

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

***FACULDADE DE MEDICINA***

***PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS***

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA CYP1A2 COM EXCREÇÃO DE CAFEÍNA NA URINA  
DE PACIENTES COM ESQUIZOFRENIA COM PRESCRIÇÃO DE CLOZAPINA**

**Autora: Rita de Cássia Gonçalves Mascarenhas**

**Orientador: Prof. Dr. Paulo Silva Belmonte de Abreu**

**Outubro, 2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA CYP1A2 COM EXCREÇÃO DE CAFEÍNA NA URINA  
DE PACIENTES COM ESQUIZOFRENIA COM PRESCRIÇÃO DE CLOZAPINA**

***Rita de Cássia de Gonçalves Mascarenhas***

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, como requisito à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Silva Belmonte de Abreu

Porto Alegre

2010

## **Agradecimentos**

Primeiro lugar a Deus, pela vida.

A minha amada filha, Marcella e meu marido Marcello pela força, por aceitar e desculpar minha ausência em alguns momentos. Amo vocês.

Aos meus pais, Nelson e Therezinha, por terem aberto mão de sonhos em muitos momentos para que eu pudesse realizar os meus. Pelos ensinamentos de vida.

A minha sogra Heloísa e o amigo Assis, pelo carinho de vocês.

Ao meu orientador, Dr Paulo Abreu, por ter acreditado na minha idéia, pelos seus ensinamentos , o meu MUITO OBRIGADA!

A uma pessoa muito especial, minha grande amiga, Keila Cereser, com certeza sem ela nada disto seria possível. Não tenho palavras para te agradecer.

Aos meus colegas do IPA, Patricia Bock, Rober Rosso, Rubia Ruppenthal por me incentivarem a crescer profissionalmente.

Um muito obrigada especial a minha colega Carolina Caccia Maciel, sempre trocando de horário para me ajudar .

A Camila Lersch, bolsista de iniciação que muito me ajudou nas colheitas.

A minha colega de mestrado Lenise Francesconi, por todas as ajudas durante este período.

A Carmem Pilla, por sua sabedoria, exemplo de profissionalismo para todos nós.

A Dra Maria Inês Lobato por ter aberto as portas do CAPS .

A todos pacientes que gentilmente participaram desta pesquisa.

A Karine, por todas informações prestadas sempre de maneira tão carinhosa.

A minha grande mestre, Mirian Mussi, responsável por ter me despertado o desejo de seguir a docência ainda na graduação.

Dedico este trabalho aos amores da minha vida, minha filha MARCELLA e meu marido MARCELLO .

## **Lista de Siglas e Abreviaturas:**

17U- 1,7-dimethylurate

17X- 1,7-dimethylxantine

1U- 1-methylurate

1X- 1-methylxantine

5 HT2- serotonina

5HT2- receptor de serotonina A

AFMU- 5-acetylamino-6-formylamino-3-methyluracil

AP- Antipsicóticos

CATIE- Clinical Antipsychotic Trial of Intervention Effectiveness

CID10- Classificação Internacional de Doenças

CYP- Citocromo P450

CYP1A2- Citocromo P450, família 1, subfamília A, polipeptídeo 2.

CYP2A6- Citocromo P450, família 2, sub-família A, polipeptídeo 6

CYP2B6- Citocromo P450, família 2, sub-família B, polipeptídeo 6

CYP2C19- Citocromo P450, família 2, sub-família C, polipeptídeo 19

CYP2C8/9- Citocromo P450, família 2, sub-família C, polipeptídeo 8 e 9

CYP2D6- Citocromo P450, família 2, sub-família D, polipeptídeo 6

CYP2E1- Citocromo P450, família 2, sub-família E, polipeptídeo 1

CYP3A4/5- Citocromo P450, família 3, sub-família A, polipeptídeo 4 e 5

D1- receptor de dopamina tipo 1

D2- receptor de dopamina tipo 2

D3- receptor de dopamina tipo 3

D4- receptor de dopamina tipo 4

D5- receptor de dopamina tipo 5

DSM IV- Manual de Diagnostico e Estatística das Transtornos Mentais

ECT- Eletroconvulsoterapia

SNC- Sistema Nervoso Central

## Resumo

**Introdução:** A esquizofrenia é uma doença mental que evolui para a cronicidade em mais de 80 % dos casos, caracterizada por distorções do pensamento, delírios bizarros, alterações na senso-percepção e respostas emocionais inadequadas, que podem levar o paciente a algum grau de deterioração. É uma das formas mais importantes de doença psiquiátrica, porque afeta pessoas jovens, com evolução em geral para incapacitação funcional e prejuízo social. A farmacoterapia tem provado ser o ponto chave na terapêutica da esquizofrenia. Embora não curativas, as drogas antipsicóticas se estabeleceram como o tratamento primário para todos os estágios da doença, possuindo efeito clínico significativo em cerca de 80 % dos casos, os demais apresentam a chamada forma refratária, que responde em 60 % dos casos a medicação denominada Clozapina. A CYP1A2 é a principal enzima hepática de metabolização da clozapina, e o conhecimento prévio de sua atividade enzimática pode possibilitar a personalização da terapia medicamentosa, permitindo ao médico escolher o fármaco e a dose que melhor se adapte ao perfil de metabolização do paciente, aumentando desta forma a eficácia do tratamento e a redução do aparecimento dos efeitos adversos descritos para a clozapina.

**Objetivo:** Avaliar a excreção de cafeína inalterada na urina, como um indicativo da atividade da CYP1A2, através da utilização de cafeína como fármaco de prova.

**Metodologia:** Foram estudados 20 adultos portadores do diagnóstico DSM-IV e CID-10 de Esquizofrenia, com forma refratária, estabilizados, em uso continuado de clozapina há pelo menos 12 meses. Foi administrado 200mg de cafeína com coleta de urina 6 horas após, e dosagem através de uma técnica de cromatografia gasosa. Não foi evidenciada correlação entre a dose de clozapina administrada e a cafeína detectada, a qual deveria ser negativa, o que pode ser explicado pelo tamanho da amostra. Porém, a excreção de cafeína apresentou diferença ( $P=0,019$ ) entre homens e mulheres, acompanhando o descrito na literatura para a atividade da CYP1A2.

## Sumário

1.Revisão de Literatura .....	8
1.1Esquizofrenia.....	8
1.2 Tratamento Farmacológico.....	10
1.3 CYP1A2 .....	14
2. JUSTIFICATIVA .....	17
3. OBJETIVOS .....	18
3.1.Objetivo Principal .....	18
3.2 Objetivo Secundários .....	18
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
Artigo submetido à Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry .....	23
Considerações Finais.....	34
Anexo 1 .....	35

## **1.Revisão de Literatura**

### **1.1Esquizofrenia**

A esquizofrenia é um dos mais importantes transtornos psiquiátricos, atingindo cerca de 1% da população. Apresenta igual distribuição entre os sexos, manifestando-se clinicamente no final da adolescência, tendo seu pico entre 15-25 anos (PEARLSON, 2000), com um forte fator hereditário na sua etiologia (KENDLER, 2000). É uma doença caracterizada por distorções do pensamento, delírios bizarros, alterações na senso percepção e respostas emocionais inadequadas (LESCH, 2001). A hereditariedade da esquizofrenia é descrita como algo em torno de 80%, sendo que o risco de desenvolver a doença é aumentado quando houver parentes de primeiro grau que apresentem a doença. Juntamente aos fatores genéticos, fatores ambientais também estão envolvidos na etiologia da doença (TAMMINGA and HOLCOMB, 2005; SANDERS and GILL, 2007).

