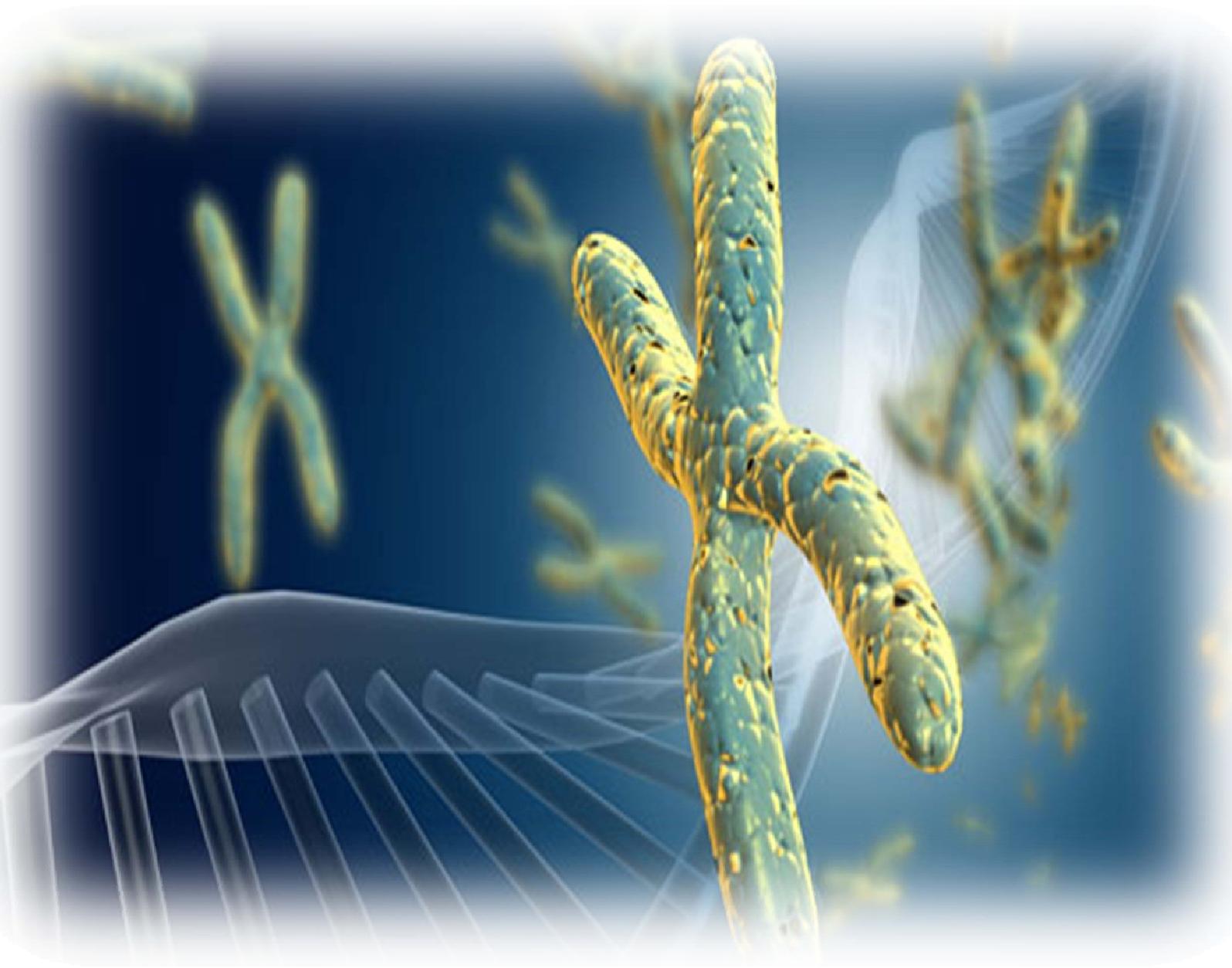


Farmacogenómica/Farmacogenética: Realidades e Perspectivas na Prática Clínica

- *Nélia Gouveia* -



Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

2009

Farmacogenómica/Farmacogenética: Realidades e Perspectivas na Prática Clínica

Nélia Gouveia

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
para a obtenção do grau de Mestre em Tecnologias do Medicamento, na área de Farmacologia.

VIII Curso de Mestrado em Tecnologias do Medicamento

Universidade de Coimbra

Faculdade de Farmácia

2009

Farmacogenómica/Farmacogenética: Realidades e Perspectivas na Prática Clínica

**Este trabalho foi realizado sob a orientação da Professora
Doutora Isabel Vitória Neves de Figueiredo Santos Pereira,
da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, e
do Professor Doutor Luís Manuel de Almeida Nunes,
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de
Lisboa.**



Farmacogenómica/Farmacogenética: Realidades e Perspectivas na Prática Clínica

Agradecimentos:

À Professora Doutora Isabel Vitória , que me acompanhou ao longo dos últimos 12 anos de estudo. Foi uma longa jornada. Primeiro a licenciatura, depois a formação pós-graduada que culmina nesta fase.

A si Professora, agradeço, além de todo o apoio científico, toda a sua disponibilidade, entusiasmo, Amizade, carinho e dedicação com que me presenteou durante todos estes anos e especialmente nos últimos dois.

Agradeço de coração o tempo e atenção que me dedicou ao longo deste projecto.

Ao Professor Doutor Luís Nunes, que conheci quando escolhi este tema e que me apoiou desde o primeiro momento na sua concretização.

A si Professor, agradeço, além dos conhecimentos científicos que me transmitiu ao longo deste tempo, a sua paciência infinita para as minhas hesitações, o seu incentivo constante para concluir o projecto , a sua disponibilidade permanente , a sua atenção e Amizade.

Agradeço a ambos a forma como me ensinaram a não desistir e a acreditar que é sempre possível escalar a montanha se os passos forem seguros e precisos.

Agradeço também o facto de terem acreditado sempre na concretização deste trabalho.

Aos meus Pais

..... Por tudo

*"Ter um destino é não
caber no berço onde o
corpo nasceu, é transpor
as fronteiras uma a uma
e morrer sem nenhuma"*

Miguel Torga. In Fernão de Magalhães.
Antologia Poética. Lx. D. Quixote. 1999

Índice

Abreviaturas

Resumo

Abstract

1.	Introdução - A Farmacogenómica e a Farmacogenética – Conceitos Gerais	p.11
1.1.	Farmacogenómica e Farmacogenética e a descoberta/desenvolvimento de novos fármacos	p.13
1.1.1.	A Farmacogenómica/Farmacogenética e os ensaios clínicos	p.14
1.2.	Biomarcadores	p.16
1.2.1.	Biomarcadores predictivos de Reacções Adversas Medicamentosas (RAMs) severas	p.16
1.3.	Farmacogenómica na prática clínica - testes farmacogenómicos em uso e em desenvolvimento	p.18
1.3.1.	Farmacogenómica e as enzimas do metabolismo	p.18
1.3.2.	Testes farmacogenómicos em Oncologia	p.19
1.3.2.1.	Cancro da mama	p.19
1.3.2.2.	Leucemia Linfoblástica Aguda	p.20
1.3.2.3.	Leucemia Mielóide Crónica	p.21
1.3.2.4.	Cancro do Pulmão	p.22
1.3.2.5.	Cancro Colorectal	p.23
1.3.3.	Testes farmacogenómicos nas Doenças Infecciosas	p.25
1.3.3.1.	A Farmacogenómica e o Vírus da Imunodeficiência Humana	p.26
1.3.4.	Farmacogenómica nos doentes anticoagulados	p.28
1.3.5.	Novos testes em desenvolvimento	p.29
1.4.	Farmacogenómica/Farmacogenética – os genes que marcam a diferença?	p.30
2.	Objectivos	p.32
3.	Material e Métodos	
3.1.	Métodos	p.32
3.1.1.	Sub-estudo 1 – Estudo Transversal Descritivo	p.32

3.1.2.	Sub-estudo 2 – Técnica de Consenso: Painel Delphi	p.32
3.1.2.1.	Aspectos a ter em conta na análise dos questionários	p.35
3.2.	População e Amostra	
3.2.1.	Sub-estudo 1	p.36
3.2.2.	Sub-estudo 2	p.37
3.3.	Suportes de informação utilizados e processo de recolha de dados	
3.3.1.	Sub-estudo 1	p.40
3.3.1.1.	Operacionalização das variáveis	p.41
3.3.2.	Sub-estudo 2	p.42

4.	Resultados	
4.1.	Sub-estudo 1	p.46
4.1.1.	Caracterização do Entrevistado e Caracterização do Serviço	p.46
4.1.2.	Caracterização do uso da Farmacogenómica	p.47
4.2.	Sub-estudo 2	p.50

5.	Discussão	p.51
5.1.	Perspectivas Futuras – da euforia à desilusão?	p.52

6.	Farmacogenómica /Farmacogenética: Realidades e Perspectivas na Prática Clínica - O Exemplo da Varfarina	p.55
6.1.	Terapêutica Anti-trombótica	p.56
6.1.1.	Varfarina	p.58
6.1.1.1.	Indicações Terapêuticas	p.62
6.1.1.2.	Contra-indicações	p.65
6.1.1.3.	Precauções especiais de utilização	p.66
6.1.1.4.	Efeitos Adversos	p.67
6.1.1.5.	Interacções Medicamentosas	p.68
6.1.1.6.	Monitorização do Efeito Anticoagulante da Varfarina	p.71
6.2.	Farmacogenética e Varfarina	
6.2.1.	Variações genéticas relevantes na terapêutica com varfarina – CYP2C9 e VKORC1	p.73
6.2.1.1.	Polimorfismos genéticos do CYP2C9	p.74
6.2.1.2.	Polimorfismos genéticos do VKORC1	p.76

6.2.2.	Estado da arte - Análise de estudos relevantes	p.77
6.2.2.1.	Principais pontos de intercepção que resultam da análise dos artigos	p.99
6.3.	Análise crítica	p.107
6.3.1.	COAG - Um novo estudo promissor?	p.109
6.3.2.	A questão do custo–efectividade da farmacogenética aplicada aos doentes anticoagulados – breve apontamento	p.112
6.4.	Reflexão e Notas Finais	p.115
<hr/>		
7.	Bibliografia	p.117
<hr/>		
8.	Reconhecimento	p.126
<hr/>		
9.	Anexos	p.128
<hr/>		

Índice de Tabelas

Tabela 1: Painéis Delphi estruturados	36
Tabela 2: Amostra Sub-estudo 1	37
Tabela 3: Amostra sub-estudo 2	39
Tabela 4: Operacionalização das variáveis - sub-estudo 1	41
Tabela 5: Esquema de resposta ao inquérito	44
Tabela 6: Caracterização do Entrevistado e do Serviço	46
Tabela 7: Utilização da genética nas decisões terapêuticas.....	47
Tabela 8: Principais Indicações Terapêuticas da Varfarina - Profilaxia e Situações Clínicas	64
Tabela 9: Contra-Indicações da Varfarina.....	66
Tabela 10: Interações que potenciam o Efeito Anticoagulante da Varfarina	70
Tabela 11: Interações que antagonizam o Efeito Anticoagulante da Varfarina	71
Tabela 12: Resumo das Frequências dos Alelos e do Genótipos CYP2C9*2 e CYP2C9*3.....	82
Tabela 13: Resumo dos Resultados dos Estudos Observacionais	105

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Utilização da genética nas decisões terapêuticas	47
Gráfico 2: Prescrição dos testes genéticos.....	48
Gráfico 3: Locais onde é feito o processamento laboratorial dos testes de genética.....	48

Índice de Esquemas

Esquema 1: Mecanismo de Acção da Varfarina.....	60
---	----

Abreviaturas

ADP	Adenosina difosfato
ATP	Adenosina trifosfato
ANF	Associação Nacional das Farmácias
BCR- ABL	<i>Breakpoint Cluster Region</i> do gene ABL
BRCA1	<i>Breast Cancer 1</i>
Ca²⁺	Cálcio
Cit.P450	Complexo enzimático do Citocromo P450
CYP2C9	Gene que codifica a enzima da subfamília 2C do Citocromo P450
CO₂	Dióxido de Carbono
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EGFR	Receptor do Factor de Crescimento Epidermal
ERCC1	<i>Excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FISH	<i>Fluorescent in situ Hybridization</i>
FvW	Factor de <i>von Willebrand</i>
FP₃	Fosfolípido Plaquetar 3
GLA	Carboxiglutamato
GLU	Glutamato
GWAS	<i>Guide-wide Association Studies</i>
HER2	<i>Human Epidermal growth factor Receptor-type 2</i>
HLA	<i>Human Leukocyte Antigen</i>
INR	<i>International Normalize Ratio</i>
IPATIMUP	Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto
IPO	Instituto Português de Oncologia
ISI	Índice de Sensibilidade Internacional
O₂	Oxigénio
OF	Ordem dos Farmacêuticos
OM	Ordem dos Médicos
PCFs	Programas de Cuidados Farmacêuticos

PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PDGF	Factor de Crescimento derivado das Plaquetas
Q.	Questão
RAMs	Reacções Adversas Medicamentosas
RCM	Resumo das Características do Medicamento
RNA_m	Ácido Ribonucleico mensageiro
ROR-Sul	Registo Oncológico Regional Sul
RRM1	<i>Ribonucleotide Reductase M1 polypeptide</i>
SNP	<i>Single-nucleotide Polymorphism</i>
TPMT	Tiopurina Metiltransferase
TP	Tempo de Protrombina
tPA	Activador Tissular do Plasminogénio
TS	Timidilato-sintase
VKOR	Vitamina K Epóxido Redutase
VKORC1	Sub-unidade 1 do Complexo Vitamina K Epóxido Redutase

Resumo

A saúde pública abrange várias preocupações actuais, entre elas, o uso racional do medicamento com a consequente optimização das terapêuticas. Esta optimização assenta em dois grandes focos: a segurança e a efectividade, sendo intervenções prioritárias a anulação de problemas relacionados com a segurança (reações adversas) e a maximização de questões relacionadas com a efectividade. Neste contexto, a Farmacogenómica é hoje uma área em expansão e poderá deter as ferramentas necessárias que possibilitam a construção de respostas terapêuticas dirigidas ao perfil genético dos indivíduos, permitindo respeitar a variabilidade intra e inter-individual. Este trabalho tem como objectivos: avaliar a utilização da Farmacogenómica na prática clínica hospitalar em Portugal Continental; identificar as competências necessárias a desenvolver para aplicação de técnicas de Farmacogenómica - Médico/Farmacêutico; analisar quais as futuras áreas potenciais de aplicação da Farmacogenómica na prática clínica.

