



AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS NOS GENES DO CITOCROMO P450 E ABCB1 NA FARMACOCINÉTICA DO CLORIDRATO DE TRAZODONA

Palavras-Chave: Polimorfismo genético; Farmacocinética; Farmacogenética; Antidepressivos; Proteína ABCB1; CYP3A4

Autores(as):

Pedro Gamberini Martins, FCF – UNICAMP

Jessica Maulman, FCM – UNICAMP

Profa. Dra. Patricia Moriel, FCF - UNICAMP

Prof. Dr. Eder de Carvalho Pincinato (orientador), FCM - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, mais de 300 milhões de pessoas sofrem de depressão atualmente, o equivalente a 4,4% da população mundial. Essa desordem mental é caracterizada por grande sentimento de tristeza, perda de interesse ou prazer, sentimento de culpa, baixa autoestima, problemas com sono e/ou apetite, sensação de cansaço e dificuldade de concentração. Pode ocorrer de forma crônica ou de forma recorrente, prejudicando substancialmente a performance de um indivíduo no trabalho, na escola e/ou na vida pessoal. No seu mais grave estado, pode levar o indivíduo a cometer suicídio (WHO, 2017).

O cloridrato de trazodona é indicado no tratamento da depressão com ou sem episódios de ansiedade, no tratamento da depressão maior e da dor associada à neuropatia diabética ou outros tipos de dores crônicas (ANVISA, 2019a). O cloridrato de trazodona pode ser encontrado na forma de comprimidos de liberação prolongada cuja posologia recomendada é de 75 - 150 mg em uma dose única à noite, antes de dormir. Nesse caso a dose máxima recomendada é de 150mg, duas vezes ao dia (ANVISA, 2019b).

A trazodona é bem absorvida após a administração oral, atingindo concentrações plasmáticas máximas (C_{máx}) uma hora após a administração de formulações de liberação imediata e quatro horas após administração de uma formulação de liberação prolongada. É amplamente metabolizada no fígado por hidroxilação, alquilação e N-oxidação. A formação de seu metabólito ativo *m-chlorophenylpiperazine* (mCPP) se dá principalmente por N-alquilação do nitrogênio piperazinil através do citocromo P450, família 3A4 (CYP3A4), indicando que a trazodona é um substrato dessa isoforma (MEULMAN, 2022).

A farmacocinética da trazodona é influenciada por diversos fatores, como a atividade

enzimática da CYP3A4 e CYP3A5, além dos transportadores de membrana, como a glicoproteína P (P-gp) que realizam o efluxo de xenobiótico de dentro para fora das células. A atividade destas proteínas, por sua vez, pode sofrer influências genéticas, que podem alterar direta ou indiretamente a farmacocinética do medicamento.

Em uma revisão sistemática realizada pelo nosso grupo de pesquisa, foi possível identificar quatro artigos que avaliaram a influência de polimorfismos na farmacocinética da trazodona. Estes artigos avaliaram polimorfismos nos genes *CYP3A4*, *CYP3A5* e *ABCB1* (MEULMAN, 2022).

Polimorfismos no gene *ABCB1* foram estudados por Saiz-Rodriguez e colaboradores em 4 antidepressivos (trazodona, sertralina, agomelatina e citalopram) e 4 antipsicóticos (aripirazol, quetiapina, olanzapina e risperidona) em voluntários saudáveis. Foi observado que indivíduos homozigóticos para o alelo T/T apresentaram valores menores para $C_{máx}$, área sob a curva (AUC) e tempo de meia vida para a trazodona, além de um maior *clearance* do fármaco. Os polimorfismos nos genes *CYP3A4*, *CYP3A5* não influenciaram a farmacocinética do medicamento (SAIZ-RODRÍGUEZ et al., 2018).

Porém, não foram identificados estudos que avaliaram a influência dos polimorfismos das *CYP3A4*, *CYP3A5* e *ABCB1* na farmacocinética da trazodona na população brasileira, que apresenta grande miscigenação e frequências alélicas muitas vezes diferentes dos estudos realizados na população europeia ou da América do Norte. Sendo assim, justifica-se a realização deste trabalho.

