

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA

NURIA ALONSO LOPEZ CID

**AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DA CYP3A5 EM INDIVÍDUOS DA  
REGIÃO CENTRO-OESTE DO BRASIL**

Goiânia

2016

NURIA ALONSO LOPEZ CID

**AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DA CYP3A5 EM INDIVÍDUOS DA  
REGIÃO CENTRO-OESTE DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Genética.

Área de Concentração: Área da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Vera Aparecida Saddi

Goiânia

2016



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário  
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010  
Goiânia • Goiás • Brasil  
Fone: (62) 3946.1070 • Fax: (62) 3946.1070  
www.pucgoias.edu.br • prope@pucgoias.edu.br

**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU  
PROGRAMA DE Mestrado em GENÉTICA**

**ATA DA SESSÃO DE APRESENTAÇÃO E DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE  
CONCLUSÃO DE CURSO DE Mestrado**

1 No dia 14 de abril de 2016, reuniu-se a 120ª Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado, composta  
2 pelos membros: Profa Dra. Vera Aparecida Saddi / PUC Goiás (Presidente), Prof. Dr. Vinicius Barreto  
3 da Silva / PUC Goiás, Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres/ UEG, para avaliação da dissertação intitulada  
4 “**Avaliação dos polimorfismos da CYP3A5 em indivíduos da região Centro-Oeste do Brasil**”, da  
5 candidata **Nuria Alonso Lopes Cid**, aluna do Mestrado em Genética (MGene) da Pontifícia  
6 Universidade Católica de Goiás. A sessão iniciou-se às 13.h.10...min., na Sala do Mestrado em  
7 Genética, da área IV, sob a presidência da Profa Dra. Vera Aparecida Saddi, que concedeu 30 minutos à  
8 candidata para expor sinteticamente o estudo. A seguir, a arguição procedeu-se de forma interativa. Ao  
9 final da defesa, a sessão foi suspensa e a Comissão se reuniu em separado para avaliação e atribuição de  
10 nota. Discutido o trabalho e o desempenho do mestrando, a Banca Examinadora considerou-a  
11 aprovada com a nota 10,0 ( Dez ) equivalente ao  
12 conceito “A”. Portanto, a discente foi declarada **Mestre em Genética pela Pontifícia Universidade**  
13 **Católica de Goiás**, pelo Presidente da Banca Examinadora, que encerrou a sessão às 16.h.30...min.  
14 Não havendo nada mais a tratar, a presente ata foi lavrada e assinada pelos membros da Banca  
15 Examinadora.

16 Profa Dra. Vera Aparecida Saddi / PUC Goiás (Presidente) Vera Aparecida Saddi

17 Prof. Dr. Vinicius Barreto da Silva / PUC Goiás Vinicius Barreto da Silva

18 Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres/ UEG Flávio Monteiro Ayres

19 Esta ata contém 19 linhas contínuas, sem rasuras, emendas ou retificação.



**PUC  
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário  
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010  
Goiânia • Goiás • Brasil  
Fone: (62) 3946.1070 • Fax: (62) 3946.1070  
www.pucgoias.edu.br • prope@pucgoias.edu.br

**ATA COMPLEMENTAR Nº 120/2016**

**MESTRADO EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS**

**DISCENTE: NURIA ALONSO LOPES CID**

**DEFENDIDA EM 14 DE ABRIL DE 2016 E aprovada COM CONCEITO.....A**

O título foi alterado  não ( ) sim \_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

*Vera Aparecida Saddi*

.....  
Profª Dra. Vera Aparecida Saddi / PUC Goiás  
(presidente-orientador)

*V. B. B. da Silva*

.....  
Prof. Dr. Vinicius Barreto da Silva / PUC Goiás  
(Membro interno)

*Flávio Monteiro Ayres*

.....  
Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres / UEG  
(membro externo)

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estrutura química do diazepam.....	16
<b>Figura 2:</b> Representação do receptor GABA <sub>A</sub> e sítios de ligação.....	17
<b>Figura 3:</b> Estrutura química do midazolam.....	19
<b>Figura 4:</b> Exemplos de reações catalizadas pela CYP450.....	23
<b>Figura 5:</b> Organização genômica dos CYP3A43, CYP3A4, CYP3A7, CYP3A5 e dos pseudogens CYP3AP2, CYP3AP1.....	25
<b>Figura 6:</b> Variações no splicing do CYP3A5. figura esquemática do cDNA e os alelos do CYP3A5 .....	27
<b>Figura 7:</b> Metabolismo do midazolam segundo genótipo do CYP3A5 .....	29

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

<b>Tabela 1:</b> Dados sociodemográficos dos indivíduos avaliados.....	40
<b>Tabela 2:</b> Distribuição alélica das variantes do <i>CYP3A5</i> segundo raça ou cor .....	41
<b>Tabela 3:</b> Distribuição genotípica da variante do <i>CYP3A5*6</i> segundo raça ou cor..	41
<b>Tabela 4:</b> Distribuição genotípica da variante <i>CYP3A5*3</i> segundo raça ou cor.....	42
<b>Tabela 5:</b> Classificação fenotípica do perfil metabolizador segundo raça ou cor .....	42
<b>Tabela 6:</b> Frequência alélica dos <i>CYP3A5*1</i> , <i>CYP3A5*3</i> , <i>CYP3A5*6</i> em diferentes populações.....	44
<b>Quadro 1:</b> Marcos da descoberta e utilização de drogas com fins anestésicos .....	13
<b>Quadro 2:</b> Farmacocinética do midazolam .....	21

## ANEXOS

1. Parecer consubstanciado do CEP.....	57
2. Termo de consentimento livre e esclarecido .....	60
3. Formulário de dados sócio-demográficos .....	64

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

GABA: ácido gama-amino butírico

GABA<sub>A</sub>: receptor gabaérgico

CNS: Conselho Nacional de Saúde

CYP1: proteína do citocromo CYP450, família 1

CYP2: proteína do citocromo CYP450, família 2

CYP3: proteína do citocromo CYP450, família 3

CYP3A: gene do citocromo CYP450, família 3, subfamília A

CYP3A: proteína do citocromo CYP450, família 3, subfamília A

CYP3A4: proteína do citocromo CYP450, família 3, subfamília A, polipeptídio 4

CYP3A5: proteína do citocromo CYP450, família 3, subfamília A, polipeptídio 5

CYP3A7: proteína do citocromo CYP450, família 3, subfamília A, polipeptídio 7

CYP3A43: proteína do citocromo CYP450, família 3, subfamília A, polipeptídio 43

CYP3A5\*1: alelo selvagem do gene *CYP3A5*

CYP3A5\*3: alelo variante 3 do gene *CYP3A5*

CYP3A5\*6: alelo variante 6 do gene *CYP3A5*

CYP450: citocromo CYP450

LAS: Laboratório da Área de Saúde da PUC-Goiás

mRNA: RNA mensageiro

NADPH: nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato, forma reduzida

PCR: *polymerase chain reaction* (reação em cadeia de polimerase)

SNP: *single nucleotide polymorphism* (polimorfismo de nucleotídeo único)

SUS: Sistema Único de Saúde

TCLE: termo de consentimento livre esclarecido



## RESUMO

O progresso da Anestesiologia junto com o desenvolvimento de drogas garantiram maior controle da dor, conforto ao paciente e segurança durante o ato anestésico-cirúrgico. A Farmacogenética é uma ciência que permite a melhora da assistência à saúde, por meio do conhecimento das variações genéticas que podem estar envolvidas com as diferenças na resposta terapêutica. As CYP3A são as enzimas mais importantes envolvidas com o metabolismo de drogas prescritas na prática clínica, apresentando grande variabilidade genética na sua expressão. A CYP3A5 é a forma que apresenta mais variantes funcionais e com diferenças expressivas nas frequências observadas em diferentes grupos populacionais do mundo. Este estudo teve como objetivo avaliar a frequência das variantes genótípicas e alélicas do *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6* e inferir sobre o perfil metabolizador dos indivíduos em função destas variantes em relação a drogas usadas em anestesia. O grupo avaliado incluiu 166 indivíduos usuários do Laboratório da Área de Saúde da PUC-Goiás, nascidos na região Centro-Oeste do Brasil, maiores de 18 anos e de ambos os sexos. As amostras de sangue foram obtidas de cada indivíduo e genotipados para *CYP3A5\*3*, A>G (rs 776746) and *CYP3A5\*6*, G>A (rs 10264272) por Reação em Cadeia de Polimerase usando sondas TaqMan. A análise dos dados das frequências alélicas foi realizada através do cálculo das porcentagens para os grupos estabelecidos, segundo a cor ou raça, em relação a amostra total. Nos indivíduos da região Centro-Oeste do Brasil avaliados neste estudo, a frequência da variante alélica *CYP3A5\*3* foi de 40% e da *CYP3A5\*6* foi de 2%. A frequência observada para a variante alélica *CYP3A5\*3* em indivíduos da região Centro-Oeste foi menor que a de outros estudos brasileiros e também menor que as frequências verificadas em europeus e asiáticos, porém similar à observada na população do leste e oeste da África. A frequência da variante alélica *CYP3A5\*6*, neste estudo, foi maior que a encontrada em estudos europeus e com valores mais próximos daqueles observados no norte da África. Com base nos resultados obtidos da amostra pode-se inferir que 72% dos indivíduos seriam fracos metabolizadores. A maior frequência do perfil de fraco metabolizador mostra que existe potencial de maior ocorrência de eventos adversos no uso de fármacos metabolizados pela CYP3A5 nesta população da região Centro-Oeste do Brasil.

Palavras chave: CYP3A5; Variantes Alélicas; Polimorfismo, Centro-Oeste

## ABSTRACT

The advances in Anesthesiology took place at the same time as the development of drugs that ensured greater control over pain, patient comfort, and safety during surgical anesthetic procedures. Pharmacogenetics is the science that enables enhanced healthcare, by understanding the genetic variations that may affect the different responses to treatments. CYP3A are the most important enzymes involved in the metabolism of drugs prescribed in clinical practice, showing extensive genetic variability in their expression. CYP3A5 presents the highest number of functional variants, with significant differences in the frequencies observed among different population groups around the world and in Brazil. This study aimed and at assessing the frequency of *CYP3A5\*3* and *CYP3A5\*6* genotypic and allelic variants and to estimate the metabolizing profile according to these variants, as well as any potential implications on adverse events with drugs used in anesthesia. The sample used for this study included 166 subjects users of the *Laboratório da Área de Saúde da PUC-Goiás* (PUC Healthcare Laboratory – city of Goiás). They were all born in the Brazilian Midwest, over 18 years of age, and from both genders. The blood samples were obtained from each individual and genotyped for *CYP3A5\*3*, A>G (rs 776746) and *CYP3A5\*6*, G>A (rs 10264272) by real time Polymerase Chain Reaction using TaqMan assays. Data analysis of the allelic frequency was conducted by calculating the percentage for the established groups, according to color or race, compared to the total sample. In individuals from the Brazilian Midwest, assessed in this study, the frequency of the allelic variant *CYP3A5\*3* was 40% and 2% for *CYP3A5\*6*. The frequency observed for the *CYP3A5\*3* allelic variant in subjects from the Midwest was lower than that from other Brazilian studies and also lower than the frequencies observed in Europeans and Asians, however, they were similar to the frequency seen in populations from East and West Africa. The frequency of the *CYP3A5\*6* allelic variant, in this study, was higher than that found in European studies and similar of the subjects in the North of Africa. Based on the results, one may infer that 72% would be poor metabolizers. The higher frequency of the poor metabolizer profile shows that there is potential for a greater occurrence of adverse events when using drugs metabolized by CYP3A5 in this population from the Brazilian Midwest.

**Keywords:** CYP3A5; Allelic Variants; Polymorphism; Midwest

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1 Anestesiologia e fármacos usados em anestesiologia.....	11
1.2 Benzodiazepínicos.....	14
1.3 Receptor GABA <sub>A</sub> .....	16
1.4 Midazolam.....	18
1.5 CYP450.....	21
1.6 CYP3A: Proteínas e Genes.....	24
1.7 Polimorfismo do CYP3A5.....	25
1.8 Relação entre os polimorfismos genéticos do <i>CYP3A5</i> e o metabolismo do midazolam associado ao risco de eventos adversos decorrente do uso em anestesia.....	28
1.9 Estudos populacionais sobre os polimorfismos genéticos do <i>CYP3A5</i> .....	32
2. OBJETIVOS.....	36
2.1 Objetivos primários.....	36
2.2 Objetivos secundários.....	36
3. METODOLOGIA.....	37
3.1 Aspectos éticos e tipo de estudo.....	37
3.2 Seleção dos participantes e coleta de dados demográficos.....	37
3.3 Extração de DNA.....	37
3.4 Detecção e genotipagem dos polimorfismos da <i>CYP3A5</i> .....	38
3.5 Análise de dados.....	39
4. RESULTADOS.....	40
5. DISCUSSÃO.....	43
6. CONCLUSÃO.....	50
BIBLIOGRAFIA.....	51

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Anestesiologia e Fármacos Usados em Anestesiologia

Por muito tempo os procedimentos cirúrgicos foram considerados brutais e desumanos. Uma nova era, tanto na Cirurgia como na Anestesiologia, foi inaugurada com a utilização dos anestésicos, permitindo o avanço científico nestas áreas bem como a ocorrência de uma profunda mudança na condição humana (BELFER, 2013).

Há milhares de anos, as folhas de coca mastigadas são utilizadas pelos índios sul-americanos devido à atividade anestésica da cocaína na língua, além de seus efeitos psicotrópicos que minimizam o desconforto respiratório em locais com oxigênio rarefeito. Em 1860, a cocaína foi isolada e usada como anestésico local com finalidade cirúrgica. Em 1884, Carl Koller relatou que a cocaína tópica poderia ser utilizada na córnea com efeito anestésico reversível. A idéia foi rapidamente aceita e o uso tópico da cocaína foi estendido para a odontologia. Em 1905, a procaína, um substituto sintético à cocaína, foi descoberto e assim seguiram-se as descobertas de outros anestésicos para uso em anestesia local e locorregional (RANG et al., 2012).

O nome anestesia foi sugerido por Oliver Wendel Holmes, professor de Anatomia e Fisiologia da Escola de Medicina de Harvard, no entanto, antecedido pelo termo “eterização”. A síntese do éter dietílico foi realizada pelo botânico alemão Valerius Cordus, em 1540 (CANGIANI et al., 2011). O éter foi empregado, pela primeira vez, em anestesia pelo médico Crawford W. Long, com finalidade cirúrgica, em 30 de março de 1842, na Cidade de Jefferson, no Estado Norte Americano da Geórgia. William T. G. Morton realizou a primeira demonstração pública de uma anestesia com éter, em 1846, no *Massachussets General Hospital* (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015).

O óxido nitroso foi sintetizado por Joseph Priestley, em 1772 (CANGIANI et al., 2011). O éter, ao contrário do óxido nitroso, era considerado uma droga potente e que não alterava as concentrações do ar inalado até níveis hipóxicos. O éter apresentava algumas características que facilitavam seu uso pois era líquido em temperatura ambiente, de fácil manejo e rápida evaporação. O éter manteve seu papel na anestesia até a década de 1950 (SHORVON, 2013; BRUNTON; LAZO;

PARKER, 2015).

O dentista Horace Wells observou que um ator de teatro, com uma lesão, não apresentava dor sob a influência da inalação do óxido nitroso. Após esta observação, Horace Wells permitiu que seu dente fosse extraído enquanto respirava óxido nitroso, sem sentir dor. Porém, em uma demonstração de paciente inalando óxido nitroso, no *Massachusetts General Hospital*, em 1845, o paciente gritou e após este ocorrido o óxido nitroso caiu em desuso. Apenas em 1868, o cirurgião Edmond Andrews, retomou o uso de óxido nitroso administrado concomitantemente ao oxigênio e, desta forma, permanece a sua utilização até os dias atuais (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015).

O clorofórmio foi introduzido em 1847 pelo obstetra escocês James Simpson. O clorofórmio tinha odor mais agradável que o éter e não era inflamável, porém apresentava hepatotoxicidade e depressão cardiovascular acentuada. O ciclopropano foi descoberto acidentalmente em 1929. O ciclopropano apresenta odor agradável, indução e recuperação anestésica rápido mas é explosivo em contato com o oxigênio (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015).

Em 1956, deu-se a descoberta do halotano, um gás volátil, não inflamável que rapidamente tornou-se o anestésico mais utilizado por via inalatória (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015). Após o halotano, outros gases da classe dos halogenados surgiram e demonstraram melhor índice terapêutico, menor índice de hepatotoxicidade e cardiotoxicidade. Estes gases halogenados, como sevofluorano, isofluorano e dexfluorano, apresentam um perfil de segurança maior e se ajustam a pacientes de perfil clínico específico como crianças, obesos e cardiopatas (CANGIANI et al., 2011).

