



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB
FACULDADE DE CEILÂNDIA – FCE
CURSO DE FARMÁCIA**

TAILINE DE AZEVEDO FEITOSA ARAUJO

**POLIMORFISMO GENÉTICO CYP2D6 EM PACIENTES PORTADORES DE LÚPUS
ERITEMATOSO SISTÊMICO**

**BRASÍLIA, DF
2017**

TAILINE DE AZEVEDO FEITOSA ARAUJO

**POLIMORFISMO GENÉTICO CYP2D6 EM PACIENTES PORTADORES DE LÚPUS
ERITEMATOSO SISTÊMICO**

Monografia de conclusão de curso apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico, na Universidade de Brasília, Faculdade Ceilândia.

Orientador: Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

Co-Orientador: Profa. Esp. Renata Souza Freitas

BRASÍLIA, DF
2017

TAILINE DE AZEVEDO FEITOSA ARAUJO

**POLIMORFISMO GENÉTICO CYP2D6 EM PACIENTES PORTADORES DE LÚPUS
ERITEMATOSO SISTÊMICO**

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva
(FCE/ Universidade de Brasília)

Profa. Ligia Canongia de Abreu Cardoso
(FCE/ Universidade de Brasília)

Prof. Daniel Oliveira Freire
(FCE/ Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, DF
2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom de vida e, aqui, ofereço a minha vida a ti.

Agradeço aos meus queridos pais, Tania Maria e Jurandi Juca por toda dedicação, sem esforço, para que eu me tornasse quem eu sou hoje. Obrigado por tudo.

Aos meus irmãos, Thamiris e Matheus pela paciência e auxílio nas horas de desespero.

À minha irmã mais velha, Maíra e meu cunhado, Paulo, por todo suporte durante a graduação e na vida.

Ao meu namorado, Muriel Silveira, pelo amor, carinho, companheirismo, paciência e amizade.

A toda minha família, que direta ou indiretamente, contribuíram para a minha formação e educação.

Às minhas amigas que sempre estiveram comigo me apoiando e amparando nas horas difíceis, Thais, Jéssica Jacovetti, Géssica Girão, Isadora, Isabela, Camyla, Paula, Monique, Julianna e Laryssa Faria.

Às amigas, que fiz no intercâmbio e levo para a vida Bianca e Rachel, muito obrigada por todos os momentos e ensinamentos.

À minha afilhada, Elena, que nasceu há pouco tempo, mas já me ensinou muito sobre força e vontade de viver.

Agradeço a minha orientadora, Prof.^a Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva, por todo aprendizado, toda proteção, por ajudar na minha formação como farmacêutica e mulher. Não tenho palavras para agradecer por tê-la ao meu lado nos últimos 2 anos e meio. Muito obrigado.

À Universidade de Brasília e ao seu corpo docente pelo aprendizado.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, em especial ao grupo patomol pela ajuda durante as pesquisas.

RESUMO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença auto-imune caracterizada pela perda da tolerância imunológica e amplo espectro de manifestações clínicas. Estudos mostraram incidência de 75% de alterações cognitivas, ansiedade e depressão no LES. Mas estas alterações cognitivas não se revelaram diferentes entre os pacientes ao se comparar variáveis relacionadas a gênero, etnia, tempo de doença, atividade da doença ou quaisquer manifestações clínicas, nem ao uso de medicamentos. No entanto, estes estudos não consideraram extensivamente o background genético para esta associação. O gene CYP2D6 é um membro da subfamília de genes CYP2D, no qual foi estudada a isoenzima 6 e sua variante alélica número 4, pertence a família do citocromo P450. As proteínas do citocromo P450 catalisam reações envolvidas no metabolismo de medicamentos, incluindo antidepressivos e antipsicóticos. Portanto, estudos envolvendo polimorfismos neste gene podem fornecer melhor suporte para compreensão de alterações neurológicas em LES. Para investigar a possível associação entre o polimorfismo CYP2D6 1934 G/A (rs3892097) com susceptibilidade para LES e suas manifestações clínicas, foi realizado um estudo caso-controle envolvendo 75 casos de LES em pacientes brasileiras, e 81 indivíduos saudáveis. Dados clínicos foram obtidos por meio da revisão de prontuários médicos, nos quais exames complementares e critérios ACR para a classificação de LES foram anotados. Para a genotipagem desta região foi utilizada a técnica PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism - polymerase chain reaction*). Com isto, foi possível relatar que a frequência do genótipo GG na amostra estudada foi de 61,3%, porém não houve associação entre a presença do genótipo e a ocorrência de LES. No entanto, este genótipo é fator protetor em LES para alterações neurológicas - ACR (P= 0,012; OR= 0,23) e também foi observada associação significativa com psicose (P= 0,009). Os genótipos com a presença do alelo recessivo GA / AA, demonstraram uma significância estatística para as características clínicas: convulsões (P= 0,026) e psicose (P= 0,026), ainda, constatou-se que a presença desse alelo é fator de risco para todas as alterações neurológicas estudadas (OR = 27, 27 e 1,61 respectivamente). Estes achados corroboram com associação do polimorfismo CYP2D6 1934 G/A com alterações neurológicas em LES na população estudada. **Palavras-chave:** CYP2D6. Polimorfismo. Lúpus. CYP2D6*4