Para dar resposta aos objectivos definidos foram realizados dois sub-estudos distintos. O sub-estudo 1, um estudo transversal descritivo, cuja informação foi recolhida junto de serviços hospitalares previamente definidos; e o sub-estudo 2, que se baseou numa técnica de consenso – Painel Delphi.

No sub-estudo 1 obteve-se informação de 4 serviços do IPO de Lisboa, 1 serviço do IPO do Coimbra e 4 serviços do IPO do Porto, e nestes serviços maioritariamente a utilização da genética nas decisões terapêuticas, quando se verifica, não é numa perspectiva farmacogenómica, mas sim numa perspectiva de caracterização da doença ou do seu estadio. No sub-estudo 2, das instituições identificadas para a indicação dos peritos, as poucas respostas recepcionadas foram maioritariamente via telefone, (uma vez que foi feito um reforço telefónico para maior brevidade na resposta), foram todas negativas, argumentando que não havia peritos na área de estudo identificada.

Da pesquisa e das informações recolhidas a farmacogenómica/farmacogenética parece ser um campo de investigação que apresenta ainda algumas fragilidades. Podem ser identificados nichos de potencial interesse na utilização da Farmacogenómica,

nomeadamente nas áreas da genética, oncologia e doenças infecciosas, em que os fármacos manuseados são aqueles que se encaixam exactamente na utilidade da farmacogenómica/farmacogenética: fármacos com margem terapêutica estreita. Na perspectiva de concretizar o estado da arte da utilização da farmacogenómica/farmacogenética numa área clínica em particular optou-se por realizar uma revisão bibliográfica sobre esta matéria em doentes que fazem terapêutica com varfarina.

Abstract

Pharmacogenomics or the study of the interaction of an individual's genotype and drug response can help optimize drug efficacy while minimizing adverse drug reactions. Pharmacogenomic information may allow predictions about appropriate drug doses, therapeutic and toxic effects to be made prior drug administration.

The purpose of this study was: evaluate the use of pharmacogenomics in Portuguese clinical hospital practice; identify the skills necessary to develop techniques for application of pharmacogenomics (Doctors/Pharmacists); consider what the future potential areas of pharmacogenomics in clinical practice.

To meet the objectives two separate sub-studies were performed. Sub-study 1, a descriptive cross-sectional study, whose information was collected from hospital departments previously defined. Sub-study 2, which was based on a consensus technique - Delphi Panel.

In sub-study 1 information was obtained from 4 departments at IPO - Lisbon, 1 department from IPO - Coimbra and 4 departments IPO - Porto. In these departments the use of genetics in therapeutic decisions has the main purpose of characterization of the disease or its stage. Genetic information is not used for the application of pharmacogenomics.

In sub-study 2, the institutions identified for the indication of experts, the few responses were mostly approved by phone and were all negative, explained by the fact that there was no expert in the study area identified.

From the research conducted and information gathered, pharmacogenomics seems to be a field of research with some weaknesses. Clusters of potential interest can be identified in the use of pharmacogenomics, particularly in the fields of genetics, oncological and infectious diseases, where drugs handled are those that fit exactly in the utility of pharmacogenomics / pharmacogenetics: drugs with narrow therapeutic margin.

In order to achieve the state of the art of pharmacogenomics/pharmacogenetics in the clinical field, we chose to carry out a review on this issue in patients with treated with warfarin.

Farmacogenómica/Farmacogenética: Realidades e Perspectivas na Prática Clínica

“O que distingue um fármaco de um veneno é a dose”

(Galeno)

1. Introdução

A Farmacogenómica e a Farmacogenética: Conceitos Gerais

A primeira descoberta no âmbito da farmacogenética foi feita há mais de 50 anos em doentes com uma deficiência na enzima glicose-6-fosfato-desidrogenase. Estes doentes desenvolveram hemólise quando tratados com primaquina (um antimalárico muito usado na altura) e foi desenvolvida uma correlação entre a deficiência enzimática e a reacção adversa observada. O termo “farmacogenética” foi então, em 1959, introduzido por Vogel na comunidade científica (Shin, *et al.*, 2009).

Embora tenham passado 50 anos, as maiores descobertas na área da farmacogenética/farmacogenómica foram realizadas nestes últimos anos. A sequenciação do genoma humano realizada pelo *Human Genome Project* (Venter, *et al.*, 2001) potenciou uma nova era para a medicina personalizada baseada na genética. *The International HapMap Project* e o *1000 Genome Project* representam dois grandes marcos na identificação, caracterização e catalogação dos polimorfismos humanos mais comuns, em termos de número, distribuição e frequência, em quatro grandes e distintas populações mundiais (Europeia, Africana, Chinesa e Japonesa), com a subsequente aplicabilidade da genética e dos estudos farmacogenéticos (Marini, *et al.*, 2009).

Muitos cientistas acreditam que o perfil genético individual é a chave para a terapêutica individualizada, que permitirá aumentar a efectividade da terapêutica e reduzir os problemas relacionados com a segurança (Evans, *et al.*, 2003; Kollek R., 2006).

A indivíduos diferentes correspondem genomas diferentes e, por isso, podem responder de forma diferente a uma dose pré-definida como dose ideal (ou dose-padrão), não só porque poderão ter capacidades diferentes de absorção do fármaco, mas também porque poderão, por exemplo, ter ausente uma importante enzima do metabolismo desse fármaco, ou poderão ter variantes alélicas “normais”, os chamados polimorfismos, com reflexo por exemplo no metabolismo (Shin, *et al.*, 2009).

As diferenças interindividuais podem fazer com que as doses padronizadas, ou seja as doses terapêuticamente recomendadas, possam levar a concentrações sanguíneas inesperadamente elevadas ou baixas (conforme o perfil genético), causando um efeito terapêutico severo ou tóxico, no primeiro caso, ou não registando efectividade terapêutica, no segundo caso (Evans, *et al.*, 2003). Quer isto dizer que a genómica é mais abrangente e não se esgota na mutação e do reflexo que tem nas proteínas, metabolitos, RNA, etc.. A genómica tem em conta como a variação genética interfere nas várias interacções.

Embora haja a considerar muitos outros factores não-genéticos que influenciam os efeitos da terapêutica, como por exemplo a idade, a funcionalidade dos órgãos, a terapêutica concomitante, as interacções medicamentosas, a natureza da doença, entre outros (D'Andrea G., 2005; Kollek R., 2006; Grant, *et al.*, 2007; Husain, *et al.*, 2007; Flockhart, *et al.*, 2008; Garcia D., 2009), há actualmente vários exemplos em que as diferenças inter-individuais na resposta à terapêutica são devidas a variações genéticas que têm impacto ou no metabolismo ou no transporte ou no mecanismo de acção dos fármacos (Shin, *et al.*, 2009).

Estas variações nos genes que codificam moléculas chave da farmacocinética e da farmacodinâmica influenciam a concentração do fármaco no sangue e a resposta terapêutica, respectivamente (Shin, *et al.*, 2009), assumindo especial interesse em fármacos com uma janela terapêutica estreita, ou seja, em fármacos em que a margem entre a dose terapêutica e a dose tóxica é muito pequena. Uma pequena alteração no metabolismo destes fármacos pode ser responsável pela toxicidade do mesmo, podendo causar efeitos adversos muito graves que podem ser potencialmente fatais (Tomalik-Scharte, *et al.*, 2008). A farmacogenómica é, deste modo, o estudo das variações ao nível do genoma e da forma como elas controlam os efeitos terapêuticos no indivíduo. Se falarmos de uma alteração ou variação específica de um gene, e da forma como essa situação afecta a resposta terapêutica do indivíduo, falamos em farmacogenética (Shin, *et al.*, 2009).

Actualmente, nos Estados Unidos da América, cerca de 120 fármacos têm incluídas na sua descrição descobertas no âmbito da farmacogenética/farmacogenómica (Frueh, *et al.*, 2008) reconhecidas pela *Food and Drug Administration (FDA)*. Estes fármacos incluem-se em diversas áreas terapêuticas como as doenças infecciosas (o

voriconazole), a cardiologia e a hematologia (a varfarina), a neurologia (a carbamazepina), a psiquiatria (a atomoxetina) e a oncologia (a azatioprina, o irinotecano, o trastuzumab e o cetuximab) (Shin, *et al.*, 2009).

1.1. Farmacogenómica e Farmacogenética e a descoberta/desenvolvimento de novos fármacos

Além da identificação e da validação de novos alvos terapêuticos, uma das várias aplicações da genómica ao nível da indústria farmacêutica tem sido a ajuda na selecção dos melhores fármacos para um alvo em particular (Schmedders M., 2003).

Isto acontece porque, um dos mais importantes contributos da genómica é contribuir para a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos numa determinada doença (Thorn, *et al.*, 2007). Com os enormes conhecimentos da biologia será possível conhecer melhor os processos e mecanismos implicados na etiologia e fisiopatologia da doença.

Durante o desenvolvimento de uma doença oncológica, por exemplo, ocorrem variadas alterações genéticas complexas nas células do tumor. Estas alterações incluem mutações no DNA causadas por factores ambientais (poluição e tabagismo, por exemplo) mas também complexos rearranjos ao nível dos cromossomas. São referidas como “mutações somáticas”, e distinguem-se das alterações genéticas hereditárias porque não são transmitidas à descendência (Kollek R., 2006).

Estas alterações genéticas podem ser detectadas por testes genéticos utilizados em estudos farmacogenómicos ou farmacogenéticos (se estudarem o genoma ou uma variação genética em particular, respectivamente) e a informação contribuir para o desenvolvimento de fármacos direccionados para a terapêutica do cancro. São exemplos o imatinib, um antineoplásico, inibidor enzimático específico (da enzima tirosinacinaase), usado no tratamento de alguns tipos de cancro, nomeadamente na leucemia mieloide crónica; e o erlotinib, também um antineoplásico, usado no tratamento do cancro do pulmão de pequenas células e no cancro pancreático, e cujo mecanismo de acção é bloquear o receptor do factor de crescimento das células cancerosas (Evans, *et al.*, 2003).

A indústria farmacêutica utiliza, cada vez mais, técnicas relacionadas com a farmacogenómica e com a farmacogenética e a informação que delas resulta para o processo de desenvolvimento de novos fármacos (Shin, *et al.*, 2009). Estes dados podem ser utilizados de duas formas:

- Na descoberta de novos fármacos que abrangem toda a população. Neste caso só as moléculas candidatas que não mostram variações significativas na eficácia, perante os alelos mais comuns do alvo identificado, seguem para desenvolvimento (Schmedders M., 2003).

Este tipo de triagem reduz o risco dos fármacos virem a ser rejeitados num estado muito avançado do seu desenvolvimento, aumentando a possibilidade de sucesso no público-alvo. Os fármacos desenvolvidos desta forma são aqueles que serão capazes de resultar melhor em grupos de doentes mais alargados.

- Na descoberta de novos fármacos dirigidos a determinadas sub-populações (nomeadamente, com características genéticas específicas). Na maioria dos casos os grupos-alvo destes fármacos são indivíduos com uma determinada variação genética, que poderão beneficiar bastante da terapêutica, respondendo bem a esta. Estes fármacos provavelmente terão que ser aprovados e considerados seguros em todos os grupos de indivíduos, mas poderão ser licenciados e comercializados especificamente para o grupo de indivíduos que responde bem (Kollek R., 2006). Ou seja, terá um “mercado” restrito mas extremamente efectivo.