Data	Fármaco
1540	Valerius Cordus sintetizou o éter dietílico.
1772	Joseph Priestley sintetizou o óxido nitroso.
1860	A cocaína foi utilizada como anestésico local com finalidade cirúrgica.
1884	Carl Koller utilizou cocaína tópica.
1842	Crawford W. Long utilizou o éter como anestésico.
1845	O óxido nitroso caiu em desuso.
1846	William T. G. Morton demonstrou uma anestesia com éter.
1847	James Simpson utilizou o clorofórmio com finalidade anestésica.
1868	Edmond Andrews retomou o uso do óxido nitroso.
1905	Descoberta da Procaína.
1929	Descoberta do Ciclopropano.
1935	Lundy utilizou o tiopental para indução anestésica.
1956	Descoberta do Halotano
Década de 1980	Descoberta do Propofol

**Quadro 1:** Marcos da descoberta e utilização de drogas com fins anestésicos.

A Anestesiologia seguiu progredindo com drogas para utilização intravenosa. Em 1935, Lundy demonstrou que o tiopental, administrado por via intravenosa, poderia ser usado para induções anestésicas rápidas. O tiopental, em doses anestésicas apresentava risco de depressão cardiovascular e respiratória (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015). Nas últimas décadas, o grande avanço na Anestesiologia foi marcado pela descoberta do propofol. O propofol pode ser utilizado como droga única em sedação, e também na indução de anestesia geral associada a outras drogas adjuvantes como o midazolam, dexmedetomidina e remifentanil. O advento do propofol ainda permitiu o desenvolvimento da anestesia venosa total devido a suas características farmacocinéticas e farmacodinâmicas que conferem segurança e conforto ao paciente além da facilidade em sua utilização clínica (CANGIANI et al., 2011).

Os avanços anestésicos são perceptíveis ao longo das décadas mostrando uma crescente preocupação com o desenvolvimento de diferentes drogas que possuam características voltadas ao controle da dor, conforto, segurança, bem como a baixa ocorrência de eventos adversos durante o ato anestésico (CANGIANI, et al. 2011). Entende-se por evento adverso um dano causado ao indivíduo decorrente do cuidado à sua saúde. Atualmente, a melhoria da segurança do paciente e da qualidade da assistência à saúde tem recebido atenção especial em âmbito global (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2016).

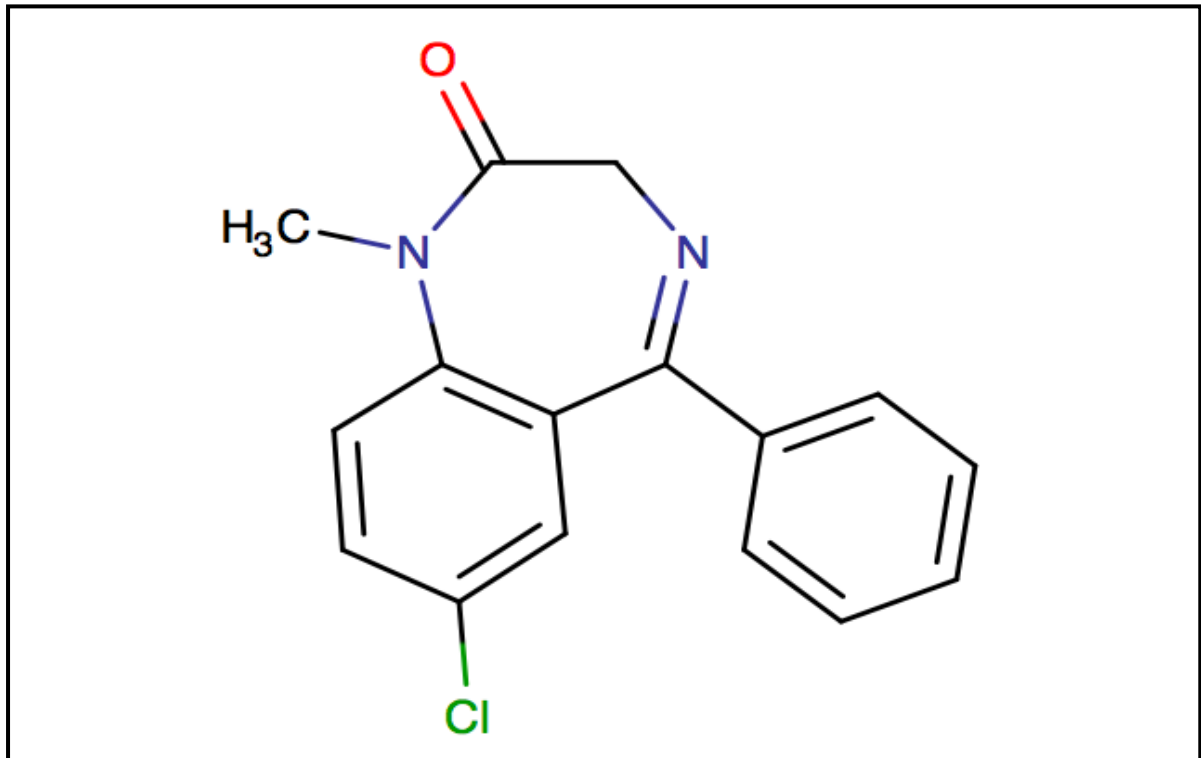
A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que esses danos ocorram em

dezenas de milhares de pessoas todos os anos, em diversos países. Na Europa, os estudos realizados sobre a Qualidade da Atenção Hospitalar mostraram que um a cada dez pacientes nos hospitais europeus sofrem danos evitáveis e eventos adversos ocasionados durante a assistência recebida. Esses danos podem ser incapacitantes, com sequelas permanentes, além de levar ao aumento do custo e da permanência hospitalar e, até mesmo, resultar em morte prematura como consequência direta de práticas inseguras em saúde (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2016). Entre as várias iniciativas relacionadas à segurança do paciente, a Farmacogenética constitui-se atualmente em uma importante ferramenta científica.

As variantes genéticas podem ser a razão de 20 a 95% da variabilidade na biodisponibilidade da droga e em seus efeitos (SOUZA, 2013).. O uso concomitante de outros medicamentos e fatores ambientais tem certa implicação na variabilidade. Os polimorfismos genéticos e as variações de expressão tem grande importância na variabilidade individual de resposta clínica observada relacionada a atividade da CYP3A (MIAO, 2009). Inúmeras outras variáveis envolvendo a absorção, a distribuição até o sítio de ação, metabolização e excreção podem envolver variações genéticas clinicamente significativas, tendo a capacidade de influenciar a resposta terapêutica (SOUZA, 2013).

## **1.2 Benzodiazepínicos**

O termo benzodiazepínico vem do fato da estrutura química da substância ser composta por um anel benzeno unido a um anel diazepínico de sete átomos. (LADER, 2014). O primeiro benzodiazepínico de uso clínico foi o clordiazepóxido, sintetizado em 1955. O clordiazepóxido apresentava, em ratos, propriedades hipnóticas e anticonvulsivantes, sendo disponibilizado para uso oral, em humanos, a partir do ano de 1960. O diazepam (Figura 1), considerado a droga padrão entre os benzodiazepínicos, foi sintetizado em 1959 (CANGIANI et al., 2011).



**Figura 1:** Estrutura química do diazepam Fonte: WISHART et al, 2006.

Em anestesia, os benzodiazepínicos são usados como drogas adjuvantes, pois em doses anestésicas podem resultar em sedação e amnésia prolongada. Uma medicação adjuvante é responsável por potencializar componentes específicos da anestesia, como ansiólise e amnésia em momentos específicos do ato anestésico, e permitir o uso de doses menores das drogas anestésicas com menores efeitos colaterais (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015).

Existem três benzodiazepínicos que são protótipos em suas classes, de acordo com seu metabolismo e depuração plasmática: os de curta duração (midazolam), os de duração intermediária (lorazepam) e os de longa duração (diazepam) (CANGIANI et al., 2011).

Fatores como idade, sexo, uso de indutores enzimáticos hepáticos e doença renal influenciam a farmacocinética dos benzodiazepínicos. A depuração plasmática do midazolam, por exemplo, está diminuída com o aumento da idade. A obesidade afeta a farmacocinética de todos os benzodiazepínicos. Obesos apresentam aumento do volume de distribuição e do tempo de meia-vidados benzodiazepínicos, porém, a depuração plasmática não é afetada. A concentração plasmática dos benzodiazepínicos permanece quase igual á liquórica. Os benzodiazepínicos atravessam a barreira placentária e são excretados no leite materno (CANGIANI et



al., 2011).

A principal via metabólica dos benzodiazepínicos envolve o sistema citocromo microsomal hepático CYP450. As substâncias ativas geradas pelo metabolismo dos benzodiazepínicos no fígado podem resultar em compostos que são mais lentamente metabolizados que os compostos originais. Desta forma, existe pouca relação entre o metabolismo e a meia vida de eliminação da droga que foi administrada. Já os compostos benzodiazepínicos que são inativados pela reação inicial de hidroxilação, como o midazolam, o metabolismo determina sua duração de ação (LADER, 2014).

Em termos gerais, o metabolismo dos benzodiazepínicos ocorre em três estágios. A fase inicial para os benzodiazepínicos, com grupo substituinte na posição 1 ou 2 do anel diazepínico, envolve a modificação ou retirada do grupo substituinte, resultando em compostos ativos. Na segunda fase, a hidroxilação da posição 4 produz também um metabólito ativo. Na terceira fase, ocorre a conjugação dos compostos 4-hidroxilados com o ácido glicurônico, cujos metabólitos são inativos. Os produtos denominados compostos alfa- hidroxilados são ativos, porém, são metabolizados rapidamente através da conjugação com o ácido glicurônico, desta forma não havendo acúmulo de metabólitos ativos. A rapidez do metabolismo do midazolam deve-se à hidroxilação inicial, formando o derivado 4-hidroxila. Este composto hidroxilado, que é ativo, é eliminado em uma hora, após conjugação com ácido glicurônico. Pode ocorrer acúmulo dos metabólitos ativos quando o midazolam é administrado em infusão contínua (LADER, 2014).

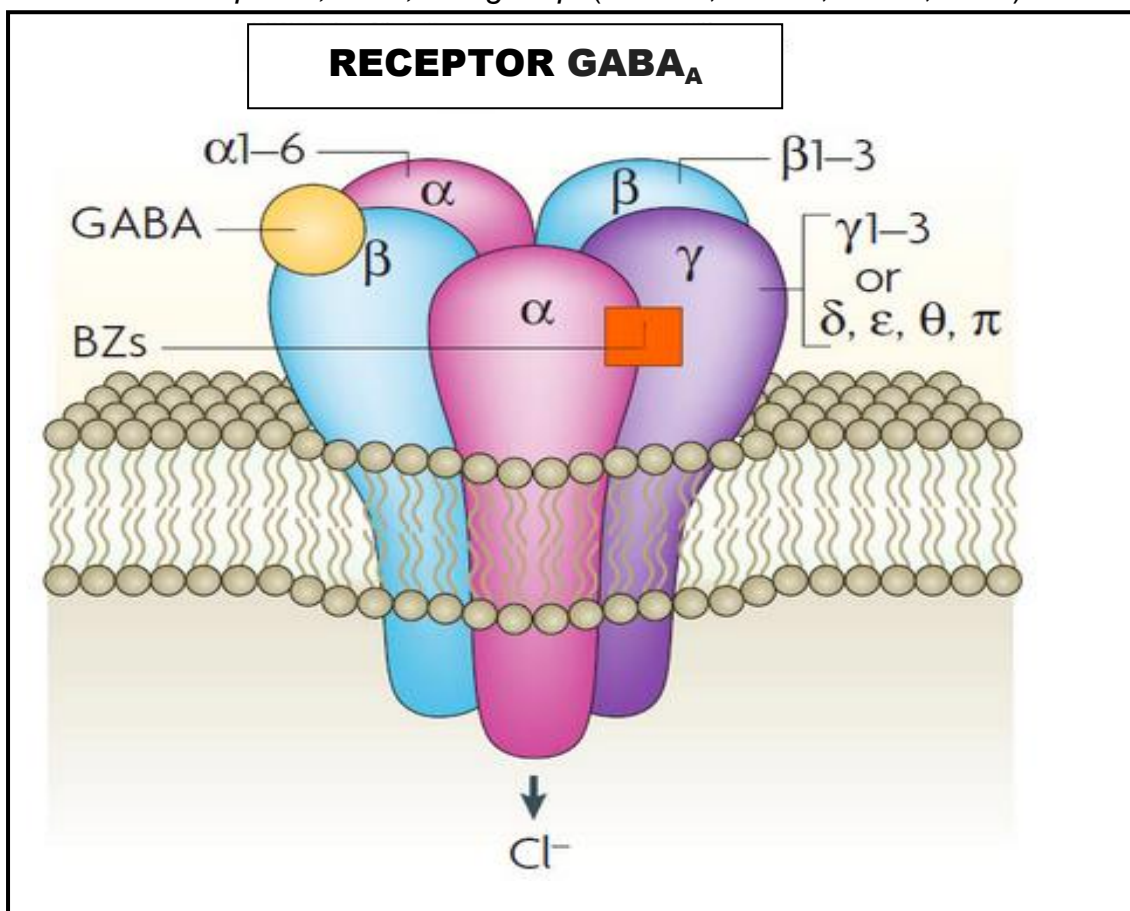
### **1.3 Receptor GABA<sub>A</sub>**

O GABA é o neurotransmissor inibitório mais importante do sistema nervoso central de mamíferos, afetando processos fisiológicos e psicológicos. Medicamentos que atuam na função gabaérgica são extensamente usados no tratamento de ansiedade, epilepsia, insônia, espasticidade e para o comportamento agressivo (JEMBREK; VLAINIC, 2015).

A interação molecular e os subsequentes efeitos farmacológicos induzidos pelas drogas que agem no receptor GABA<sub>A</sub> são considerados extremamente complexos devido à heterogeneidades estrutural deste receptor e a existência de numerosos sítios de ligação alostéricos, além de variados ligantes que se conectam

ao receptor. Apesar da complexidade dos estudos do receptor GABA<sub>A</sub>, drogas mais seletivas são desenvolvidas a fim de alcançar efeitos terapêuticos e prevenir efeitos indesejáveis (JEMBREK; VLAINIC, 2015).

O receptor GABA<sub>A</sub> é composto por 5 subunidades protéicas (Figura 3). Cada isoforma consiste em cinco subunidades homólogas ou idênticas, ao redor de um canal de íon seletivo de cloro, localizado no centro do receptor, o qual se abre com a ligação do GABA. Devido a sua alta complexidade de arranjos e combinações, várias isoformas do receptor podem existir. Em humanos, existem seis subunidades *alfa*, três subunidades *beta* e três subunidades *gama*, ou três subunidades *épsilon*, *delta*, *ômega* e *pi* (JACOB; MOSS; JURD; 2008).



**Figura 2:** Representação do receptor GABA<sub>A</sub> e seus sítios de ligação. BZs: sítio de ligação dos benzodiazepínicos. Fonte: Adaptado de JACOB; MOSS; JURD, 2008.

Os vários subtipos de receptores diferem em quantidade e função nas células do sistema nervoso central (OLSEN; SIEGHART, 2008). Algumas subunidades tem sua maior expressão fora do sistema nervoso central, tal como a subunidade alfa 6, que é expressa em apenas um tipo de célula cerebelar. A subunidade *rho* é

principalmente, mas não exclusivamente, expressa na retina. Fora do sistema nervoso central, os receptores GABA<sub>A</sub> foram encontrados no fígado, músculo liso do pulmão e vários tipos de células imunes. Estudos atuais conseguem apenas especular quantos receptores GABA<sub>A</sub> são expressos no cérebro, além da sua composição e arranjo através de estudos em animais. Destes estudos concluiu-se, de maneira simplificada, que a subunidade alfa-1 está relacionada ao efeito sedativo, a subunidade alfa-2 e alfa-3 com ansiedade e a alfa -5 com a memória temporal e espacial. Esta simplificação tem efeito didático, pois na prática sabe-se que o comportamento é um fenômeno complexo e provavelmente existem vários tipos de receptores GABA<sub>A</sub> envolvidos em determinar traços comportamentais (SIGEL; STEINMANN, 2012).

