

2.10.05 - Farmacologia / Farmacologia Bioquímica e Molecular

**PROPOSTA DE MEDICINA PERSONALIZADA UTILIZANDO PERFIL FARMACOGENÉTICO EM PACIENTES IDOSOS USUÁRIOS DE VARFARINA**Vitor Pitta Rodrigues<sup>1\*</sup>, Neire Niara Ferreira de Araújo<sup>2</sup>, Gisele Medeiros Bastos<sup>3</sup>, Carolina Dagli-Hernandez<sup>4</sup>, Rosario Dominguez Crespo Hirata<sup>5</sup>, Mario Hiroyuki Hirata<sup>5</sup>

1. Estudante da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)
2. Cardiologista do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia
3. Coordenadora de Pesquisa do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia
4. Doutoranda da FCF-USP
4. Professor da FCF-USP - Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas/Orientador

**Resumo**

A varfarina é o anticoagulante mais utilizado no mundo, devido ao seu baixo custo e sua eficácia. Porém, estabilizar a dose é uma tarefa difícil para cardiologistas, uma vez que a dose estável varia de acordo com o paciente, devido a fatores clínicos e genéticos. Além disso, o estabelecimento de uma dose incorreta de varfarina pode causar hemorragia ou trombose, portanto é indispensável avaliar os dados do paciente ao prescrever esse medicamento. O objetivo do nosso trabalho é estudar como essas variáveis clínicas e genéticas se comportam na população idosa brasileira, para que, a partir delas, possamos desenvolver um algoritmo farmacogenéticos que possibilite ao cardiologista uma maneira mais fácil de estabelecer a dose de varfarina para o paciente idoso, sem que ele precise de visitas frequentes ao setor de anticoagulação.

**Autorização legal:** Nº CAAE: 85654218.4.0000.5462, Nº CEP: 4830, Número do parecer: 2.605.953, Data: 17/04/2018

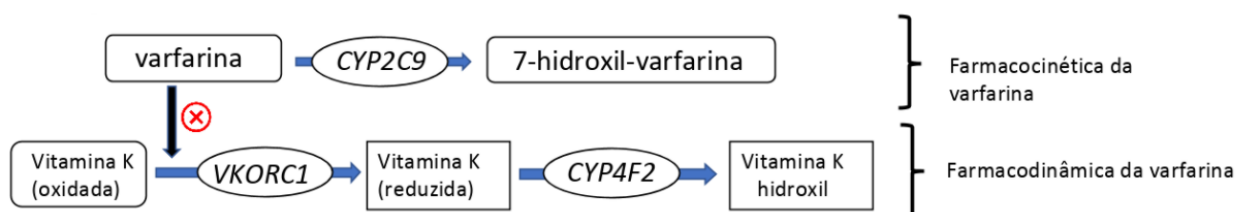
**Palavras-chave:** polimorfismos; anticoagulação; genética

**Apoio financeiro:** Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo

**Trabalho selecionado para a JNIC:** USP

**Introdução**

A varfarina é o anticoagulante oral mais utilizado no mundo no tratamento de fibrilação atrial e acidentes tromboembólicos (JANUARY et al., 2019). Por ser um tratamento de baixo custo, a varfarina é amplamente utilizada no Sistema Único de Saúde. Porém, o estabelecimento da dose ideal de varfarina é um problema para cardiologistas, pois doses muito altas podem resultar em hemorragias e doses muito baixas podem não cumprir o propósito terapêutico. Essas possíveis complicações são ainda mais graves quando o tratamento é realizado em pacientes idosos (SHENDRE et al., 2018). Com o avanço das técnicas de biologia molecular, foi descoberto que fatores genéticos relacionados à farmacocinética e farmacodinâmica da varfarina são responsáveis pela maior parte da variação de dose estável entre os pacientes, principalmente no gene *CYP2C9*, relacionado à metabolização da varfarina e no gene *VKORC1*, relacionado à metabolização do cofator de coagulação vitamina K (SHAWN et al., 2015).



**Figura 1:** papel dos principais genes na metabolização da varfarina

A genotipagem de pacientes tem sido uma alternativa para os cardiologistas na quantificação da dose, através do uso de algoritmos farmacogenéticos. Porém, estudos demonstram que esses algoritmos são mais precisos em adultos do que em idosos de uma mesma etnia, implicando na necessidade de elaboração de algoritmos específicos para a população idosa, levando em consideração aspectos comuns dessa faixa etária (REN et al., 2020). O objetivo do nosso trabalho é analisar como fatores clínicos e genéticos estão relacionados com a dose estável de varfarina em pacientes idosos brasileiros em tratamento com varfarina no Instituto Dante

Pazzanese de Cardiologia, a fim de estabelecer um tratamento anticoagulante eficaz e seguro para essa faixa etária.