1.1.1. A Farmacogenómica/Farmacogenética e os ensaios clínicos

A farmacogenómica e a farmacogenética são também, por vezes, utilizadas nas diversas fases dos ensaios clínicos.

Nos estudos pré-clínicos ou na fase I dos ensaios clínicos, a genotipagem pode ser útil para excluir ou incluir grupos genómicos particulares e definidos, com o objectivo de aumentar as possibilidades de um fármaco se mostrar seguro. No entanto, este tipo de pré-identificação apresenta algumas reservas por parte das autoridades reguladoras devido ao risco de algumas reacções adversas graves poderem não ser identificadas nos restantes grupos. Isto faz com que a indústria farmacêutica actualmente use a

farmacogenómica ou a farmacogenética, conforme o caso, na fase inicial dos ensaios clínicos para se assegurar que as populações dos estudos são representativas da população em geral, nomeadamente ao nível das variações genéticas associadas ao metabolismo (Grant, *et al.*, 2007).

Esta situação pode ajudar favoravelmente a minimizar o risco de viés do ensaio ou a diminuir o risco de um fármaco falhar num estado muito avançado do seu desenvolvimento, aumentando a segurança do produto final.

Numa fase do ensaio mais avançada, fase II ou fase III, a farmacogenómica e a farmacogenética podem ser usadas de forma retrospectiva para identificar geneticamente grupos definidos que têm um elevado risco de desenvolver reacções adversas graves; ou de forma prospectiva, em que se podem testar novos fármacos em sub-populações de doentes que se acredita responderem melhor (Shin, *et al.*, 2009).

Esta situação poderá ser particularmente importante na identificação de uma terapêutica que seja altamente efectiva mas que esteja associada a poucas, mas graves, reacções adversas com base genética. Estes grupos podem ser identificados e excluídos em posteriores ensaios (Ingelman-Sunberg, 2008).

Como já foi referido, a farmacogenómica pode ser usada para identificar geneticamente grupos populacionais particulares que respondem bem à terapêutica. Um fármaco desenvolvido desta forma pode ser licenciado para uso específico numa determinada população identificada previamente pela realização de testes genéticos, tendo neste caso, um mercado restrito. Exigem uma monitorização muito apertada na identificação dos indivíduos-alvo pelo risco que é ser administrado a um doente errado (Evans, *et al.*, 2003).

Um exemplo deste tipo de fármacos é o trastuzumab, um fármaco bem sucedido e desenvolvido para uma população específica e geneticamente bem identificada, em que é altamente eficaz – mulheres cujo tumor da mama sobre-expressa o gene do receptor HER2. Neste caso específico, a FDA considera mandatória a pesquisa da sobre-expressão do receptor HER2 em mulheres com cancro da mama, antes de iniciarem a terapêutica com este anticorpo monoclonal (FDA, 2009).

1.2. Biomarcadores

Um marcador pode ser definido como uma característica que é medida e avaliada de forma objectiva, como um indicador de um processo biológico normal, de um processo patogénico, ou de uma resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica.

Os testes de diagnóstico molecular medem os biomarcadores indicando os níveis de actividade biológica no organismo, que podem ser níveis dentro dos parâmetros considerados normais ou alterados.

A maioria dos biomarcadores são proteínas, mas podem também ser moléculas como ácidos gordos ou moléculas com características génicas, incluindo o DNA e os RNAs.

Os biomarcadores genéticos podem ter um importante destaque na identificação de doentes que previsivelmente respondem e de doentes que não respondem a determinada terapêutica, evitando efeitos tóxicos e permitindo um ajuste na dose dos fármacos de forma a otimizar a sua eficácia e segurança (Ingelman-Sunberg, 2008).

Estes biomarcadores podem ser classificados segundo a sua utilização específica: resposta clínica e diferenciação dessa mesma resposta, identificação do risco, selecção da dose ideal, susceptibilidade, resistência e diagnóstico diferencial das doenças, e ainda polimorfismos dos alvos da terapêutica (Lin, *et al.*, 2009).

A FDA reconheceu na farmacogenómica/farmacogenética uma forma de identificação de novos biomarcadores que poderão ser muito úteis no desenvolvimento de novos fármacos (FDA, 2009).

1.2.1. Biomarcadores predictivos de Reacções Adversas Medicamentosas (RAMs) severas

A pesquisa no âmbito da farmacogenómica/farmacogenética tem-se focado no conhecimento dos mecanismos moleculares inerentes às reacções adversas e na descoberta de biomarcadores (genéticos) que permitam identificar pessoas em risco (Frueh, *et al.*, 2008).

Nos Estados Unidos 6 a 7% das hospitalizações são devidas a reacções adversas a medicamentos e estas são responsáveis por 100 mil mortes por ano neste país (Ingelman-Sunberg, 2008).

As reacções adversas medicamentosas são também um grande problema ao longo do processo de desenvolvimento de um novo fármaco. Aproximadamente 4% de todos os novos fármacos são impedidos de entrar no mercado devido a reacções adversas medicamentosas como por exemplo, efeitos tóxicos ao nível do sistema cardiovascular ou hepático (Evans, *et al.*, 2003).

A procura de biomarcadores farmacogenómicos ou farmacogenéticos que possam ser utilizados para identificar doentes em risco aumentado de efeitos tóxicos relacionados com fármacos tem-se focado na variação de genes que codificam proteínas chave da farmacocinética e da farmacodinâmica dessas mesmas substâncias. As alterações na sequência de aminoácidos das enzimas do metabolismo por exemplo, que provocam actividade enzimática aumentada, podem levar a níveis elevados de substrato ou, em alternativa, no caso dos pró-fármacos, níveis elevados de metabolito activo, que poderão causar efeitos tóxicos (Ingelman-Sunberg, 2008).

São ainda poucos os biomarcadores identificados com elevado nível de especificidade. A pesquisa nesta área tem tido limitações ao nível do *design* dos ensaios. Além disso, as influências poligénicas responsáveis por muitas reacções adversas são resultado, entre outras situações, de tratamentos com múltiplos fármacos e a variação na severidade dessas reacções torna difícil a identificação do contributo particular de cada gene. Como resultado, só um número limitado de resultados de uma associação positiva entre as características genéticas e as reacções adversas específicas foi reconhecido.

Nos Estados Unidos, a FDA publicou uma listagem de biomarcadores válidos e que deverão ser pesquisados através de testes farmacogenéticos aquando da administração de determinados fármacos (FDA, 2009). Esta pesquisa poderá por um lado, ser obrigatória para o caso de alguns fármacos, poderá por outro lado ser recomendada para o caso de algumas populações de risco, ou poderá ser feita apenas para melhorar a informação para o prescritor.

Um exemplo de pesquisa mandatória é a detecção do “cromossoma *Philadelphia*” antes da prescrição de Busulfan® em doentes com leucemia mielóide crónica. Este fármaco é usado no tratamento paliativo só sendo efectivo em doentes que têm presente o “cromossoma de *Philadelphia*” (Husain, *et al.*, 2007).

1.3. Farmacogenómica na prática clínica - testes farmacogenómicos em uso e em desenvolvimento

1.3.1. Farmacogenómica e as enzimas do metabolismo

Os testes para detectar variações nas enzimas responsáveis pelo metabolismo dos fármacos ganham importância na medida em que poderão auxiliar a previsão da resposta à terapêutica de um determinado indivíduo, permitindo o ajuste da dose logo no início do tratamento.

Um dos exemplos mais conhecidos de polimorfismos genéticos que alteram o metabolismo dos fármacos é o caso dos polimorfismos dos genes que codificam as proteínas da família do Citocromo P450 (Cit.P450). Por exemplo, o gene que codifica o CYP2D6 parece estar envolvido na metabolização de 25% dos fármacos mais prescritos, incluindo bloqueadores adrenérgicos de tipo β , anti-depressivos e anti-psicóticos (Carlquist, *et al.*, 2006).

O conhecimento da variação ao nível dos genes que codificam estas proteínas pode ajudar o médico a escolher a dose certa de determinado fármaco para o indivíduo em causa, evitando a exposição do doente a efeitos secundários marcados.

O teste da *Roche Diagnostic's*, o *AmpliChip P450®*, é uma opção já disponível e baseia-se na tecnologia *microarrays*. Analisa variações ao nível dos genes que codificam as famílias CYP2D6 e CYP2C19, responsáveis pelo metabolismo de fármacos muito utilizados como as benzodiazepinas, anti-epilépticos, antidepressivos, antipsicóticos, bloqueadores adrenérgicos de tipo β , entre outros. Analisa 27 variações alélicas no gene que codifica a família CYP2D6, incluindo a deleção e a duplicação do gene, e 3 variações alélicas para o gene que codifica a família CYP2C19 (Roche, 2008). Este teste permite dividir os indivíduos em metabolizadores lentos e metabolizadores extensos em relação ao CYP2C19, e em metabolizadores lentos, intermédios, extensos ou ultra-rápidos em relação ao CYP2D6. Em qualquer dos casos o grupo dos metabolizadores lentos é o que suscita mais preocupações devido ao facto de uma dose padrão de um fármaco metabolizado por uma destas duas famílias, poder ser uma dose potencialmente tóxica para estes indivíduos. A identificação prévia desta característica ao nível da metabolização poderá vir a ser considerada uma mais-valia na redução dos efeitos adversos e na optimização da terapêutica.

1.3.2. Testes farmacogenómicos em Oncologia

A variabilidade inter-individual na resposta à terapêutica e a possibilidade do aparecimento de reacções adversas são algumas das principais causas de falta de eficácia no tratamento do cancro. Há por isso uma necessidade urgente de identificar métodos que permitam prever a resposta à terapêutica através da identificação de biomarcadores específicos (Ingelman-Sunberg, 2008; Lin, *et al.*, 2009).

1.3.2.1. Cancro da mama

O *Oncotype Test*®, da *Genomics Health*, é um teste diagnóstico que quantifica a possibilidade de recorrência do cancro da mama em doentes com um diagnóstico recente, num estágio 1 ou 2, que poderão ser tratadas com tamoxifeno. O teste é feito numa amostra do tumor, avaliando-se a variação de um painel de biomarcadores de 21 genes associados com a recorrência, ou não-recorrência, em sub-tipos particulares de cancro da mama. O objectivo deste teste é contribuir para um melhor planeamento da terapêutica tendo por base a estratificação das doentes de acordo com a possibilidade de recorrência da doença (Thorn, *et al.*, 2007).

Um outro exemplo é o cancro da mama e o tratamento com trastuzumab, como foi referido anteriormente. A terapêutica com trastuzumab está relacionada com um mau prognóstico: aumento do tumor, formação de metástases e resistência aos agentes quimioterápicos.

A utilização deste fármaco está dependente da expressão de genes de receptores HER2 ("*Human Epidermal growth factor Receptor-type 2*"), ou seja, receptores tipo 2 do factor de crescimento epidérmico humano. A proteína HER2 é um produto de um proto-oncogene específico, um gene com potencial para causar o aparecimento de cancro. A sobre-expressão deste gene irá determinar a utilização deste fármaco, uma vez que o trastuzumab é um anticorpo monoclonal que bloqueia o receptor em causa. A utilização deste fármaco tem tido grandes resultados terapêuticos quando associado à quimioterapia convencional (Plosker, *et al.*, 2006).

O objectivo é, antes de iniciar a terapêutica com este fármaco, predeterminar a expressão dos receptores HER2, pois sabe-se que este só será eficaz em tumores que

sobre-expressam este receptor. Esta predeterminação permite uma optimização da terapêutica com um uso racional do fármaco (Evans, *et al.*, 2003).

Ambos os testes (*Oncotype*® e o HER2) partilham o objectivo de focar o tratamento nas situações em que é mais efectivo, evitando o uso dos fármacos em causa quando não são efectivos.

Recentemente foi desenvolvido outro teste para o cancro da mama, que auxilia os clínicos a fazerem uma reavaliação adequada de doentes que já tiveram cancro e que poderão vir a desenvolvê-lo novamente. Este teste genético da empresa holandesa *Agendia*, chamado *MammaPrint*®, cujo kit é comercializado e reconhecido pela FDA desde 2007, avalia o grau de agressividade do cancro da mama. O teste permite avaliar como o cancro irá responder aos tratamentos prescritos para evitar a recorrência das células cancerosas.

O teste foi elaborado a partir de um mapeamento genético de tumores de mama. No total, foram analisadas as características de tipos de cancro de 15 mil doentes europeias e americanas, em vários estádios da doença. Os investigadores identificaram os 70 genes relacionados com o cancro de mama mais frequentes e criaram então, uma base de dados com informações sobre o comportamento desses genes na evolução dos tumores (Agendia, 2008).