Na população brasileira a esquizofrenia apresenta uma prevalência de 1%, sendo a incidência de 1 a 7 novos casos por ano a cada 10000 habitantes, variando de acordo com o critério diagnóstico adotado (MARI and LEITÃO, 2000). Embora descrita a igualdade na distribuição da doença entre os sexos, mulheres apresentam um melhor prognóstico do que os homens em relação ao número de reinternações psiquiátricas, à evolução clínica e ao desenvolvimento social. O suicídio também é mais frequente entre os homens (CHAVES, 2000).

O diagnóstico da esquizofrenia de acordo com DSM IV estabelece cinco critérios (A-E). O critério A inclui sintomas como alucinações, delírio, desagregação do pensamento, comportamento desorganizado e sintomas negativos (embotamento afetivo, alogia, abulia e pensamento concreto), o paciente precisa apresentar dois sintomas característicos com duração mínima de um mês. O critério B inclui a disfunção sócio ocupacional. No critério C serão observados a duração de sinais contínuos do transtorno por no mínimo seis meses. O critério D exclui o uso de substância e outra condição clínica. O último critério, E, exclui a presença de transtorno esquizoafetivo e transtorno do humor (DSM-IV).



Utilizando como critério para diagnóstico o CID10, são observados quatro itens, sendo que para o diagnóstico de esquizofrenia o paciente deve apresentar no mínimo um sintoma do item 1 ou dois sintomas do item 2, por um período mínimo de 1 mês. O item 1 inclui eco do pensamento, inserção, roubo ou difusão do pensamento, delírio de controle, influência na percepção delirante, alucinações auditivas que comentam o comportamento do indivíduo ou discutem entre si, delírios persistentes, inapropriados culturalmente. No item dois inclui alucinações (por pelo menos 1 mês), delírios sem conteúdo afetivo, neologismo, sintomas negativos, comportamento catatônico. O item três exclui a mania ou depressão. O item quatro exclui doença cerebral orgânica ou álcool e drogas (CID-10).

Na maioria dos pacientes o início é insidioso e se caracteriza por uma mudança no padrão de interação social e do afeto, o paciente percebe e interage com o ambiente de maneira diferente do habitual. Em alguns casos o início é abrupto e com sintomas psicóticos proeminentes (VARGAS, 2009).

Os sintomas positivos incluem delírios, alucinações e outras distorções da realidade. As alucinações podem ocorrer em qualquer uma das cinco modalidades sensoriais, embora as alucinações auditivas são as mais frequentes. Vozes que conversam entre si ou comentando sobre o paciente são consideradas características de pacientes com esquizofrenia. Nos sintomas negativos estão presentes o embotamento e a diminuição das funções afetivas, incluindo abulia, anedonia, avolição, alogia, apatia e convívio social diminuído (TANDON et al., 2010) e podem ser divididos em dois grupos: primários e secundários (KIRKPATRICK *et al*, 2006)

De acordo com o DSM IV, a esquizofrenia pode ser dividida em 5 tipos, que diferem-se entre si de acordo com os sintomas apresentados pela paciente, sendo eles: paranóide, desorganizado, catatônico, indiferenciado e residual.

Os eventos que desencadeiam a doença ainda não estão totalmente esclarecido, mas incluem processos maturativos do sistema nervoso central (SNC) como proliferação e migração dos neurônios da glia, proliferação axonal e dendrítica, apoptose, mielinização axonal, conexões sinápticas e interações ambientais como doenças físicas ou traumas, estresse psicológico e abuso de substâncias (LIEBERMANN *et al*, 2001).

Fatores ambientais podem interagir com genes da esquizofrenia, tais como: nascimento em zonas urbanas, nascimento no final do inverno, início da primavera, infecções maternas, complicações obstétricas, sequências retrovirais, filhos de mulheres que receberam radiação no primeiro trimestre da gravidez (MIYAMOTO *et al*, 2003).

Para explicar a neurobiologia da doença, são descritas duas hipóteses: do neurodesenvolvimento e a clássica. A hipótese do neurodesenvolvimento, postula que a doença seria causada por lesões cerebrais oriundas da combinação de fatores genéticos e ambientais e que eventualmente interagem com o processo de maturação normal do cérebro (CANNON *et al*, 2002).

Através de estudos baseados em famílias com irmãos gêmeos e adotivos, foi evidenciado uma importante contribuição genética para a doença, sendo a hereditariedade estimada entre 60 a 80% (TAMMINGA, 2005), demonstrando que o fator genético é mais forte que o ambiental.

A hipótese clássica postula que a esquizofrenia seria o resultado de alterações ocorridas em sistemas neurotransmissores como dopaminérgicos, gabaérgicos, colinérgicos, glutamatérgicos, serotoninérgicos, adenosinérgicos e fosfolípidios (LARA *et al*, 1999; GATTAZ *et al*, 2000).

A mortalidade em pacientes com esquizofrenia é o dobro quando comparada com indivíduos sadios, sendo o tempo de vida reduzido em aproximadamente 15-20 anos (AUQUIER *et al*, 2007). Aproximadamente ¼ da mortalidade é atribuída aos altos índices de suicídio e a um risco maior de acidentes (SAHA, 2007); as doenças cardiovasculares também contribuem significativamente para um aumento da mortalidade, especialmente nas mulheres (GOFF, 2005). A esquizofrenia está associada a um aumento no risco de tentativa de suicídio, estima-se que 25% dos pacientes com esquizofrenia já tentaram o suicídio em algum momento da vida (SHIVASTAVA *et al.*, 2010).

## **1.2 Tratamento Farmacológico**

A farmacoterapia tem provado ser o ponto chave na terapêutica da esquizofrenia.

Embora não curativas, os fármacos antipsicóticos se estabeleceram como o tratamento primário para todos os estágios da doença (DE PÁDUA et al., 2005).

Os objetivos do tratamento são os de reduzir a mortalidade e morbidade da doença, diminuindo desta forma a frequência e a gravidade dos episódios psicóticos; melhorando a qualidade de vida dos indivíduos afetados (SHIVASTAVA et al., 2010).

Os antipsicóticos foram desenvolvidos na década de 1950, sendo a clorpromazina o primeiro antipsicótico introduzido na prática clínica, provocando uma revolução no tratamento da esquizofrenia. Estes medicamentos controlam a excitação, agressividade, desinquietação e desordem de pensamento, em um número considerável de casos, porém apresentam uma grande limitação de sua utilização, devido aos seus importantes efeitos colaterais (DAHL, 2002).

Existem duas classificações distintas para os antipsicóticos, os típicos ou de primeira geração e atípicos ou de segunda geração; a diferenciação entre os dois grupos não é claramente definida, com pelo menos três teorias que tentam explicar o efeito diferente sobre os sintomas extrapiramidais, como (1) diferença de efeitos sobre receptores serotoninérgicos e dopaminérgicos, (2) diferença de efeito entre receptores D3 e D2 de dopamina e (3) velocidade de dissociação do receptor dopaminérgico. Mais recentemente tem sido proposta a extinção destas distinções e adoção da citação direta de cada droga, devido a diferenças entre cada uma destas drogas. Uma importante característica dos antipsicóticos de primeira geração é a eficácia no tratamento dos sintomas positivos, todavia minimamente eficazes nos sintomas negativos (TANDON et al., 2010). A tabela 1 abaixo apresenta a tradicional classificação dos fármacos antipsicóticos:

Tabela 1. Classificação dos antipsicóticos

<b>Típicos</b>	<b>Atípicos</b>
Clorpromazina	Clozapina
Haloperidol	Risperidona
Flufenazina	Quetiapina
Tioridazina	Olanzapina
Flupentixol	Aripiprazol

A ação antipsicótica é determinada principalmente pelo antagonismo nos

receptores dopaminérgicos, classificados em cinco subtipos divididos em duas classes funcionais de receptores Dopaminérgicos: o tipo D1, compreendendo D1 e D5 e o tipo D2, compreendendo D2, D3 e D4. O principal bloqueio descrito para que ocorra a ação antipsicótica deve ser no receptor D2. As substâncias mais antigas demonstram preferência para os receptores D2 sobre D1, enquanto os agentes mais novos são altamente seletivos para D2, enquanto a clozapina é relativamente não seletiva entre D1 e D2, mas tem alta afinidade para D4. Podem ocorrer bloqueio de outros receptores de monoaminas, especialmente 5-HT (KAPUR et al., 2005, DZIEDZICKA-WASYLEWSKA et al., 2008).