ABSTRACT

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is an autoimmune disease characterized by loss of immunological tolerance and a wide range of clinical manifestations. Researchers observe cognitive alteration, anxiety and depression in 75% of cases of SLE. These cognitive alterations have not shown any bias in regards to variables such as gender, ethnicity, time since onset of disease, disease activity or any other clinical manifestations, as well as medication use. These studies, however, do not consider extensively, for the purposes of these associations, the genetic background of subjects. The CYP2D6 gene codifies the P450 cytochrome, the IID subfamily and polypeptide 6. Proteins from cytochrome P450 catalyse reactions involved in the metabolism of antidepressants and antipsychotics. Studies considering polymorphisms in this gene may, therefore, provide better support to the comprehension of neurological alterations in SLE. In order to investigate the possible association of polymorphism CYP2D6 1934 G/A (rs3892097) with SLE susceptibility and its clinical manifestations, a case-control study was carried out, involving 75 cases of SLE in Brazilian patients, as well as 81 healthy individuals. Clinical data were obtained by reviewing medical records, in which complementary exams and ACR criteria for the classification of SLE were noted. Genotyping of the relevant region was performed with the PCR-RFLP technique (restriction fragment length polymorphism -polymerase chain reaction). The frequency of the GG phenotype within the sample was found to be 61,3%, though there was no evidence of association of this genotype and SLE occurrence. This genotype was observed to be a protecting factor in SLE against the manifestation of neurological alterations - ACR ($P = 0,012$; $OR = 0,23$), as well as significant association with psychosis ($P = 0,009$). Genotypes with allele GA / AA present have shown a correlation with statistical significance towards: convulsions ($P=0,026$) and psychosis ($P=0,026$). The presence of this allele was observed to be a risk factor to all considered neurological alterations ($OR = 2,27$ e $1,61$ respectively). Such findings corroborate the association of the GG genotype with neurological alterations in SLE in the studied population.

Keywords: CYP2D6. Polymorphisms. Lupus. CYP2D6*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	METODOLOGIA.....	11
3	RESULTADOS	14
4	DISCUSSÃO	18
5	CONCLUSÕES	21
6	REFERÊNCIAS.....	22
7	ANEXO I.....	28

1 INTRODUÇÃO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica, autoimune e multifatorial. A sociedade Brasileira de Reumatologia evidencia dois tipos principais de lúpus: o cutâneo, que se manifesta apenas com manchas na pele (geralmente avermelhadas ou eritematosas), principalmente nas áreas que ficam expostas à luz solar (rosto, orelhas, colo e nos braços) e o sistêmico, no qual um ou mais órgãos internos são acometidos.

É uma doença multissistêmica, de etiologia ainda desconhecida, caracterizada pela atuação do sistema imune de forma exorbitante, e origina uma alta quantidade de anti corpos que, em pacientes susceptíveis, depositam-se nas células e em vasos de médio e pequeno calibre desencadeando reações alérgicas que podem atingir vários sistemas do organismo. (NERY F.G. et. al., 2004)

O Colégio Americano de Reumatologia (American College of Rheumatology - ACR) apresentou em 1982, e revisou em 1997, onze critérios, aceitos universalmente, para diagnosticar o LES, são eles: artrite; rash malar; rash discóide; fotossensibilidade; serosite; alteração renal; alteração hematológica, úlceras orais/ nasais; anticorpo anti-nuclear, alterações imunológicas; alterações neurológicas. O paciente deve apresentar pelo menos quatro sintomas para diagnóstico da patologia.

Dentre os pontos demonstrados pela ACR, é notável que o Sistema Nervoso Central (SNC) é frequentemente atingido, gerando sintomas neurológicos/ psiquiátricos. Especula-se sobre a alteração de alguns neurotransmissores resultando em distúrbios psicológicos. (AYACHE, D. C. G e COSTA, I.P. 2009)

O diagnóstico das alterações neurológicas tem um espectro muito variável, podendo prejudicar o sistema nervoso central e periférico. O ACR relacionou 19 síndromes neuropsiquiátricas que estão relacionadas ao LES. São síndromes neuropsiquiátricas do sistema nervoso central: estado confusional agudo; distúrbios cognitivos, psicose; distúrbios de humor; distúrbios de ansiedade; cefaléia; doença cerebrovascular; mielopatia; distúrbios de movimento; síndromes desmielinizantes, convulsões e meningite asséptica. As síndromes descritas para o sistema nervoso periférico são: neu-

ropatia craniana; polineuropatia; plexopatia; mononeuropatia simples ou múltipla; poliradiculoneuropatia inflamatória aguda; desordens autonômicas; miastenia grave. (GALINDO C. V.F. e VEIGA R. K.A, 2010)

As alterações neurológicas mais comuns em pacientes com LES são as convulsões, psicose ou depressões repentinas. (VIANNA, R. *et. al.*, 2010)

Polimorfismo genético é uma manifestação genética, não rara que acomete pelo menos um em cada cem habitantes (1%) da população. Ao contrario de reorganização, essa mutação é capaz de criar novos pares de bases (alelos), que poderão ou não, apresentar sintomatologia em um determinado grupo de indivíduos. Essa variabilidade genética é transmitida ao longo das gerações. É possível caracterizar a quantidade de cópias de uma sequência presente em determinado sítio em um cromossomo como: *Variable Number of Tandem Repeat* (VNTR) identificados como repetições em série em número variável – minissátelites -; e *Short Tandem Repeats* (STR) caracterizados por repetições curtas em série – microssátelites. (SNUSTAD; SIMMONS, 2005)