## Metodologia

Foram selecionados no Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia 132 pacientes idosos acima de 70 anos que já haviam atingido a dose estável de varfarina. Foram excluídos do projeto pacientes que apresentaram doença renal, hepática, tireoidal e degenerativas. Os pacientes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e foram submetidos a uma entrevista para coleta de dados clínicos e a uma coleta de tubos de sangue para a genotipagem. Os polimorfismos escolhidos para a genotipagem foram: CYP2C9 rs1799853 e rs1057910; VKORC1 rs9923231 e CYP4F2 rs108622. O DNA foi isolado das amostras de sangue utilizando o kit TaqMan™ Sample-to-SNP™ (Applied Biosystems, California, USA) e a genotipagem foi realizada pela -qPCR utilizando o kit Taqman® SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, California, USA) e o software Rotorgene® Q (Qiagen, Hilden, Germany). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as instruções dos fabricantes. Para controle de qualidade dos experimentos, foram adotados os seguintes critérios: uso de controles negativos com amostras sem DNA, uso de controles positivos com amostras que já possuíam genótipos determinados (através de sequenciamento genético) e repetição da genotipagem de 10% dos pacientes.

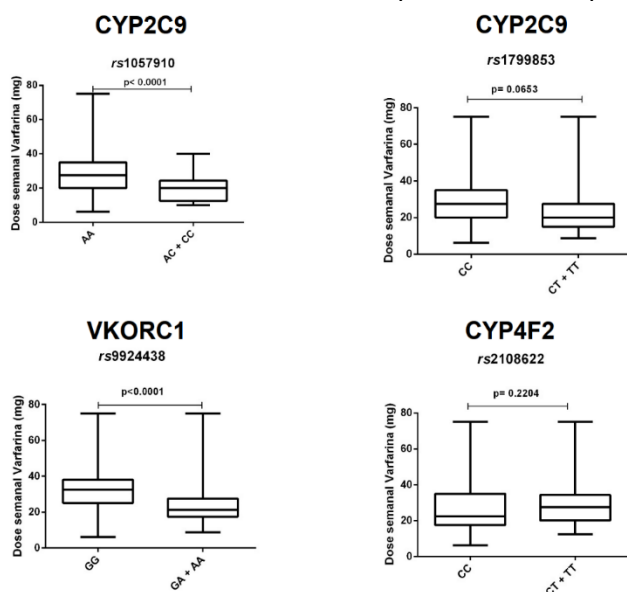
As análises estatísticas foram feitas utilizando o Programa SPSS v.22.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) e o nível de significância adotado foi  $p < 0,05$ . A distribuição das variáveis foram determinadas utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov. Todas as variáveis contínuas não apresentaram distribuição normal, portanto foi utilizado o teste de Mann-Whitney para análise. As variáveis categóricas foram comparadas utilizando teste de Fischer ou de qui-quadrado, de acordo com a distribuição observada.

Para testar a aderência dessa população idosa em algoritmos farmacogenéticos, foi utilizado o modelo de Santos et al., 2015, desenvolvido no InCor-HCFMUSP. Os critérios utilizados por esse algoritmo foram: idade, gênero, IMC, consumo de amiodarona e carbamazepina e genótipos dos polimorfismos nos genes CYP2C9 e VKORC1. O coeficiente de determinação foi obtido por regressão linear entre a dose estável predita pelo algoritmo e a dose estável real utilizada pelos pacientes.

## Resultados e Discussão

Dados biodemográficos dos pacientes estão representados na **tabela 1**. Ao comparar os genótipos com a dose estável de varfarina dos pacientes, verifica-se que os polimorfismos CYP2C9 rs1057910 e VKORC1 rs9924438 estão relacionados com menores doses estáveis de varfarina ( $p < 0,0$ ), conforme demonstra a **figura 2**. Esse comportamento está alinhado com a literatura. Os polimorfismos CYP2C9 rs1799853 e CYP4F2 rs2108622 não influenciaram significativamente a dose estável de varfarina nessa população ( $p > 0,05$ ).

Ao introduzir os dados dos 132 pacientes no algoritmo de Santos et al., 2015 e obter a comparação por regressão linear das doses preditas de varfarina com a dose estável real desses pacientes, o resultado do coeficiente de determinação foi de  $R^2 = 0,19$ . Esse resultado nos permite afirmar que o algoritmo é capaz de prever corretamente a dose de apenas 19% dos pacientes do presente estudo.



**Figura 2:** Comparação da dose estável entre pacientes que apresentaram ou não apresentaram mutações nos polimorfismos do estudo. O gráfico foi gerado a partir do teste de Mann-Whitney.

**Tabela 1:** Dados biodemográficos da população do estudo. Variáveis categóricas estão representadas em percentual com o número absoluto entre parênteses, enquanto variáveis contínuas estão representadas pela mediana com intervalos interquartílicos entre parênteses.