Os antipsicóticos típicos e atípicos podem desencadear sérios efeitos colaterais, como ganho de peso, hiperlipidemia, distúrbios do movimento, diabetes, agranulocitose e alterações cardiovasculares (MONTELEONE et al., 2009). Efeitos adversos intoleráveis e falta de eficácia, são responsáveis por grande parte da falta de adesão e abandono do tratamento em pacientes com prescrição de antipsicóticos. Estudo multicêntrico realizado nos Estados Unidos, CATIE, chegou a conclusões sobre a eficácia dos antipsicóticos típicos, demonstrando que estes apresentam menores riscos de alterações metabólicas, menor custo de aquisição e maior adesão aos tratamentos, em comparação aos antipsicóticos atípicos (LIEBERMANN, 2005). No Brasil, por questões econômicas, os antipsicóticos típicos são fármacos de primeira escolha para o tratamento da esquizofrenia (KOHLRAUSCH et al., 2008). A clozapina não pode ser utilizada como um fármaco de primeira escolha devido a restrições legais que surgem com o risco de agranulocitose (BRASIL, 2002). A figura 1 demonstra o algoritmo para tratamento da esquizofrenia no Brasil.

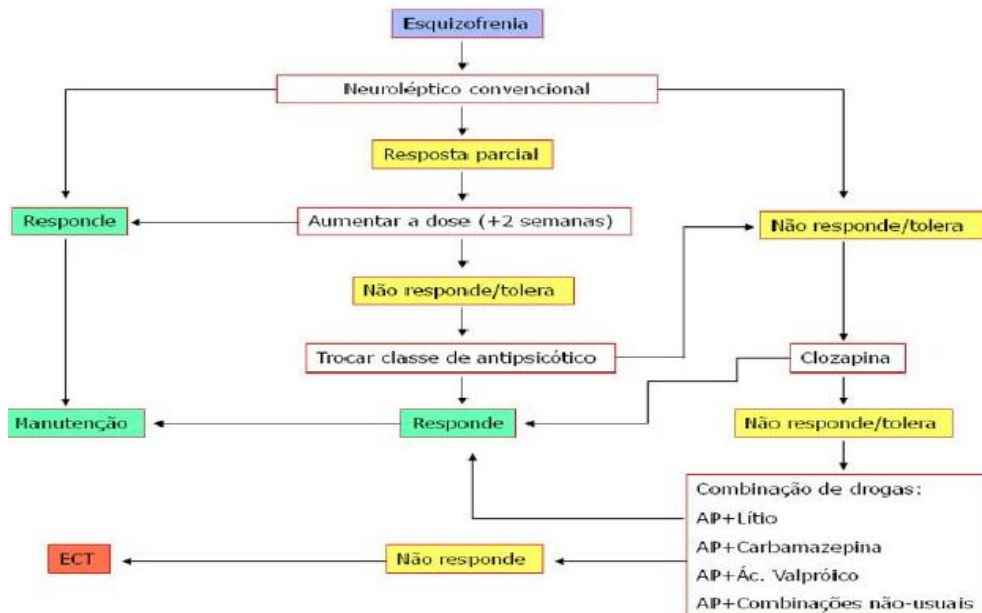


Figura 1. Algoritmo para o tratamento da esquizofrenia. AP: antipsicótico, ECT: eletroconvulsoterapia. (BRASIL, 2002)

A clozapina, classificada como agente antipsicótico de segunda geração, foi introduzida no final da década de 60, demonstrando grande eficácia no tratamento dos sintomas negativos e positivos, sem provocar efeitos adversos extrapiramidais e discinesia tardia, porém demonstrou uma grande chance de provocar agranulocitose (GASZNER et al., 2002), a qual é um importante limitador de sua utilização (CRILY, 2007). Outros efeitos adversos são descritos para clozapina como: sonolência, tontura, salivação noturna, cefaléia, constipação, convulsão, hipotensão postural e ganho de peso (HADDA and SHARMA, 2007). Quando comparada com outros agentes antipsicóticos, a clozapina demonstrou ser a mais eficaz no tratamento da esquizofrenia refratária (LEWIS *et al*, 2006).

A absorção da clozapina ocorre em nível de trato gastrointestinal, sendo que devido ao metabolismo de primeira passagem, sua biodisponibilidade é de 27-50%. Estudos demonstram que pacientes com função hepática comprometida podem ter um aumento desta biodisponibilidade, o que levaria a um aumento dos efeitos adversos.(SHAD, 2008). A metabolização ocorre no citocromo P450, sendo a CYP1A2 responsável por 70% de sua metabolização, produzindo como principal metabólito a norclozapina (FABER et al., 2005).

Diversos fatores podem interferir na resposta aos medicamentos a nível

farmacocinético e farmacodinâmico. Variações genéticas podem interferir na ligação dos fármacos nos seus receptores, bem como na atividade de enzimas relacionadas a metabolização dos fármacos no organismo (KOHLRAUSCH et al., 2008). Variações na atividade da CYP1A2 provocam alterações nos efeitos terapêuticos e adversos da clozapina, exigindo ajuste na dose administrada individualmente, levando-se em consideração sua capacidade de metabolização (TANDON et al., 2009).

### 1.3 CYP1A2

A CYP1A2 é uma importante isoenzima do Citocromo P450 envolvida na metabolização de uma série fármacos, como por exemplo a clozapina (ZHOU et al., 2009). O sistema Citocromo P450 é um conjunto de isoenzimas, responsáveis por reações de hidroxilação, demetilação e dealquilação, na fase I da etapa de metabolização. As isoenzimas são reunidas em subgrupos tendo em vista as semelhanças na sequencia de aminoácidos. O prefixo CYP é utilizado para designar o sistema Citocromo P450, sendo classificados dentro de famílias e subfamílias. O numeral arábico após o prefixo CYP indica a família (CYP1). A letra localizada após o primeiro número, indica a subfamília (CYP1A). O último dígito do sistema de nomenclatura é um numeral que designa a isoenzima específica (CYP1A2) (AUDI and PUSSI, 2000). A Figura 2 demonstra proporção de fármacos metabolizados por cada CYP.