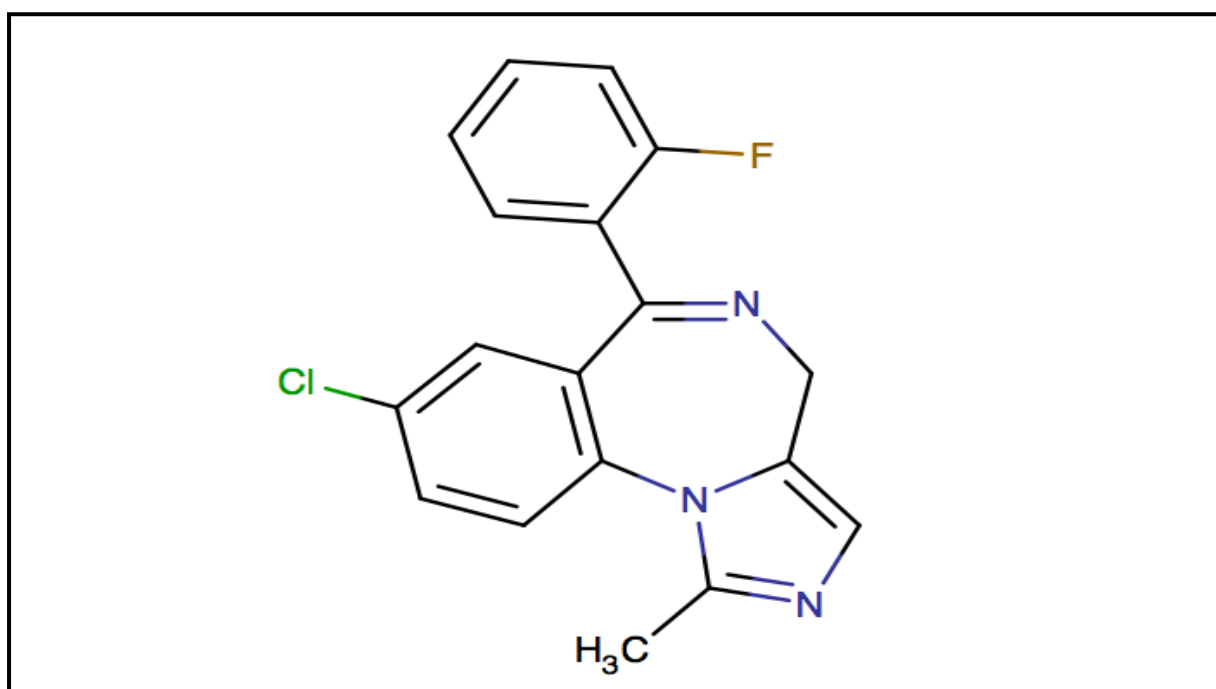
Existem 19 genes para as subunidades do receptor GABA<sub>A</sub> (SIMON et al., 2004). Os principais genes que codificam as subunidades do receptor GABA<sub>A</sub> se agrupam nos cromossomos 4, 5, 15 e X do genoma humano (SIGEL; STEINMANN, 2012).

Os receptores GABA<sub>A</sub> são ativados por uma série de drogas, entre elas os benzodiazepínicos. Estes são utilizados pelos seus efeitos hipnóticos, sedativos e ansiolíticos. Os benzodiazepínicos se ligam com alta afinidade na subunidade alfa e gama, porém, por si só, não abrem o canal de cloro. A sua alta afinidade ao sítio de ligação leva a uma mudança conformacional no receptor, o qual aumenta a afinidade do canal pelo GABA nas subunidades alfa e gama. Assim, os benzodiazepínicos atuam fortalecendo as ações inibitórias do GABA (TRUDELL, BERTACCINI, MACLAVER, 2012).

#### **1.4 Midazolam**

O midazolam é um derivado do grupo das imidazobenzodiazepinas (Figura 4), cuja estrutura química única confere características de grande utilidade em anestesia. O midazolam é também utilizado em procedimentos endoscópicos e tratamento de crises convulsivas, bem como é a droga mais utilizada em unidades de terapia intensiva para sedação de pacientes (SAKATA, 2010). O midazolam pode ser usado por via oral, nasal, venosa e retal (SUNG-HOON, 2014). É a única medicação aprovada pela *Food and Drugs Administration* (FDA) para administração como sedativo em qualquer idade.

A descoberta do midazolam ocorreu em 1976, por Walser, Benjamin e Flynn e foi um marco na Farmacologia e Anestesiologia (CANGIANI et al., 2011). O midazolam apresenta a vantagem farmacocinética de um rápido início de ação e duração curta. A dose do midazolam para sedação varia de 0,01- 0,05 mg/kg, alcançando efeito máximo em dois minutos e a duração por cerca de trinta minutos (SUNG-HOON, 2014). A dose do midazolam pode ser titulada até a obtenção do efeito desejado, especialmente em casos de pacientes com maior sensibilidade, conferindo maior segurança na utilização clínica (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015).



**Figura 3:** Estrutura química do midazolam. Fonte: WISHART et al, 2006.

O anel imidazólico do midazolam confere alcalinidade à molécula e permite preparo de sais hidrossolúveis em pH de 3,5. No pH fisiológico, o midazolam é altamente lipossolúvel (SUNG-HOON, 2014). O midazolam apresenta leve diminuição da depuração plasmática e pequeno aumento da meia vida de eliminação no sexo feminino (AYUSE et al., 2009.). Alterações farmacocinéticas e farmacodinâmicas relacionam indivíduos ruivos com o uso de midazolam e um efeito sedativo menor (CHUA; TSUEDA; DOUFAS, 2004). O anel imidazólico é responsável pela rápida oxidação no fígado, formando o composto ativo 1-hidroimidazolam que posteriormente é conjugado com o ácido glicurônico e então excretado na urina (Figura 4) (CANGIANI et al., 2011).

O midazolam apresenta meia vida de 1,9 horas (+/- 0,6). As doses recomendadas variam consideravelmente com cada uso específico, com a condição do paciente e com a administração concomitante de outros fármacos. O midazolam liga-se 98% às proteínas plasmáticas, mas esta ligação encontra-se diminuída em idosos e na doença renal. A taxa de ligação plasmática do midazolam não se altera em tabagistas e na doença hepática. A taxa de depuração plasmática do midazolam é de 6 a 11 mL/kg/minuto (+/- 1,8 mL/kg/minuto) e encontra-se aumentada na doença renal, diminuída na doença hepática e neoplasias, porém, não se altera com a obesidade, tabagismo e em crianças. A concentração máxima do midazolam é obtida em 0,67 horas (+/- 0,45) O volume de distribuição do midazolam é 1,1 L/kg (+/- 0,6) e encontra-se aumentado nos obesos e diminuído nas neoplasias (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015).

O midazolam sofre extenso metabolismo de primeira passagem pela CYP3A intestinal e hepática. A biodisponibilidade parece ser dependente da dose e possivelmente devido ao metabolismo intestinal de primeira passagem saturável: 35 a 67% com uma dose oral de 15 mg, 28 a 36% com 7,5 mg e 12 a 47% com 2 mg (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015). O término de ação do midazolam é resultado de sua redistribuição do sistema nervoso central para os outros tecidos. Por todas estas características, o midazolam é uma importante medicação de uso em Anestesiologia para utilização em infusão contínua e prolongada (CANGIANI et al., 2011).

Em um estudo avaliando a atividade da CYP3A pelo níveis plasmáticos do midazolam, as concentrações plasmáticas observadas variaram de 0,3% a 13,6% em indivíduos que tiveram monitoradas a exposição ambiental a fatores como tabagismo, uso de outros medicamentos e dieta controlada (MIAO et al., 2009).

A avaliação do gênero na atividade da CYP3A encontra resultados conflitantes na literatura. Muitos substratos da CYP3A apresentam maior clearance em mulheres. Ainda assim, os estudos recomendam que a maior atividade da CYP3A observada em mulheres deve ser melhor estudada (HE et al., 2005; MIAO et al, 2009; MASTERS et al, 2015). A idade dos indivíduos não tem influência nos parâmetros farmacocinéticos do midazolam (MIAO et al, 2009).

O midazolam, por via intravenosa, é usado como marcador para avaliar a atividade da CYP3A hepática através da dosagem do metabólito 1-hidroximidazolam tanto em estados de indução enzimática da CYP3A com o uso da rifampicina e

pleconaril e em estados de inibição enzimática da CYP3A com o uso do cetoconazol e itraconazol (MASTERS et al., 2015).

Meia vida (horas)	Ligação Plasmática (%)	Depuração (ml/min/kg)	Tempo para Concentração Máxima (horas)	Volume de distribuição (L/kg)
1,9 +/- 0,6	98	6,6 +/- 1,8	Oral: 0,67 +/- 0,45	1,1 +/- 0,6

**Quadro 2:** Farmacocinética do midazolam. Fonte: BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015.

### 1.5 CYP450

As citocromo P450 (CYP450) representam uma família de mais de 5500 proteínas que podem ser encontradas em muitas espécies (OLIVER; LUBOMIROV; CARCAS, 2010). Aproximadamente 55 diferentes genes CYP já foram identificados no genoma humano e são classificados em diferentes famílias e subfamílias segundo suas homologias de sequência (KUEHL et al., 2001). Porém, somente um pequeno número das proteínas codificadas pelas subfamílias CYP1, CYP2 e CYP3 parecem estar envolvidas na metabolização de drogas (KOHLRAUSCH; CARRACEDO; HUTZ, 2014). As proteínas destas subfamílias são responsáveis por 70 a 80% do metabolismo de primeira fase de uma droga para uso clínico (KOHLRAUSCH; CARRACEDO; HUTZ, 2014). As variantes alélicas do gene *CYP450* e suas numerosas sub variantes, foram descritas pelo *Human Cytochrome P(450) Allele Nomenclature Committee* (NESTOROVSKA et al., 2014).

As proteínas CYP450 são também conhecidas como monoxigenases ou oxidases de função mista e são uma superfamília de proteínas contendo o grupo heme. Essas proteínas são similares ao citocromo mitocondrial que tem pigmento vermelho e máximo espectro de absorção na amplitude de 450-nm, quando se ligam ao monóxido de carbono. A origem do nome citocromo P450 vem das proteínas celulares (cito), coloridas (cromo) cujo pigmento absorve luz no comprimento de onda de 450nm quando o ferro do grupamento heme é reduzido. Todas as proteínas do CYP450 possuem uma molécula heme que contém um átomo de ferro, cuja função é ligar o oxigênio aos locais ativos da CYP450, como parte do ciclo catalítico dessas proteínas. As CYP450 usam O<sub>2</sub> e o H<sup>+</sup> derivado do NADPH para realizar a oxidação dos substratos. O metabolismo de um substrato da CYP450 consome uma

molécula de oxigênio e produz um substrato oxidado e uma molécula de água (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015).

As CYP450 são responsáveis pelo metabolismo de substâncias endógenas e exógenas. As proteínas do metabolismo de drogas são responsáveis pelo metabolismo de fase I e II, com importante papel na absorção intestinal, permeabilidade, metabolização, eliminação e detoxificação de várias drogas. Tais etapas do metabolismo de uma droga determinam sua concentração no sítio de ação (SEMIZ et al., 2010). Usualmente uma droga lipofílica é convertida em um metabólito polar antes de poder ser eliminado pelos rins. No fígado, ocorrem as reações de fase I, pelas CYP450, que introduzem um grupo polar na molécula. As reações de fase II, como a acetilação e glucoronidação, conjugam uma substância hidrofílica com um grupo polar para aumentar a hidrossolubilidade e consequente excreção da molécula. A reação de fase I pode ocorrer já durante a absorção na mucosa intestinal e no fígado. O metabolismo de primeira passagem determina a fração oral, isto é, qual a fração biodisponível referente a uma dose administrada que atingirá a circulação (FUKASAWA, SUZUKI, OTANI, 2007).

As CYP450 estão envolvidas em reações de N-desalquilação, O-desalquilação, hidroxilação aromática, N-oxidação, S-oxidação, desaminação e desalogenação (Figura 5) (SIKKA et al., 2005). Essas proteínas localizam-se no retículo endoplasmático das células, principalmente do fígado, no qual ocorre a maioria das reações, e em menor quantidade no intestino delgado. Algumas medicações são substrato para uma única proteína, enquanto outras drogas são metabolizadas por mais de uma CYP450 (SIKKA et al., 2005).

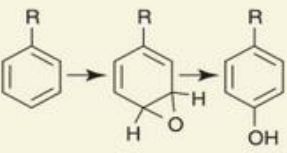
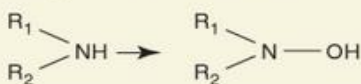
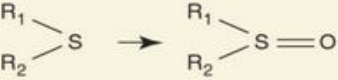
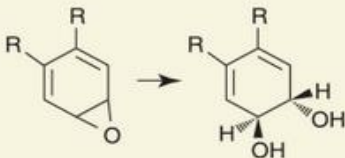
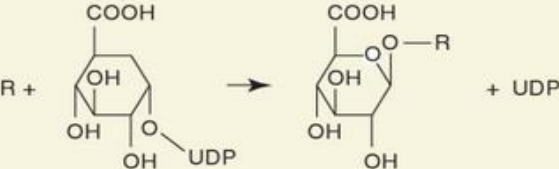
REAÇÃO	
<b>I. Reações oxidativas</b>	
<i>N</i> -desalquilação	$\text{RNHCH}_3 \rightarrow \text{RNH}_2 + \text{CH}_2\text{O}$
<i>O</i> -desalquilação	$\text{ROCH}_3 \rightarrow \text{ROH} + \text{CH}_2\text{O}$
Hidroxilação alifática	$\text{RCH}_2\text{CH}_3 \rightarrow \text{RCHOHCH}_3$
Hidroxilação aromática	
<i>N</i> -oxidação	$\text{RNH}_2 \rightarrow \text{RNHOH}$ 
<i>S</i> -oxidação	
Desaminação	$\text{RCHCH}_3 \xrightarrow{\text{NH}_2} \text{R}-\overset{\text{OH}}{\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}}-\text{CH}_3 \rightarrow \text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3 + \text{NH}_3$
<b>II. Reações hidrolíticas</b>	
	
	$\text{R}_1\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{OR}_2 \rightarrow \text{R}_1\text{COOH} + \text{R}_2\text{OH}$ $\text{R}_1\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{NHR}_2 \rightarrow \text{R}_1\text{COOH} + \text{R}_2\text{NH}_2$
<b>III. Reações de conjugação</b>	
Glicuronidação	
Sulfatação	$\text{PAPS} + \text{ROH} \rightarrow \text{R}-\text{O}-\text{SO}_2-\text{OH} + \text{PAP}$
Acetilação	$\text{CoAS}-\text{CO}-\text{CH}_3 + \text{RNH}_2 \rightarrow \text{RNH}-\text{CO}-\text{CH}_3 + \text{CoA-SH}$
Metilação	$\text{RO}^-, \text{RS}^-, \text{RN}^- + \text{AdoMet} \rightarrow \text{RO}-\text{CH}_3 + \text{AdoHomCys}$
Glutathionização	$\text{GSH} + \text{R} \rightarrow \text{R-GSH}$

Figura 4: Exemplos de reações catalizadas pela CYP450. Fonte: BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015

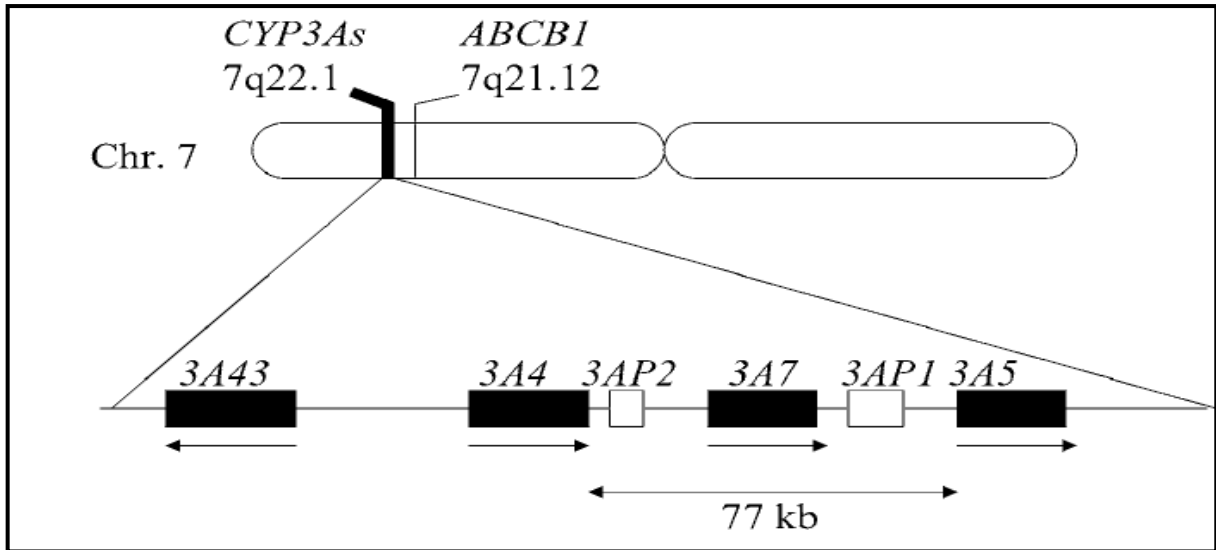


## 1.6 CYP3A: Proteínas e Genes

As CYP3A são as proteínas mais importantes da superfamília CYP450, pois são responsáveis pelo metabolismo de metade das drogas prescritas na prática clínica. No *locus CYP3A* estão todos os membros da subfamília 3A da grande família de genes *CYP450* (SIKKA et al., 2005; MIAO, 2009). As diferenças interindividuais na expressão das CYP3A variam de 10 a 30 vezes em algumas populações e se refletem nos resultados farmacocinéticos dos substratos da CYP3A resultando em grande dificuldade de prever o efeito e a segurança do medicamento (KUEHL, et al., 200; MIAO et al., 2009).