A pertinência deste teste reside no facto de, após a remoção cirúrgica dos tumores, muitas das mulheres serem sujeitas a quimioterapia para reduzir as hipóteses de reincidência do cancro. No entanto, estudos mostraram que a maioria delas não teria reincidência mesmo sem a quimioterapia. O novo teste poderá ajudar os médicos e doentes a decidir se algumas mulheres poderão evitar a quimioterapia e os seus efeitos colaterais depois da remoção dos tumores. Está indicado nas doentes com idade igual ou inferior a 61 anos, no estadio I ou II da doença, com massa tumoral igual ou inferior a 5 cm, sem nódulos linfáticos activos e sem nenhuma limitação no tratamento (Agendia, 2008).

1.3.2.2. Leucemia linfoblástica aguda

As tiopurinas são fármacos usados no tratamento da leucemia linfoblástica aguda, sendo metabolizadas pela tiopurina-metiltransferase (TPMT), cuja actividade determina a eficácia e a toxicidade destes fármacos (Shin, *et al.*, 2009).

Doentes com uma deficiência hereditária na TPMT correm o risco de toxicidade hematopoiética grave quando expostos a doses padrão de tiopurinas.

Foi desenvolvido num hospital pediátrico dos Estados Unidos da América, no St. Jude Children's Research Hospital, um teste genético capaz de predeterminar os níveis de actividade da TPMT com base na variação alélica deste gene. A concordância entre o genótipo e o fenótipo nesta situação é de 100% - o que dá garantias de sucesso na utilização do teste (Evans, 2004).

O ajuste de doses é feito de acordo com o resultado do teste genético, podendo as doses ser diminuídas em 10 a 15 vezes em relação à dose padrão, permitindo assim que a tiopurina se torne tolerável e efectiva em indivíduos deficientes nesta enzima (McLeod, *et al.*, 2002).

1.3.2.3. Leucemia Mielóide Crónica

O imatinib é usado no tratamento da leucemia mielóide crónica. Este tipo de cancro corresponde a 15 a 20% dos casos de leucemia e em quase todos os doentes se encontra uma anomalia cromossómica conhecida como “cromossoma de *Philadelfia*”. Este defeito cromossómico é uma translocação cromossómica recíproca que envolve os braços longos dos cromossomas 9 e 22, caracterizada pelo cromossoma 22 ser mais curto do que o normal. Esta alteração dá origem a uma proteína mutante e hiper-reactiva responsável pela proliferação celular excessiva característica do cancro, a BCR-ABL (Husain, *et al.*, 2007).

Na leucemia mielóide crónica as células afectadas vão alterar a produção das células estaminais hematopoiéticas e os glóbulos brancos que elas produzem. O imatinib actua bloqueando e inibindo a actividade desta proteína mutante (BCR-ABL), assim como os seus efeitos negativos. É um inibidor altamente específico desta enzima e tem tido um sucesso clínico considerável em doentes que são tratados na fase inicial da doença, podendo mesmo conseguir-se uma eventual remissão completa (Thorn, *et al.*, 2007).

Devido ao facto de existir este defeito cromossómico identificado como causa da doença, a leucemia mielóide crónica pode ser diagnosticada mesmo antes dos sintomas aparecerem, nomeadamente através de um teste genético que identifica o já referido “cromossoma de *Philadelfia*”. Esta detecção precoce da doença é importante porque

nos estadios avançados da leucemia os doentes muitas vezes desenvolvem resistência ao imatinib tornando-se incuráveis (Ingelman-Sunberg, 2008).

Esta terapêutica relaciona-se com a farmacogenómica porque em doentes que estão medicados com imatinib podem ao fim de algum tempo registar uma diminuição da resposta à terapêutica. Esta situação acontece, regra geral, em doentes com instabilidade genética e mais susceptíveis ao aparecimento de mutações genéticas. Discute-se ainda a hipótese destas mutações serem originadas pela própria terapêutica (Shin, *et al.*, 2009). Quando se verifica a diminuição da resposta ao tratamento sugere-se a pesquisa de mutações para se fazer um ajuste de doses. Esta estratégia é mais favorável e mais precisa do que ajustar a dose empiricamente. Havendo uma relação directa entre o aparecimento das mutações e a diminuição da resposta terapêutica poder-se-á considerar benéfica a identificação imediata das mutações para haver um ajuste da dose, ou eventualmente uma alteração do fármaco.

1.3.2.4. Cancro do pulmão

O cancro do pulmão é actualmente a primeira causa de morte com origem oncológica nos países desenvolvidos, dos quais aproximadamente 85% deste tipo de cancro têm um diagnóstico histológico de não pequenas células (Danesi, *et al.*, 2009). Para estes doentes a cirurgia é considerada a melhor opção. No entanto, o estado avançado em que a doença muitas vezes é diagnosticada permite uma taxa de sucesso de apenas 20 a 25%. Além disso, a esperança média de vida destes doentes é muito curta por ser de ser um tipo de cancro que metastiza com facilidade para órgãos vitais como o cérebro, fígado e medula óssea. A estratégia terapêutica adoptada depende muito do estadio da doença e dos órgãos afectados. Para muitos destes doentes a quimioterapia funciona apenas como tratamento paliativo (Dick, 2009).

Muitos doentes com cancro do pulmão das células pequenas não respondem por exemplo ao gefitinib, inibidor da tirosina cinase, cujo alvo é o receptor do factor de crescimento epidermal (EGFR). Além disso, muitas mutações têm sido descobertas no gene que codifica o EGFR e que têm directa relação com a resposta terapêutica alterada nos doentes com esta doença. Estas mutações levam ao aumento da sinalização do factor de crescimento e conferem susceptibilidade ao inibidor. Estes resultados sugerem

que as mutações no EGFR podem prever a sensibilidade ao gefitinib nos doentes com cancro do pulmão (Thorn, *et al.*, 2007).

O cancro do pulmão tem por estas razões proporcionado uma extensa área de investigação no campo das alterações genéticas, que poderão ser características do cancro de pulmão de não pequenas células, tendo permitido a descoberta de marcadores moleculares preditivos de sensibilidade a regimes de quimioterapia, o que tem contribuído para um ligeiro aumento da sobrevida destes doentes. Além das evidências referidas, que sugerem que as respostas observadas em doentes após os tratamentos com os inibidores do EGFR estão associadas com mutações no receptor da tirosina cinase, os níveis de expressão de marcadores genéticos como o ERCC1 (*Excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1*), RRM1 (*Ribonucleotide reductase M1 polypeptide*) e BRCA1 (*Breast Cancer 1*, pertencente à classe de genes supressores do tumor) podem ser também determinantes na resposta com outras terapêuticas como a cisplatina/gemcitabine (Danesi, *et al.*, 2009). Há por isso uma procura incessante neste campo clínico de forma a conseguir identificar biomarcadores genéticos (neste caso) que contribuam para a construção de um modelo de orientação terapêutica e monitorização desta doença. É de referir que a investigação relacionada com este tipo de cancro do pulmão não tem tido até à data a evolução pretendida sobretudo no que diz respeito ao aumento da sobrevida dos doentes (Danesi, *et al.*, 2009).

1.3.2.5. Cancro colorectal

Apesar de muitos avanços no tratamento do cancro colorectal este continua ainda a ser uma das principais causas de morte relacionadas com cancro em muitas partes do mundo (Pohl, *et al.*, 2009).

Em Portugal, e segundo os dados do Registo Oncológico Regional Sul (ROR-Sul), o cancro colorectal é o segundo tumor mais frequente e representa cerca de 10% do total de tumores que ocorrem no homem ou na mulher. Mais precisamente, é o terceiro mais frequente nos homens e o segundo mais frequente nas mulheres, especialmente em Lisboa e Setúbal, os dois distritos que registam as mais elevadas taxas de prevalência.

Num estudo realizado pelo ROR-Sul recentemente, o tumor maligno do recto foi o sexto mais frequente em ambos os sexos, na Região Sul, representando cerca de 6% e

4,5% do total de casos diagnosticados nos sexos masculino e feminino respectivamente, 2/3 dos casos ocorrem depois dos 60 anos de idade. Comparando com as taxas de incidência de outros países europeus, a população abrangida pelo ROR-Sul tem um risco elevado de desenvolvimento deste tumor sendo por isso um assunto relevante na população portuguesa (<http://www.ror-sul.org.pt>).

O cancro do cólon e recto desenvolve-se a partir das células epiteliais da mucosa destes órgãos, frequentemente a partir de lesões precursoras ou pré-malignas, como os pólipos. Foram identificados factores que aumentam o risco de desenvolver a doença como o sedentarismo e uma dieta pobre em fibra e rica em gorduras, assim como a presença de história familiar ou pessoal de pólipos ou de tumores no intestino, a doença de Crohn ou colite ulcerosa.

O tratamento e o prognóstico destes tumores estão relacionados com o estadió da doença quando diagnosticada (doença local, doença loco-regional ou com a presença de metástases à distância), sendo a cirurgia o tratamento de eleição (nos estadios mais precoces), com quimioterapia adjuvante nos tumores do cólon, sempre que existam gânglios positivos, ou nalguns subgrupos de doentes de alto risco. Nos tumores do recto localmente avançados a quimioradioterapia assume uma grande pertinência (Compton, *et al.*, 2004).

A prevenção deste tipo de cancro é crucial. Sabendo-se que o risco de desenvolver pólipos e tumores do intestino aumenta com a idade, é aconselhável realizar um exame de rastreio (fibrosigmoidoscopia e pesquisa de sangue oculto nas fezes ou colonoscopia) a partir dos 50 anos de idade, nos indivíduos assintomáticos (<http://www.ror-sul.org.pt>).

Depois de mais de 50 anos de quimioterapia o tratamento do cancro colorectal tem sido um permanente desafio pela sua complexidade na identificação de factores moleculares de prognóstico. Apesar de terem sido identificados alguns marcadores moleculares são ainda pouco utilizados na prática clínica (Pohl, *et al.*, 2009). Esta situação acontece porque com o aumento do conhecimento na área da biologia molecular que inclui as vias moleculares envolvidas na apoptose, os mecanismos de reparação do DNA, a replicação e carcinogénese, tem ficado mais claro que o mecanismo de crescimento do tumor é controlado por muitas e complexas interações destas vias moleculares e não apenas por um simples biomarcador (Dai, *et al.*, 2008).

Marcadores genéticos como o K-ras (um oncogene que codifica um proteína, a KRAS que activa e recruta proteínas necessárias para a propagação do factor de crescimento e

de outros sinais de transdução), e o TS (timidilato-sintase, que catalisa a conversão do desoxi-uridilato a desoxi-timidilato, sendo essencial para a síntese do DNA) são bastante bem aceites mas continuam a não ser usados rotineiramente na prática clínica porque há necessidade de mais evidência científica dos benefícios da sua utilização. (Pohl, *et al.*, 2009).

A TS, por exemplo, é a proteína-alvo do 5-fluoruracilo e há alguns estudos que confirmam que a detecção de baixos níveis de expressão intra-tumoral de TS é um forte marcador de prognóstico à resposta com esta terapêutica (Pohl, *et al.*, 2008).

Ainda assim, a pesquisa de biomarcadores e das vias moleculares implicadas nesta doença continua a ser um desafio para a utilização dos fármacos mais usados na quimioterapia do cancro colorectal, como o 5-fluouracilo, a oxaliplatina, o irinotecano, o cetuximab, panitumumab e o bevacizumab, de forma a ser identificadas formas de potenciar os efeitos terapêuticos da medicação, diminuir os efeitos adversos e aumentar a segurança na utilização dos mesmos.

1.3.3. Testes farmacogenómicos nas Doenças Infecciosas

Na área das doenças infecciosas, a farmacogenómica tem igualmente utilização através de testes que permitem o estudo de agentes infecciosos, como o vírus da hepatite C e o papiloma vírus. No entanto, estes testes não são usados para avaliar características genéticas humanas, mas sim para detectar estirpes virais que são resistentes a um fármaco em particular, estratificando os doentes por grupos de acordo com a resposta terapêutica.

A genotipagem do vírus da Hepatite C pode ter utilidade para determinar a duração do tratamento, enquanto outros testes como - o *Digene's Hybrid Capture II* - tipificam o papiloma vírus de modo a estratificar as infecções em baixo e alto risco para desenvolver cancro do colo do útero (Evans, *et al.*, 2003).

Nos doentes com patologias reumáticas, candidatos à terapêutica com tiopurinas (fármacos também utilizados nestas situações) é medido o nível de actividade da enzima TMPT (Evans, 2004). O *pro-predictRx TMPT genetics*® ajuda a determinar os doentes que poderão beneficiar da terapêutica com *Imuran*® (azatioprina, um imunodepressor) e a respectiva dose, uma vez que uma deficiência na produção da enzima TMPT poderá causar uma toxicidade potencialmente fatal.

