Polimorfismo CYP2D6*4 (1846G>A): implicações farmacogenéticas na eficácia e segurança terapêutica

Benavente.Íris[1], Martins.José[1], Melo.Daniela[1], Ribeiro.Ana[2]

[1] MSc in Pharmaceutical Sciences, Instituto Universitário Egas Moniz, Egas Moniz School of Health & Science, Campus Universitário, Quinta da Granja, 2829-511 Caparica, Almada, Portugal (estudante)
[2] Egas Moniz Center for Interdisciplinary Research (CiiEM); Egas Moniz School of Health & Science, Campus Universitário, Quinta da Granja, 2829-511 Caparica, Almada, Portugal (docente)

Introdução

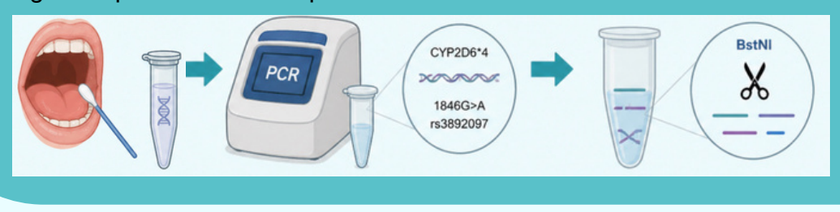
- O **gene CYP2D6**, localizado no cromossoma 22q13.2, codifica uma enzima do sistema citocromo P450 responsável pela metabolização de aproximadamente 20–25% dos fármacos utilizados clinicamente.
- O **polimorfismo CYP2D6*4** corresponde ao SNP rs3892097, caracterizado por uma substituição de guanina por adenina na posição 1846 do gene (1846G>A).
- Esta **alteração** afeta o **processamento do mRNA** e pode **originar diminuição** ou **perda da atividade enzimática**, influenciando a resposta terapêutica e a toxicidade medicamentosa. Devido à sua relevância farmacogenética, o **CYP2D6** é um dos genes mais estudados na medicina personalizada.

Objetivo

- **Identificar** os **genótipos** associados ao **polimorfismo CYP2D6*4** através da técnica **PCR-RFLP** utilizando a enzima de restrição BstNI, e avaliando a distribuição genotípica e alélica da amostra analisada (realizada no âmbito da unidade curricular de farmacogenética, turma PL2, com um total de 14 alunos).

Metodologia experimental

1. O DNA genómico foi extraído a partir de células da mucosa oral obtidas por zaragatoa;
2. Posteriormente, realizou-se a amplificação por PCR de uma região do gene CYP2D6 contendo o polimorfismo CYP2D6*4 (1846G>A; rs3892097);
3. Os produtos de PCR foram submetidos à restrição enzimática com a enzima BstNI (PCR-RFLP), originando fragmentos de diferentes tamanhos conforme o genótipo presente;
4. Por fim, os fragmentos obtidos foram separados por eletroforese em gel de agarose para análise dos padrões de bandas.



Importância Clínica

A atividade reduzida da enzima CYP2D6 pode alterar a resposta a vários fármacos, incluindo:

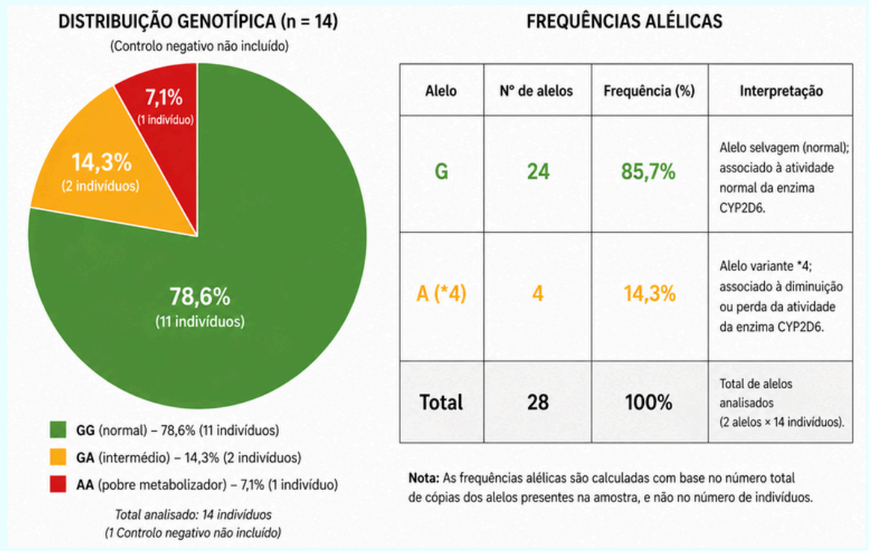
- Codeína
- Tramadol
- Antidepressivos
- Antipsicóticos
- Beta-bloqueadores

Metabolizadores fracos podem apresentar:

- menor eficácia terapêutica
- acumulação do fármaco
- maior risco de efeitos adversos



Fig.1- Distribuição genotípica da amostra e frequência alélica



Resultados

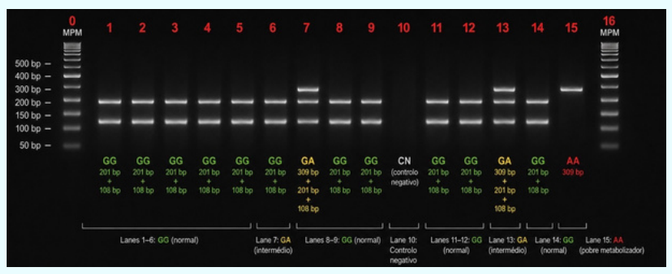


Fig.2 - eletroforese em gel (PCR-RFLP)