Os genes *CYP3A* localizam-se na região cromossômica 7q22.1, consistindo em um grupo de 200-kb e quatro genes: *CYP3A43*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7* (Figura 6). Entre estes quatro genes também há mais dois pseudogenes: *CYP3A5P1* e *CYP3A5P2*, assim como muitos éxons, os quais podem ou não ser inclusos nos produtos de transcrição produzidos nesta região (LESKELÄ et al., 2007).

A CYP3A4 é a principal forma presente no fígado e intestino delgado. A atividade da CYP3A4 é correlacionada com a quantidade de RNA mensageiro (mRNA) produzida, indicando que o controle transcricional é o mecanismo primário que regula a expressão do *CYP3A4*. A CYP3A4 compartilha grande homologia com a CYP3A5 e juntas metabolizam mais de 50% das medicações prescritas. A CYP3A5 é a forma polimórfica presente no fígado, intestino e rins principalmente em Caucasianos (KUEHL et al., 2001). A CYP3A7 é a forma fetal da CYP3A, que logo após o nascimento é silenciada. A CYP3A43 é expressa em maior quantidade na próstata (HE et al., 2005).



**Figura 5:** Organização genômica dos *CYP3A43*, *CYP3A4*, *CYP3A7*, *CYP3A5* e dos pseudogenes *CYP3AP2*, *CYP3AP1*. FONTE: OZAWA, SOYAMA, SAEKI, 2004.

Como muitas drogas metabolizadas pela CYP3A5 são também metabolizadas pela CYP3A4, os estudos apresentam dados conflitantes sobre qual isoforma estaria implicada nas diferenças interindividuais do metabolismo das drogas, porém é mais aceito que, *in vivo*, o metabolismo das drogas realizado pelas proteínas da superfamília CYP3A reflete a atividade combinada da CYP3A4 e CYP3A5. Muitas variantes alélicas do *CYP3A4* e *CYP3A5* foram identificadas, no entanto, alelos com relevância funcional são pouco frequentes. Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6* são considerados alelos não funcionais e por isso são os mais estudados e que podem explicar as diferentes taxas de metabolização de seus substratos observadas *in vivo* e *in vitro* (MIAO et al., 2009).

### 1.7 Polimorfismo do *CYP3A5*

O gene *CYP3A5* é responsável pela codificação da proteína CYP3A5 pertencente à superfamília CYP450. A proteína CYP3A5 metaboliza drogas e hormônios esteróides como a testosterona e progesterona. *Splicing* alternativos resultam em múltiplos transcritos variantes (KUEHL et al., 2001). O *CYP3A5* apresenta 26 SNPs conhecidos e sete outros cujos haplótipos ainda não foram determinados (INGELMAN-SUNDBERG; DALY; NEBERT; 2008).

Os polimorfismos genéticos são definidos como uma variação na sequência do DNA e que apresentam uma frequência alélica igual ou superior a 1%

em determinada população (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015). As formas mais comuns de polimorfismos genéticos são deleções, mutações, polimorfismos de nucleotídeo único, variações no número de seqüências repetidas, micro e minisatélites. A herança de um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) produz mais frequentemente, uma proteína inativa e é uma das mais importantes causas de variabilidade individual de resposta à droga (KUEHL, 2001).

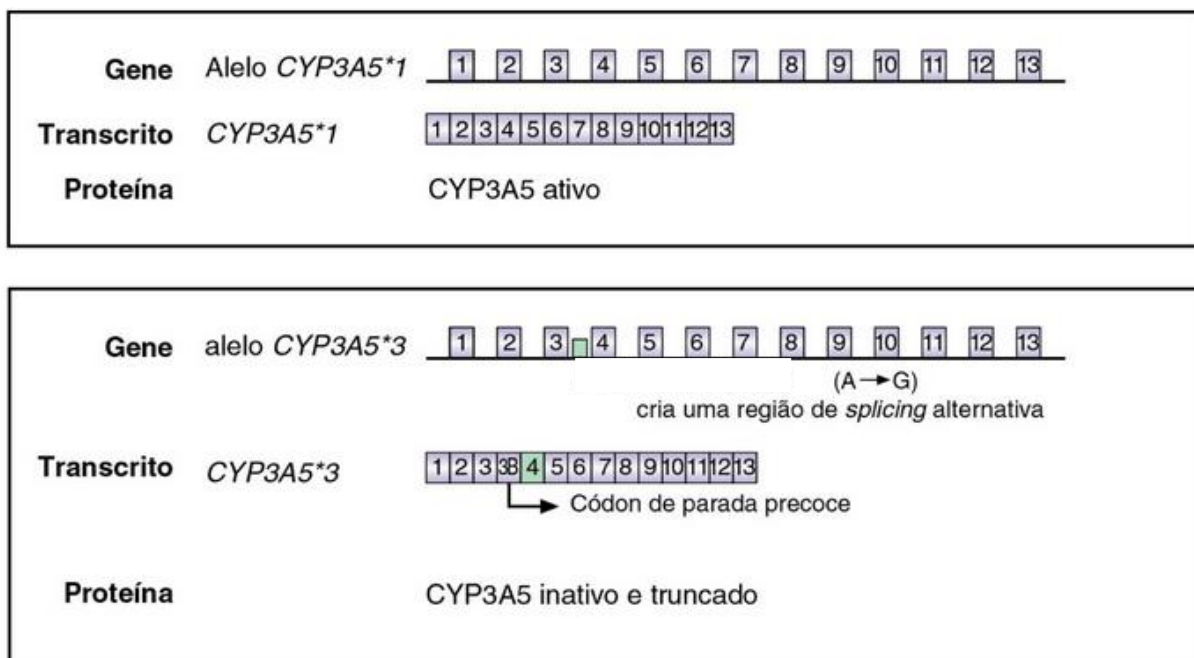
O polimorfismo de nucleotídeo único é uma variação em uma única posição na sequência do DNA e encontrada em menos de 1% da população. Muitas variações genéticas no genoma humano estão na forma de SNPs os quais resultam de uma mutação pontual produzindo diferenças em um único par de bases da sequência cromossômica. Os SNPs são considerados marcadores que podem revelar a história evolucionária e explicar o risco adquirido geneticamente para certas enfermidades (FAREED, AFZAL, 2013).

Devido à CYP3A5 representar 50% do total do conteúdo hepático da CYP3A nas pessoas portadoras desta isoforma, o CYP3A5 deve ser o mais importante contribuinte da variabilidade de resposta individual relacionada ao metabolismo de drogas envolvendo a CYP450. O CYP3A5 é o principal membro da família CYP3A expresso no fígado e intestino, sendo também expresso no rim, pulmão e leucócitos, indicando que a CYP3A5 também age nestes tecidos. No tecido renal, a CYP3A5, regula o metabolismo do sódio pelo cortisol (KUEHL et al., 2001).

As diferentes taxas da expressão da CYP3A5 devem contribuir para as diferenças interindividuais e maior susceptibilidade à hipertensão arterial por alteração da metabolização do cortisol e aumento da retenção de sódio. Assim, além do papel no metabolismo de drogas, a CYP3A5 também exerce ação endócrina no rim. Em tecidos como a próstata e a mama, a expressão polimórfica da CYP3A5 leva a uma variabilidade de exposição tecidual aos esteróides e pode ser um modulador do risco à neoplasia (KUEHL et al., 2001).

O alelo variante CYP3A5\*3, rs776746, 6986A>G apresenta um SNP no íntron 3 que leva a um erro de processamento do RNAm. Este alelo CYP3A5\*3 transcreve um mRNA aberrante, com formação de um códon de parada prematuro e a criação de um sítio alternativo para *splicing*, produzindo um transcrito com o éxon 3B e também a introdução de um códon de parada precoce no éxon 13 (Figura 7) (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015). A tradução do transcrito anormal produz uma proteína truncada. Tal achado molecular é responsável por um dos mais freqüentes polimorfismos de enzimas metabolizadoras de drogas (KUEHL et al., 2001). Existe uma grande

variabilidade na frequência genotípica da *CYP3A5\*3* entre diferentes grupos populacionais. A variante *CYP3A5\*3* apresenta alta frequência em caucasianos, com 10 a 30% desta população expressando pequenas quantidades de *CYP3A5* (PERERA et al., 2009).



**Figura 6:** Variações no splicing do *CYP3A5*. Figura esquemática do cDNA e os alelos do *CYP3A5*.  
Fonte: BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015

A variante *CYP3A5\*6*, rs10264272, 14690G>A, é um polimorfismo do éxon 7 que também leva a um defeito de processamento do RNA. A resultante retirada do éxon 7 ocasiona uma alteração no quadro de leitura e produz uma proteína truncada no aminoácido 184 (KUEHL et al., 2001).

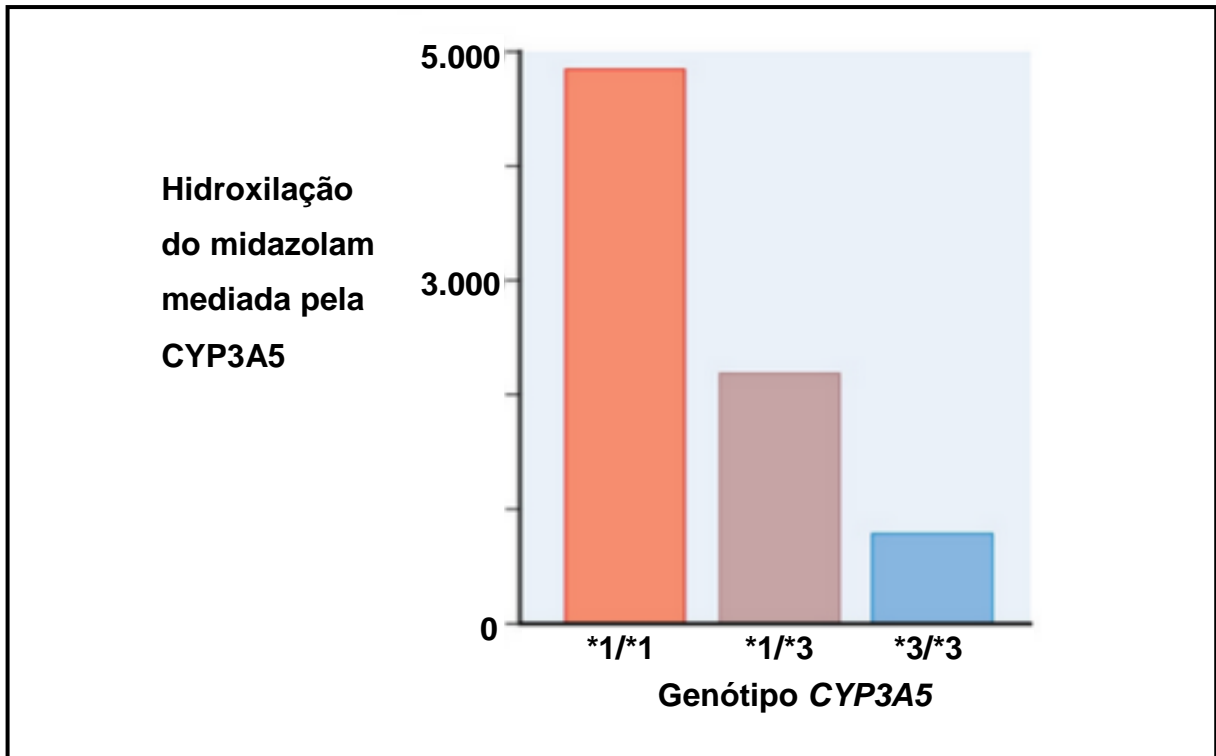
As variantes *CYP3A5\*3*, *CYP3A5\*6*, devem ser consideradas juntas no sentido de prever uma expressão diminuída da *CYP3A5* (MIAO et al., 2009). Variações nas proteínas *CYP3A5* alteram seus níveis circulantes, bem como a resposta das drogas que sofrem oxidação por tais enzimas. A atividade enzimática da *CYP3A* é resultado da soma das atividades dos genes *CYP3A*, incluindo o *CYP3A5* (KUEHL et al., 2001).

Os indivíduos com pelo menos um alelo *CYP3A5\*1* expressam grandes quantidades de *CYP3A5* (MIAO et al., 2009). A variante alélica *CYP3A5\*3* mais frequente entre europeus, apresenta baixa frequência entre asiáticos e africanos (OLIVER et al., 2010). O alelo *CYP3A5\*1* é associado com os maiores níveis de

expressão da CYP3A5 enquanto os alelos *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6* resultam em pequena quantidade da CYP3A5. Os indivíduos que são homocigotos para *CYP3A5\*3* acabam por apresentar menores quantidades do mRNA do CYP3A5 em comparação aos que pelo menos carregam um alelo *CYP3A5\*1*. Os mRNAs com uma parada prematura no códon são mais instáveis e desta forma são mais rapidamente degradados e menos expressos (KUEHL et al., 2001).

### **1.8 Relação entre os Polimorfismos Genéticos do CYP3A5 e o Metabolismo do Midazolam Associado ao Risco de Eventos Adversos Decorrente do Uso em Anestesia.**

O midazolam, que é um substrato da CYP3A5 e CYP3A4, apresenta *in vivo* uma variabilidade de 5 vezes no seu metabolismo. A variabilidade na taxa de extração hepática dos substratos da CYP3A *in vitro* pode chegar a 30 vezes. Estudos *in vivo* focam nos alelos *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6* com uma linha de investigação mostrando um maior metabolismo do midazolam em indivíduos com o alelo selvagem *CYP3A5\*1* (Figura 8) (HE et al., 2005). Em pacientes com câncer, o *clearance* do midazolam após uma dose oral ou intravenosa, foi 1,5 vezes maior naqueles com genótipo *CYP3A5\*1/\*3* comparado ao genótipo *CYP3A5\*3/\*3* (WONG et al., 2004). Portadores de pelo menos um alelo *CYP3A5\*1* expressam CYP3A5 no intestino, rins e fígado (FROMM et al., 2007). Os indivíduos homocigotos para *CYP3A5\*1* tem expressão normal da proteína CYP3A5 e são chamados de fortes metabolizadores (LIOU; LIN; WU, 2006). Entre os caucasianos, 5 a 10% são portadores do alelo *CYP3A5\*1* e são considerados fortes metabolizadores (FROMM et al., 2007). A administração intravenosa de midazolam em indivíduos em uso concomitante de itraconazol, resulta em aumento dos níveis plasmáticos do metabolito 1-hidroximidazolam em indivíduos com o genótipo *CYP3A5\*1/\*1*, considerado um perfil de forte metabolizador. A rifampicina administrada por 14 dias, com finalidade de indução enzimática da CYP3A, não alterou a farmacocinética do midazolam em função do genótipo do CYP3A5 (YU et al., 2004).



**Figura 7:** Metabolismo do midazolam segundo genótipo do *CYP3A5*. Fonte: Adaptado de BRUNTON; LAZO; PARKER, 2015.

Naqueles indivíduos portadores dos alelos variantes, *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6*, deve se esperar uma atividade diminuída da *CYP3A5* (MIAO et al., 2009). As variantes, *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6*, respondem por 95% dos alelos *CYP3A5* não funcionais identificados (KOHLRAUSCH; CARRACEDO; HUTZ, 2014). Os indivíduos homozigotos para as variantes *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6* são chamados de fracos metabolizadores (LIOU; LIN; WU, 2006). Quando a droga administrada já é um composto ativo, o metabolizador fraco poderá sofrer mais eventos adversos e risco maior de toxicidade e os metabolizadores fortes poderão apresentar níveis sub terapêuticos e necessidade de maiores doses para obter uma resposta clínica adequada (SIKKA et al., 2005).

O conhecimento das variantes do *CYP3A5* é uma importante etapa da avaliação terapêutica individual. A distribuição mundial da variante *CYP3A5\*3* é considerada um marcante exemplo da diversidade populacional, com frequência alélica ao redor de 0,14, entre africanos subsaarianos, e de 0,95, entre a população europeia. A variante alélica *CYP3A5\*6*, é relativamente frequente em negros africanos, mas rara ou ausente em caucasianos (SUAREZ-KURTZ, 2009). Kuehl e colaboradores (2001) examinaram 47 tecidos hepáticos de diferentes indivíduos. A

CYP3A4 e CYP3A5 produzem dois metabólitos a partir do midazolam: 1'-hydroxymidazolam e 4-hydroxymidazolam. A velocidade média das reações foi 2,5 vezes maior em tecidos hepáticos de caucasianos e 2,2 vezes maior em afro-americanos que tinham pelo menos um alelo *CYP3A5\*1*, comparada a aqueles que eram homocigotos para *CYP3A5\*3*. A quantidade total de CYP3A em caucasianos e afro americanos foi aproximadamente três vezes maior naqueles com o alelo *CYP3A5\*1* do que naqueles que não apresentam este alelo. Assim, verifica-se a importância da CYP3A5 naqueles portadores deste polimorfismo. Ainda neste estudo, constatou-se que as pessoas que apresentaram maiores quantidades de CYP3A5 no fígado, também tinham elevadas quantidades no intestino e eram homocigotas ou heterocigotas para o alelo *CYP3A5\*1* (KUEHL et al., 2001).