1.3.3.1. A Farmacogenómica e o Vírus da Imunodeficiência Humana

A infecção por Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) é uma infecção grave para a qual estão disponíveis vários fármacos com importância no controlo da doença. No entanto, o tratamento é limitado pelos graves efeitos adversos e pela resistência provocada por concentrações de fármaco sub-óptimas numa grande parte dos doentes.

A terapêutica antiretroviral é candidata ao uso da farmacogenómica porque o nível de conhecimento da farmacocinética e da farmacodinâmica destes fármacos está a aumentar e foram já identificados alguns genes implicados no metabolismo, transporte e efeitos adversos (Mallal, *et al.*, 2008).

A identificação dos diferentes alelos destes genes pode auxiliar na selecção da terapêutica e no ajuste da dose, resultando em tratamentos mais personalizados nestes doentes.

O objectivo dos testes farmacogenómicos nas doenças infecciosas inclui a identificação de factores genéticos envolvidos na disponibilidade do fármaco no organismo nas situações de ausência de resposta à terapêutica ou no caso em que ocorrem efeitos adversos.

A questão da hipersensibilidade ao abacavir é um dos exemplos em que a farmacogenómica parece ser uma mais-valia efectiva.

O abacavir é um importante anti-retroviral (inibidor da guanosina transcriptase reversa) usado no tratamento da infecção com VIH, tendo sido já utilizado num número considerável de doentes. No entanto, na população caucasiana, 5 a 8% dos doentes que fazem esta terapêutica poderão ter uma reacção de hipersensibilidade caracterizada por febre, *rash* cutâneo, diarreias, náuseas, sintomas respiratórios, entre outros. Nestes casos, a administração do fármaco deve ser suspensa de imediato e não poderá ser recomeçada porque estes efeitos são potencialmente fatais (Ma, *et al.*, 2007).

Em 2002 foi realizada uma importante descoberta ao relacionar-se o gene HLA-B*5701 com as reacções de hipersensibilidade ao abacavir. A identificação do polimorfismo do gene HLA-B*5701 foi o resultado de estudos de microtoxicidade e de análises sequenciais dos genes HLA-A, HLA-B e HLA-C. Esta descoberta incentivou realização de genotipagem dos doentes antes destes serem submetidos à terapêutica, com o objectivo de reduzir o número de reacções de hipersensibilidade associadas ao abacavir. Os estudos apontam para o facto dos doentes que não apresentam o referido

polimorfismo não apresentarem sinais de reacções de hipersensibilidade quando submetidos à terapêutica com este fármaco. A frequência deste alelo varia entre as várias populações. E na população asiática, por exemplo, é muito baixa, o que leva à fraca utilização deste teste nesta população (Mallal, *et al.*, 2008).

Vários estudos foram realizados posteriormente para aprofundar melhor a base genética e molecular e o papel específico do polimorfismo HLA-B*5701 nas reacções de hipersensibilidade ao abacavir, concluindo-se pela elevada selectividade deste polimorfismo como biomarcador farmacogenómico (Ma, *et al.*, 2007; Mallal, *et al.*, 2008).

Será importante referir o primeiro grande estudo feito na área do VIH – o *Predict-1*. É um estudo randomizado, prospectivo, duplamente cego, desenhado para avaliar a utilidade clínica da identificação do polimorfismo HLA-B*5701 na terapêutica com abacavir. Este *screening* tem como objectivo reduzir as reacções de hipersensibilidade e o aumento da segurança da utilização do medicamento.

O estudo envolveu 1956 doentes infectados com VIH-1, que nunca tinham feito terapêutica com o abacavir, de 19 países diferentes, entre Abril e Setembro de 2006, tendo sido publicado em Fevereiro de 2008 no *New England Journal of Medicine* (Mallal, *et al.*, 2008).

Foram criados 2 grupos de doentes: um grupo com 847 doentes que receberam a terapêutica sem a identificação prévia do polimorfismo; e o outro grupo com 803 doentes que receberam o fármaco só depois do teste genético confirmar que não tinham o alelo em causa (foram excluídos 55 doentes por serem portadores do polimorfismo).

Neste segundo grupo não foi registada nenhuma reacção de hipersensibilidade confirmada imunologicamente. Todas as reacções de hipersensibilidade foram registadas em indivíduos portadores do alelo.

Aproximadamente 50% dos indivíduos portadores do alelo HLA-B*5701 do grupo controlo que receberam abacavir tiveram reacções de hipersensibilidade imunologicamente confirmadas. A ausência relativamente elevada de hipersensibilidade em portadores do alelo pode ser explicada pela redução da capacidade de formação do peptídeo activo conjugado, ou por mecanismos imunológicos de tolerância que continuam por ser explicados.

Os resultados do estudo mostram que o *screening* prévio do polimorfismo HLA-B*5701 poderá reduzir a incidência das reacções de hipersensibilidade ao abacavir, isto porque, a incidência das reacções imunologicamente confirmadas e clinicamente diagnosticadas a este fármaco é significativamente menor no grupo em que foi realizado o *screening* prospectivo do que no grupo de controlo (não houve casos de reacções de hipersensibilidade clinicamente diagnosticadas e imunologicamente confirmadas no grupo de *screening* prospectivo).

Uma vez que os doentes HLA-B*5701 positivos foram excluídos logo à partida deste grupo, e não houve reacções de hipersensibilidade confirmadas nos indivíduos que continuaram o estudo, a relação entre a presença do polimorfismo e as reacções de hipersensibilidade parece evidente.

Os doentes excluídos prospectivamente, por serem HLA-B*5701 positivos, já não receberam o abacavir, diminuindo significativamente a probabilidade de desenvolver hipersensibilidade.

Pelo que o estudo demonstra, os portadores de HLA-B*5701 demarcam um grupo de doentes considerado de elevado risco (pela hipersensibilidade ao abacavir), que conta com aproximadamente 6% da população.

O *Predict-1* ganha importância ao nível da farmacogenómica porque procurou evidenciar a utilidade em usar o alelo HLA-B*5701 como um biomarcador de rotina na prática clínica aquando da prescrição de abacavir. A identificação deste polimorfismo parece reduzir significativamente a incidência de reacções de hipersensibilidade ao abacavir. Este teste farmacogenético é extremamente sensível e específico permitindo aos clínicos minimizar a probabilidade de surgir um efeito tóxico grave e específico de um determinado fármaco, contribuindo para uma terapêutica individualizada mais efectiva.

1.3.4. Farmacogenética nos doentes anticoagulados

A varfarina é um dos fármacos mais prescritos como anticoagulante oral. O seu uso é generalizado quer na prevenção, quer no tratamento de situações tromboembólicas, venosas e arteriais, nomeadamente no enfarte do miocárdio, no acidente vascular cerebral, na tromboembolia pulmonar, entre outras (Carlquist, *et al.*, 2006).

É um fármaco com uma margem terapêutica muito estreita e muito difícil de ajustar, uma vez que a resposta individual é muito variável e extremamente condicionada por factores como a alimentação, a idade, o sexo, o estilo de vida, entre outros. Esta dificuldade no ajuste de dose tem riscos de hemorragia ou de trombose, consoante o caso (D'Andrea G., 2005; Flockhart, *et al.*, 2008; Garcia D., 2009).

A variabilidade inter-individual citada anteriormente, além de ser afectada pelos factores referidos, é também afectada pelas variantes no gene CYP2C9 (CYP2C9*2 e CYP2C9*3) e pela variante no promotor do gene do receptor da Vitamina K, o VKORC1 (Tomalik-Scharte, *et al.*, 2008).

O gene CYP2C9 codifica uma enzima envolvida no metabolismo e inactivação da varfarina-S (forma activa da varfarina no organismo), cuja diminuição da função leva a um aumento da forma activa do fármaco em circulação o que provoca um aumento da sensibilidade à varfarina e a um subsequente aumento do risco de hemorragia (Gulseth MP, 2009).

Por outro lado, o gene VKORC1 codifica a enzima Vitamina K epóxido redutase, onde actua a varfarina (ao nível da cascata de coagulação). A maioria das variantes deste gene diminui a produção de enzima e dos factores da coagulação dependentes da vitamina K, levando também a um aumento da sensibilidade à varfarina. Ainda assim, é importante referenciar que foi desenvolvido um teste genético que identifica estas variantes genéticas, que afectam o metabolismo e/ou a eficácia da terapêutica com varfarina. Neste trabalho será discutida a utilidade/effectividade deste teste no ajuste da dose da varfarina.

É de referir que este teste avalia o padrão de resposta do doente à varfarina mas não substitui o controlo laboratorial periódico do Tempo de Protrombina (TP) e do *International Normalized Ratio* (INR), uma vez que a varfarina é um fármaco com margem terapêutica estreita e com frequentes e importantes interacções (que irão ser também referidas neste trabalho) (Carlquist, *et al.*, 2006).

1.3.5. Novos testes em desenvolvimento

São vários os testes farmacogenómicos que estão actualmente em desenvolvimento tendo como objectivo de proporcionar melhores escolhas terapêuticas e mais efectivas em várias áreas clínicas. De seguida são referidos alguns exemplos.

O *Ovanome*®, da *DNAPrint Genomics*, é um teste genómico que detecta alelos SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) que são predictivos da não resposta a uma combinação quimioterapêutica usada frequentemente em doentes com cancro do ovário (Taxol (paclitaxel)+Carboxiplatina) (Martin, *et al.*, 2006).

A resposta à terapêutica com estatinas é também alvo do desenvolvimento de, pelo menos, dois testes farmacogenómicos. Estes testes pretendem classificar os doentes, mediante a resposta à terapêutica com estatinas, como doentes que respondem bem e doentes que respondem de forma adversa. Pretende-se avaliar as correlações entre as variações genéticas e a resposta ao tratamento do colesterol elevado com este grupo terapêutico (Chasman, *et al.*, 2004).

Na área da psiquiatria, um outro estudo está a ser desenvolvido sobre as variações genéticas e a resposta à clozapina, em doentes com esquizofrenia, procurando-se identificar os indivíduos que têm maior susceptibilidade de desenvolver agranulocitose - um dos efeitos secundários mais graves provocados pela utilização deste fármaco (Martin, *et al.*, 2006).

Os doentes com hipertensão arterial são também um grupo que poderá vir a usufruir das potencialidades da farmacogenómica através da pré-prescrição de um teste que poderá permitir prever qual a terapêutica anti-hipertensiva que poderá ser mais efectiva (Inibidores da Enzima de Conversão da Angiotensina, bloqueadores dos canais de cálcio, bloqueadores adrenérgicos de tipo β , diuréticos, entre outros). São vários os estudos que estão a ser desenvolvidos nesta área (Grant, *et al.*, 2007).

1.4. Farmacogenómica e Farmacogenética – os genes que marcam a diferença?

Com tudo o que foi referido ao longo desta introdução poder-se-á dizer que a gravidade clínica da doença e a frequência dos possíveis efeitos adversos dos fármacos, justificam o importante papel que a farmacogenómica poderá vir a ter prática clínica.

Nos casos em que os efeitos adversos e as suas consequências são mais dispendiosos do que a utilização de testes de farmacogenómica, como no caso dos fármacos de janela

terapêutica muito estreita (os que foram referidos anteriormente, por exemplo), esta nova área de intervenção poderá ganhar maior pertinência e utilidade. Assim sendo, a maior parte da investigação relacionada com testes farmacogenómicos está direccionada para estas áreas clínicas – sobretudo oncologia e infecciologia.

Descobrir uma alteração genética relevante, responsável por uma modificação na resposta terapêutica e desenvolver um teste que possa permitir a identificação desta situação, é um processo que consome tempo e recursos.

Em muitos casos, as reacções adversas medicamentosas e as respostas raras a uma terapêutica surgem num número muito reduzido de doentes e isso torna mais complexo estabelecer uma relação comprovada entre um marcador genético e a resposta terapêutica. Além disso, em alguns tipos de cancro não é possível recolher com facilidade uma amostra do tumor para se poder estabelecer a respectiva correspondência entre a alteração genética e a resposta à terapêutica.

Assim, os estudos destes testes são uma aposta restrita e pontual que possivelmente só estarão ao alcance de algumas empresas farmacêuticas e de algumas situações clínicas particulares em que se demonstre benefício evidente.

Os testes mais bem sucedidos e com possibilidades de serem incorporados na prática clínica deverão preferencialmente ser credíveis, fáceis de executar, relativamente baratos e fáceis de interpretar (Evans, *et al.*, 2003).

A farmacogenómica poderá assim oferecer o potencial de tornar a medicina mais efectiva, contribuindo para o aumento dos resultados terapêuticos e para a redução dos efeitos adversos, podendo trazer muitos ganhos para o sistema de saúde por diminuir, nomeadamente:

- o número de reacções adversas,
- o número de ensaios clínicos com insucesso,
- o tempo que leva um fármaco a ser aprovado,
- o tempo de duração das terapêuticas,
- o tempo de descoberta da terapêutica ideal para um doente,
- o efeito de uma doença no organismo.

Compreender a realidade clínica da utilização desta recente área científica, que relaciona o genoma com a resposta à terapêutica, foi o mote que deu origem a este trabalho.