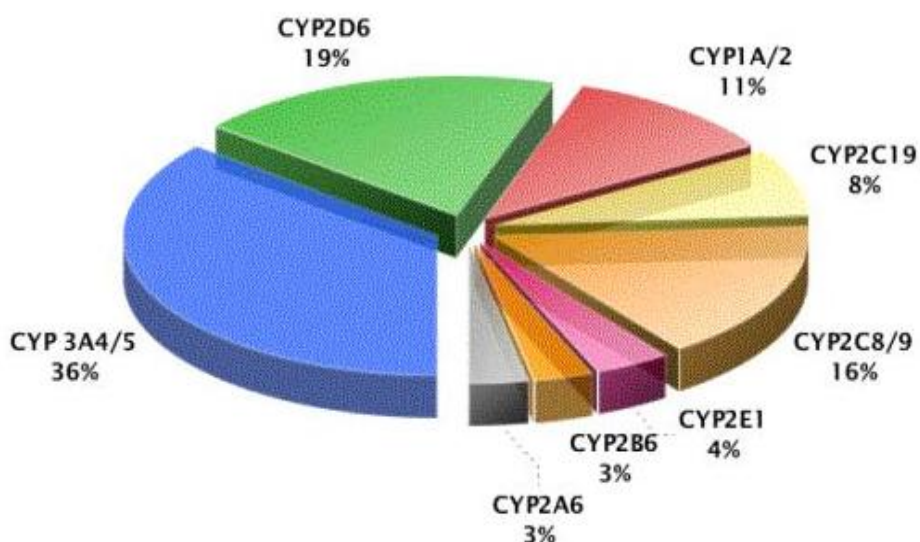


Figura 2. Proporção de fármacos metabolizados pelas enzimas do P450 (adaptado Shimada et al., 1994)

A atividade da CYP1A2 pode apresentar uma grande variabilidade intra e inter indivíduos, alterando a resposta terapêutica a uma determinada droga. Fatores endógenos e exógenos são responsáveis por essas diferenças. Como fator endógeno, as alterações genéticas podem levar a um polimorfismo desta isoenzima, diminuindo ou aumentando sua atividade metabolizadora (KAWANISHI et al., 2000). O tabaco, a ingestão de determinados alimentos ou ainda a utilização concomitante de fármacos que possam inibir ou induzir a atividade enzimática são importantes fatores exógenos responsáveis pela alteração no funcionamento da CYP1A2 (FUHR et al., 2005).

Para avaliar *in vivo* a capacidade de metabolização de uma determinada enzima do citocromo P450, são propostos métodos de genotipagem e de fenotipagem. A genotipagem é bastante útil para prever atividade enzimática de uma determinada isoenzima através da presença de algum polimorfismo na estrutura da CYP, que esteja relacionado a um aumento ou diminuição de sua capacidade metabolizadora. A fenotipagem é um teste, em que se determina a atividade enzimática da CYP através da administração de uma droga de prova (*probe*) ao paciente e após um determinado período de tempo são medidos no sangue ou urina os seus metabólitos (STREETMAN et al, 2000).

Em testes de fenotipagem a droga escolhida como *probe* para testar uma determinada CYP, deve ter alta biodisponibilidade e ser metabolizada em alto grau pela isoenzima a ser testada. Devido as características citadas anteriormente, a cafeína é a droga *probe* utilizada na fenotipagem da CYP1A2. A cafeína sofre metabolismo hepático, sendo a CYP1A2, responsável por 90% do seu metabolismo, formando 5 metabólitos que serão excretados na urina juntamente com uma fração em torno de 10% de cafeína inalterada (FUHR et al., 2005). A quantificação desses metabólitos é uma forma de se verificar a atividade enzimática da CYP1A2 (KRUL,1998).

Pode-se considerar a existência de diferentes grupos de indivíduos quanto ao perfil metabólico para determinada enzima do CYP450: os metabolizadores lentos (ML), os metabolizadores rápidos (MR), que tem atividade enzimática normal ou levemente aumentada e os metabolizadores ultra-rápidos. Estes últimos promovem uma capacidade metabolizadora muito aumentada, necessitando de doses medicamentosas excessivamente maiores do que as usuais para o efeito terapêutico desejado, enquanto que indivíduos ML, por apresentarem uma menor taxa de metabolização tem um risco aumentado de reações tóxicas quando utilizam drogas em doses terapêuticas usuais

(HARA,1998). Adicionalmente, o aumento da atividade enzimática pode explicar a falta de resposta terapêutica de um determinado fármaco, provocada por uma diminuição do seu tempo de metabolização e conseqüentemente uma excreção mais rápida. O mesmo raciocínio pode ser utilizado quando a atividade enzimática esta diminuída, levando a um aumento das concentrações do fármaco o que acarretaria numa manifestação mais intensa de seus efeitos adversos ou até mesmo tóxicos do fármaco.



## **2. JUSTIFICATIVA**

Variações na atividade enzimática da CYP1A2, provocadas por fatores genéticos ou ambientais alteram a capacidade metabolizadora da enzima, provocando uma resposta terapêutica inadequada e um risco aumentado para a incidência de feitos adversos.

O prévio conhecimento da atividade enzimática individual permite ao médico determinar de forma mais racional a dose e a droga mais indicada para cada paciente, levando em consideração suas características individuais, aumentando desta forma a eficácia e a adesão ao tratamento.

Existe a necessidade de implementação de métodos baratos, não-invasivos, acessíveis, que possam auxiliar o clínico no ajuste da dose de clozapina e alcance de melhor balanço entre efeitos terapêuticos e adversos. Como a cafeína é metabolizada pela mesma enzima que metaboliza a clozapina, é oportuno verificar se a dosagem da cafeína na urina pode ser utilizada como teste de atividade enzimática do CYP1A2 em usuários de clozapina.

### **3. OBJETIVOS**

#### ***3.1. Objetivo Principal***

Avaliar a excreção de cafeína em amostras de urina de pacientes com esquizofrenia, recebendo clozapina, como indicativo da atividade de metabolização da CYP1A2.

#### ***3.2 Objetivo Secundários***

- Determinar o perfil farmacoterapêutico dos pacientes;
- Determinar fatores que possam interferir na atividade da CYP1A2;
- Relacionar a de utilização de tabaco pelos pacientes e a atividade da CYP1A2;
- Identificar possíveis interações medicamentosas no tratamento farmacológico.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Psychiatric Association. Diagnostical and Statistical Manual of Mental Disorders-DSM IV-TR4. Ed. Tradução para o português. Porto Alegre: Artmed, 2000.

Audi E, Pussi F. 2000. Isoenzimas do CYP450 e Biotransformação de drogas. Acta Scientiarum. 22 (2): 599-604.

Auquier P, Lançon C, Rovillon F, Lader M. 2007. Pharmacoepidemiology & Drug Safety, 16: 1308-1312.

Brasil. Ministério da Saúde 2002. Ministério da Saúde Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas .Esquizofrenia Refratária. Brasília Portaria nº345 de 14 de maio de 2002.

Cannon M, Jones P, Murray R. 2005.Obstetrics Complications and Schizophrenia: Historical and Metaanalytic Review. Am J Psychiatry, 159: 180-192.

Chaves AC. 2000 Diferenças entre os sexos na esquizofrenia. Rev Bras Psiquiatr, 22: 21-22.

Crilly J. 2007.The History of Clozapine and its Emergence in the US Market: a Review and Analysis. Hist Psychiatry, 18: 39-60.

Dahl M. 2002. Cytochrome P450 Phenotyping/Genotyping in Patients Receiving Antipsychotics: Useful Aid to Prescribing? Clin Pharmacokinet, 41: 453-470.

De Pádua AC, Gama C, Lobato MIR, Abreu PSB. Esquizofrenia. In: Cordioli AV(Organizador) et al. Psicofármacos. Consulta Rápida. 3ªed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 343-349.