Quando avaliada a farmacocinética do midazolam dosando seu metabólito, 1'-hidroximidazolam, após uma dose oral ou intravenosa não foi observada diferença do clearance do midazolam em função do número de alelos *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6*, (SHIH, HUANG, 2002; YU, CHO, JANG et al., 2004; HE et al., 2005; FROMM et al., 2007; MIAO et al., 2009). Apesar destes resultados conflitantes, o midazolam vem sendo utilizado como marcador da atividade da CYP3A. Quando o midazolam é administrado via oral, a dosagem de seus metabólitos reflete a atividade hepática e intestinal da CYP3A. Quando administrado por via intravenosa, a dosagem dos metabólitos reflete a atividade da CYP3A hepática (MIAO et al., 2009).

A atividade enzimática das CYP3A é resultante de uma complexa equação com múltiplas variáveis (LIOU; LIN; WU, 2006), envolvendo agentes ambientais, coadministração de drogas e elementos da dieta (HE et al., 2005). Reações adversas podem ser mediadas pela inibição ou indução das proteínas CYP450, por utilização concomitante de medicamentos. Enquanto a inibição é um processo imediato, podendo ainda ser reversível ou irreversível, a indução enzimática é um processo ao longo do tempo (SIKKA et al., 2005). Medicamentos como carbamazepina, fenitoína, fenobarbital, rifampicina e efavirenz são consideradas indutoras da expressão CYP3A, enquanto o itraconazol e atazanavir são consideradas drogas inibidoras da CYP3A e são de uso extenso na prática clínica (YU et al., 2004).

Devido à complexidade dos fatores envolvidos no metabolismo enzimático de um fármaco, o resultado clínico esperado pode não ser alcançado. A indução e a

inibição de *CYP3A* devem ser consideradas junto com as variantes de *CYP3A5*, na farmacocinética do midazolam, para uma melhor elucidação da variabilidade de resposta individual encontrada na prática clínica (YU et al., 2004).

O midazolam é um benzodiazepínico de curta ação com atividade depressora no sistema nervoso central. Os efeitos depressores do midazolam dependem da dose administrada, da via de administração e do uso concomitante de outras medicações com efeito depressor no sistema nervoso central. O midazolam tem um amplo espectro de efeitos incluindo ansiólise, sedação, hipnose e amnésia anterógrada. Os diferentes graus de sedação obtidos com a utilização do midazolam variam da ansiólise com o indivíduo ainda respondendo a comandos verbais até o estado de sedação profunda, na qual o indivíduo não responde a estímulos verbais, táteis ou dolorosos podendo haver necessidade de suporte ventilatório. As complicações mais sérias durante a sedação são a cardio e a respiratório depressão, podendo levar a morte quando o indivíduo resulta profundamente sedado. Os efeitos farmacológicos dos sedativos apresentam grande variabilidade de resposta. Em intervenções cirúrgicas na coluna vertebral para alívio da dor utilizam-se sedativos para maior conforto do paciente durante o procedimento. Os sedativos além de alterarem o nível de consciência também alteram a resposta do indivíduo aos estímulos durante estes procedimentos diagnósticos levando a incerteza sobre os resultados ou respostas obtidas (SMITH, COLSON, SEHGAL, 2013).

A terminologia e definições para sedação relacionada a eventos adversos foi desenvolvida pela *The World Society of Intravenous Anaesthesia International Sedation Task Force*. Os eventos adversos relacionados a sedação são definidos como respostas não desejadas e não esperadas à um sedativo usado para permitir a realização de procedimentos que causam dor ou desconforto ao paciente. *The Task Force* desenvolveu um formulário para relatar os eventos adversos decorridos da sedação. Neste formulário cada evento adverso é caracterizado segundo uma descrição do ocorrido, a intervenção que foi tomada e o desfecho clínico. Estas três características definem qual a severidade e a importância clínica do evento adverso porém, este formulário ainda não foi validado internacionalmente (MASON, GREEN, PIACEVOLI, 2012).

A intenção ao prescrever uma medicação é ajudar a curar uma doença ou aliviar os sintomas. Com o substancial aumento do uso de medicações houve um



concomitante aumento na ocorrência de eventos adversos relacionados a medicamentos relatados ao FDA. Apesar disso, o sistema de relato de eventos adversos do FDA somente exige que as indústrias farmacêuticas relatem os eventos adversos relacionados a medicamentos, enquanto muitos destes eventos ocorrem ainda nos hospitais. Entre 2004 e 2008 houve um aumento de 52% no número de eventos adversos relatados nos hospitais dos Estados Unidos. Os eventos adversos aumentam o risco de morte, a duração e o custo da internação hospitalar. Os eventos adversos relacionados a medicamentos podem ser a razão da admissão hospitalar, isto quer dizer que o evento adverso já estará presente na admissão. Os eventos adversos também originam-se durante a hospitalização e são os mais comuns eventos adversos não cirúrgicos de ocorrência hospitalar (WEISS et al, 2013).

### **1.9 Estudos Populacionais sobre os Polimorfismos Genéticos de CYP3A5**

O seqüenciamento do genoma humano renovou e fortaleceu o interesse pelas diferenças biológicas entre raças e etnias (NESTOROVSKA et al., 2014). Projetos de re-seqüenciamento do genoma mostraram que grande parte da variabilidade humana deve-se às diferenças entre os indivíduos de uma população, mais do que diferenças entre as populações (STRANGER, STAHL, RAJ, 2011). Os genes da absorção, distribuição, metabolismo e eliminação de drogas, bem como suas variantes genéticas estudadas em 62 grupos étnicos ao redor do mundo estão relacionados com a diversidade intra-populacional de resposta à droga (LI; ZHANG; ZHOU et al., 2011). Acredita-se que a presença de certas variantes genéticas em determinados grupos raciais é compatível com o isolamento geográfico (XIE et al., 2001).

No passado, se por algumas vezes não se dispunha de todo arsenal farmacogenético de um indivíduo, o conhecimento de uma resposta terapêutica esperada em determinado grupo étnico auxiliou na adequação das doses dos fármacos. Essa estratégia clínica é observada em ensaios clínicos com indivíduos Asiáticos, em que se utilizava frequentemente doses menores das habitualmente prescritas para indivíduos ocidentais (LIOU; LIN; WU, 2006). As variantes de CYP3A5 vêm sendo estudadas em diferentes populações mundiais e apresentam grande amplitude nas frequências dos *alelos* CYP3A5\*1, CYP3A5\*3, CYP3A5\*6 entre europeus, asiático e africanos (Tabela 6).

Em um estudo avaliando 2538 indivíduos pertencentes ao continente africano, a frequência alélica de *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6* foi avaliada. Nesta população, a expressão da *CYP3A5* foi muito variável. A alta diversidade genética foi observada pelo continente e condizente com um modelo de evolução humana recente de origem africana. Esta pesquisa destaca a região leste da África pela alta diversidade. Os dados mostram uma redução gradual na diversidade genética conforme o estudo se distancia da Etiópia, mostrando a alta diversidade genética deste país. Estudos das variantes funcionais envolvendo genes de relevância clínica mostraram significantes diferenças nos etíopes e entre eles e outros africanos. Os resultados ainda sugerem que existam muitos perfis farmacogenéticos que podem afetar a segurança terapêutica dos substratos da *CYP3A5* nos africanos (BAINS et al., 2013).

Nas populações estudadas mundialmente, a expressão da *CYP3A5* é mais avaliada em relação às variantes *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6* pois, perfazem 95% dos alelos não funcionais do *CYP3A5*. Dados dos genes *CYP3A* e quais alelos de maior importância na população brasileira são limitados. (KOHLRAUSCH; CARRACEDO; HUTZ, 2014).

Apesar do reconhecido impacto farmacogenético, estudos brasileiros avaliando a frequência das variantes *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6* são também escassos. Sabe-se que a população brasileira é muito heterogênea e resultante de um processo de miscigenação ao longo de cinco séculos envolvendo europeus, africanos e índios. Este processo histórico resultou na formação de uma nação com grande variabilidade na pigmentação cutânea. No Brasil a cor da pele é uma característica fenotípica pela qual os indivíduos se autodeclaram pertencentes a uma raça. Acredita-se que esta classificação racial não seja a mais adequada para pesquisas em populações com diferentes graus de ancestralidade (PENA, 2005; PENA, 2011; PENA et al., 2011).

Em um estudo realizado com a população do Rio de Janeiro avaliou-se a frequência do *CYP3A5\*3*. A frequência encontrada para este alelo foi três vezes maior em pretos brasileiros (32%) do que em africanos (<10%) e foi menos comum entre os brasileiros brancos (78%) do que em europeus (>95%) (SUAREZ-KURTZ, 2009).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no Censo de 2010, o Brasil contava com uma população de 190.732.694. A população da região

Centro-Oeste corresponde a 7,4% deste total. Os dados do Censo 2010 mostram que 43,1% da população brasileira se declara pardo e que todas as regiões revelam percentuais de pardos acima dos 35%, exceto para a região Sul, com 16,5%. Ainda segundo o censo 2010, 7,6% dos entrevistados se declararam pretos, e seu maior percentual encontra-se no Nordeste (9,5%), seguido pela região Sudeste (7,9%), enquanto a Região Sul mostra o menor percentual (4,1%). No Centro-Oeste, 46,2% se autodeclararam brancos, 3,5% pretos, 49,4% pardos, 0,4% amarelos e 0,5% indígenas (IBGE, 2016).

Um estudo brasileiro envolvendo a população da região do sul do Brasil, com 179 indivíduos, observou uma frequência de 0,81 da variante *CYP3A5\*3* naqueles que se declararam descendentes de europeus e de 0,523 entre aqueles que se declararam afro-descendentes. Já a frequência do alelo *CYP3A5\*6* foi de 0,04 nos afro descendentes. Os brasileiros descendentes de africanos tem uma frequência menor do alelo *CYP3A5\*6* comparados aos afro-americanos e africanos (0,07 e 0,22). Os descendentes brasileiros de europeus apresentam uma frequência do alelo *CYP3A5\*6* de 0,005, valor maior que o encontrado em europeus e também em americanos de descendência européia (0-0,001). O estudo ainda ressalta que a população do sul do Brasil apresenta uma menor contribuição africana e maior contribuição étnica européia, quando comparada a outras regiões geográficas brasileiras (KOHLRAUSCH; CARRACEDO; HUTZ, 2014).

Em outro estudo brasileiro foi avaliado o impacto da cor/raça, região geográfica de origem e a proporção da ancestralidade européia, africana e indígena de cada indivíduo na distribuição alélica do *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6*, inferido se os haplótipos *CYP3A5* e o esperado fenótipo metabolizador relacionado com esta proteína. Foram avaliados 909 indivíduos pertencentes as regiões norte, nordeste, sul e sudeste do Brasil. Demonstrou se que a distribuição das frequências dos alelos *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6*, seus haplótipos e fenótipos variaram significativamente de acordo com a cor/raça relatada e a região geográfica brasileira de origem. A chance de portar o alelo *CYP3A5\*3* aumentou conforme aumentou a chance da ancestralidade européia e decaiu com a maior ancestralidade africana, independente da raça/cor declarada. Da mesma forma, neste estudo, a distribuição do alelo *CYP3A5\*6* aumentou conforme as chances de maior ancestralidade africana (SUAREZ-KURTZ, 2014).

A população brasileira, heterogênea e miscigenada, torna a extrapolação de

dados farmacogenéticos oriundos de grupos étnicos relativamente homogêneos, (europeus, norte-americanos brancos ou africanos subsaarianos) inadequada. Os achados de estudos brasileiros enfatizam a heterogeneidade brasileira como uma variável contínua e ressaltam a importância farmacogenética dos dados levantados (SUAREZ-KURTZ, 2014). Entre os brasileiros a heterogeneidade de nossa população não pode ser representada por pela cor. No Brasil, é recomendável que cada pessoa seja tratada como um indivíduo sem distinção racial. (KURTZ; PENA, 2006). Assim, este estudo foi proposto visando preencher uma lacuna nos dados disponíveis sobre as variantes *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6*.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivos Primários**

- Avaliar a frequência dos principais polimorfismos funcionais do gene CYP3A5, em indivíduos do Centro-Oeste do Brasil e as possíveis associações às características demográficas desta população.

### **2.2 Objetivos Secundários**

- Investigar a frequência dos polimorfismos genéticos da CYP3A5 em indivíduos da região Centro-Oeste do país.

- Comparar as frequências dos polimorfismos encontrados com aquelas obtidas em outras regiões geográficas do país e do exterior.

- Investigar as possíveis associações já descritas na literatura entre os polimorfismos estudados e inferir o perfil metabolizador.

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1 Aspectos Éticos e Tipo de Estudo**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUC Goiás com o parecer número CAAE 39368614.8.0000.0037 (Anexo 1).

#### **3.2 Seleção dos Participantes e Coleta de Dados Demográficos**

A coorte foi constituída por usuários do Laboratório da Área de Saúde da PUC-Goiás (LAS) que pertence ao departamento de Biomedicina da PUC-Goiás e oferece atendimento pelo Sistema Único de Saúde (SUS). O LAS realiza exames de alta complexidade e atende uma média de 80 pacientes por dia na realização de exame nos diferentes setores de análises clínicas. Entre os usuários do LAS foram selecionados 166 indivíduos, maiores de 18 anos, nascidos e residentes na região Centro-Oeste do Brasil. A amostragem deu-se por conveniência. O número de casos analisados não pode ser calculado pelas bases metodológicas convencionais, sendo então estimado o número da amostra pelo número de participantes nas bibliografias consultadas. A grande amplitude de frequências encontradas nos diferentes grupos étnicos para os polimorfismos estudados impediu o cálculo da amostra pelos métodos convencionais.

As amostras de sangue foram colhidas por punção venosa e armazenadas na forma de biorrepositório, após a assinatura do TCLE (Anexo 2), obedecendo à Resolução do Conselho Nacional de Saúde (CNS) CNS 466/2012. As amostras receberam imediatamente um número de identificação, fornecido no próprio laboratório, de acordo com o número lançado no TCLE e no formulário de dados sociodemográficos. Os dados sócio-demográficos colhidos incluíram: nome, sexo, idade, cor, naturalidade e uso de medicamentos. Os indivíduos que receberam transfusão de hemoderivados nos últimos seis meses não foram incluídos no estudo.

#### **3.3 Extração de DNA**

As amostras de sangue, coletadas a vácuo em tubo contendo EDTA, foram

mantidas refrigeradas em recipiente adequado e transferidas ao final do dia para o Laboratório de Diversidade Genética da PUC-Goiás, onde foram realizadas as extrações de DNA. As extrações de DNA foram realizadas por meio do kit comercial PureLink (Invitrogen), de acordo com as recomendações do fabricante, posteriormente quantificadas pelo método de espectrofotometria, utilizando o NanoDrop. As alíquotas de DNA devidamente identificadas foram armazenadas em freezer -20°C até a realização dos testes moleculares para detecção dos polimorfismos genéticos.

### **3.4 Detecção e Genotipagem dos Polimorfismos da CYP3A**

A discriminação alélica do polimorfismo *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6*, foi realizada por amplificação do DNA genômico, através da reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real e identificação dos SNPs com sondas TaqMan. Os alelos não identificados como *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6* foram denominados *CYP3A5\*1*. A reação de PCR em tempo real foi realizada no equipamento StepOne (Applied Biosystems) com detecção de fluorescência conectada a um computador para registro, coleção dos dados e análise no *software StepOne*.

Na PCR em tempo real, um sinal fluorescente é emitido proporcionalmente ao acúmulo do produto gerado durante a reação. A reação pode ser monitorada do começo ao fim. A fluorescência em cada amostra produz um sinal óptico associado à molécula alvo amplificada e também à quantidade de produtos da PCR gerada a cada ciclo de amplificação (VERLENGIA et al., 2013).

Inicialmente, a sonda TaqMan se hibridiza à sequência-alvo. Esta sonda contém dois marcadores de diferentes espectros de fluorescência. Na extremidade 5' encontra-se o repórter e na extremidade 3' está o *quencher*. Enquanto a sonda está intacta, a fluorescência do repórter é inibida pela proximidade ao silenciador. Na fase de extensão da PCR, a sonda é degradada pela atividade 5'-exonuclease da *Taq* polimerase, liberando os marcadores fluorescentes e permitindo que a fluorescência do repórter seja detectada (VERLENGIA et al., 2013). Para o gene *CYP3A5\*3*, 6981 A>G (rs776746) e *CYP3A5\*6* G>A (rs10264272) usou-se um ensaio de PCR alélico específico fluorgênico segundo o protocolo do fabricante (ThermoScientific).