METODOLOGIA:

Análise farmacocinética

Foi realizado um estudo de bioequivalência com o medicamento cloridrato de trazodona 150mg comprimidos de liberação prolongada para a análise farmacocinética. Foram convidados 112 voluntários, que após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), foram aleatoriamente divididos em dois grupos: jejum e alimentado. Ambos receberam um comprimido de 150 mg de trazodona e amostras de sangue em tubos contendo EDTA foram coletadas nos tempos: -01:00 (basal) / 00:30 / 01:00 / 01:30 / 02:00 / 02:30 / 03:00 / 03:20 / 03:40 / 04:00 / 04:20 / 04:40 / 05:00 / 05:30 / 06:00 / 08:00 / 10:00 / 12:00 / 24:00 / 36:00 / 48:00 / 72:00 horas após a administração. As concentrações plasmáticas de trazodona foram quantificadas por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS).

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Unicamp (CAAE: 39774320.0.0000.5404) e pelo Comitê de Ética ao qual o centro de bioequivalência que conduzirá o estudo está vinculado (CAAE: 39774320.0.3001.5599).

Foram determinados os parâmetros farmacocinéticos $C_{máx}$, ASC_{0-t} , ASC_{0-inf} , $T_{máx}$, $T_{1/2}$, K_{el-} , V_d e D , através dos softwares Microsoft Excel, Microsoft Word versões 365 Business e Software R[®].

Genotipagem

No dia anterior à administração do medicamento dos estudos de bioequivalência, foram coletados aproximadamente 4,9 mL de sangue total de cada participante do estudo, em tubos contendo EDTA como anticoagulante para a avaliação dos polimorfismos *CYP3A4**22 (rs35599367), *CYP3A5**3 (rs76746) e *ABCB1* (rs2032583, rs1128503 e C3435T).

O DNA foi isolado utilizando-se o kit comercial Wizard® genomic DNA purification Kit (Promega), seguindo-se as orientações do fabricante. O DNA foi quantificado por fluorescência, utilizando-se o kit comercial QuantiFluor® ONE dsDNA Dye com leitura realizada no equipamento QuantiFluor® (TM) dsDNA System, Promega. A determinação da pureza do DNA foi realizada por leitura espectrofotométrica e cálculo da razão de absorvância nos comprimentos de onda 260 nm/280 nm, utilizando-se o equipamento NanoDrop® (NanoDrop Technologies Inc, Wilmington, DE, USA).

A pesquisa de polimorfismos foi realizada por reação de polimerização em cadeia em tempo real (RT-PCR) seguida de análise por *High Resolution Melting* (HRM). Para a análise, utilizou-se o reagente Master Mix Type-it® HRM™ PCR Kit (Qiagen) (2x), os primers *Reverse* e *Forward*, água livre de RNase e DNA, totalizando em um volume final de 10 uL. As condições do PCR consistiram em um ciclo inicial de cinco minutos a 95°C, seguido por 45 ciclos a 95°C por 10 segundos e 55°C por 32 segundos. Ao final, foi realizada uma curva de *melting* de 80 a 90°C com incrementos de 0,1°C. Os resultados foram posteriormente analisados utilizando-se o software Rotor-Gene ScreenClust HRM (Qiagen).

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o *Statistics Program for Social Science for Windows* (SPSS® 16.0, SPSS Inc, Chicago, IL, EUA). Foi utilizada a análise de variância para medidas repetidas (ANOVA) e a correlação de Spearman foi utilizada para avaliar a correlação entre os polimorfismos e a farmacocinética do medicamento. O nível de significância adotado em todas as análises foi de 5% ($p < 0,05$). Para avaliar se as frequências genotípicas encontradas estão de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg, foi utilizado o cálculo proposto por Michael H. Court, através do software Microsoft Excel versão 365.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Parâmetros farmacocinéticos do estudo de bioequivalência

Dos 112 participantes selecionados para o estudo de bioequivalência, apenas 47 finalizaram o estudo sob condição de jejum e 46 finalizaram o estudo sob condição alimentado, sendo, portanto, incluídos na análise farmacocinética.

Dentre os participantes do estudo em jejum, 22 eram do sexo feminino e 25 do sexo masculino. Em média, as mulheres tinham 4,8 anos de idade a mais que os homens e pesavam 11,9kg a menos, sendo a maioria dos participantes da raça branco ou mulato. Dos participantes do estudo alimentado, 24 eram do sexo feminino e 22 do sexo masculino. As mulheres tinham 1,1 anos de idade a mais que os homens e pesavam 6,9kg a menos. Neste estudo, a maior parte dos participantes eram brancos, seguidos por mulatos e negros.

