nelson K, Bohlen K, Lynch C, et al. (2012) Genotyping Performance between Saliva and Blood-Derived Genomic DNAs on the DMET Array: A Comparison. PLoS ONE 7(3): e33968. doi:10.1371/journal.pone.0033968.
8. Jean E Abraham, et al. Saliva samples are a viable alternative to blood samples as a source of DNA for high throughput genotyping. BMC Medical Genomics 2012, 5:19.
9. Kùchler EC, et al. Buccal cells DNA extraction to obtain high quality human genomic DNA suitable for polymorphism genotyping by PCR-RFLP and Real-Time PCR. J Appl Oral Sci. 2012 Jul-Aug;20(4):467-71.
10. Prows CA, et al. Drug-Metabolizing Enzyme Genotypes and Aggressive Behavior Treatment Response in Hospitalized Pediatric Psychiatric Patients. Journal of child and adolescent psychopharmacology 2009; 19(4):385-94.
11. Metzger IF, et al. Farmacogenética: princípios, aplicações e perspectivas. Medicina (Ribeirão Preto) 2006; 39 (4): 515-21.
12. Gillman PK. Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated. British Journal of Pharmacology (2007) 151, 737–748.
13. Hicks JK, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for CYP2D6 and CYP2C19 Genotypes and Dosing of Tricyclic Antidepressants. Clin Pharmacol Ther. 2013 May;93(5):402-8.
14. Carlos Alberto Crespo de Souza. FARMACOGENÔNIMA: JANELA À MEDICINA PERSONALIZADA. Revista de Psiquiatria. Agosto de 2013 - Vol.18 - Nº 8. Disponível em < <http://www.polbr.med.br/ano13/art0813.php>>. Acesso em 15 de maio de 2015.
15. SILVADO, C. – Farmacogenética e antiepilépticos: farmacologia das drogas antiepilépticas: da teoria à prática – J Epilepsy Clin Neurophysiol. 14 (2): 51-56, 2008
16. Instrução Normativa 38 de 13 de novembro de 2009 da Agencia Nacional de Saude (ANS)

Caso tenha interesse em receber algum dos artigos listados acima, solicite ao representante que o visita ou entre em contato através do email contato@dnalife.com.br.



DNA life

Rua Lauro Vicuna, 489 - Alto de Pinheiros
CEP 05454-090 - São Paulo/SP - Brasil

www.dnalife.com.br
Tel.: 11 3021-3704
contato@dnalife.com.br