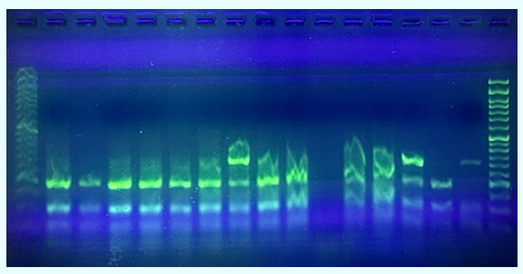


Fig.3 - visualização em gel sob luz UV

- **<u>Interpretação dos genótipos</u>**

-GG (selvagem)
Atividade enzimática: normal
Fenótipo: metabolizador normal

-GA (heterozigótico)
Atividade enzimática: reduzida
Fenótipo: metabolizador intermédio

-AA (*4/*4)
Atividade enzimática: muito reduzida ou ausente
Fenótipo: pobre metabolizador

O genótipo influencia a atividade da enzima **CYP2D6** e, consequentemente, a resposta a medicamentos

- **<u>Padrão de fragmentos (PCR-RFLP)</u>**

Após digestão com a enzima BstNI, os fragmentos permitem distinguir os genótipos:

- GG: 201 bp + 108 bp
- GA: 309 bp + 201 bp + 108 bp
- AA: 309 bp

Fig.4- Cálculo das frequências genéticas

Genótipo	Fórmula	Cálculo completo	Frequência esperada	% esperada	Nº esperado de indivíduos (n = 14)
GG	p^2	1) Cálculo de p (alelo G): $p = 24/28 = 0{,}857$ 2) Frequência esperada (GG): $p^2 = (0{,}857)^2 = 0{,}735$	0,735	73,5%	0,735 × 14 = 10,29 ≈ 10 indivíduos
GA	$2pq$	1) Cálculo de p (alelo G): $p = 24/28 = 0{,}857$ 2) Cálculo de q (alelo A): $q = 4/28 = 0{,}143$ 3) Frequência esperada (GA): $2pq = 2 \times 0{,}857 \times 0{,}143 = 0{,}245$	0,245	24,5%	0,245 × 14 = 3,43 ≈ 3 indivíduos
AA	q^2	1) Cálculo de q (alelo A): $q = 4/28 = 0{,}143$ 2) Frequência esperada (AA): $q^2 = (0{,}143)^2 = 0{,}020$	0,020	2,0%	0,020 × 14 = 0,28 ≈ 0 indivíduos
Total	–	$p^2 + 2pq + q^2 = 1$	1,000	100%	14

Fig.5- Frequências genotípicas observadas vs esperadas, segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg

Genótipo	Nº de indivíduos (observado)	Frequência observada (com cálculo)	Frequência esperada (Hardy–Weinberg)	Diferença (Observada – Esperada)
GG	11	$\frac{11}{14} \times 100 = 78{,}571\ldots$ = 78,6%	73,5%	78,6% – 73,5% = +5,1% (diferença moderada)
GA	2	$\frac{2}{14} \times 100 = 14{,}285\ldots$ = 14,3%	24,5%	14,3% – 24,5% = –10,2% (diferença moderada)
AA	1	$\frac{1}{14} \times 100 = 7{,}142\ldots$ = 7,1%	2,0%	7,1% – 2,0% = +5,1% (diferença moderada)

Comparação dos resultados obtidos vs ensembl

- O **genótipo GG** apresentou frequência de 78,6%, valor **ligeiramente superior** ao descrito em populações europeias (~65–75%);
- O **genótipo GA** apresentou frequência de 14,3%, **inferior aos valores esperados** (~20–30%);
- O **genótipo AA** apresentou frequência de 7,1%, **compatível com os valores descritos** na literatura (~5–10%).

As diferenças observadas foram consideradas moderadas e não críticas, podendo ser justificadas pelo reduzido tamanho amostral (n = 14).

Conclusão

- O **polimorfismo CYP2D6*4 (1846G>A**) influencia a atividade enzimática e a resposta aos fármacos;
- A técnica **PCR-RFLP** mostrou-se eficaz na identificação dos genótipos, evidenciando variações compatíveis com a literatura;
- Estes resultados reforçam a importância da farmacogenética na individualização da terapêutica e na melhoria da segurança e eficácia clínica.



Referências

Ensembl. Gene: CYP2D6 (ENSG00000100197) – Summary. Ensembl Genome Browser.

Kane, M., et al. (2025). *CYP2D6 overview: Allele and phenotype frequencies*. In *Medical Genetics Summaries*. National Center for Biotechnology Information (NCBI)

Andrea Gaedigk, et al. (2008). The CYP2D6 activity score: Translating genotype information into a qualitative measure of phenotype. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 83(2), 234–242.

Magnus Ingelman-Sundberg. (2004). *Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: The past, present and future*. *Trends in Pharmacological Sciences, 25*(4), 193–200.

Dean, L. (2025). Codeine therapy and CYP2D6 genotype. In Medical Genetics Summaries. National Center for Biotechnology Information (NCBI)