Dentre as variações genéticas a chamada de *Single- nucleotide polymorphisms* (SNP) é uma das mais frequentes, onde são substituídos pares de nucleotídeos únicos, bem como a inserção ou deleção de nucleotídeos. (SNUSTAD; SIMMONS, 2005)

O gene CYP2D6 é um membro da subfamília de genes CYP2D, no qual foi estudada a isoenzima 6 e sua variante alélica número 4, pertence a família do citocromo P450. As proteínas do citocromo P450 são monoxigenases que catalisam muitas reações envolvidas no metabolismo do fármaco e síntese de colesterol, esteróides e outros lipídios. Essa proteína expressa principalmente pelo fígado e é responsável pelo metabolismo de várias classes terapêuticas, incluindo antidepressivos e antipsicóticos. (BERTILSSON L. *et. al.*, 2002)

A maioria dos agentes químicos precisa ser ativada metabolicamente para exercer seus efeitos. A família do citocromo P450 (CYP) é a mais importante dentre as enzimas ativadoras que exerce essa função metabólica. Já foram caracterizadas 15 isoenzimas da família do CYP, dessa qualificação 8 formas de CYP (CYP1A1,1A2, 2A6 2C9, 2D6, 2E1 e 3A4) se mostraram polimórficas. Então, a capacidade do individuo de

metabolizar esses agentes pode ser alterada ao portador dos alelos variantes. (TOPIC, E. *et. al.*, 2000)

A isoforma CYP2D6 possui mais de 20 alelos mutados, esses, metabolizam mais de 25% dos agentes químicos. O alelo mutante CYP2D6*4 com alteração de base G₁₉₃₄ para A está entre um dos mais comuns. Essa mutação pode resultar em uma diminuição ou até inibir atividade da isoenzima CYP2D6. (TOPIC, E. *et. al.*, 2000)

O polimorfismo deste gene causa uma alteração no RNA mensageiro e forma um códon de parada prematuro, resultando em um metabolismo deficiente da 4-hidroxilase de debrisoquina. Descreveu-se então, que os portadores do alelo mutante são mais suscetíveis ao dano neurotóxico devido à enzima disfuncional e conseqüentemente têm uma maior taxa de perda neuronal, podendo desenvolver doenças neurológicas em idades mais precoces. Estudos revelaram a associação desse polimorfismo no surgimento de distúrbios neurológicos como a Doença de Parkinson e Alzheimer. (LU, Y. *et. al.*, 2013)

Com isto, o objetivo deste estudo é avaliar a contribuição de polimorfismo CYP2D6*4 para a susceptibilidade e prognóstico em portadores de LES, especialmente as alterações neurológicas.

2 METODOLOGIA

2.1 Participantes da pesquisa

Os participantes da pesquisa foram divididos em grupo caso e grupo controle, totalizando 156 indivíduos ao todo, sendo o grupo caso constituído de pacientes portadores de LES (75 mulheres, entre os 18 e 76 anos, idade de 37 ± 12 anos) e o grupo controle sem descrição de critérios para doenças auto-imunes foi incluído neste estudo (81 mulheres entre 18 e 74 anos, com idade média de 35 ± 13 anos).

Os pacientes foram recrutados em uma unidade hospitalar do Distrito Federal. Todos os pacientes preencheram o número mínimo de critérios de classificação do ACR. Características clínicas dos portadores de LES também foram anotadas.

A coleta de dados foi executada após a aprovação do protocolo de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (ANEXO 1). Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

2.2 Procedimentos Técnicos e Laboratoriais

2.2.1 Extração de DNA

As amostras selecionadas foram coletadas por punção venosa para obtenção do DNA. O DNA foi extraído de sangue periférico com uso do kit *Invisorb Spin Blood Mini Kit (250)* da empresa Invitex (catálogo #CA10-0005, lote #1031100300, Alemanha). A concentração do DNA obtido foi estimada pelo espectrofotômetro (NANODROP Technologies Inc., Wilmington, DE, USA). A concentração média alcançada foi de 20 ng/ μ L. Posteriormente, o DNA diluído foi submetido à estratégia PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism Polymerase Chain Reaction*)

2.2.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A técnica da PCR permite que uma determinada região do genoma seja multiplicada milhões vezes. A sequência de oligonucleotídeo estudada para avaliar o polimorfismo foi:

<i>Gene</i>	<i>Oligonucleotídeos</i>
<i>CYP2D6</i> 1934	
G/A (rs3892097)	<i>Foward</i> 5' GCC TTC GCC AAC CAC TCC G 3' <i>Reverse</i> 5' AAA TCC TGC TCT TCC GAG GC 3'

Esta região flanqueia o exón 3/ intron 4 do gene *CYP2D6*. (KRAJINOVIC, M. et.al., 1999)

Em cada reação de PCR, foram utilizados 4,0 µL de DNA genômico na concentração de 2,5 ng/µL; 2,5µL de tampão 10X TaqPol, (Ludwig Biotecnologia LTDA, Brasil); 0,5 µL de MgCl₂ (50 mM, Ludwig Biotecnologia LTDA, Brasil), 0,5 µL de dNTPs (2,5mM; Ludwig Biotecnologia LTDA, Brasil); 0,5 µL de Taq-Polimerase (Ludwig Biotecnologia LTDA, Brasil), 5U/µL); 1,5µL de cada oligonucleotídeo *foward* e *reverse* (*Invitrogen Life Technologies*, EUA, 10 pmol/µL); completando o volume final de 25 µL com água ultrapura por reação.