2. Objectivos

O presente estudo tem como objectivos:

1. Avaliar a utilização da Farmacogenómica na prática clínica hospitalar em Portugal Continental,
2. Identificar as competências necessárias a desenvolver para aplicação de técnicas de Farmacogenómica - Médico/Farmacêutico,
3. Analisar quais as futuras áreas potenciais de aplicação da Farmacogenómica na prática clínica.

3. Material e Métodos

É importante referir que, os três objectivos da investigação irão ser desenvolvidos de forma distinta. Ou seja, o primeiro objectivo irá ser estudado de forma isolada, e o segundo e o terceiro objectivos irão ser desenvolvidos de forma conjunta.

O estudo divide-se por isso em dois sub-estudos:

- . **sub-estudo 1** (pretende desenvolver o objectivo 1) – é um estudo transversal descritivo;
- . **sub-estudo 2** (pretende desenvolver os objectivos 2 e 3) – com recurso a uma técnica de consenso: Painel Delphi.

1.1. Métodos

1.1.1. Sub-estudo 1 – estudo transversal descritivo

Este tipo de estudo é um estudo observacional ou seja, um estudo em que o investigador se limita a observar sem interferir. É realizado num determinado momento, por isso é denominado transversal, e pretende estudar a população em causa, nomeadamente ao nível da distribuição de um determinado evento em termos quantitativos (Pereira, 2003).

1.1.2. Sub-estudo 2 – técnica de consenso: Painel Delphi

Para dar resposta aos objectivos 2 e 3, o método escolhido foi o Painel Delphi. Este método é uma técnica de consenso utilizada em áreas de incerteza clínica e de política

de saúde, em que se verifica ausência de evidências definitivas sobre a efectividade e propósito na intervenção ao nível dos cuidados de saúde.

A metodologia consiste em reunir um painel de peritos com relevância científica na área para se encontrarem consensos, segundo regras definidas previamente, que são características deste método, e que são asseguradas pelo monitor do painel (Linstone, *et al.*, 2002).

O método de Delphi, cujo nome se inspira no antigo oráculo de Delphos, parece ter tido a sua origem no início dos anos 50, num centro de investigação de seu nome RAND Corporation (com sede na Califórnia que realiza pesquisas que contribuem para a tomada de decisões e para a implementação de políticas nos sectores público e privado), tendo sido utilizado como instrumento para realizar previsões sobre um caso de catástrofe nuclear. Desde então tem sido utilizado frequentemente em situações de previsão sobre matérias de incerteza no presente (Astigarraga, 2007).

O Painel Delphi poderá ser descrito em vários passos para se compreender melhor a sua dinâmica:

1. O primeiro passo é assegurado directamente pelo monitor do Painel (neste caso o investigador do estudo) e consiste na elaboração do questionário que irá servir de base à obtenção do consenso. Ou seja, é fundamental que o questionário reflecta os objectivos do estudo sobre os quais se pretende obter consenso. É construído com base em perguntas fechadas, para que o perito possa escolher aquela com que mais concorda. As perguntas deverão também ser precisas, objectivas, quantificáveis e independentes (Pyke, 1970). A definição de consenso (ou seja, o grau de consenso) é também estipulada nesta fase, assim como o número de rondas que irão ser efectuadas.
2. Mediante o objectivo do estudo é escolhido um painel de peritos. Consideram-se peritos as individualidades que se destacam na área em estudo, quer pela sua reputação e reconhecimento no meio, quer pelos trabalhos publicados e estudos realizados e pela sua independência (Wenger, *et al.*, 1971). Os critérios de inclusão devem ser bem explícitos e justificados para todos os peritos identificados. É aconselhável que o número de peritos não exceda os 25 ou 30 (Landeta, 1999).

3. Nesta terceira fase, em que o questionário já foi elaborado e o painel de peritos já foi escolhido e convidado a participar, dá-se início ao Painel propriamente dito. O monitor envia o questionário para todos os peritos (por *email* ou correio) devendo estes responder às várias questões de acordo com o seu grau de concordância em cada uma delas. Nesta primeira ronda o perito poderá justificar em texto livre a sua escolha. O questionário respondido é depois remetido ao monitor do estudo. É importante salientar que os questionários estão codificados para poderem ser analisados anonimamente e para evitar o efeito dos “líderes” (Linstone, *et al.*, 2002).
4. O monitor do Painel analisa os resultados de forma a definir a concordância dos participantes em relação às várias questões. Para isso utilizam-se, regra geral, as medidas estatísticas de tendência central. Esta primeira ronda tende a definir o espaço interquartil das respostas (Astigarraga, 2007). É elaborado um resumo das respostas da primeira ronda, que pode incluir um sumário dos comentários feitos pelos peritos assim como dados numéricos (como a mediana e as frequências). A intenção de fornecer dados qualitativos é para tornar as respostas dadas mais racionais. Este resumo é enviado de novo para os peritos que ficam a conhecer as escolhas do grupo em relação às várias questões sendo também assinalada qual a sua resposta inicial.
5. Na segunda ronda pelos peritos, e nas rondas seguintes (caso se definam mais do que duas rondas), é perguntado aos peritos se pretendem alterar as suas respostas iniciais à luz de uma visão colectiva. Poderão mudar o sentido da sua resposta se assim o entenderem. Nesta fase o perito poderá no entanto justificar a sua escolha se esta estiver muito afastada da opinião do grupo (Astigarraga, 2007). Na repetição das rondas é elaborado sempre um resumo que resulta da análise dos questionários só com dados quantitativos, sendo cada etapa elaborada com base nos resultados da anterior. O objectivo das rondas sucessivas é diminuir o espaço interquartil, apurando o valor da mediana, uma vez que se tenta aproximar o valor da resposta do perito do valor da opinião do grupo. (Landeta, 1999)
6. O exercício termina depois de concluídas as rondas previamente definidas (normalmente duas ou três serão suficientes). Nesta fase final avaliam-se os graus de consenso obtidos para as várias questões. Ou seja, com base no critério de consenso definido inicialmente, analisam-se os resultados questão a questão e

verificam-se quais as que obtiveram consenso. Assim, algumas das questões poderão não obter consenso no final do exercício (Linstone, *et al.*, 2002).

7. Os resultados finais são divulgados a todos os peritos que participaram no Painel.

1.1.2.1. Aspectos a ter em conta na análise dos questionários:

A análise dos questionários tendo por base as medidas de tendência central e dispersão será a mais útil – média, mediana, moda, máximo, mínimo e desvio padrão – dado que permitem uma visão do conjunto dos resultados obtidos em cada uma das questões (Astigarraga, 2007). No entanto, o valor mais usado no resumo que é cedido aos peritos para a ronda seguinte é a média ou a mediana. Estas duas medidas, assim como a moda, indicam a tendência central da distribuição do conjunto das respostas dos peritos. O máximo e o mínimo indicam as respostas extremas. Os quartis ajudam também na identificação do grau de dispersão das respostas (Landeta, 1999).

Ao longo de todo este processo o monitor deverá ter uma postura isenta na avaliação das respostas e na elaboração dos resumos enviados aos peritos no final de cada ronda. Esta isenção é fundamental para que os resultados sejam credíveis e para que as respostas dos peritos não sejam influenciadas pelos comentários do monitor.

No entanto, é de referir que o método e os resultados do Painel Delphi se baseiam sempre na utilização sistemática de um juízo intuitivo emitido por um grupo de peritos (Astigarraga, 2007).

Neste sub-estudo em particular, dadas as especificidades, o Painel Delphi foi elaborado com base em 4 questões chave:

Q1. Que utilidade poderá ter/assumir a farmacogenómica na morbilidade evitável e na efectividade associadas a medicamentos?

Q2. Que formação académica/outra deve constar no curricula dos clínicos e farmacêuticos neste domínio?

Q3. Qual o enquadramento da farmacogenómica na assistência farmacêutica, nomeadamente ao nível da contribuição da farmácia de oficina?

Q4. Qual o tipo de regulamentação que deverá ter a utilização da farmacogenómica na prática clínica?

Sendo as quatro questões de âmbitos muito distintos optou-se por articular cada uma delas como um Painel Delphi independente, ou seja, criar quatro grupos distintos de peritos para as diferentes áreas. No quando I apresentam-se as características dos peritos que foram definidas para os diferentes painéis.

Tabela 1: Painéis Delphi estruturados

Painel Delphi 1	Painel Delphi 2	Painel Delphi 3	Painel Delphi 4
Docentes universitários	Médicos	Farmacêuticos da indústria	Entidades reguladoras
	Farmacêuticos Hospitalares	Farmacêuticos de oficina	Personalidades sociais

Definiram-se 3 rondas para a elaboração dos Painéis e o consenso foi considerado a partir de 66% de concordância.

1.2. População e Amostra

Para ambos os sub-estudos a amostra identificada foi uma amostra intencional. Este é um tipo de amostragem não probabilística, composta por elementos da população seleccionados intencionalmente pelo investigador, porque este considera que esses elementos possuem características típicas ou representativas da população em estudo.

Este tipo de amostragem é utilizado sobretudo em estudos qualitativos (que é o caso nomeadamente do sub-estudo 2).

No entanto, as amostras de conveniência têm a limitação de deixar segmentos inteiros da população sem possibilidade de serem recrutados para a amostra, não sendo possível determinar com exactidão quem e quantos foram os indivíduos excluídos do processo de amostragem, e por consequência também não é possível determinar o grau de enviesamento causado pela ausência desses elementos na amostra (Oliveira, 2009). Ainda assim, e para o caso específico do tema desenvolvido nesta dissertação, que não é comum na prática clínica hospitalar, foi necessário identificar uma amostra deste tipo em ambos os sub-estudos.

1.2.1. Sub-estudo 1

Para este estudo transversal descritivo a população alvo identificada foram os médicos especialistas em oncologia. Foi escolhida esta população porque a oncologia, como foi referido na introdução, é a área da medicina que até à data conseguiu reunir mais consenso na utilização da farmacogenómica no contexto do tratamento dos doentes. Para identificar a amostra desta população foram incluídos vários serviços do Instituto Português de Oncologia de Lisboa, Porto e Coimbra, assim como alguns Colégios da Especialidade da Ordem dos Médicos (OM). Os serviços e Colégios seleccionados tiveram em conta as áreas mais desenvolvidas na utilização da farmacogenómica referidas na literatura. As áreas de intervenção não coincidem exactamente entre as quatro instituições uma vez que, sendo uma amostra intencional, os serviços/Colégios foram escolhidos mediante as características locais, áreas de intervenção, áreas de investigação e desenvolvimento, e a estrutura organizativa das instituições.

Tabela 2: Amostra Sub-estudo 1

IPO Lisboa	- Hematologia - Pediatria	- Oncologia - Pneumologia
IPO Porto	- Hemato-oncologia - Pediatria	- Imuno-hemoterapia - Transplantes de medula óssea
IPO Coimbra	- Endocrinologia - Oncologia - Pneumologia	- Gastroenterologia - Patologia Molecular
Colégios da Ordem dos Médicos	Serviços a Indicar pelos colégios de: - Genética Médica - Imuno-hemoterapia - Oncologia Pediátrica	
		- Hematologia clínica - Oncologia Médica

1.2.2. Sub-estudo 2

Como foi referido anteriormente a amostra num Painel Delphi é uma amostra intencional constituída por peritos reconhecidos na área do estudo. Na tabela 3 estão

identificados os critérios de inclusão de cada grupo de peritos, assim como o nome ou a forma como se pretende que a identificação seja feita.

Regra geral, à excepção do Painel 1, em que os nomes dos peritos foram identificados à partida pela sua intervenção marcante na área em estudo, nos restantes painéis, a amostra é do tipo “*snowball*”. Neste tipo de amostra intencional o investigador escolhe um grupo inicial de indivíduos ou identifica uma instituição e solicita-lhe o nome de outros indivíduos pertencentes à mesma população. A amostra vai assim crescendo como uma bola de neve à medida que novos indivíduos são indicados ao investigador. É um tipo de amostragem bastante útil quando se pretende estudar pequenas populações com características muito específicas (Szklo, *et al.*, 2002), como é o caso neste sub-estudo. A solicitação que foi submetida às várias Entidades pretendia a indicação de dois a três peritos, de forma a perfazer no total dos quatro painéis os trinta elementos.

Painel 1 – Docentes Universitários

Neste painel, os peritos foram identificados tendo por base os critérios de inclusão definidos: serem docentes das faculdades públicas de Farmácia e de Medicina de Portugal, numa das seguintes áreas (em formação graduada ou pós-graduada): genética, biotecnologia, biologia molecular ou farmacogenética. A partir destes requisitos e tendo em conta a sua reputação e reconhecimento, foram identificados quatro peritos que estão referidos na tabela 3.