Doude van Troostwijk L, Koopmans R, Vermeulen H, Guchelaar H. 2003. CYP1A2 Activity is an Important Determinant of Clozapine Dosage in Schizophrenic Patients. Europ J Pharmac Sciences, 20: 451-457.

Dziedzicka-Wasylewska M, Faron-Górecka A, Górecki A, Kusmider M. 2008. Mechanism of Action of Clozapine in the Context of Dopamine D1-D2 Receptor Hetero-Dimerization-a working hypothesis. Pharmacolog Reports, 60: 581-587.

Faber M, Jetter A, Fuhr U. 2005 Assessment of CYP1A2 Activity in Clinical Practice: Why, How and When. *Basical & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 97:125-134.

Fuhr U et al. Evaluation of Caffeine as a Test drug for CYP1A2, NAT2, and CYP2E1 Phenotyping in Man by in Vivo Versus IN Vitro Correlations. *Pharmacogenetics* 1996;6: 159-176.

Gaszner P, Makkos Z, Kosza P. Agranulocytosis during clozapine therapy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2002; 26: 603-607.

Gattaz W, Lara D, Elkis H, Portela L, Gonçalves C, Tort A, Henna J, Souza D. 2000 Decreased S-100 Beta Protein in Schizophrenia Preliminary Evidence . *Schiz Res*, 43: 91-95.

Goff D. 2005 Pharmacologic Implications of Neurobiological Models of Schizophrenia. *Harv Rev Psychiatry*, 13 (6): 352-359.

Haddad P, Sharma S. 2007. Adverse Effects of Atypical Antypsichotics: Differential risk and Clinical Implications. *CNS Drugs*, 21: 911-936.

Kapur S, Mizrahi R, Li M. 2005. From Dopamine to Saliency to Psychosis-Linking Biology, Pharmacology and Pharmacology of Psychosis. *Schizophr Res*, 79, 59-6.

Kawanishy Y, Tachikawa H, Suzuki T. 2010. Pharmacogenomics and Schizophrenia. *Eur J Pharmacol* 410: 227-241.

Kendler KS. Schizophrenia: Genetics. In: Sadock BJ, Sadock VA, editors. *Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry*. 7th ed. Philadelphia: Lippicott Williams & Wilkins. 2000: 1147-1158.

Kikpatrick B, Fenton W, Carpeter Jr W, Mander S. 2006 The NIMH-matrix Consensus Statement on Negative Symptoms. *Schizophr Bull.*32: 214-219.

Kohlrausch F, Salatino-Oliveira A, Gama C, Lobato M, Abreu P, Hutz Mara. 2010. Influence of Serotonin Transporter Gene Polymorphisms on Clozapine Response in Brazilian Schizophrenics. *J Psychiatric Research*.(Article In Press).

Krul C, Hageman G. 1998. Analysis of Urinary Caffeine Metabolites to Assess Biotransformation Enzyme Activities by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *J Chromatography B*, 709: 27-34.

Lara D, Wolf A, Lobato M, Baroni G, Kapczinski F. 1999 Clozapime-Induced Neuroleptic

Maligant Síndrome an Interaction between Purinergic Systems? *J. Psychomarmac*, 13: 318-319.

Lesch KP. 2001. Schizophrenia weird world inside the brain. *Lancet*, 358: s59.

Lewis S, Barnes T, Davies L, et al. 2006 Randomized Controlled Trial of Effect of Prescription of Clozapine Versus Other Second-Generation Antipsychotic Drugs in Resistant Schizophrenia. *Schizophr Bull*, 32: 715-723.

Liebermann J, Chakos M, Wu H, Alvir J, Hoffman E, Robson D, Bilder R. 2001 Longitudinal study of Brain.Morphology in First Episode. *Schizophrenia Biol Psy*, 49: 487-499.

Lieberman J, Stroup T, McEvoy J, et al. 2005. Effectiveness of Antipsychotic Drugs in Patients with Chronic Schizophrenia. *N Engl J Med*.353:1209-1233.

Mari JJ, Leitão R. 2000. Epidemiologia da Esquizofrenia. *Rev Bras Psiquiatria*, 22S: 7-15.

Miranda MD, Correa H, De Marco L, Romano-Silva M.2007. Psicofarmacogenética, *Medicina Ribeirão Preto*, 39( 4): 570-576.

Miyamoto S, Lamantia A, Duncan G, Sullivan P, Gilmore J, Lieberman J. 2003. Recent Advances in the Neurobiology of Schizophrenia. *Mol Interv*, 3: 27-39.

Montelone P, Matiardis V, Maj M. 2009. Management of Schizophrenia with Obesity, Metabolic and Endocrinological Disorders. *Psychiatr Clin N Am*, 32: 775-794.

Pearlson GD. 2000. Neurobiology of Schizophrenia. *Ann Neurol*, 48: 556-556.

Saha S, Chant D, McGrath J. 2007. A Systematic Review of Mortality in Schizophrenia: is the Differential Mortality Gap Worsening over time? *Arch Gen Psychiatry*, 64(10): 1123-1131.

Sanders J,Gill M. 2007.Unravelling the genome: a review of molecular genetic research in schizophrenia.*Ir J Med Sc,i* 22;176:5-9.

Shad M. 2008. Clozapine toxicity: A Discussion of Pharmacokinetic Factors. *Asian J Psychiatry*, 35: 47-49.

Shivastava A, Johnston M, Shah N, Innamorati M, Still L, Thakar M, Lester D, Pompili M. 2010.Persistent Suicide Risk in Clinically Improved Schizophrenia Patients: Challenge of the Suicidal Dimension. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 6: 633-638.

Shimada J, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. 1994. Interindividual Variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: Studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 caucasians. *J Pharmacol Exp Ther.* 270:414-423.

Streetman D, Bertiro J, Nafziger A. 2000. Phenotyping of Drug-Metabolizing Enzymes in Adults: a Review of In Vivo Cytochrome P450 phenotyping Probes. *Pharmacogenetics*, 10(3): 187-216.

Tandon R, Nasrallah H, Keshavan M. 2010. Schizophrenia, "Just the Facts" 5. Treatment and Prevention Past, Present, and Future. *Schizophrenia Res*, 122: 1-23.

Tamminga CA, Holcomb HH. 2005. Phenotype of schizophrenia a review and formulation. *Mol Psychiatry*, 10:27-39.

Vargas H. Dosagem da Neurotrofina 3 em Pacientes com Diagnóstico de Esquizofrenia. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2009.

World Health Organization. The CID 10 Classification of Mental and Behavioral Disorders: Clinical Descriptions and Diagnostics; 1992. Geneva.

Zhou S, Liu J, Chowbay B. 2009. Polymorphism of Human Cytochrome P450 Enzymes and its Clinical Impact. *Drug Metab*, 41: 89-295.