A PCR do gene *CYP2D6* foi realizada nas seguintes etapas: desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento dos oligonucleotídeos 60°C por 15 segundo e extensão 72°C por 20 segundos. Extensão final 72°C por 7 minutos.

O produto resultante é um fragmento de 355pb.

O equipamento utilizado foi termociclador TC-512 (Techne, EUA)

2.2.3 RFLP do gene CYP

A digestão enzimática do produto da PCR foi realizada utilizando a enzima de restrição BseBI. A reação de restrição utilizou: enzima de restrição BseBI (Jena, Alemanha). Para isto foi utilizado 10,0µL do produto da PCR; 2,0µL de tampão da enzima; 1,0µL de enzima BseBI (10,0µL), 17,0µL de água ultra pura. O sistema foi mantido a 60°C por 1 hora e 30 minutos.

Os produtos da digestão foram submetidos uma corrida eletroforética em um gel de agarose a 4%, com brometo de etídio em uma potencia de 50W por 1 hora e 30 minutos.

Quando digerido, o polimorfismo CYP2D6*4 aparece em duas bandas de 105 e 250 pb, definindo a presença do alelo G, e o aparecimento de um fragmento não digerido de 355 pb indica a presença do alelo A..

2.3 Análise estatística

A aderência ao equilíbrio Hardy-Weinberg para a frequência genotípica em controles foi analisada pelo teste do qui-quadrado com um grau de liberdade. As frequências genotípica e alélica nos pacientes com LES foram comparadas ao grupo controle por meio do teste qui-quadrado em modelos recessivos e dominantes. A associação de características clínicas para cada genótipo foi analisada com o teste qui-quadrado e foi adotado o nível de significância de 5%. Também foram calculadas *Odds ratio* (OR) das frequências alélicas e genotípicas, com intervalo de confiança (IC) de 95%.

Para os cálculos foi utilizado o programa estatístico utilizado foi o SPSS (versão 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3 RESULTADOS

3.1 Frequência genotípica e alélica do polimorfismo *CYP2D6* 1934 G/A (*rs3892097*) em LES

A frequência genotípica do polimorfismo *CYP2D6* 1934 G/A (*rs3892097*) nos controles estava em equilíbrio Hardy-Weinberg ($P= 0,162$). Após analisar a distribuição genotípica deste polimorfismo é possível afirmar que não há diferença estatística entre a distribuição dos genótipos dos grupos caso e controle (genótipos G/G, G/A e AA – 46, 22 e 7 , respectivamente – contra 58, 49 e 4, respectivamente, $P= 0,334$). Também não houve diferença da distribuição alélica entre os grupos ($P= 0,107$). Os dados estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo *CYP2D6* 1934 G/A (*rs3892097*) nos grupos caso e controle

CYP2D6 1934 G/A (<i>rs3892097</i>)	GRUPOS								
	Caso			Controle			P	OR	IC
	N	N % da coluna da camada	N	N % da coluna da camada					
GG	46	61,3%	58	71,6	0,334	N/A	N/A		
GA	22	29,3%	19	23,5					
AA	7	9,3%	4	4,9					
Total	75	100,0%	81	100					
GG	46	61,3%	58	71,6	0,174	0,63	0,32 - 1,23		
GA+AA	29	38,7%	23	28,4					
Total	75	100,0%	81	100					
G	114	76,0	135	83,3	0,107	0,64	0,36 - 1,11		
A	36	24,0	27	16,7					
TOTAL	150	100,0	162	100					

* $P < 0,05$; N/A: não se aplica

3.2 Frequência genotípica e alélica e manifestações clínicas em pacientes com LES

Na amostra estudada, 61,3% (n=46) das pacientes eram portadoras dos genótipos homozigotos dominantes GG (tabela 1), o qual demonstrou seu fator protetor para as alterações neurológicas – ACR (P = 0,012; OR = 0,23). Os demais critérios ACR parece não estar relacionados com alterações genotípicas neste polimorfismo estudado (tabela 2).

3.3 Manifestações neuropsiquiátricas em pacientes caso e controle

A partir dos resultados anteriores, foram analisadas quais características clínicas dentro do critério ACR, alterações neurológicas, (tabela 3) estavam relacionadas com a presença do polimorfismo CYP2D6 1934 G/A (rs3892097). Observou-se que o seguinte quadro clínico apresenta associação estatística com o genótipo dominante GG (sendo esse genótipo, fator protetor) psicose (P = 0,009). Já o genótipo com a presença do alelo recessivo A, GA / AA, demonstrou um significância estatística para as sintomatologias: convulsões (P = 0,026) e psicose (P = 0,026). Ainda, constatou-se que esses genótipos, com o alelo recessivo, apresentaram como fator de risco para convulsões, psicoses e depressão (OR = 27, 27 e 1,61 respectivamente).