Painel 2 – Médicos e Farmacêuticos Hospitalares

Foi solicitada à Ordem dos Médicos (OM), nomeadamente ao Colégio de Genética, a indicação de dois peritos na área da Farmacogenómica. A mesma solicitação foi feita à Ordem dos Farmacêuticos, nomeadamente ao Colégio de Farmácia Hospitalar.

Painel 3 – Farmacêuticos da Indústria e Farmacêuticos de Oficina

Relativamente à identificação de Farmacêuticos da Indústria optou-se por identificar o top 10 das dez primeiras empresas multinacionais mais representativas deste sector. Este critério baseia-se no facto destas empresas assegurarem um investimento maior em medicamentos inovadores na área da SIDA, oncologia, imunomoduladores, anticorpos monoclonais, entre outros, que são grupos de medicamentos-alvo para a utilização da Farmacogenómica. Propus-me solicitar a estas empresas a sua participação no painel através dos respectivos Directores Técnicos ou responsáveis pela Farmacovigilância.

Em relação aos Farmacêuticos de Oficina, solicitou-se à Associação Nacional das Farmácias uma listagem com os Farmacêuticos que desenvolvem na sua farmácia Programas de Cuidados Farmacêuticos e com a licenciatura há menos de 20 anos. Os critérios referidos pretendem incluir Farmacêuticos sensibilizados para o seguimento de doentes na Farmácia e com uma formação base relativamente recente.

Painel 4 – Entidades Reguladoras e Personalidades Sociais

Neste painel pretendeu-se incluir as Entidades Reguladoras de Portugal devido ao facto de poderem existir lacunas na regulamentação relativas à aplicação da farmacogenómica, dado o seu carácter inovador, o que por vezes se transforma num desincentivo à sua utilização na prática clínica. Assim, as Entidades Reguladoras contactadas no sentido de indicarem cada uma dois peritos seriam o Infarmed (por ser a Entidade que regula a entrada de todos os medicamentos no mercado português) e os Centros de Farmacovigilância do Norte, Centro e Sul (que têm a responsabilidade de registar e reportar todos os casos de segurança relacionados com o uso de medicamentos).

Por outro lado, e uma vez que a utilização da Farmacogenómica implica sempre questões éticas, considerou-se importante a inclusão de personalidades no âmbito não só da saúde (medicina e farmácia), mas também da ética e das ciências sociais e políticas. Neste caso os nomes dos peritos foram identificados e estão referidos na tabela 3.

Tabela 3: Amostra sub-estudo 2

Painel	Crítérios de inclusão	Peritos
Painel 1 Docentes Universitários	. Faculdades públicas de Farmácia e Medicina de Portugal . Docente numa das áreas em formação graduada ou pós-graduada: genética, biotecnologia, biologia molecular, farmacogenética	Peritos a identificar
Painel 2 Médicos	Indicados pelo Colégio de Genética da Ordem dos Médicos (OM)	Solicitação à OM
Farmacêuticos Hospitalares	Indicados pelo Colégio de Farmácia Hospitalar da Ordem dos Farmacêuticos (OF)	Solicitação à OF

Painel	Crítérios de inclusão	Peritos
Painel 3 Farmacêuticos da Indústria	<p>Top 10 das empresas multinacionais – têm maior investimento em medicamentos inovadores na área da SIDA, oncologia, imunomoduladores, anticorpos monoclonais</p> <p>Dentro destas empresas, convidar os directores técnicos ou os responsáveis pela farmacovigilância</p>	<p>Primeiras 10 empresas multinacionais do mercado</p> <ul style="list-style-type: none"> . Merck . Pfizer . Sanofi-Aventis . Servier . Novartis . GlaxoSmithkline . Jonhson and Jonhson . Astra Zeneca . Bayer . Roche
Farmacêuticos de Oficina	<ol style="list-style-type: none"> 1. Farmacêuticos a desenvolver PCFs na sua farmácia 2. Obtenção de licenciatura à menos de 20 anos 	<p>Solicitação de dados à Associação Nacional das Farmácias</p>
Painel 4 Entidades Reguladoras	<ul style="list-style-type: none"> . Com responsabilidade na introdução de medicamentos no mercado a nível nacional . Com responsabilidade nos registos de farmacovigilância a nível nacional 	<p>Infarmed</p> <p>Centro de Farmacovigilância (Norte, Sul e Centro)</p>
Personalidades sociais	<p>Personalidades ligadas:</p> <ul style="list-style-type: none"> . à ética . ao direito . à antropologia . às ciências políticas . à medicina . à farmácia . à ciência 	<p>Personalidades a identificar</p>

3.3. Suportes de informação utilizados e processo de recolha de dados

Nos dois sub-estudos foram utilizados inquéritos para a recolha de informação. Para cada um dos casos foram construídos questionários próprios.

3.3.1. Sub-estudo 1

Para este sub-estudo foi elaborado um questionário (anexo I) que pretende avaliar a utilização da Farmacogenómica na prática clínica hospitalar (de forma a dar resposta ao objectivo 1).

Este questionário é constituído por três partes distintas:

1. Caracterização do Entrevistado,
2. Caracterização do Serviço,
3. Caracterização do uso da Farmacogenómica.

Foi elaborada uma pequena nota introdutória ao inquérito explicitando os objectivos da recolha de informação e do estudo em causa, assim como um breve resumo do que é a Farmacogenómica e quais as potencialidades da sua utilização. Sentiu-se necessidade de acrescentar esta última informação uma vez que se reconhece que a Farmacogenómica é uma área pouco desenvolvida e conhecida na prática clínica em Portugal.

Integrou-se ainda nesta introdução a informação de que o inquérito é anónimo em relação ao respondente mas não em relação ao Serviço e ao Hospital. No entanto, a informação seria tratada de forma conjunta e não individualizada. Para a recolha de informação tendo como base este inquérito, foram agendadas entrevistas com todos os serviços referidos, de forma a privilegiar a recolha de dados de forma presencial.

A recolha de informação foi realizada entre Outubro de 2007 e Janeiro de 2008.

3.3.1.1. Operacionalização das variáveis

Foram definidas as variáveis para este estudo assim como a sua operacionalização. Estes aspectos estão referidos na tabela seguinte.

Tabela 4: Operacionalização das variáveis - sub-estudo 1

	Questões	Tipo de variável	Nome da variável	Categorias
1. Caracterização do entrevistado	1. Sexo	Qualitativa nominal	P1	Feminino Masculino Vazio -Não resposta
	1. Idade	Quantitativa discreta	P2	1...99 numérica Vazio -Não resposta
	1. Especialidade	Qualitativa nominal	P3	PA (Alfanumérica) Vazio - Não resposta
	1. Ano de actividade	Quantitativa Contínua	P4	Ano (Data) Vazio -Não resposta
	1. cargo	Qualitativa nominal	P5	PA (Alfanumérica) Vazio - Não resposta
2. Caracterização do serviço	2a. Serviço	Qualitativa nominal	P6	PA (Alfanumérica) Vazio - Não resposta
	2b. Hospital	Qualitativa nominal	P7	PA (Alfanumérica) Vazio - Não resposta
	2c. tempo de existência do serviço	Quantitativa discreta	P81 P82	Ano Vazio -Não resposta Meses Vazio -Não resposta

	2d. Número de médicos especialistas	Quantitativa discreta	P9	numérica Vazio -Não resposta
	2e. Número de 1 ^{as} consultas	Quantitativa discreta	P10	numérica Vazio -Não resposta
	2f. Número total de doentes	Quantitativa discreta	P11	Numérica Vazio -Não resposta
3. Caracterização do uso de farmacogenómica	3a. Utilizam a genética	Qualitativa dicotómica	P12	Sim Não Vazio- Não resposta
	3b. Em que situações	Qualitativa nominal	P131 Escolha de protocolo	Assinalou Não assinalou
			P132 Ajuste das dosagens da terapêutica	Assinalou Não assinalou
			P133 Ajuste da duração da terapêutica	Assinalou Não assinalou
			P134 Para escolha de um fármaco	Assinalou Não assinalou
			P135 outra	PA (Alfanumérica) Vazio - Não resposta
	3c. Em que situações patológicas	Qualitativa nominal	P14	PA (Alfanumérica) Vazio - Não resposta
	3d. Esta metodologia é utilizada...	Qualitativa dicotómica	P15	Sim Não Vazio -Não resposta
	3d. Se não, em que situações	Qualitativa nominal	P151	PA (Alfanumérica) Vazio - Não resposta
	3e. Esta metodologia está formalizada	Qualitativa dicotómica	P16	Sim Não Vazio -Não resposta
	3f. A prescrição dos testes é feita...?	Qualitativa nominal	P17	Pelo médico De forma partilhada com o farmacêutico
P18			PA (Alfanumérica) Vazio - Não resposta	
3g. Onde é feito o processamento laboratorial	Qualitativa nominal	P19	PA (Alfanumérica) Vazio - Não resposta	
3h. Uma vez tendo o resultado, a ponderação	Qualitativa dicotómica	P20	Sim Não Vazio -Não resposta	
Observações	Qualitativa nominal	P21	PA (Alfanumérica) Vazio - Não resposta	

3.3.2. Sub-estudo 2

O inquérito foi elaborado com características muito particulares para ser aplicado aos quatro Painéis Delphi estruturados (anexo 2). A estrutura deste inquérito assentou em

quatro questões chave, já referidas anteriormente, e que incidem em quatro pontos essenciais que pretendem dar resposta aos objectivos 2 e 3. São eles, a Farmacogenómica no contexto: da Prática Clínica, da Formação, da Farmácia de Oficina e da Regulamentação.

As quatro questões foram estruturadas mediante o seguinte raciocínio:

Q1. Prática Clínica - *Que utilidade poderá ter/assumir a farmacogenómica na morbilidade evitável e na efectividade associadas a medicamentos?*

Pretendeu-se com esta questão perceber qual a avaliação existente da mais-valia da farmacogenómica na prática clínica na redução de problemas relacionados com a segurança e na potenciação da efectividade de um determinado fármaco.

Q2. Formação - *Que formação académica/outra deve constar no curricula dos clínicos e farmacêuticos neste domínio?*

Esta questão pretendeu identificar competências base no curricula dos clínicos para poderem integrar os novos conhecimentos da farmacogenómica na prática clínica.

Q3. Assistência Farmacêutica - *Qual o enquadramento da farmacogenómica na assistência farmacêutica, nomeadamente ao nível da contribuição da farmácia de oficina?*

O objectivo desta questão foi perceber qual a abordagem que a farmacogenómica poderia ter ao nível dos cuidados primários de saúde, nomeadamente ao nível da farmácia de oficina. Que tipo de intervenção poderia ter este espaço de cuidados de saúde na abordagem desta temática, dado o seu contributo pela identificação dos utentes, pela sua “monitorização” e pela identificação de efeitos relacionados com os medicamentos.

Q4. Regulamentação - *Qual o tipo de regulamentação que a utilização da farmacogenómica na prática clínica deverá ter?*

Com esta questão pretendeu-se avaliar qual o tipo de regulamentação que a intervenção farmacogenómica deveria ter, uma vez que, envolve o manuseamento de informação delicada, relacionada com as características do genoma de cada indivíduo. Definir as fronteiras do uso deste tipo de documentação, parece ser uma questão importante e que justifica ser discutida entre peritos da sociedade.

Em síntese, depois de identificadas as questões, os critérios de inclusão da amostra (referidos no ponto 3.2.2.), e a constituição dos Painéis, foi elaborado o seguinte esquema de resposta ao inquérito:

Tabela 5: Esquema de resposta ao inquérito

Painel Delphi 1	Painel Delphi 2	Painel Delphi 3	Painel Delphi 4
Docentes universitários	Médicos Farmacêuticos Hospitalares	Farmacêuticos da indústria Farmacêuticos de oficina	Entidades reguladoras Personalidades sociais
Respondem às questões Q1 Q2	Respondem às questões Q1 Q2	Respondem às questões Q1 Q3	Respondem às questões Q4

Painel Delphi 1 – Perspectiva académica

O Painel Delphi 1, constituído por Docentes Universitários peritos na área em estudo – Farmacogenómica - respondem às questões relacionadas com a Prática Clínica e com a Formação (Q1 e Q2). O painel com esta constituição visa responder a estas questões de acordo com a sua visão académica sobre o tema da formação base necessária para o domínio desta área na prática clínica.

Painel Delphi 2 – Perspectiva profissional na prática clínica

Este Painel constituído por Médicos indicados pelo Colégio de Genética da Ordem dos Médicos e por Farmacêuticos Hospitalares indicados pelo Colégio de Farmácia Hospitalar da Ordem dos Farmacêuticos, responde às mesmas questões do Painel 1 (Q1 e Q2), mas na perspectiva da prática clínica hospitalar.

Painel Delphi 3 – Perspectiva profissional no contexto da investigação e desenvolvimento na indústria farmacêutica e na farmácia de oficina

Por seu lado, os Farmacêuticos indicados pelas Empresas identificadas e os Farmacêuticos referidos pela Associação Nacional das Farmácias respondem às questões relacionadas com a prática clínica no que se refere à farmácia de oficina (Q1 e Q3), tendo em conta a visão destes profissionais no seguimento de doentes crónicos e na identificação de problemas relacionados com a segurança dos medicamentos.