### **3.5 Análise dos Dados**

A análise dos dados das frequências alélicas foi realizado através do cálculo das porcentagens para os grupos estabelecido, segundo a cor ou raça, em relação a mostra total.



## 4. RESULTADOS

A coorte deste estudo foi constituída por 166 indivíduos, sendo 61 indivíduos do sexo masculino (37%) e 105 do sexo feminino (63%). A média das idades da população estudada foi de 37,8 anos (18 a 75 anos). O uso de qualquer tipo de medicação foi relatado em 41% dos indivíduos. O tipo de medicação não foi questionado. Os indivíduos autodeclarados brancos foram 71 (42,8%), pretos foram 20 (12%), pardos foram 71 (42,8%), um indivíduo indígena (0,6%) e três indivíduos declararam se amarelos (1,8%) (Tabela 1). Nenhum indivíduo referiu ter recebido hemoderivados nos últimos seis meses.

**Tabela 1:** Dados sociodemográficos dos indivíduos avaliados

<b>SEXO</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
MASCULINO	61	37
FEMININO	105	63
	166	100
<b>RAÇA/COR</b>		
BRANCO	71	42,8
PRETO	20	12,0
PARDO	71	42,8
INDIGENA	1	0,6
AMARELO	3	1,8
	166	100
<b>NATURALIDADE</b>		
GOIÁS	158	95,0
MATO GROSSO	3	1,8
MATO GROSSO DO SUL	2	1,4
DISTRITO FEDERAL	3	1,8
<b>USO DE MEDICAÇÃO</b>		
SIM	68	41
NÃO	98	59

Com relação às freqüências alélicas, observou-se que o alelo \*1 esteve presente em 58% dos casos deste trabalho, o alelo \*3 em 40% dos casos e o alelo \*6 em 2% dos indivíduos avaliados (Tabela 2). Na população branca, a freqüência do alelo \*1 foi de 61%, enquanto na população de pretos, a freqüência foi de 55% e na população parda, foi de 52% (Tabela 2).

**Tabela 2:** Distribuição alélica das variantes do *CYP3A5* segundo raça ou cor

RAÇA ou COR	N	ALELOS					
		*1		*3		*6	
		N	%	N	%	N	%
BRANCA	284	173	61	109	38	2	1
PRETA	80	44	55	34	43	2	2
PARDA	284	149	52	108	38	9	10
INDIA	4	2	50	2	50	0	0
AMARELA	12	9	75	3	25	0	0
TOTAL	664	377	58	256	40	13	2

Em relação ao polimorfismo *CYP3A5*\*6, o genótipo homozigoto selvagem (*CYP3A5*\*1/\*1) foi observado em 92% da amostra, o heterozigoto *CYP3A5*\*1/\*6 foi encontrado em 8% e o genótipo *CYP3A5*\*6/\*6 não foi detectado na amostra (Tabela 3). A frequência do homozigoto selvagem (*CYP3A5*\*1/\*1) foi de 41,5% na população branca, 11,2% para a população preta e 37,5% para a população parda (Tabela 3).

**Tabela 3:** Distribuição genotípica da variante do *CYP3A5*\*6 segundo raça ou cor

RAÇA ou COR	GENÓTIPO					
	*1/*1		*1/*6		*6/*6	
	N	%	N	%	N	%
BRANCA	69	0,415	2	0,012	0	0
PRETA	18	0,112	2	0,012	0	0
PARDA	62	0,375	9	0,05	0	0
INDIA	1	0,006	0	0	0	0
AMARELA	3	0,018	0	0	0	0
TOTAL	153	0,92	13	0,08	0	0

Quanto ao polimorfismo *CYP3A5*\*3, o genótipo homozigoto variante *CYP3A5*\*3/\*3 foi observado em 72% dos indivíduos avaliados (Tabela 4). O heterozigoto *CYP3A5*\*1/\*3 foi encontrado em 11% da amostra, enquanto o homozigoto selvagem foi encontrado em 17% dos casos. A frequência do homozigoto variante *CYP3A5*\*3/\*3 foi de 32% na população branca, 9% na população preta e 29% na população parda (Tabela 4).

**Tabela 4:** Distribuição genotípica da variante *CYP3A5*\*3 segundo raça ou cor

RAÇA ou COR	GENÓTIPO					
	*1/*1		*1/*3		*3/*3	
	N	%	N	%	N	%
BRANCA	14	0,084	5	0,030	52	0,32
PRETA	2	0,012	2	0,012	16	0,09
PARDA	13	0,078	10	0,06	49	0,29
INDIA	0	0	0	0	1	0,006
AMARELA	1	0,006	1	0,006	1	0,006
TOTAL	29	0,17	18	0,11	119	0,072

Quando analisada a expressão de *CYP3A5*, o perfil de forte metabolizador (Tabela 5) foi correlacionado com a presença de pelo menos um alelo *CYP3A5*\*1. Assim, indivíduos homocigotos selvagens (*CYP3A5*\*1) para *CYP3A5* possuem a maior atividade enzimática (MIAO et al., 2009). Os indivíduos homocigotos variantes *CYP3A5*\*3 e *CYP3A5*\*6 expressam uma proteína sem atividade (KUEHL et al., 2001) e por isso são chamados de fracos metabolizadores (MIAO et al., 2009). Analisando os dados desta amostra, pode-se inferir que 73% dos brancos, 69% dos pardos e 8% dos pretos teriam um perfil de fracos metabolizadores.

**Tabela 5:** Classificação fenotípica do perfil metabolizador segundo raça ou cor

RAÇA ou COR	GENÓTIPO					
	Forte Metabolizador		Fraco Metabolizador		Total	
	N	%	N	%	N	%
BRANCA	19	0,27	52	0,73	71	0,43
PRETA	4	0,2	16	0,8	20	0,11
PARDA	22	0,31	49	0,69	71	0,43
INDIA	0	0	1	1	1	0,01
AMARELA	2	0,67	1	0,33	3	0,02
TOTAL	29	0,28	119	0,72	166	1

## 5. DISCUSSÃO

Este estudo avaliou a frequência alélica das variantes *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6* em indivíduos nascidos na região Centro-Oeste do Brasil. Durante o levantamento bibliográfico não foi identificado nenhum estudo que já tivesse avaliado este polimorfismo nesta população previamente.

As frequências das variantes observadas em estudos brasileiros prévios, realizados com indivíduos da região Norte, Nordeste, Sul e Sudeste (SUAREZ-KURTZ et al., 2014; KOHLRAUSCH, CARRACEDO, HUTZ, 2014), mostram que os alelos *CYP3A5\*3* e *CYP3A5\*6* apresentam uma distribuição característica no povo brasileiro e que diferiu dos valores obtidos para indivíduos da população da região Centro-Oeste. Dados da literatura internacional (Tabela 6) mostram uma grande amplitude na frequência alélica do *CYP3A5\*3*, sendo relatada em negros de 0,03 a 0,85, em afro-americanos de 0,28 a 0,73, em europeus de 0,81 a 0,96 e em asiáticos de 0,69 a 0,94.

Em brasileiros avaliados nas quatro regiões geográficas do Brasil (KOHLRAUSCH, CARRACEDO, HUTZ, 2014), exceto o Centro-Oeste, observou-se uma frequência alélica de 0,5% da variante *CYP3A5\*6* em brancos, e de 4% em negros. Nesta amostra, que avaliou indivíduos da região Centro-Oeste, observou-se uma frequência de 1% em brancos, de 2% em pretos (2%) e de 10% nos pardos. Dados da literatura mundial mostram que a variante *CYP3A5\*6* é rara ou ausente em brancos e asiáticos e mostra grande variabilidade de frequência em indivíduos de nações africanas na qual a frequência da variante *CYP3A5\*6* oscilou de 0,05 a 1 (Tabela 6).

Quanto ao genótipo homozigoto variante *CYP3A5\*3/\*3* dois estudos brasileiros (SUAREZ-KURTZ et al., 2014; KOHLRAUSCH, CARRACEDO, HUTZ, 2014) mostraram valores de frequência para brancos, pardos e pretos de 67%, 47% e 27% respectivamente. Estes valores, comparados aos de nossa amostra, são quase duas vezes maiores que os encontrados para brancos (32%) e pardos (29%) e três vezes maiores para pretos (9%).

**Tabela 6:** Frequências alélicas dos *CYP3A5\*1*, *CYP3A5\*3*, *CYP3A5\*6* em diferentes populações.

Referência	País	Número de Casos	População	FREQUÊNCIA ALÉLICA (%)		
				<i>CYP3A5*1</i>	<i>CYP3A5*3</i>	<i>CYP3A5*6</i>
Van Schaik, R. H. (2002)	Alemanha	500	Alemã	----	0,91	0,002
Hiratsuka, M. (2002)	Japão	265	Japonesa	2,8 vezes maior que em caucaseanos	0,74	0
Hustert (2001)		183	Afro-Americanos	----	0,27	---
			Chinesa	----	0,73	---
			Japonesa	----	0,71	---
Yu, K (2004)	Coréia do Sul	19	Sul coreana	0,054	0,94	---
Liou, Y (2006)	Taiwan	180	Taiwanesa	---	0,692	---
Suarez-Kurtz et al., (2009)	Brasil/RJ		Branca	---	0,78	---
			Negra	----	0,32	---
Oliver, P. (2010)	Espanha	207	Espanhola	----	0,87	----
International Hap Map Project, (2013)	Japao, Reino Unido, Canada, China, Nigéria e Estados Unidos		Branca	---	0,95	---
			Africana-Subsaariana	----	0,14	----
Bains, R. K. (2013)	África	2538	Norte Africana	---	0,6-0,8	0,05-0,11
			Leste Africana	---	0,29-0,65	0,14-0,26
			Oeste Africana	---	0,11-0,25	0,16-0,23
			Centro Africana	---	0,04-0,62	0,01-1
			Sudeste Africana		0,11-0,26	0,13-0,33
Kohlrausch, F. B. (2014)	Brasil/RS	179	Branca	---	0,81	0,005
			Negra	---	0,52	0,04
Nestorovska et al. (2014)	Macedonia	96	Branca	---	0,91	---

Entre caucasianos, a variante *CYP3A5\*3* apresenta freqüência de 92% e 36,5% entre afro-americanos (KUEHL et al., 2001). Um estudo na população Bósnia observou uma freqüência de 94% da variante *CYP3A5\*3*, similar a de outras populações européias já estudadas (SEMIZ et al., 2011). Em outro estudo as freqüências da variante *CYP3A5\*3* foram de 85-95% entre Caucasianos, 60-73% entre Asiáticos e 27-50% entre afro-americanos (MIAO et al., 2009)

Nos asiáticos, a frequência alélica da variante de *CYP3A5\*1* e *CYP3A5\*3* em chineses é similar à dos caucasianos (KUEHL et al., 2001) porém diferente dos afro-americanos (KUEHL et al., 2001). A frequência alélica de *CYP3A5\*1* em malaios e indianos é similar à frequência dos afro-americanos, enquanto a frequência alélica da variante *CYP3A5\*3* em malaios e indianos é maior que nos afro-americanos (ZHOU, LIU, CHOWBAY, 2009). Em um estudo com 265 japoneses, a frequência alélica da *CYP3A5\*3* foi 0,740 e da *CYP3A5\*6* foi igual a zero. A frequência da variante *CYP3A5\*1* foi 2,8 vezes maior em Japoneses do que em caucasianos (HIRATSUKA et al., 2002).

Em um estudo espanhol, a frequência de homozigotos variantes *CYP3A5\*3* em brancos foi de 0,87 e na população chinesa de 0,62 (OLIVER; LUBOMIROV; CARCAS, 2010). Em outro estudo com 177 espanhóis, a frequência do homozigoto variante do *CYP3A5\*3* foi de 0,847 (GERVASINI et al., 2005). Na avaliação da população do norte da Espanha, obteve-se uma frequência de 0,883 para os homozigotos variantes *CYP3A5\*3* e entre 232 indivíduos da América Central observou-se uma frequência de 0,556 dos homozigotos variantes *CYP3A5\*3* (SINUES et al., 2007).

Europeus e asiáticos apresentam frequências alélicas para a variante *CYP3A5\*3* de forma mais previsível ao longo dos estudos analisados. Quando se analisam os estudos brasileiros, sem uma genotipagem prévia com polimorfismos validados para categorizar a ancestralidade dos indivíduos, as frequências da variante *CYP3A5\*3* mostram-se amplamente variáveis entre os indivíduos analisados segundo a cor relatada (SUAREZ-KURTZ et al., 2014). Tal fato deve-se possivelmente porque aqueles que se autoremecem pardos, por exemplo, podem ter maior ancestralidade europeia ou africana do que consideram (PENA, 2005; PENNA, 2011).

A população brasileira distribuída em um país de dimensões continentais mostra grande diversidade étnica resultante do processo de colonização que uniu, em um primeiro momento, indígenas e europeus e mais tarde recebeu escravos africanos (PENNA, 2011). Até o meio do século XX, continuou a receber europeus e asiáticos de maneira não uniforme ao longo do território brasileiro. Em consequência deste passado histórico, observam-se diferentes proporções da influência destes povos refletidas no fenótipo do brasileiro (PENNA, 2011).

Segundo dados do Censo 2010, 49,4% da população da região Centro-Oeste intitula-se parda e 46,2% se considera branca (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA, 2016). Outra limitação para comparação com dados internacionais é a definição de pardo que não é encontrada em outros países, e que também não encontra consenso na sua utilização entre os brasileiros (PENA, 2005; PENA, 2011). Poucos são os estudos brasileiros existentes (SUAREZ-KURTZ et al., 2014; KOHLRAUSCH, CARRACEDO, HUTZ, 2014) avaliando as variantes de maior impacto do metabolismo de drogas envolvendo a CYP3A5, mas também se deve questionar a avaliação das frequências das variantes divididas por categoria de raça ou cor (SUAREZ-KURTZ et al., 2014).

A diversidade observada em grandes populações com distribuição continental, como a brasileira, foi constatada através de um estudo em 934 brasileiros, investigando-se 40 polimorfismos de inserção – deleção, validados para rastreio do grau de ancestralidade europeia, africana e indígena. O estudo mostrou grande diversidade na ancestralidade entre as diferentes regiões geográficas brasileiras baseada na cor dos indivíduos. Porém, o trabalho aponta um problema relacionado à semântica na autodeclaração de cor mostrando que esta caracterização é baseada em aspectos fenotípicos subjetivos que levam em conta não só a pigmentação da pele, mas também a cor dos olhos, textura dos cabelos, largura do nariz e lábios. Quando desprezada a auto caracterização pela cor houve uma maior uniformidade da ancestralidade, com predomínio da europeia, em todas as regiões estudadas (PENA, 2005; PENA, 2011).

Na tentativa de facilitar a compreensão sobre qual raça prevalece no país e em suas diferentes regiões geográficas, tenta-se enquadrar o brasileiro em categorias raciais rígidas, pré-concebidas, para por fim definir sua etnia. Tal estratégia não se mostra eficaz, pois nota-se, pelos estudos que avaliam frequências alélicas, o distanciamento entre a autodeclaração de cor e sua relação com a ancestralidade (PENA, 2005; PENA, 2011). Sabe-se que um pequeno número de genes é responsável pela cor da pele, cor e textura dos cabelos, formato de nariz e lábios e tais características físicas não devem ser tomadas como determinantes precisas a qual grupo racial pertence um brasileiro. Até hoje, a utilização desta classificação racial pode ter sido usada esperando-se que avanços no campo do tratamento personalizado ocorram em breve (PENA, 2005).

Para a avaliação da variante *CYP3A5\*6* os dados internacionais de populações mostram uma baixa ou ausente frequência alélica (KUEHL et al., 2001; HIRATSUKA et al., 2002; VAN SCHAİK et al., 2002). Estudos africanos mostram frequências mais expressivas relacionadas à variante *CYP3A5\*6* (BAINS et al., 2013). Neste estudo da população brasileira da região Centro-Oeste do Brasil, os dados se distanciam dos extremos encontrados entre brancos e africanos (Tabela 6) e apresentam frequências próximas as encontradas em estudos brasileiros (SUAREZ-KURTZ et al., 2014; 2014; KOHLRAUSCH, CARRACEDO, HUTZ, 2014).

Assim, o melhor entendimento da base molecular das diferenças raciais na resposta às drogas poderá melhorar a terapia farmacológica individual e oferecer um uso mais racional dos medicamentos na medicina, além de diminuir a ocorrência de reações adversas na anestesia. Tal com o ocorre nos Estados Unidos, tradicionalmente a cor da pele é usada para estudos clínicos e farmacológicos como um substituto da ancestralidade geográfica (PENA, 2005). A população brasileira mostra uma contínua variabilidade genética e a definição de raça/cor pode não refletir sua heterogeneidade (PENA et al., 2011).