Variável	Valor (n=132)	p
Idade (anos)	78(75-82)	0.470
Sexo (Feminino), %	53.0 (70)	1.000
<b>Etnia, %</b>		
Branco	70.4 (93)	0.891
Preto	17.4 (23)	
Pardo	10.6 (14)	
Outro	1.5 (2)	
<b>Indicação para anticoagulação, %</b>		
Fibrilação Atrial	89.4 (118)	0.349
Flutter Atrial	6.0 (8)	
Embolia pulmonar	2.3 (3)	
Outro	2.3 (3)	
IMC	26.7(23.5-29.4)	0.594
<b>Tratamento com varfarina</b>		
INR entre 2.0 e 3.0, %	50(38-60)	<0.001
INR entre 2.5 e 3.5, %	17(8-25)	0.197
TTR (tempo na faixa terapêutica)	323(108-458)	<0.001
<b>Outros medicamentos, %</b>		
Amiodarona	7.6 (10)	0.693
Carbamazepina	0.7 (1)	-
Omeprazol	21.2 (28)	0.787
Paracetamol	0.7 (1)	-
Sinvastatina	40.9 (54)	1.000
Betabloqueadores	51.5 (68)	0.040*
Amlodipina	22.0 (29)	1.000
Diuréticos	22.0 (29)	1.000
Consumo frequente de vitamina K, %	47.7 (63)	0.268

Os resultados mostraram a influência dos polimorfismos nos genes *VKORC1 rs9924438* e *CYP2C9 rs1057910* nessa população, relacionados a doses estáveis menores de varfarina, conforme demonstra a **figura 2**. Estudos demonstram que os polimorfismos *CYP2C9 rs1799853* e *CYP4F2 rs2108622* estão relacionados com doses estáveis de varfarina menores e maiores, respectivamente, ainda que nosso estudo não apresente significância para essas duas variantes (Perini et al, 2010).

O resultado do coeficiente de determinação obtido com o algoritmo de Santos et al.,2015 foi considerado baixo. Estudos feitos com populações adultas nesse algoritmo atingiram um coeficiente de determinação de  $R^2=0.61$ , indicando que ele não é indicado para determinar a dose de varfarina em populações idosas (Santos et al., 2015; Tavares et al. 2018). Isso ocorre porque os parâmetros das variáveis possuem valores diferentes nessas populações. Essa diferenciação pode ter causas variadas, considerando que, de acordo com a literatura,

a varfarina apresenta diversas interações com medicamentos e alimentos ricos em vitamina K. Tendo em vista que a maioria dos idosos são adeptos da polifarmácia (Piccini et al., 2016), a interação medicamentosa é um importante fator a ser levado em consideração durante a prescrição de varfarina e elaboração de um algoritmo farmacogenético específico para a população idosa.

**Conclusões:** O estudo específico em idosos mostrou que as características fenotípicas se associam com as variantes genéticas avaliadas na população geral, no entanto, algoritmos específicos devem ser determinados especificamente para essa população.

### Referências bibliográficas

January CT, Wann LS, Calkins H, Chen LY, Cigarroa JE, Cleveland JC Jr, Ellinor PT, Ezekowitz MD, Field ME, Furie KL, Heidenreich PA, Murray KT, Shea JB, Tracy CM, Yancy CW. 2019 AHA/ACC/HRS Focused Update of the 2014 AHA/ACC/HRS Guideline for the management of patients with atrial fibrillation: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society in collaboration with the Society of Thoracic Surgeons. **Circulation**. 2019 Jul 9;140(2):e125-e151. doi: 10.1161/CIR.0000000000000665.

Perini JA, Struchiner CJ, Silva-Assunção E, Suarez-Kurtz G. Impact of CYP4F2 rs2108622 on the stable warfarin dose in an admixed patient cohort. **Clin Pharmacol Ther**. 2010 Apr;87(4):417-20. doi: 10.1038/clpt.2009.307.

Piccini JP, Hellkamp AS, Washam JB, Becker RC, Breithardt G, Berkowitz SD, Halperin JL, Hankey GJ, Hacke W, Mahaffey KW, Nessel CC, Singer DE, Fox KA, Patel MR. Polypharmacy and the efficacy and safety of rivaroxaban versus warfarin in the prevention of stroke in patients with nonvalvular atrial fibrillation. **Circulation**. 2016 Jan 26;133(4):352-60. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018544.

Ren Y, Yang C, Chen H, Dai D, Wang Y, Zhu H, Wang F. Pharmacogenetic-guided algorithm to improve daily dose of warfarin in elder Han-Chinese population. **Front Pharmacol**. 2020 Jul 10;11:1014. doi: 10.3389/fphar.2020.01014.

Santos PC, Marcatto LR, Duarte NE, Gadi Soares RA, Cassaro Strunz CM, Scanavacca M, Krieger JE, Pereira AC. Development of a pharmacogenetic-based warfarin dosing algorithm and its performance in Brazilian patients: highlighting the importance of population-specific calibration. **Pharmacogenomics**. 2015 Jul;16(8):865-76. doi: 10.2217/pgs.15.48.

Shendre A, Parmar GM, Dillon C, Beasley TM, Limdi NA. Influence of age on warfarin dose, anticoagulation control, and risk of hemorrhage. **Pharmacotherapy**. 2018;38(6):588-596. doi:10.1002/phar.2089.

Tavares LC, Marcatto LR, Santos PCJL. Genotype-guided warfarin therapy: current status. **Pharmacogenomics**. 2018;19(7):667-685. doi:10.2217/pgs-2017-0207.