**Artigo submetido à *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry***

**Evaluation of activity CYP1A2 by excretion of caffeine in the urine of patients with Schizophrenia with prescription of clozapine**

Rita de Cássia Mascarenhas<sup>1,2,3</sup>, Keila Maria Ceresér<sup>4,5,6</sup>, Marcello Mascarenhas<sup>2,4</sup>, Lenise Petter Francesconi<sup>1,3</sup>, Camila Lesch<sup>4</sup>, Maria Inês Lobato<sup>3,5</sup>, Paulo Belmonte da Silva Abreu<sup>1,3,4,5,6</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre (RS), Brazil

<sup>2</sup>Centro Universitário Metodista IPA, Porto Alegre (RS), Brazil

<sup>3</sup>Schizophrenia Program, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre (RS), Brazil

<sup>4</sup>Molecular Psychiatry Laboratory, Research Center, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre (RS), Brazil

<sup>5</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina: Psiquiatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre (RS), Brazil

<sup>6</sup>INCT for Translational Medicine, Brazil

Correspondence

Carlos Silveira Martins Pacheco 55/802

Cristo Redentor - 91350300

Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

email: mmasca@terra.com.br



**Abstract:**

**Objective:** Schizophrenia is considered the most devastating mental illness, due to its chronicity, impact, prevalence (around 1% of the population), burden to medical care system (accounting for 30% of psychiatric hospitalizations and ranking fifth in the cost of treatment). About 20% of cases are unresponsive to conventional medications, requiring pharmacological treatment with clozapine. Clozapine is metabolized by CYP1A2, an enzyme belonging to the cytochrome P450. Changes in activity of this enzyme can lead to variability in therapeutic response, leading to unsatisfactory answers, because of excessive adverse / side effects or lack of appropriate response. This study evaluated the excretion of caffeine in urine samples of patients with schizophrenia receiving clozapine, as indicative of CYP1A2 activity.

**Methods:** The sample comprised 20 patients, where each received a standard dose of 200 mg of caffeine with urine samples after 6 hours. The dose of caffeine was performed using a gas chromatography.

**Result:** There was no association between caffeine excretion in the urine unchanged when compared with the dose of clozapine, as indicative of CYP1A2 enzyme activity ( $p > 0.05$ ). However, there was significant gender difference in the excretion of unchanged caffeine ( $p = 0.019$ ). In addition, we found a rate clozapine/caffeine significantly higher in men compared with women ( $p = 0.039$ ).

**Conclusion:** The study failed to reveal association between 6-h urinary caffeine and clozapine dose, since it was expected an inverse correlation (lower caffeine/higher CYP1A2 activity/ higher clozapine dose), it could reflect a type-2 error, failing the reveal an association due to low sample size. Due to this possible factor, it is planned an extended sample size, to test the hypothesis with adequate power.

**Keyword:** schizophrenia, clozapine, CYP1A2, caffeine.

## Introduction

Schizophrenia is a major mental disorder with a high proportion of evolution to chronicity and impairment, characterized by distortions of thought, bizarre delusions, changes in sense-perception and inappropriate emotional responses, which may lead the patient to some degree of deterioration (KOHLRAUSCH et al., 2008, WONG and VAN, 2003). It affects around 1% of the population and is characterized by severe symptomatology and decreased cognitive functioning. Usually occurs in late adolescence and early adulthood, affecting both sexes. In Brazil, schizophrenia accounts for 30% of beds in psychiatric hospitals, the second place of the first outpatient psychiatric consultations and fifth place in the health care insurance (PEARLSON, 2000; DE PÁDUA et al., 2005).

Pharmacotherapy has proven to be the key point in the treatment of schizophrenia. Treatment targets mortality and morbidity, reducing the frequency and severity of episodes of psychotic exacerbation, improving functional capacity and quality of life of affected subjects (TANDON et al, 2010). Although not curative, the antipsychotic drugs were established as the primary treatment for all stages of the disease, enabling hospital discharge and maintaining patients with their homes and communities (PEARLSON, 2000). There is now a fairly large number of antipsychotic drugs with different profiles of side effects, but with similar power when used in equivalent doses. All drugs promote clinical effects with a latency of days to weeks to produce their maximum therapeutic effects

Clozapine is available since 1970, and is indicated for treatment-resistant schizophrenia, significantly reducing positive and negative symptoms (KANE et al., 1988). It is superior over typical antipsychotics over positive and negative symptoms of treatment-resistant schizophrenia, although with similar profile over treatment-sensitive schizophrenia. Clozapine is a drug with high dissociation from dopamine receptors without significant nigrostriatal blocking of dopamine D2 receptors (ARNT and SKARSFELDT, 1998). The major limitation of clozapine use is the high risk of causing agranulocytosis. It is metabolized primarily by cytochrome P450 enzyme CYP1A2, being transformed into norclozapine (FABER et al., 2005).

Variations in the cytochrome P450 enzyme complex have long been recognized as important sources of differences in responses of patients to drugs. Pharmacogenetic variations in the response of a particular drug are caused by inborn errors in enzyme metabolism, involving either changes in the genetic sequence to generate the enzyme or

the amount of these enzymes (SILVADO, 2008).

Apart from genetic factors, other exogenous factors may be associated with a change in enzyme activity CYP1A2 with subsequent change in therapeutic response, such as smoking, with inducing effects over this isoenzyme. Additionally, patients with schizophrenia display high tobacco consumption (ORTEGA et al., 2004).

Methods of genotyping and phenotyping are employed to evaluate the in-vivo ability of an enzyme. Genotyping predicts the enzymatic activity of a particular isoenzyme through the presence of a polymorphism in the CYP structure already known, and it is related changes in metabolizing capacity. Phenotyping allows assessment of enzymatic activity of a particular CYP through the measurement in blood or urine metabolites of a drug probe after a certain period of time are (STREETMAN,2000). Caffeine is the drug probe used to assess the enzymatic activity of CYP1A2), due to its high rate of metabolism by this enzyme, the rate of metabolism described as approximately 90% (FUHR et al.,1996).

The method described for the enzymatic activity of CYP1A2 in urine samples consists in the administration of a standard dose of caffeine with further measurement in urine. The enzymatic activity of metabolites is measured as follows: AFMU, 1U, 1X, 17U and 17X which are then applied in the formula  $(1X + 1 U + AFMU) / 17U$  (KRUL et al.,1998). Since the conventional phenotypic assay of the metabolites is extremely laborious and expensive, this study aimed to evaluate an alternative method, working with urinary caffeine as a predictor of enzyme activity CYP1A2.

## 2. Methods

### Sample

The sample was collected at the outpatients covered by public mentalhealth care at the community facility (CAPS/Psycho Social Support Center) of the *Hospital de Clinicas de Porto Alegre* (HCPA) in south Brazil, from July to December 2009. Patients of both genders aged of 18 years or more, with clinical diagnosis of schizophrenia according both do DSM-IV and ICD-10 criteria, with stable use of clozapine were selected independent of smoking status. After signing the informed consent, patients were instructed to standard diet free of caffeine, maintained from 24 h before administration of a 200 mg capsule of caffeine (no excipient). After six hours of ingestion of the drug probe, urine was collected and stored in *freezer* -20°C until shipment to the laboratory.

### Method

1. Spot preparation: The preparation of the sample *on the spot* allowed the development of

the following benchmarks: 1. negative control urine collected from a *pool* of individuals without diagnosis of schizophrenia (also called white urine); 2. caffeine solution prepared at a concentration of 10 g/ml by dilution of caffeine (with a purity exceeding 99.9%, produced by *Sigma Chemical Co., USA*) in methanol (distributed by *Sigma Chemical Co., USA*); 3. positive control replicate analysis of 6.0 mL of blank urine samples, fortified by the addition of aliquots of stock solution of caffeine, providing control patterns in seven concentrations (4, 6, 8, 10, 12, 18 and 24ng/mL) with internal standard methanol solution of diazepam (*Sigma Chemical Co., USA*), prepared at a concentration of 10 g/ml and used to monitor the analytical process, inherent in the classic technique of internal standardization. Twenty samples were produced for solid phase extraction and analysis by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) by adding the internal standard of diazepam in urine spiked with caffeine (positive control), prepared in seven concentrations. The concentration of diazepam in these samples was 166ng/mL (10mg of internal standard solution at a concentration of 10 g/ml in 6 mL of sample).