Em Anestesiologia, é grande o interesse no surgimento de drogas cada vez mais adaptadas a cada indivíduo e ao ato anestésico. Muito mais preocupada que simplesmente oferecer conforto ao paciente que será submetido a uma cirurgia, a Anestesiologia tem buscado ofertar maior segurança nos procedimentos realizados e drogas administradas. Estima-se que mundialmente ocorra um grande número de eventos adversos, principalmente relacionados à prescrição e administração de drogas. A ocorrência de eventos adversos não só implica em uma injúria transitória ou permanente até o momento da alta hospitalar, mas também no prolongamento do tempo de internação além do gasto de grande soma de recursos financeiros (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2016). A droga certa, na quantidade certa ao paciente certo é o alvo desta terapêutica personalizada. A fármaco vigilância é uma preocupação crescente dos órgãos reguladores de medicamentos que se esforçam por disponibilizar informação nos bulários a fim de prevenir efeitos adversos e otimizar os índices terapêuticos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2016).

À medida que cresce o acesso a novas tecnologias e o acesso à saúde, também aumenta o acesso aos medicamentos (SMITH, COLSON, SEHGAL, 2013). Nesta amostra, o uso de medicamentos foi relatado por 41% dos indivíduos e a partir da frequência genotípica pode se inferir que mais de 70% da amostra



apresenta um perfil de fraco metabolizador. Assim, é possível que esta população esteja em maior risco de toxicidade ou falha terapêutica, caso sejam medicamentos metabolizados pela CYP3A5. Os desfechos clínicos podem ser alterados com o conhecimento preciso do perfil metabolizador da CYP3A5 em cada indivíduo (PENA, 2005). Esta medicina personalizada, pode ser usada para conhecer o perfil farmacogenético daqueles que se submeteram à anestesia diminuindo o risco de toxicidade e melhora da eficácia terapêutica. Os custos dos testes genéticos para conhecimento do perfil farmacogenético já vem diminuindo ao longo dos anos, devendo-se difundir a sua utilização pelos profissionais de saúde para tomada de decisões quanto a prescrição (SOUZA, 2013).

A Farmacogenética é uma ciência que busca informações nos genes, a fim de guiar a terapêutica e melhorar as decisões e desfechos clínicos. Somente após o Projeto Genoma Humano, foi possível o desenvolvimento de pesquisas que identificassem possíveis variantes que estariam relacionadas à variabilidade de resposta individual decorrente da administração de um medicamento. O conhecimento farmacogenético permite tanto a escolha da droga mais adequada, assim como o ajuste da dose de forma individualizada (SOUZA, 2013). O conhecimento do perfil farmacogenético é mais uma ferramenta no arsenal clínico que deve ser considerado em conjunto com outras variáveis como idade, estado fisiológico e uso de medicações indutoras ou inibidoras do metabolismo enzimático, a fim de prever o risco real de toxicidade ou de falha terapêutica a que um indivíduo se expõe com a administração de um fármaco (PENA, 2005).

O maior conhecimento das relevantes frequências alélicas implicadas no metabolismo de drogas direcionadas ao povo brasileiro e o abandono da categorização racial embasada em aspectos morfológicos poderá ofertar uma terapêutica direcionada à individualidade e proporcionará segurança para todas as áreas científicas (PENA, 2005). A definição da raça é um artifício temeroso quando se pensa em definir qual o perfil farmacogenético de um indivíduo e todas as implicações relacionadas a toxicidade, falha terapêutica e outros diversos eventos adversos que podem sobrevir de tal caracterização superficial da população brasileira (PENA, 2011).

O estudo realizado apresentou limitações relacionadas ao número de polimorfismos da CYP3A5 estudados. Os polimorfismos avaliados neste estudo, CYP3A5\*3 e CYP3A5\*6, são os mais estudados na literatura consultada e de

relevância funcional no metabolismo de drogas utilizadas em anestesiologia. Este estudo abre perspectiva para que novas pesquisas avaliem os demais polimorfismos da CYP3A5 na população brasileira.

## 6. CONCLUSÃO

Nos indivíduos da região Centro-Oeste do Brasil avaliados neste estudo, a frequência alélica de *CYP3A5\*1* foi de 58%, de *CYP3A5\*3* foi de 40% e *CYP3A5\*6* foi de 2%.

O genótipo *CYP3A5\*3/\*3* foi o mais comum na amostra, sendo encontrado em 72% dos indivíduos e com frequência de 32% em indivíduos brancos.

Quanto ao polimorfismo *CYP3A5\*6*, o genótipo *CYP3A5\*1/\*1* foi observado em 92% da amostra, com maior frequência em indivíduos brancos (41,5%).

Comparando-se com estudos brasileiros, a frequência da variante alélica *CYP3A5\*6* apresentou frequências esperadas para brancos, menores em pretos e o dobro para pardos. A variante alélica *CYP3A5\*6* apresentou frequências menores em estudos em europeus e menores que em estudos em africanos.

A frequência da variante alélica *CYP3A5\*3* na população da região Centro-Oeste do país foi menor que em outros estudos brasileiros e também menor que as verificadas em europeus e asiáticos porém, encontra-se com frequência similar à observada na população do leste da África.

Quanto ao perfil metabolizador inferiu-se que 72% desta amostra apresenta um perfil de fraco metabolizador, valor este menor do que o observado em outro estudo brasileiro que descreveu 96% de fracos metabolizadores.

A maior frequência do perfil fraco metabolizador mostra que existe potencial de maior ocorrência de eventos adversos com o uso de fármacos metabolizados pela *CYP3A5* e que fazem parte do arsenal de medicamentos utilizados nas anestésias nesta população da região Centro-Oeste do Brasil.

## BIBLIOGRAFIA

AYUSE, T.; HOSHINO, Y.; KURATA, S.; AYUSE, T.; SCHNEIDER, H.; KIRKNESS J.P.; PATIL, S.P.; SCHWARTZ, A.R.; OI, K. The effect of gender on compensatory neuromuscular response to upper airway obstruction in normal subjects under midazolam general anesthesia. **Anesthesia Analgesia**. October;109(4) p. 1209-18, 2009.

BAINS, R. K.; KOVACEVI, M.; PLASTER, C. A.; TAREKEGN, A.; BEKELE, E.; BRADMAN, N. N.; THOMAS, M. G., Molecular diversity and population structure at the Cytochrome P450 3A5 gene in Africa, **BioMed Central**, v:14, n:4, 2013.

BELFER, I.; Nature and Nurture of Human Pain. **Scientifica**. Abril, 2013

BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica**. 12. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2015.

CANGIANI, L.M.; SLULLITEL, A.; POTERIO, G.M.B.; PIRES, O.C.; POSSO, I.P.; NO GUEIRA, C.S.; FERREZ, D.; CALLEGARI, D.C. **Tratado de Anestesiologia da Sociedade de Anestesiologia do Estado de São Paulo (SAESP)**. 7ª edição, São Paulo: Editora Atheneu, 2011.

CHUA, M.V.; TSUEDA, K.; DOUFAS, A.G. Midazolam causes less sedation in volunteers with red hair. **Canadian Journal Anaesthesia**. 5(1), p. 25-30, 2004.

FAREED, M.; AFZAL, M. Single nucleotide polymorphism in genome-wide association of human population: A tool for broad spectrum service. **The Egyptian Journal of Medical Human Genetics** 14, 123–134, 2013.

FROMM, M.F.; SCHWILDEN, H.; BACHMAKOV, I.; KÖNIG, J.; BREMER, F.; SCHÜTTLER, J. Impact of the CYP3A5 genotype on midazolam pharmacokinetics and pharmacodynamics during intensive care sedation. **European Journal Clinical of Pharmacology**. Dec;63(12), p. 1129-33, 2007. Epub 2007 Sep 5.

FUKASAWA, T.; SUZUKI, A.; OTANI, K. Effects of genetic polymorphism of cytochrome P450 enzymes on the pharmacokinetics of benzodiazepines. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**. 32, 333-341, 2007.

GERVASINI, G.; VIZCAINO, S.; GASIBA, C.; CARRILLO, J.A.; BENITEZ, J. Differences in CYP3A5\*3 genotype distribution and combinations with other polymorphisms between Spaniards and other Caucasian populations. **Therapeutic Drug Monitoring**. 27,p. 819–21, 2005.

HE, P.; COURT, M.H.; GREENBLATT, D.J.; VON MOLTKE, L.L. Genotype-phenotype associations of cytochrome P450 3A4 and 3A5 polymorphism with midazolam clearance in vivo. **Clinical Pharmacological & Therapeutics**. May;77(5):373-87, 2005.

HIRATSUKA, M.; TAKEKUMA, Y.; ENDO, N.; NARAHARA, K.; HAMDY, S.I.; KISHIKAWA, Y.; MATSUURA, M.; AGATSUMA, Y.; INOUE, T.; MIZUGAKI, M. Allele and genotype frequencies of CYP2B6 and CYP3A5 in the Japanese population. **European Journal of Clinical Pharmacology**. Sep;58(6),p. 417-21, 2002. Epub 2002 Aug 14.

HUSTERT, E.; HABERL, M.; BURK, O.; WOLBOLD, R.; HE, Y.Q.; KLEIN, K.; NUSSLER, A.C.; NEUHAUS, P.; KLATTIG, J.; EISELT, R.; KOCH, I.; ZIBAT, A.; BROCKMÖLLER, J.; HALPERT, J.R.; ZANGER, U.M.; WOJNOWSKI, L. The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism. **Pharmacogenetics**. Dec;11(9):773-9 2001.

INGELMAN-SUNDBERG, M.; DALY, A. K.; NEBERT, D. W.; The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database, **Human CYP Allele Nomenclature Committee**. Janeiro; 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA; IBGE; <http://www.ibge.gov.br/home/>. Acessado em Março, 2016.

JACOB, T.C.; MOSS, S.J., JURD, R.; GABA(A) receptor trafficking and its role in the dynamic modulation of neuronal inhibition. **Nature Review Neuroscience**. Maio 9(5); 331-43, 2008.

JEMBREK, M.J.; VLAINIC, J. GABA receptors: Pharmacological Potential and pitfalls. **Current Pharmaceutical Design**. v: 21(34), p: 4943-59, 2015.

KOHLRAUSCH, F.B.; CARRACEDO, Á.; HUTZ, M.H. Characterization of CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms in South Brazilians. **Molecular Biological Reports**. Mar;41(3):1453-60. 2014.

KUEHL, P.; ZHANG, J.; LIN, Y.; LAMBA, J.; ASSEM, M.; SCHUETZ, J.; WATKINS, P.B.; DALY, A.; WRIGHTON, S.A.; HALL, S.D.; MAUREL, P.; RELLING, M.; BRIMER, C.; YASUDA, K.; VENKATARAMANAN, R.; STROM, S.; THUMMEL, K.; BOGUSKI, M.S.; SCHUETZ, E. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. **Nature Genetics**. Apr;27(4), p.383-91, 2001.

KURTZ, M. H.; PENA, S. J. D, Global. Pharmacogenomics in the Américas: impact of genetic admixture. **Current Drug Targets**. 7:1649-1658, 2006.

LADER, M; Benzodiazepine harm: how can it be reduced?. **British Journal of Clinical Pharmacology**. Feb; 77(2): 295–301, 2014.

LESKELÄ, S.; HONRADO, E.; MONTERO-CONDE, C.; LANDA, I.; CASCÓN, A.; LETÓN, R.; TALAVERA, P.; CÓZAR, J.M.; CONCHA, A.; ROBLEDO, M.; RODRÍGUEZ-ANTONA C. Cytochrome P450 3A5 is highly expressed in normal prostate cells but absent in prostate cancer. **Endocrine Related Cancer**. Sep;14(3):645-54, 2007.

LI, J.; ZHANG, L.; ZHOU, H.; STONEKING, M.; TANG, K., Global patterns of genetic diversity and signals of natural selection for human ADME genes. **Human Molecular Genetics**. Feb 1; 20(3):528-40, 2011.

LIU, Y.; LIN, C.; WU, Y. The high prevalence of the poor and ultrarapid metabolite alleles of CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, and CYP3A5 in Taiwanese population. **Journal of Human Genetic**, v. 51, p. 857-863, 2006.

MASON, K.P.; GREEN, S.M.; PIACEVOLI, Q.; INTERNATIONAL SEDATION TASK FORCE. Adverse event reporting tool to standardize the reporting and tracking of adverse events during procedural sedation: a consensus document from the World SIVA International Sedation Task Force. **British Journal of Anaesthesia**. Jan;108(1):13-20, 2012.

MASTERS, J. C., HARANO, D. M., GREENBERG, H. E., TSUNODA, S. H., JANG, I., MA, J. D., Limited sampling strategy of partial area-under-the-concentration-time-curves to estimate midazolam systemic clearance for cytochrome P450 3A phenotyping. **Therapeutic Drug Monitoring**. February ; 37(1): 84–89, 2015.

MIAO, J.; JIN, Y.; MARUNDE, R.L.; GORSKI, C.J.; KIM, S.; QUINNEY, S., RADOVICH, M.; LI, L.; HALL, S.D. Association of genotypes of the CYP3A cluster with midazolam disposition in vivo. **Pharmacogenomics Journal**. Oct;9(5), p. 319-26, 2009.

NESTOROVSKA, A.K.; NAUMOVSKA, J.K.; BAJRO, H.M.; STERJEV, Z.; EFTIMOV, A.; GESKOVKA, M.N.; SUTURKOVA, L.; DIMITROVSKI, K.; LABACEVSKI, N.; DIMOVSKI, A.J., Distribution of the most common genetic variants associated with a variable drug response in the population of the Republic of Macedonia. **Balkan Journal of Medical Genetic**. Dec, 17(2): 5-14, 2014.

OLIVER, P.; LUBOMIROV, R.; CARCAS, A. Genetic polymorphisms of CYP1A2, CYP3A4, CYP3A5, pregnane/steroid X receptor and constitutive androstane receptor in 207 healthy Spanish volunteers. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**. May;48(5):635-9, 2010.

OLSEN, R.W.; SIEGHART, W. GABA<sub>A</sub> Receptors: Subtypes Provide Diversity of Function and Pharmacology. **Neuropharmacology**. January; 56(1), p. 141–148, 2009.

OLSEN, R.W.; SIEGHART, W.; International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of gamma-aminobutyric acid(A) receptors: classification on the basis of subunit composition, pharmacology, and function. Update. **Pharmacological Reviews**. September, v. 60, n. 3, p. 243-60, 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE/ WORLD HEALTH ORGANIZATION (OMS/WHO); Boletim sobre Segurança do Paciente [http://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=3596:anvisa-lanca-boletins-sobre-seguranca-paciente&catid=1272:noticiasdtent&Itemid=816](http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=3596:anvisa-lanca-boletins-sobre-seguranca-paciente&catid=1272:noticiasdtent&Itemid=816). Acesso 22 março, 2016.

OZAWA S; SOYAMA A; SAEKI M; FUKUSHIMA-UESAKA H; ITODA M, KOYANO S;

SAI K; OHNO Y; SAITO Y; SAWADA J, Ethnic differences in genetic polymorphisms of CYP2D6, CYP2C19, CYP3As and MDR1/ABCB1. Review. **Drug Metabolism Pharmacokinetics**. April;19(2):83-95, 2004.

PERERA, M.A.; THIRUMARAN R.K.; COX, N.J.; HANAUER, S.; DAS, S.; BRIMERCLINE, C.; LAMBA, V.; SCHUETZ, E.G.; RATAIN, M.J.; DI RIENZO, A. Prediction of CYP3A4 enzyme activity using haplotype tag SNPs in African Americans. **The Pharmacogenomic Journal**. February; 9(1): 49-60, 2009.

PENA, S.D. The fallacy of racial pharmacogenomics. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. Apr;44(4):268-75, 2011.

PENA, S. D. J; Razões para banir o conceito de raça da medicina brasileira. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, v. 12, n. 1, p. 321-46, maio-ago. 2005.

PENA, S.D.; DI PIETRO, G.; FUCHSHUBER-MORAES, M.; GENRO, .JP.. HUTZ, M.H.; KEHDY, FDE. S.; KOHLRAUSCH, F.; MAGNO, L.A.; MONTENEGRO, R.C.; MORAES, M.O.; DE MORAES, M.E.; DE MORAES, M.R.; OJOPI, E.B.; PERINI, .JA.; RACCIOPI, C.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A.K.; RIOS-SANTOS, F.; ROMANO-SILVA, M.A.; SORTICA, V.A.; SUAREZ-KURTZ, G.The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. **PLoS One**. Feb 16;6(2):e17063, 2011.

RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M., FLOWER, R.J., HENDERSON, G. **Farmacologia**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

SAKATA, R.K.; Analgesia and sedation in intensive care unit. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. Nov-Dec; 60(6):648-58, 360-5, 2010

SEMIZ, S.; DUJIĆ, T.; OSTANEK, B.; PRNJAVORAC, B.; BEGO, T.;MALENICA, M.;MLINAR, B.; MARC, J.; CAUSEVIĆ, A. Analysis of CYP3A4\*1B and CYP3A5\*3 polymorphisms in population of Bosnia and Herzegovina. **Medicinski glasnik**. Feb;8(1), p. 84-9, 2011.