Tabela 2: Distribuição genotípica do polimorfismo *CY2D6 1934 G/A (rs3892097)* em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) conforme os critérios ACR.

<i>CRITÉRIO ACR</i>		GG		GA+AA		P	OR	IC
		N	N % total da linha	N	N % total da linha			
Artrite	SIM	41	64,1%	23	35,9%	0,319	2,14	0,59 - 7,80
	NÃO	5	45,5%	6	54,5%			
Rash malar	SIM	25	64,1%	14	35,9%	0,611	1,28	0,50- 3,23
	NÃO	21	58,3%	15	41,7%			
Rash discoide	SIM	6	50,0%	6	50,0%	0,521	1,74	0,50- 6,02
	NÃO	40	63,5%	23	36,5%			
Fotossensibilidade	SIM	25	58,1%	18	41,9%	0,514	1,37	0,53- 3,55
	NÃO	21	65,6%	11	34,4%			
Serosite	SIM	16	57,1%	12	42,9%	0,561	0,75	0,29- 1,96
	NÃO	30	63,8%	17	36,2%			
Alteração renal	SIM	26	55,3%	21	44,7%	0,16	0,5	0,18- 1,39
	NÃO	20	71,4%	8	28,6%			
Alteração Hematológica	SIM	36	57,1%	27	42,9%	0,11	0,27	0,05- 1,31
	NÃO	10	83,3%	2	16,7%			
Úlceras orais / nasais	SIM	8	53,3%	7	46,7%	0,48	0,66	0,21- 2,07
	NÃO	38	63,3%	22	36,7%			
Anticorpo antinuclear	SIM	46	61,3%	29	38,7%	N/A	N/A	N/A
	NÃO	0	0,0%	0	0,0%			
Alteração imunológica	SIM	34	63,0%	20	37,0%	0,63	1,27	0,46- 3,55
	NÃO	12	57,1%	9	42,9%			
Alterações neurológicas	SIM	5	33,3%	10	66,7%	0,012*	0,23	0,07- 0,77
	NÃO	41	68,3%	19	31,7%			

* P<0,05; N/A: não se aplica

Tabela 3: Distribuição genotípica do polimorfismo *CYP2D6 1934 G/A (rs3892097)* em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) com alterações neurológicas.

	CYP2D6 1934 G/A																	
	GG								GA+AA				Total					
	PSICOSE CONVULSÕES ACR								PSICOSE CONVULSÕES ACR				PSICOSE CONVULSÕES ACR					
	SIM				NÃO				SIM		NÃO		SIM		NÃO			
	N	%	N	%	P	OR	IC	N	%	N	%	P	OR	IC	N	%	N	%
CONVULSÕES	1	12,5%	0	0,0%	0.108	NA	NA	6	75,0%	1	12,5%	0.026*	27	2,50-291,18	7	87,5%	1	12,5%
PSICOSE	2	22,2%	0	0,0%	0.009*	NA	NA	6	66,7%	1	11,1%	0.026*	27	2,50-291,18	8	88,9%	1	11,1%
DEPRESSÃO	1	12,5%	0	0,0%	0.108	NA	NA	3	37,5%	4	50,0%	0.664	1,61	0,29-9,20	4	50,0%	4	50,0%

* P<0,05; N/A: não se aplica

4 DISCUSSÃO

Avaliar fatores genéticos envolvidos no lúpus eritematoso sistêmico tem sido cada vez mais recorrente na pesquisa e prática clínica. No presente trabalho, foi explorada a possibilidade da frequência do polimorfismo *CYP2D6* 1934 G/A (*rs3892097*) estar associado com a susceptibilidade (tabela 1) e na patogênese (tabelas 2 e 3).

A primeira etapa do estudo foi à análise da associação entre a presença do polimorfismo *CYP2D6* 1934 G/A (*rs3892097*) e portadores de Lúpus eritematoso sistêmico das pacientes em tratamento no Distrito Federal (Brasil). Com isto, não foi encontrada associação entre a presença do polimorfismo *CYP2D6* 1934 G/A (*rs3892097*) e a susceptibilidade para a patologia auto-imune.

As mutações no gene *CYP2D6* podem resultar em fenômenos de ultra-rápido, extenso, intermediário e pobre metabolizador (EICHELBaum *et al.* 1991).

Um estudo feito na Polônia detectou que a incidência do polimorfismo *CYP2D6* é maior em pacientes com LES quando comparados com o grupo controle. Porém, essa diferença não foi estatisticamente significativa. Mas conclui que a maior ocorrência de alelo mutante do gene *CYP2D6* em pacientes com LES podem sugerir um aumento no surgimento da sintomatologia da doença. (SKReTKOWICZ, J. *et al.*, 2011)

No entanto, uma meta-análise encontrou uma associação entre o polimorfismo *CYP2D6* e a suscetibilidade com doenças auto-imunes. O estudo expôs a associação de LES e com o polimorfismo do gene *CYP2D6**4, alegando esse tipo de polimorfismo como fator de risco para a enfermidade (LES, OR = 2,007, IC = 1,170-3,442, p = 0,011). (LEE, Y.; BAE, S-C., 2016). O que condiz com os resultados apresentados no presente trabalho.