2. Solid phase extraction: This process involved pretreatment of the aforementioned control sample prior to GC-MS. Dilutions of 20 samples of positive controls and one negative sample control (6 mL of blank urine) in 3mL of ultra-pure type 1 water reagent (purification system Mili-Q Plus), followed by the following routine: protein precipitation (salting out) with 500 mg of ammonium sulfate for 10 minutes, pH adjustment between 9.4 to 9.8 by adding solution of ammonium hydroxide 10.80 molL<sup>-1</sup>; Centrifugation of 400g for 20 minutes; conditioning cartridge solid phase extraction (C18HF, *Varian Incorporated, USA*) with 3 mL of methanol, followed by 3 mL of ultra pure water reagent grade type 1; 9ml transfer of supernatant derived from centrifugation, cartridge washing with 3 ml of water type 1, dried for 3 minutes, with repeated processing with 6 mL of hexane, dried for 2 minutes and eluted with 6 mL of chloroform. In sequence, the eluates were collected and transferred to capsules for evaporation at room temperature. The waste of evaporation was resumed with 400µL dichloromethane and transferred to *inserts* in vials for injection (vials), again evaporated at room temperature with resulting residues resuspended with 50µL of ethyl acetate for completing the extraction process.

Analysis with GC-MS: analyses were performed by gas chromatography mass spectrometry system, HP 5890 Series II Plus interfaced with HP 5972 mass detector-capillary column of 0.25 mm id, stationary phase 35% fenilmetilpolisiloxano, 30m long and 0.25 µm film thickness (ValcoBond, USA). The following were the conditions of analysis: injector temperature: 280<sup>0</sup>C, which were imposed following heating rates: 295<sup>0</sup>C initial temperature of column oven: 60<sup>0</sup>C, which were imposed following heating rates: 22<sup>0</sup>C /

min until 200<sup>0</sup>C; 10<sup>0</sup>C / min until 270<sup>0</sup>C and 30<sup>0</sup>C until 335<sup>0</sup>C, remaining at that temperature for a period of 6 minutes. Final injection of 1µL sample was splitless mode, with a flow rate of 0.9 mL/min of helium detection with electron ionization (EI), with 70eV; in scanning range of 40-550 atomic mass units completed the assay.

The Statistical analysis was Performed with the Statistical Package of Social Sciences software, version 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Data following normal distribution are presented as mean + / - standard deviation (SD). Nonparametric data, with median interquartile and range (IQ). Spearman correlation Coefficients and Mann-Whitney Test were used to analyze quantitative variables and its correlations, and chi-square test to analyze Correlations Between qualitative variables. Differences of  $p < 0.05$  were considered statistically significant.

### **3. Results**

The final sample consisted of 20 individuals, with the diagnose of treatment-resistant schizophrenia under stable use of clozapine. The age mean was 36.95 years with standard deviation of 7.80. The average score for the BMI was 29.77 with standard deviation of 4.80. Subjects utilized in a median 3.0 drugs. Clozapine dose showed a median of 775.00 mg in the sample. With respect to tobacco use, 10 subjects (50%) were smokers and 10 (50%) no-smokers, and 70% of smokes use more than 15 cigarettes a day. The physical activity was observed in 4 (20%) of the individuals. Frequent coffee consumption was observed in 18 subjects (90%). Lifestyle use of drugs of abuse was positive in 9 (45%), with THC the most used and 11(55%) never used. Median urine caffeine excretion was 18.51 ng/ml, with a standard deviation of 12.67. Four in twenty (20%) were female, and showed a correlation with caffeine excretion ( $p = 0.019$ ). There was no correlation of caffeine excretion and clozapine dose in males. There were no associations between the clozapine dose and the amount of caffeine excreted unchanged in the urine sample ( $p > 0.050$ ), with a trend to significance in clozapine dose and weight. We found a rate clozapine/caffeine significantly higher in men compared with women ( $p = 0.039$ ) by Mann-Whitney test, which may be just a trend, due to the difference in sample size between groups. The results are described in the following Table1.

### **4. Discussion**

Schizophrenia has equal prevalence between men and women (PEARLSON, 2000), but with different outcomes according to gender (SALOKANGAS, 2001) (greater impairment in men compared to women). The present study examined 20 patients, with greater male predominance (16 patients), with similar gender proportions of other studies, one with 23 patients with 19 males and 4 females, and other with 123 patients. The major finding was related to gender and caffeine excretion: we found significant positive correlation between female gender and caffeine in the urine in our sample was significant for a  $p = 0.019$ , demonstrating a significant difference in enzyme activity between men and women, in accordance to several other studies showing higher enzymatic activity of CYP1A2 in male subjects (SCANDLYN et al., 2008).

The mean age of subjects was 36.95 years and this was not correlated statistically significant with the dose of clozapine used ( $p > 0.05$ ), as well as the number of medications ( $p > 0.05$ ). Studies show that polypharmacy or three or more medications concurrently may increase the risk of developing drug interactions, especially at the level of CYP1A2, because some drugs are inducing or inhibiting the enzyme activity (de LEON et al., 2005). In the sample, the drugs used were: clozapine, haloperidol, amitriptyline, clomipramine, sulpiride, imipramine, fluoxetine, lithium carbonate, clonazepam, alprazolam, omeprazole, metformin, captopril, propranolol, atenolol, hydrochlorothiazide, simvastatin, pravastatin, biperiden, levothyroxine, paracetamol and memantine. According to drugs mentioned in the study, there was only one identified drug interaction at the level of CYP1A2, omeprazole, which is this enzyme inducer, decreases plasma levels of clozapine in non-smokers (MOOKHOEK AND LOONEN, 2004). There was no significant correlation between age and caffeine levels in the urine ( $p = 0.316$ ), this might can be explained by a relatively narrow range of age (36.95 years).

Several studies describe a strong association between smoking and schizophrenia (LLERENA, 2003). In our study 10 (50%) subjects were smokers, ad smoking status was not severe since the average number of cigarettes was lower than 30/day. To be considered heavy smoker, the person must consume more than 30 cigarettes a day (de LEON et al., 2002; LLERENA et al., 2003). This may explain the lack of correlation between tobacco consumption and caffeine excretion, since tobacco is described as a strong CYP1A2 inducer.

Agranulocytosis, is the major clozapine side effect (HADDAD and SHARMA, 2007), and was not observed in any of the participants. Weight gain is another common adverse effect in patients taking atypical antipsychotics such as clozapine (NEWCOMER, 2005); in our study mean BMI was in the range of overweight, which can be explained by the effect of

medication or lack of exercise.

Since the effect of drug treatment depends on several individual factors, the heterogeneity in drug response is the result of mixed environmental and pathophysiological differences. Among those factors are: gender, age, ethnicity, diet polypharmacy, alcohol and tobacco (GOLDSTEIN et al., 2007). In some cases, however, the heterogeneity of the response can best explained by these factors, so genetic factors should be considered as a possible sources of response variability due to phenotypic changes in metabolizing enzymes, such as CYP1A2.

### **Conflict of interest**

There is no conflict of interest actual or potential, including any financial, personal or older relationships with other people or organizations.