SHIH PS, Huang JD. Pharmacokinetics of midazolam and 1'-hydroxymidazolam in Chinese with different CYP3A5 genotypes. **Drug Metab and Disposition**. Dec;30(12):1491-6, 2002.

SHORVON, S.; The historical evolution of, and the paradigmsshifts in, the therapyof convulsive status epilepticus over the past 150 years. **Epilepsia**. 54 (Suplemento 6): 64-67, 2013.

SIGEL, E.; STEINMANN, M.E. Structure, Function, and Modulation of GABA<sub>A</sub> Receptors. **The Journal Biological Chemistry**. November 23; 287(48), p. 40224–40231, 2012

SIKKA, R.; MAGAURAN, B.; ULRICH, A.; SHANNON, M. Bench to bedside: Pharmacogenomics, adverse drug interactions, and the cytochrome P450 system. **Academic Emergency Medicine**. December, 12(12), p. 1227-35, 2005.

SMITH, H.S.; COLSON, J; SEHGAL, N. An update of evaluation of intravenous sedation on diagnostic spinal injection procedures. **Pain Physician**. Apr;16(2 Suppl):SE217-28, 2013.

SIMON, J.; WAKIMOTO, H.; FUJITA, N.; LALANDE, M.; BARNARD, E.A. Analysis of the set of GABA(A) receptor genes in the human genome. **The Journal Biological Chemistry**. v. 279, p. 41422–41435, 2004

SINUES, B.; VICENTE, J.; FANLO, A.; VASQUEZ, P.; MEDINA, J.C.; MAYAYO, E.; CONDE, B.; ARENAZ, I.; MARTINEZ-JARRETA, B. CYP3A5\*3 and CYP3A4\*1B allele distribution and genotype combinations: differences between Spaniards and Central Americans. **Therapeutic Drug Monitoring**. 29, p. 412–6, 2007.

SOUZA, C.A.C.; Farmacogenômica: Janela à Medicina Personalizada. **The International Journal of Psychiatry**. v. 18, n. 8, Ago. 2013.

STRANGER, B.E.; STAHL, E.A.; RAJ,T., Progress and promise of genome-wide association studies for human complex trait genetics. **Genetics**. Fev; 187(2):367-83, 2011.

SUAREZ-KURTZ, G. Farmacogenômica e a diversidade genética da população brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**. v.25, n. 8, 2009. Rio de Janeiro Aug.

SUAREZ-KURTZ, G.;VARGENS, D. D; SANTORO, A. B.; HUTZ, M. H.; DE MORAES, M.E.; PENA, S. D. J.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A.; ROMANO-SILVA, M.A.; STRUCHINER, C. J.; Global Pharmacogenomics: Distribution of CYP3A5 Polymorphisms and Phenotypes in the Brazilian Population, **PLoS One**; 9(1): e83472, 2014.

SUNG-HOON, M.; Sedation Regimens for Gastrointestinal endoscopy. **Clinical Endoscopy**. 47(2): 135-140, 2014.

TRUDELL, J. R., BERTACCINI, E., MACLAVER, B. M. Teaching an old GABA receptor new tricks, **Anesthesia Analgesia**. Agosto, 115(2): 270-273, 2012.

VAN SCHAİK, R.H.; VAN DER HEIDEN, I.P.; VAN DEN ANKER, J.N.; LINDEMANS, J. CYP3A5 variant allele frequencies in dutch Caucasians. **Clinical Chemistry**. Oct;48(10):1668-71, 2002.

VERLENGIA R.; CURI, C.; BEVILACQUA, E.; NEWSHOLME, P.; **Análises de RNA, proteínas e metabólitos: metadologia e procedimentos técnicos**. São Paulo: Santos, 2013.

WEISS, A.J.; ELIXHAUSER, A.; BAE, J.; ENCINOSA, W. Origin of Adverse Drug Events in U.S. Hospitals, 2011: Statistical Brief #158. **Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs** [Internet]. Rockville (MD): Agency for Health Care Policy and Research (US); 2006-.2013 Jul.



WISHART, D.S.; KNOX, C.; GUO, A.C.; SHRIVASTAVA, S.; HASSANALI, M.; STOTHARD, P.; CHANG, Z.; WOOLSEY, J. DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. *Nucleic Acids Research*. Jan 1;34, 2006.

WONG M, BALLEINE RL, COLLINS M, LIDDLE C, CLARKE CL, GURNEY H, CYP3A5 genotype and midazolam clearance in Australian patients receiving chemotherapy. **Clinical Pharmacology Therapeutics**. Jun;75(6):529-38, 2004.

XIE, H. G.; KIM, R. B.; WOOD, A. J.; STEIN, C.M., Molecular basis of ethnic differences in drug disposition and response. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, 41:815-850, 2001.

YU, K.S.; CHO, J.Y.; JANG, I.J.; HONG, K.S.; CHUNG, J.Y.; KIM, J.R.; LIM, H.S.; OH, D.S.; YI, S.Y.; LIU, K.H.; SHIN, J.G.; SHIN, S.G. Effect of the CYP3A5 genotype on the pharmacokinetics of intravenous midazolam during inhibited and induced metabolic states. **Clinical Pharmacology Therapeutics**. Aug;76(2), p. 104-12, 2004.

ZHOU, S.F.; LIU, J.P; CHOWBAY, B. Polymorphism of human cytochrome P450 enzymes and its clinical impact. **Drug Metabolism Resume**. v: 41(2), 2009.



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE  
CATÓLICA DE GOIÁS -  
PUC/GOIÁS



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DA CYP3A5 EM INDIVÍDUO CENTRO-OESTE DO BRASIL

**Pesquisador:** VERA APARECIDA SADDI

**Área Temática:** Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de aprovação ética por parte da CONEP.);

**Versão:** 1

**CAAE:** 39368614.8.0000.0037

**Instituição Proponente:** Pontifícia Universidade Católica de Goiás - PUC/Goiás

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 911.921

**Data da Relatoria:** 09/12/2014

#### Apresentação do Projeto:

O estudo proposto é transversal, descritivo, prospectivo e utilizará dados socio-demográficos de sangue periférico, visando determinar a frequência dos polimorfismos do gene CYP3A5 na região Centro-Oeste do país. Os resultados obtidos serão comparados com os de outras regiões do exterior, e serão investigadas as possíveis associações descritas na literatura e estudadas e a resposta ao midazolam, usado em anestesiologia.

#### Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a frequência dos principais polimorfismos funcionais do gene CYP3A5, na população do Centro-Oeste do Brasil e suas possíveis associações às características demográficas desta população.

Objetivo Secundário:

. Avaliar a frequência dos polimorfismos genéticos da CYP3A5 na população da região do Centro-Oeste do país. • Comparar as frequências dos polimorfismos encontrados com aquelas obtidas em outras regiões do exterior.

**Endereço:** Av. Universitária, N.º 1.069

**Bairro:** Setor Universitário

**CEP:** 74.605-010

**UF:** GO

**Município:** GOIANIA

**Telefone:** (62)3946-1512

**Fax:** (62)3946-1070

**E-mail:** cep@pucgoias.edu.br



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE  
CATÓLICA DE GOIÁS -  
PUC/GOIÁS



Continuação do Parecer: 911.921

outras regiões geográficas do país e do exterior. • Revisar as possíveis associações já descritas na literatura entre os polimorfismos estudados e a resposta às drogas usadas em anestesiologia.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Amplamente garantidos de acordo com a Resolução 466/12.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A relevância do projeto centra no uso dos resultados para a apresentação de comunicações orais contendo os resultados da pesquisa em reuniões científicas e congressos, a elaboração de manuscritos destinados à publicação em periódicos especializados, a elaboração de uma dissertação para conclusão do Programa de Mestrado em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, além da formação de alunos de iniciação científica.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

De acordo com a Resolução 466/12.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Sem pendências.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

A aprovação deste, conferida pelo CEP, não isenta o Pesquisador de prestar satisfação sobre sua Pesquisa em casos de alteração de amostra ou centros de coparticipação. É exigido a entrega do relatório final após conclusão da pesquisa.

GOIANIA, 12 de Dezembro de 2014

---

**Assinado por:**  
**NELSON JORGE DA SILVA JR.**  
(Coordenador)

**Endereço:** Av. Universitária, N.º 1.069

**Bairro:** Setor Universitário

**CEP:** 74.605-010

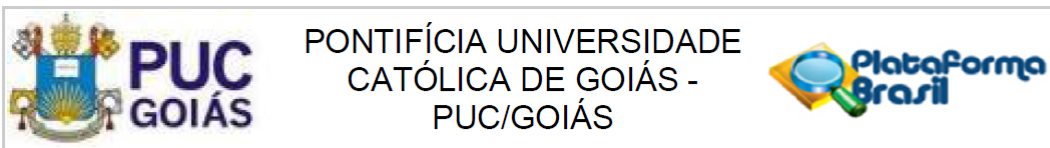
**UF:** GO

**Município:** GOIANIA

**Telefone:** (62)3946-1512

**Fax:** (62)3946-1070

**E-mail:** cep@pucgoias.edu.br



Continuação do Parecer: 911.921

**Endereço:** Av. Universitária, N.º 1.069  
**Bairro:** Setor Universitário **CEP:** 74.605-010  
**UF:** GO **Município:** GOIANIA  
**Telefone:** (62)3946-1512 **Fax:** (62)3946-1070 **E-mail:** cep@pucgoias.edu.br

## **ANEXO 2: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título do Projeto de Pesquisa: Avaliação dos polimorfismos da CYP3A5 em indivíduos da região Centro-Oeste do Brasil.

Pesquisador Responsável (orientador): Dra. Vera Aparecida Saddi

Equipe de Pesquisa: Nuria Alonso López Cid

Você está sendo convidado(a) para participar voluntariamente do projeto de pesquisa intitulado: Avaliação dos polimorfismos da CYP3A5 em indivíduos da região Centro-Oeste do Brasil. Meu nome é Nuria Alonso López Cid, sou a pesquisadora responsável, mestranda em Genética. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, este documento deverá ser assinado em duas vias, sendo a primeira de guarda e confidencialidade do pesquisador responsável e a segunda ficará sob sua responsabilidade para quaisquer fins. em caso de recusa, você não será penalizado (a) de forma alguma. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável, Nuria Alonso López Cid, no telefone (62) 81045364 ou pelo email [nuriacid@gmail.com](mailto:nuriacid@gmail.com) ou com a orientadora da pesquisa Professora Vera Aparecida Saddi, nos telefones: (62) 3946-1346 ou (62) 8247-9596.

Em caso de dúvida sobre aspectos éticos aplicados a pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa na Pontifícia Universidade Católica de Goiás, telefone: (62) 3946-1512, localizado na Avenida Universitária, número 1069, Setor Universitário, Goiânia - Goiás. Durante a realização dos seus exames de rotina no Laboratório da Área de Saúde da PUC Goiás, você é convidado a participar do estudo. Caso você concorde será convidado a participar de uma conversa com o pesquisador em uma sala reservada, quando será informado sobre os objetivos da pesquisa, a metodologia a ser empregada, a destinação do material coletado e sobre o termo de consentimento livre e esclarecido que deverá ser assinado por você e pelo pesquisador. Esta conversa deverá levar de 10 a 20 minutos. Você está sendo convidado porque é nascido no Centro-Oeste do Brasil e como usuário do Laboratório da Área de Saúde da PUC, já teria mesmo que coletar uma amostra de sangue. Caso você concorde em participar da pesquisa, um volume

de sangue de dois mililitros será colhido a mais além do volume colhido para os seus exames, sendo esses dois mililitros usados na pesquisa.

Algumas proteínas produzidas no fígado humano, como a CYP3A5 são responsáveis pela transformação da maior parte dos medicamentos que são utilizados em hospitais, cirurgias, anestésias e em nossas casas, no nosso dia-a-dia. Embora as pessoas sejam muito parecidas umas com as outras, existem diferenças individuais nas diferentes populações podendo causar efeitos colaterais com o uso de algumas medicações quando a pessoa tem uma dessas proteínas variantes. Assim, a análise laboratorial dessas variantes e a determinação da sua frequência na população brasileira, neste caso, da população do Centro-Oeste é muito importante para diminuir a ocorrência de efeitos colaterais. Até os dias de hoje, não há nenhum estudo sobre estas variantes da proteína CYP3A5 na população da região CentroOeste. Este projeto representa uma tentativa de conhecer a frequência destas variantes na população da região Centro-Oeste para que medidas, se necessárias, sejam tomadas, a fim de evitar reações não desejadas com o uso de medicamentos prescritos em anestesiologia.

A análise das variações genéticas da proteína CYP3A5 será feita na sua amostra de sangue, usando técnicas de análise do material genético (análise de DNA). Os resultados encontrados serão comparados com aqueles já obtidos em outras regiões do Brasil e do mundo. A amostra contendo dois mililitros do sangue coletado será levada para o Laboratório de Diversidade Genética da PUC Goiás, coordenado pela Doutora Vera Aparecida Saddi, que é também a coordenadora deste projeto. Esta amostra de sangue será processada para a análise do material genético, buscando conhecer as variações do gene CYP3A5. Os riscos ou transtornos previstos para os participantes do estudo incluem aqueles relacionados à coleta de sangue periférico, obtida por punção venosa que pode causar desconforto físico ou emocional aos participantes. Porém, o procedimento de coleta deverá ser realizado por profissionais treinados do Laboratório da Área de Saúde da PUC-Goiás, seguindo as normas de segurança estabelecidas e evitando maiores riscos. Entretanto, caso você apresente algum problema médico durante ou após a coleta da amostra de sangue periférico, o pesquisador do estudo prestará assistência, encaminhando-o para atendimento de emergência e acompanhamento médico. Os pesquisadores se responsabilizam pelo atendimento de qualquer complicação ou dano de qualquer natureza, que seja decorrente da

participação na pesquisa.

Os resultados desta pesquisa serão tornados públicos, sempre resguardando a confidencialidade dos participantes da pesquisa. Caso você tenha interesse em conhecer os resultados obtidos por meio do projeto, poderá entrar em contato com os pesquisadores responsáveis em qualquer momento.

Este estudo não acarretará nenhuma despesa para o participante, pois a conversa com o pesquisador, a assinatura do TCLE e a coleta de sangue serão realizados durante seus exames de rotina no Laboratório da Área de Saúde da PUCGoiás, que já estavam previamente agendados. Assim, não será fornecida nenhuma compensação financeira adicional, caso você aceite participar do estudo. Você tem total liberdade para recusar sua participação no estudo. Esta recusa não interferirá na assistência que você receberá e você não será penalizado(a) ou responsabilizado de forma alguma. Se aceitar participar e depois retirar seu consentimento, em nada será prejudicado(a). Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente o pesquisador e/ou equipe de pesquisa terão conhecimento de sua identidade e nos comprometemos a mantê-la em sigilo ao publicar os resultados dessa pesquisa.

A assistência integral e gratuita para atender danos decorrentes da pesquisa, diretos ou indiretos, imediatos ou tardios são garantidos pela Resolução 466/12. Você como participante da pesquisa tem o direito garantido de requerer indenização em caso de danos, comprovadamente decorrentes da sua participação na pesquisa, mediante decisão judicial ou extra-judicial.

Declaramos para os devidos fins que cumprimos com legitimidade os itens IV. 3 e IV. 4 da Resolução do Conselho Nacional de Saúde 466/12.

Eu \_\_\_\_\_ RG \_\_\_\_\_, abaixo assinado discuti com a pesquisadora, Nuria Alonso López Cid, sobre minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário e concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido com o meu atendimento neste Serviço.

Goiânia, \_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_, de 2015

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante      Data

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Assinatura da testemunha              Data

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável pelo estudo      Data

CONTATO TELEFÔNICO Orientadora Responsável: Dra. Vera Aparecida Saddi  
Telefones: (62) 3946-1346 ou (62) 3212-0012 Pesquisador responsável: Nuria  
Alonso López Cid Telefones: (62)8104-5364 Comitê de Ética em Pesquisa da PUC  
Goiás Av Universitária, número 1069, setor Universitário, área IV (Bloco D da  
Reitoria) Telefone (62) 3946-1512 no horário de 8:00 às 17:00 email:  
cep@pucgoias.edu.br



### **ANEXO 3: FORMULÁRIO DE DADOS SÓCIO-DEMOGRÁFICOS**

1 - Nome:

2 - Data de Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

3 - Idade: \_\_\_\_\_

4 – Sexo: Masculino (1) Feminino (2)

5 - Cor: \_\_\_\_\_

(1) Branco (2) Preto (3) Pardo (4) Indígena (5) Amarelo

6 – Naturalidade: \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

7- Medicamentos em uso: \_\_\_\_\_

8-Recebeu transfusão de sangue nos últimos seis meses? \_\_\_\_\_