No tocante à associação deste polimorfismo com as características clínicas, houve forte associação entre o genótipo A/G e A/A com a presença de alterações neurológicas. O que não é comum em estudos, tendo em vista que o gene *CYP2D6* está relacionado com a biotransformação de químicos. (LAVANDERA, J. A. *et al.*, 2006)

A ansiedade e o comportamento agressivo estão relacionados aos baixos níveis de serotonina. Nos estudos de busca de substratos endógenos relacionados com es-

sas alterações no sistema nervoso central, foi encontrado que o CYP2D6 está envolvido na conversão de 5-metoxitriptamina em serotonina. Porém a relação entre esse gene e a vulnerabilidade aos transtornos de depressão e ansiedade ainda é desconhecida. (BIJL, M. J, *et. al.*, 2009).

Os quadros neurológicos descritos na literatura são perturbações psiquiátricas de adaptação da doença crônica, além daquelas provocadas pela medicação. Essas perturbações são mais evidenciadas por sintomas depressivos e de ansiedade. (ALMEIDA, A. *et al.*, 2004)

A depressão é o distúrbio psiquiátrico com maior prevalência nos pacientes diagnosticados com LES. Essa desordem pode ser explicada pelo estresse de ter uma doença crônica e pelas altas doses de corticosteróides utilizadas no tratamento de LES. Porém estudos demonstram que a irregularidade do sistema imune pode originar danos ao SNC ocasionando a síndrome. (NERY *et. al.*, 2004)

Já a convulsão é uma descarga neuronal eletrencefalograficamente, podendo ser de curta duração ou longa duração, sendo essa última mais intensa e duradoura. Esse descontrole cerebral pode ocasionar perda do tono de postura e queda do paciente, contrações musculares clônicas isoladas, ou bilaterais e simétricas. (SHAVITT, R. G. *et al.*, 2001).

Psicose é compreendida por um estado de excitação, sonambulismo, automatismo de ambulatórios com estados favoráveis a reincidiva. Nessa enfermidade não há recusa de laços fraternos, mas a impossibilidade de mante-lô. Mantendo o individuo recluso e solitário. (DUNKER, C.I.L., 2005)

O presente estudo demonstrou que a presença do alelo recessivo -A- é um fator de risco para esses sintomas clínicos. Pacientes que tem a presença desse alelo tem o risco aumentado de desenvolver esse essas desordens neurológicas, de acordo com o OR calculado.

Analisando doenças crônicas como fibromialgia, artrite reumatóide e lúpus eritematoso sistêmico, esse último configura significativamente como o grupo com maior taxa indicadora de alteração psiquiátrica. (MELO, F. L; SILVA, S. L., 2012)

Quando comparamos a prevalência de alterações psicológicas dos pacientes caso e controle, podemos perceber que há diferença estatística entre os grupos caso e controle em todos os distúrbios neuropsiquiátricos (convulsão, psicose e depressão). Compreendendo que a distribuição do genótipo pode contribuir para o surgimento dessas alterações.

5 CONCLUSÕES

Este estudo contribui para a investigação da associação CYP2D6 1934 G/A (rs3892097) na patogênese do LES na população brasileira. Ressalta-se que a população brasileira é altamente miscigenada, de grande variabilidade genética e possui distribuição alélica e genotípica muito parecida com a população mundial, segundo dados do NCBI. No entanto, neste estudo, não houve associação entre LES e o polimorfismo supracitado.

Apesar disso, os resultados foram capazes de verificar que há associação estatística entre o genótipo homozigoto dominante (GG) do polimorfismo CYP2D6 1934 G/A (rs3892097) e manifestações clínicas “psicoses/convulsões – ACR, sendo este genótipo protetor. Observa-se que a ocorrência de alterações neurológicas parece estar associada à presença do alelo recessivo A, sendo este um fator de risco para as alterações neurológicas analisadas: convulsões, psicoses e depressão (OR = 27, 27 e 1,61 respectivamente).

Contudo, destaca-se que sendo o LES uma doença complexa e multifatorial que pode apresentar variações em sua frequência, manifestação clínica e gravidade nas diferentes etnias (GONZÁLEZ; TOLOZA; ALARCÓN, 2014) e que pode ter, atrelados à sua patogênese e desenvolvimento, fatores genéticos, epigenéticos e ambientais, é importante e necessário que haja maior investigação em diferentes populações para que se tenha um resultado mais consistente acerca da influência do polimorfismo CYP2D6 1934 G/A (rs3892097) e a ocorrência, manifestação clínica e gravidade de Lúpus Eritematoso Sistêmico.

6 REFERÊNCIAS

AGUNDEZ, J. A. G. et al. 1995. **Frequency of CYP2D6 allelic variants in multiple sclerosis**. Acta Neurol Scand, Munksgaard, v. 92, p. 464-467.

ALMEIDA, S. et. al. 2004. **Manifestações Neuropsiquiátricas no Lúpus Eritematoso Sistêmico - A propósito de um caso clínico**. Revista do Serviço de Psiquiatria do Hospital Fernando Fonseca, v.1, n.1, p. 44-52.

APPENZELLER, S.; COSTALLAT, L. T. L, MARTINI, R. 2002. **Evolution and prognostics factors of systemic lupus erythematosus in relation to the age at the onset of the disease**. Revista Brasileira de Reumatologia, v. 42, n.2, p. 91-98.