### **References**

- Arnt J, Skarsfeldt T. Do Novel Antipsychotics Have Similar Pharmacological Characteristics? A Review of the Evidence. *Neuropsychopharmacology* 1998;18:63-101.
- de Leon J, Armstrong S, Cozza K. The Dosing of Atypical Antipsychotics *Psychosomatics* 2005.; 46: 262-273.
- de Leon J, Becõna E, Gurpegui M, Gonzalez A, Dias F. The Association between High Nicotine Dependence and Severe Mental Illness may be Consistent Across Countries. *J Clin Psychiatry* 2002; 63: 812-816.
- De Pádua AC, Gama C, Lobato MIR, Abreu PSB. Esquizofrenia. In: Cordioli AV (Organizador) et al. *Psicofármacos. Consulta Rápida*. 3ªed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 343-349.
- Faber M, Jetter A, Fuhr U. Assessment of CYP1A2 Activity in Clinical Practice: Why, How and When. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2005;97:125-134.
- Fuhr U et al. Evaluation of Caffeine as a Test drug for CYP1A2, NAT2, and CYP2E1 Phenotyping in Man by in Vivo Versus IN Vitro Correlations. *Pharmacogenetics* 1996;6: 159-176.
- Goldstein DB, Need AC, Singh R, Sisodiya SM. Potential Genetic Causes of Heterogeneity

of Treatment Effects. *Am J Med* 2007;120:S21-25.

Haddad PM, Sharma SG. Adverse Effects of Atypical Antipsychotics: Differential Risk and Clinical Implications. *CNS Drugs* 2007 ; 21:911-936.

Kane J, Honigfeld G, Meltzer H. Clozapine for the Treatment-Resistant schizophrenic. A Double –Blind Comparison with clozapine. *Archives of General Psychiatry*1988;45:789-96.

Kohlrausch F, Gama C, Lobato M, Abreu P, Jacques S, Gesteira , Barros F, Carracedo A, Hutz M. Naturalistic Pharmacogenetic study of Treatment Resistance *Journal of Psychiatric Phar*2010.(Article In Press).;

Krul C, Hageman G. Analysis of Urinary Caffeine Metabolites to Assess Biotransformation Enzyme Activities by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *J Chromatography* 1998; 709: 27-34.

Llerena A, de la Rubia A, Peñas-Lledó E, Diaz F, de Leon J. Schizophrenia and Tobacco Smoking in a Spanish Psychiatric Hospital. *Schizophr Res* 2003 ;60:313-317.

Mookhoek EJ, Loonen AJ. Retrospective evaluation of the effect of omeprazole on clozapine metabolism. *Pharm World Sci* 2004 ;Jun;26(3):180.

Newcomer JW. Second Generation (atypical) Antipsychotics And Metabolic Effects. A Comprehensive Literature Review. *CNS Drug* 2005;S22(4): 224-235.

Ortega J, Gurpegui M, Diaz F, de Leon. Tobacco and Schizophrenia. *Adicciones* 2004;vol 16(2): 177- 190.

Pearlson GD. Neurobiology of Schizophrenia. *Ann Neurol* 2000 ;48:556-556.

Salokangas R, Honkonen T, Stengard E, Kovisto A. *Soc Psychiatry Psychiatric Epidemiol* 2001; 55(2): 107-11.

Scandlyn MJ, Stuart EC, Rosengren RJ. Sex-specific Differences in CYP450 Isoforms Humans. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2008;4: 413-424.

Silvado C. Pharmacogenetic and antiepileptics. *J Epilepsy Clin Neurophysiol* 2008;14: 51 - 56.

Streetman DS, Bertino JS Jr, Nafziger AN. Phenotyping of Drug Metabolizing Enzymes in Adults: A Review of in Vivo Cytochrome P450 Phenotyping Probes. *Pharmacogenetics* 2000.Apr;10(3): 187-216.

Tandon R, Nasrallah H, Keshavan M. Schizophrenia, “Just the Facts”5. Treatment and Prevention Past, Present, and Future. *Schizophrenia Research* 2010.

Wong AH, Van Tol HH. 2003. Schizophrenia from Phenomenology to Neurobiology. *Neurosci Biobehav Rev* 2003;27:269-306.



**Table 1. Clinical and demographic characteristics of sample**

<b>Variable</b>	<b>Mean</b>	<b>SD</b>
Age (years)	36,95	7,80
Cafeína (ng/mL)	18,51	12,67
BMI	29,77	4,87
	<b>Median</b>	<b>Interquartile</b>
Weight (kg)	86,50	(72,00-91,50)
Number of medications	3,0	(2,25-4,0)
Dose of clozapine (mg)	775,0	(450,0-900,0)
	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Gender</b>		
Male	16	80,0
Female	4	20,0
<b>Smoking</b>		
Yes	10	50,0
No	10	50,0
<b>Coffee consumption (cups)</b>		
< 3	6	33,3
3-6	6	33,3
>6	6	33,3
<b>Physical exercise</b>		
Yes	4	20,0
No	16	50,0

## Considerações Finais

Os diversos estudos relacionados com a fenotipagem da CYP1A2 em amostras de urina descrevem a sua atividade através da dosagem dos metabólitos de fármacos-prova (probe). O nosso estudo estudou uma técnica alternativa de dosagem de cafeína inalterada na urina com custo muito mais favorável ,já que testes de fenotipagem utilizando metabólitos da cafeína com semelhante tamanho amostral teria um custo estimado em torno de R\$350,00 reais/amostra,de acordo com orçamentos realizados pelos pesquisadores em nosso estudo o custo foi de R\$200,00 /amostra.

Diversos fatores individuais podem interferir na eficácia do tratamento medicamentoso, o que justifica a importância da pesquisa na área da farmacogenética na busca do tratamento personalizado, promovendo desta forma o uso racional dos medicamentos, diminuindo as complicações provocadas por doses inadequadas e aumentando a adesão ao tratamento.

Os achados demonstram que os pacientes recebem em média a prescrição de 3 medicamentos simultaneamente , caracterizando a polifarmacia, considerada um importante fator para alterar atividade enzimática da CYP1A2, devido a um aumento do risco para ocorrência de interações medicamentosas. Foi identificado em nosso estudo uma interação entre o omeprazol e a clozapina, observada especialmente em tabagistas.

Propusemos o cálculo da razão entre a dose de clozapina e concentração de cafeína excretada como marcador da atividade enzimática da CYP1A2 e embora não tenhamos encontrado a esperada correlação inversa entre a cafeína excretada na urina e a dose utilizada de clozapina, devido a uma menor ou maior atividade metabolizadora da CYP1A2, considera-se necessário continuar este estudo, estendendo o tamanho amostral, uma vez que este pode ter sido um importante fator limitante no estudo.

## Anexo 1

### HOSPITAL DE CLINICAS DE PORTO ALEGRE AVALIAÇÃO DA FENOTIPAGEM DA CYP1A2 EM PACIENTES ESQUIZOFRÊNICOS

Nome:

Numero:

Idade:

Sexo: ( ) F1 ( ) M2

Altura:

Peso: IMC:

Endereço:

Telefone:

Fumante

( ) Sim 1 ( ) Não 2

Número de cigarros ao dia:

( ) até 5 1 ( ) de 5 a 10 2 ( ) de 11 a 15 3 ( ) mais de 15 4 ( ) NA 9999

Medicamentos utilizados com prescrição:

medicamento	dose	Como administra	código

Queixas de saúde:

queixa	Há quanto tempo ?

Consumo de café:

( ) até 3 xícaras 1 ( ) de 3 a 6 2 ( ) mais de 6 3 ( ) NA 9999

Utilizou alguma droga em algum momento da vida?

( ) Sim 1 ( ) Não 2

Qual?

( ) Maconha 1 ( ) Cocaína 2 ( ) Crack 3 ( ) Ecstasy 4 ( ) Álcool 5

11) Prática algum tipo de exercício físico?

( ) Sim 1 ( ) Não 2

Doenças diagnosticadas:

Doença	Tempo de diagnóstico