Ao analisar as médias dos parâmetros farmacocinéticos comparando-se os grupos em jejum e alimentado, foram observadas diferenças estatísticas na Cmax (1253,5 ± 329,8 ng/mL versus 1534,4 ± 513,4 ng/mL; p-valor = 0,002, respectivamente) e Tmax (3,7 ± 1,8 h versus 4,1 ± 1,3 h; p-valor = 0,035, respectivamente). Todos os outros parâmetros não apresentaram diferenças significativas entre os grupos jejum e alimentado.

Análise dos polimorfismos do gene ABCB1 e CYP3A5*3 e CYP3A4*22 e correlação com a farmacocinética do cloridrato de trazodona

A Tabela I abaixo descreve a frequência encontrada para os genótipos dos polimorfismos do ABCB1 (rs1045642, rs1128503 e rs2032582), CYP3A5 (rs776746) e CYP3A4 (rs35599367). A distribuição dos genótipos está em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Tabela I. Frequência dos genótipos e alelos dos polimorfismos do *ABCB1* (rs1045642, rs1128503 e rs2032582), *CYP3A5* (rs776746) e *CYP3A4* (rs35599367).

| Gene | Polimorfismo | Genótipo | Frequência N (%) |
|-----------|--------------|------------|------------------|
| ABCB1 | rs1045642 | AA | 20 (20,6) |
| | | AG | 49 (50,5) |
| | | GG | 28 (28,9) |
| | | Alelo A | 89 (45,9) |
| | | Alelo G | 105 (54,1) |
| | rs1128503 | AA | 14 (14,4) |
| | | AG | 43 (44,4) |
| | | GG | 40 (41,2) |
| | | Alelo A | 71 (36,6) |
| | | Alelo G | 123 (63,4) |
| rs2032582 | CC | 29 (29,9) | |
| | AC | 52 (53,6) | |
| | AA | 16 (16,5) | |
| | Alelo C | 110 (56,7) | |
| | Alelo A | 84 (43,3) | |
| CYP3A5 | rs776746 | CC | 53 (54,6) |
| | | TC | 36 (37,1) |
| | | TT | 8 (8,3) |
| | | Alelo C | 142 (73,2) |
| | | Alelo T | 52 (26,8) |
| CYP3A4 | rs35599367 | GG | 94 (96,9) |
| | | GA | 3 (3,1) |
| | | AA | 0 (0,0) |
| | | Alelo G | 191 (98,5) |
| | | Alelo A | 3 (1,5) |

Ao analisar a influência dos polimorfismos com os parâmetros de farmacocinética, não foram observadas diferenças estatísticas em nenhum dos parâmetros.

CONCLUSÕES:

Ao avaliar os resultados do estudo, pode-se concluir que o alimento influencia a velocidade da absorção do fármaco, apresentando maiores valores para os parâmetros C_{max} e T_{max} em condições pós-prandiais.

Todos os polimorfismos estudados estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg e de acordo com os resultados da análise estatística, não foram encontradas diferenças significativas entre os polimorfismos do *ABCB1* (rs1045642, rs1128503 e rs2032582), *CYP3A5* (rs776746) e *CYP3A4* (rs35599367) e os parâmetros farmacocinéticos C_{máx}, ASC_{0-t}, ASC_{0-inf}, T_{máx}, T_{1/2}, Kel., V_d e D, portanto, não há influência destes polimorfismos na farmacocinética de cloridrato de trazodona neste grupo de participantes do estudo.

BIBLIOGRAFIA

ANVISA. Bulário Eletrônico - Bula do profissional - Donaren® Apsen Farmacêutica S.A. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/index.asp>. Acesso em: 19 abr. 2020a.

ANVISA. Bulário Eletrônico - Bula do profissional - Donaren® Retard Apsen Farmacêutica S.A. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmResultado.asp#>. Acesso em: 19 abr. 2020b.

Applied Biosystems. A guide to High Resolution Melting (HRM) analysis. In: www.appliedbiosystems.com. Acesso em 07/10/2022.

MEULMAN J. et al. Influence of Genetic Polymorphisms on the Pharmacokinetics of Trazodone Hydrochloride: A Scoping Review and Future Perspective. *Ther Drug Monit.* 2023 Aug 1;45(4):479-486.

SAIZ-RODRÍGUEZ M. et al. Pharmacogenetics of trazodone in healthy volunteers: Association with pharmacokinetics, pharmacodynamics and safety. *Pharmacogenomics*, v. 18, n. 16, p. 1491–1502, 1 nov. 2017.

WHO - World Health Organization. Depression and Other Common Mental Disorders - Global Health Estimates Geneva: World Health Organization. Geneva: World Health Organization, Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO: [s.n.]. 2017.