APPENZELLER, S.; COSTALLAT, L. T. L, MARTINI, R. 2005. **Survival Curve and Prognosis Factors in the Childhood Systemic Lupus Erythematosus**. Revista Brasileira de Reumatologia, v. 45, n. 4, p. 195-200.

APPENZELLER, S.; COSTALLAT, L. T. L. 2003. **Primary central nervous system involvement in systemic lupus eritematosus**. Revista Brasileira de Reumatologia, v.43, n.1, p.20-25.

ARIZA, K. et. al. 2010. **Health-related quality of life, psychological and pathophysiological factors in patients with diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus – SLE**. v. 28, n. 1, p. 27-36.

AYACHE, D. C. G e COSTA, I.P. 2009. **Traços de personalidade e suas alterações em mulheres com lúpus**. Revista Brasileira de Reumatologia, v.49, n.6, p. 643-57.

BELTRÃO, S. M. R. et al. 2013. ***Sintomas psiquiátricos em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico: frequência e associação com atividade da doença com o uso do Questionário de Morbidade Psiquiátrica em Adultos.*** Revista Brasileira de Reumatologia, v. 53, n. 4, p.328-334.

BERTILSSON L. et. al. 2002. ***The African-specific CYP2D617 allele encodes an enzyme with changed substrate specificity.*** Clinical Pharmacology & Therapeutics. V.71, n.1, p.77-88.

BIJL, M. J. et al. 2009. ***Influence of the CYP2D6*4 polymorphism on dose, switching and discontinuation of antidepressants.*** British Journal of Clinical Pharmacology, v. 65 (4), p. 558-64.

BORBA, E. F., et al. 2008. ***Consensus of Systemic Lupus Erythematosus.*** Revista Brasileira de Reumatologia, v. 48, n.4, p. 196-207.

BRASIL, 2013. PORTARIA Nº 100, DE 7 DE FEVEREIRO DE 2013. IN: SAÚDE, M.D. (E.d.) DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO.

BROWN, M. A. Et al. 2000. ***Polymorphisms of the CYP2D6 gene increase susceptibility to ankylosing spondylitis.*** Human Molecular Genetics, v. 9, n. 11, p.1563-1566

CAL, S. F. L. M. 2011. ***Revisão da literatura sobre a eficácia da intervenção psicológica no tratamento do lúpus eritematoso sistêmico.*** Psicologia: Teoria e Pesquisa, v. 27, n. 4, p.485-490.

DUNKER, C. I. L. 2005. ***A loucura histérica e a psicose.*** Mental, Barbacena, v. 3, n. 5, p. 57-72.

EICHELBAUM et al.1991. ***Deletion of the Entire Cytochrome P450 CYP2D6 Gene as a Cause of Impaired Drug Metabolism in Poor Metabolizers of the Debrisoquine/Sparteine Polymorphism.*** American Journal of Human Genetics, v. 48, p. 943-950.

GALINDO C. V. F. e VEIGA R. K. A. 2010. ***Clinical and diagnostic features of systemic Lupus Erytematosus: a Review.*** Revista eletrônica de Farmácia, v. 7, n. 4, p. 46 – 58.

GLADMAN, D. et. al. 1996. ***The development and validation of the systemic lupus international collaborating clinics/american college of rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus.*** American College of Rheumatology, v. 39, n. 3, p. 363-369.

GÓMEZ-PUERTA, J. A. e CERVERA, R. 2008. ***Lúpus eritematoso sistêmico.*** Medicina & Laboratorio, v. 14, p. 211-223.

GONZÁLEZ, L. A.; TOLOZA, Sergio M. A.; ALARCÓN, G. S. 2014. ***Impact of Race and Ethnicity in the Course and Outcome of Systemic Lupus Erythematosus.*** Rheumatic Disease Clinics Of North America, v. 40, n. 3, p.433-454.

GOUGH et. al., 1993. ***Localization of the CYP2D gene locus to human chromosome 22q13.1 by polymerase chain reaction, in situ hybridization, and linkage analysis.*** Genomics, v. 15, n. 2, p. 430-432.

KIMURA, et. al. 1989. ***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, v. 45, n. 6, p. 889-904.

Koogan. S.A. - 2005. SNUSTAD, D. Peter; SIMMONS, Michael J. .**Fundamentos de Genética**, Ed: 4. São Paulo: Editora Guanabara

KORTUNAY, S. et al. 1999. **CYP2D6 polymorphism in systemic lupus erythematosus patients**. European Journal Of Clinical Pharmacology, v. 55, n. 1, p.21-25.

KRAJINOVIC, M. et al. 1999. **Susceptibility to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Influence of CYP1A1, CYP2D6, GSTM1, and GSTT1 Genetic Polymorphisms**. Blood, v. 93, p. 1496-1501.

LAVANDERA, J. A. et. al., 2006. **CYP2D6 Polymorphisms in Patients with Porphyrias**. Molecular Medicine, v. 2, p. 259–263.

LEE, Y.; BAE, S-C., 2016. **Association between Functional CYP2D6 Polymorphisms and Susceptibility to Autoimmune Diseases: A Meta-Analysis**. Immunological Investigations, v.46, n.2, p.109-122.

LU, Y. et. al., 2013. **CYP2D6*4 Allele Polymorphism Increases the Risk of Parkinson's Disease: Evidence from Meta-Analysis**. Public Library of Science (PLoS). v. 8, n.12.

MELO, F. L; SILVA, S. L., 2012. **Análise neuropsicológica de distúrbios cognitivos em pacientes com fibromialgia, artrite reumatóide e lúpus eritematoso sistêmico**. Revista Brasileira de Reumatologia, v. 52, n.2, p. 175-188.

MEYER, U. A.; ZANGER, U. M. 1997. **Molecular mechanisms genetic polymorphisms of drugs metabolism**. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. v. 37, p.269-296.

NERY F.G. et. al. 2004 . **Influência e aspectos do estresse psicossocial no lúpus eritematoso sistêmico**. Revista Brasileira de Reumatologia, v. 44, n. 5, p. 355-361.

PEREIRA, A. A. et. al. 2009. **Prevalência de psicose em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) do serviço de reumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.** Revista HCPA, v. 29, p. 23-26.

PUPO, Paulo Pinto. 1950. **O conceito da escola neurológica de Montreal sobre a epilepsia.** Arquivos de Neuro-psiquiatria, v. 8, n. 3, p.257-270.

SABBAGAH, N. et. al. 1997. **Genetic analysis of the cytochrome P450 CYP2D6 polymorphism in patients with systemic lúpus erythematosus.** Pharmacogenetics, v.8, p. 191-194.

SAURI, Jorge J. 2005. **A construção do conceito de neurose.** Revista Latino-americana de Psicopatologia Fundamental, vol.8, n.1, pp.73-85.

SHAVITT, Roseli G et al. 2001 **Transtorno obsessivo-compulsivo resistente: conceito e estratégias de tratamento.** Revista Brasileira de Psiquiatria, v. 23, n. 2, p.52-57.

SHAW, G. L. et al. 1998. **Genetic polymorphism of CYP2D6 and lung cancer risk.** American Association for Cancer Research, v. 7, p. 181-268.

SKRETKOWICZ, J. et al. 2009. **Genetic polymorphisms of CYP2D6 oxidation in patients with systemic sclerosis.** European Journal of Clinical Pharmacology, v. 65 p. 971-975.

SKReTKOWICZ, J. et al., 2011. **Genetic polymorphisms of CYP2D6 oxidation in patients with systemic lupus erythematosus.** Archives Of Medical Science, v. 5, p.864-869.

SUGIMURA, T. et al. 2002. A **Major CYP2D6 Autoepitope in Autoimmune Hepatitis Type 2 and Chronic Hepatitis C is a Three-dimensional Structure Homologous to Other Cytochrome P450 Autoantigens**. *Autoimmunity*, v. 35, n. 8, p.501-513.

TOPIC, E. et al. 2000. **The cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) gene polymorphism among breast and head and neck cancer patients**. *Clinica Chimica Acta*, v. 296, p. 101–109.

TRELUYER, J. M. et al. 1991. **Expression of CYP2D6 in developing human liver**. *EUR. J. Biochem*, v. 202, p. 583-588.

VARGAS, Karinna Soares; ROMANO, Marco Aurélio. 2009. **Systemic Lupus erythematosus: epidemiological and diagnostic aspects**. *Revista Salus-Guarapuava, Paraná*, v. 3(1), p. 5-22.

VIANNA, R., et. at. 2010. **LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO**. *Revista Ceciliana*, v. 2(1), p. 1-3.

ZANGER, Ulrich M. et al. 2001. **Comprehensive analysis of the genetic factors determining expression and function of hepatic CYP2D6**. *Pharmacogenetics*, v. 11 p. 573- 585.

ANEXO I



GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER Nº 309/2009

PROTOCOLO Nº DO PROJETO: 353/09 – POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASSOCIADOS AO LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

Instituição Pesquisada: Secretaria de Saúde do Distrito Federal/SES-DF.

Área Temática Especial: Grupo III (não pertencente à área temática especial), Ciências da Saúde.

Validade do Parecer: 03/11/2011

Tendo como base a Resolução 196/96 CNS/MS, que dispõe sobre as diretrizes e normas regulamentadoras em pesquisa envolvendo seres humanos, assim como as suas resoluções complementares, o Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal, após apreciação ética, manifesta-se pela **APROVAÇÃO DO PROJETO**.

Esclarecemos que o pesquisador deverá observar as responsabilidades que lhe são atribuídas na Resolução 196/96 CNS/MS, inciso IX.1 e IX.2, em relação ao desenvolvimento do projeto. **Ressaltamos a necessidade de encaminhar o relatório parcial e final, além de notificações de eventos adversos quando pertinentes.**

Brasília, 03 de novembro de 2009.

Atenciosamente.

Maria Rita Carvalho Garbi Novaes
Comitê de Ética em Pesquisa/SES-DF
Coordenadora

Ângela Maria/CEP/SES-DF

Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde - SES
Comitê de Ética em Pesquisa
Fone: 325-4955 - Fone/Fax: 326-0119 - e-mail: cepesedf@saude.df.gov.br
SMHN - Q. 501 - Bloco "A" - Brasília - DF - CEP.: 70.710-904

BRASÍLIA - PATRIMÔNIO CULTURAL DA HUMANIDADE