Painel Delphi 4 – Perspectiva regulamentar

Os peritos que constituem o Painel quatro apenas respondem à questão quatro, relacionada com a Regulamentação. Interessa neste Painel identificar por consenso os itens relacionados com a utilização da farmacogenómica que interessa regulamentar de forma mais premente.

4. Resultados

4.1. Sub-estudo 1

4.1.1. Caracterização do Entrevistado e do Serviço

No sub-estudo 1 foi possível obter resposta aos inquéritos nos seguintes serviços: quatro Serviços do IPO de Lisboa, um Serviço do IPO do Coimbra e quatro Serviços do IPO do Porto. Na sua maioria, os respondentes foram Directores dos Serviços ou dos Departamentos. Este resultado corresponde a 50% dos serviços contactados.

Ainda que a amostra obtida não seja muito elevada os resultados encontrados foram os seguintes:

Tabela 6: Caracterização do Entrevistado e do Serviço

Hospital	Sexo	Idade	Especialidade	Anos de actividade	Cargo	Serviço	Existência do serviço (anos)	Nº de médicos especialistas/serviço	Nº Primeiras consultas/ano	Nº Total de Doentes ano
IPO Lisboa	M	56	Pneumologia	NR	D.S.	Pneumologia	4	6	6000	421 (internamento)
	M	59	NR	25	D.D.	Hematologia	8	8	150	300
	M	52	Oncologista	18	D.	Oncologia Médica	NR	15	1200	1200
	M	58	Pediatra Oncologista	27	C.S.	Pediatria	30	14	>500	>15000
IPO Coimbra	F	59	Endocrinologia	29	D.S.	Endocrinologia	10	3	592	7229 (consultas/ano)
IPO Porto	F	58	Pediatra Oncologista	24	D.	Oncologia Pediátrica	30	8	180-200	NR
	F	43	Imuno-Hemoterapia Hematologista	6	D.	Imuno-Hemoterapia Transplantação	12	5	NR	NR
	M	57	Clínico e Oncologista	23	D.S.	de Medula Óssea	18	5	200	500-700
	M	44	Hematologista	8	D.	Onco-Hematologia	25	8	367	7700

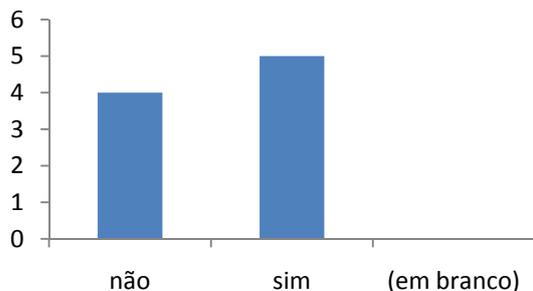
Legenda:

M – Masculino; F – Feminino; NR – Não respondeu; D.S. – Director de Serviço; D.D. – Director de Departamento; D. – Director; C.S. – Chefe de Serviço

4.1.2. Caracterização do uso da Farmacogenómica

Quando questionados sobre a utilização da genética nas decisões terapêuticas as respostas estão espelhadas no gráfico seguinte:

Gráfico 1: Utilização da genética nas decisões terapêuticas



Sim	Não
IPO Lisboa – Pediatria	IPO Lisboa - Pneumologia
IPO Coimbra - Endocrinologia	IPO Lisboa – Oncologia Médica
IPO Porto – Onco-Hematologia	IPO Lisboa - Hematologia
IPO Porto – Transplantação medula óssea	IPO Porto – Oncologia Pediátrica
IPO Porto – Imuno-Hemoterapia	

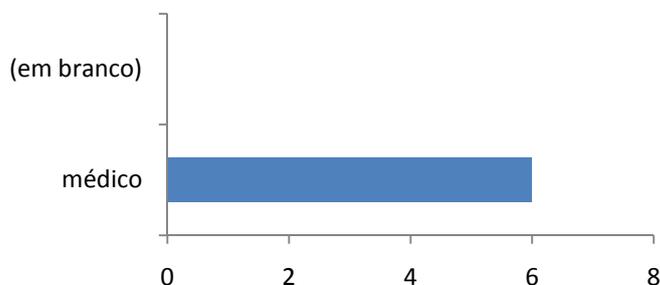
As situações em que é utilizada a genética nas decisões terapêuticas estão referidas na tabela seguinte:

Tabela 7: Utilização da genética nas decisões terapêuticas

Hospital	Serviço	Situações em que usam a genética	Situações patológicas	Utilizada com todos os doentes	Formalizada em protocolo
IPO Lisboa	Pediatria	Escolha de protocolo e diagnóstico de tumor	Leucemias, Linfomas, tumores sólidos	Sim	Sim – grupos... Multicêntricos
IPO Coimbra	Endocrinologia	Escolha de protocolo	Síndromes neoplásicas endócrinas múltiplas (feocromocitoma da supra-renal, tumor medular da tiróide)	Não – só nos familiares de doentes com síndromes neoplásicas endócrinas múltiplas	Sim- protocolos internos
	Onco-Hematologia	Escolha do protocolo	Leucemias agudas e Leucemias crónicas	Sim	Sim - literatura
IPO Porto	Transplantação medula óssea	Caracterização da doença e do seu estadio	Leucemias agudas linfoblásticas e não linfoblásticas, Leucemias mielóides crónicas, síndromes mielodisplásicos, mieloma múltiplo, linfomas não Hodgking	Sim	Sim – estado da arte
	Imuno-hemoterapia	Escolha de protocolo	Enxertos com FISH ou PCR positivo	Não – só em doentes com envolvimento medular pela doença basal	Sim – Acta Hematológica 2005, 114: 206-213

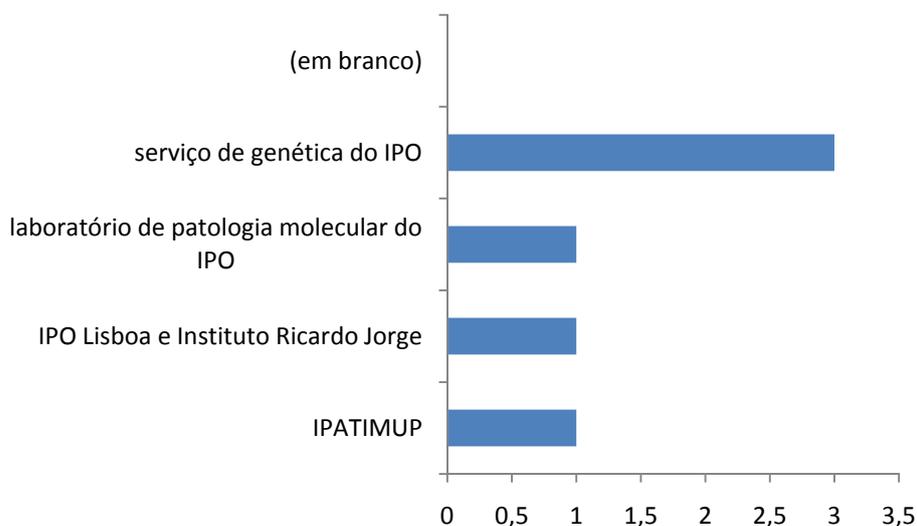
Em todas as situações que a genética é utilizada nas decisões terapêuticas, os testes são sempre prescritos pelos médicos especialistas dos respectivos serviços e em nenhum dos casos a ponderação da terapêutica é feita em articulação com o Farmacêutico.

Gráfico 2: Prescrição dos testes genéticos



Maioritariamente o processamento laboratorial dos testes de genética é feito nos serviços de genética dos respectivos IPOs.

Gráfico 3: Locais onde é feito o processamento laboratorial dos testes de genética



4.2. Sub-estudo 2

De todas as instituições indicadas anteriormente e contactadas por carta (anexo 3) para a indicação dos peritos, as poucas respostas recepcionadas foram-no maioritariamente via telefone (uma vez que foi feito um reforço telefónico para maior brevidade na resposta). Foram todas negativas, argumentando que não havia peritos na área de estudo

identificada. Estes contactos foram iniciados em Outubro de 2007 e foram repetidos exaustivamente até Fevereiro de 2008.

De referir que apenas a Associação Nacional das Farmácias (ANF) respondeu em tempo útil com a identificação dos Farmacêuticos de Oficina a contactar; e o Colégio de Genética da OM indicou um médico que poderia participar no estudo.

Com esta perspectiva menos positiva na identificação de supostos “peritos” foi necessário fazer um balanço da viabilidade deste trabalho.

Dado o facto de a receptividade aos vários convites encetados não ter sido bem sucedida, esta situação colocou em causa a realização do sub-estudo 2. Assim, em Fevereiro de 2008 esta componente do projecto foi cancelada.

É muito importante referir que desde o início deste trabalho até à fase de cancelamento foi um projecto que envolveu um exaustivo trabalho de pesquisa, recursos vários, inúmeras diligências, contactos múltiplos e permanentes, e um esforço acrescido devido ao empenhamento pessoal que foi dispensado durante mais de um ano, acreditando que seria possível viabilizá-lo.

5. Discussão

“...as Yule said (1924), facts must often, inevitably, be accepted as they occur”

A Bradford Hill, NEJM, 1953

Dos dados que foi possível recolher, nomeadamente relativamente ao sub-estudo 1, percebe-se que a utilização da farmacogenómica/farmacogenética nos Hospitais que estiveram receptivos a este estudo, ainda não era de todo uma rotina na prática clínica.

O conhecimento sobre a relação uso-benefício não era evidente para a maioria dos profissionais entrevistados.

Da análise apresentada dos inquéritos recolhidos e completando com as informações do campo das “observações”, pode constatar-se que maioritariamente a utilização da genética nas decisões terapêuticas, quando é feita, não é numa perspectiva farmacogenómica.

Os serviços de Pneumologia e de Hematologia do IPO de Lisboa referiram mesmo não usar a genética nas decisões terapêuticas, embora o primeiro serviço referido tenha realçado que perspectivavam dentro em breve a utilização de testes genéticos para a selecção de fármacos no cancro do pulmão.

Os restantes serviços utilizam a genética nas decisões terapêuticas ao nível da escolha do protocolo numa perspectiva de caracterização da doença ou do seu estadió.

Apenas no Serviço de Oncologia Médica do IPO de Lisboa e no Serviço de Oncologia Pediátrica do IPO do Porto, a farmacogenómica é usada de forma efectiva em situações muito particulares. No primeiro serviço é feita a detecção do receptor HER1 para a administração de terapêutica específica para certos casos de cancro da mama, e no segundo serviço, na altura em que a entrevista decorreu (em Dezembro de 2007), estava a terminar um estudo de investigação com o Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto (IPATIMUP), no âmbito do estudo farmacogenómico da tiopurina metiltransferase (TPMT) para o ajuste de doses da terapêutica quimioterápica, em doentes com leucemias agudas linfoblásticas e em doentes com linfomas linfoblásticos. Este serviço referiu ainda que foram já feitos vários estudos investigacionais na área da farmacogenómica, mas fora deste contexto os testes nunca foram disponibilizados aos doentes.

É interessante constatar que nos casos em que a genética é utilizada, o Farmacêutico em nenhum dos casos é considerado para avaliar a utilização dos resultados dos testes a favor da terapêutica.

É reconhecido na análise destes resultados que a amostra recolhida ficou aquém do eu esperava, o que limitou a capacidade de obter mais informação relevante. No entanto, é de reforçar que foram efectuados contactos de forma insistente junto dos outros serviços referidos inicialmente e junto dos vários Colégios da Ordem dos Médicos, mas sem qualquer tipo de sucesso.

Os resultados obtidos envolveram um esforço que deverá ser destacado nesta fase, uma vez que exigiram deslocações constantes ao IPO de Lisboa e viagens a Coimbra e ao Porto. Reconhecendo esse esforço, que foi sempre conciliado com uma vida profissional activa, considerou-se pertinente a análise pormenorizada dos resultados obtidos, tal como foi apresentada.

Por outro lado, a ausência de respostas positivas para a participação no Painel Delphi, tendo por base maioritariamente a justificação, por parte das Instituições previamente identificadas (Ordens Profissionais, Indústrias Farmacêuticas), de não existirem peritos na área poderá sugerir algumas justificações. Por exemplo, a lacuna de conhecimento relacionada com a influência do genoma na resposta à terapêutica, que poderá ter origem no escasso conhecimento de bases de genética, da parte dos profissionais de saúde. Esta situação poderá ser explicada de raiz, na formação académica base, onde este tema não tem uma projecção efectiva. Outra justificação aparentemente válida é o facto de a farmacogenómica/farmacogenética ser uma área inovadora e recente que ainda não permitiu, numa perspectiva temporal, a existência de uma massa crítica profissional e perita.

Ao longo deste trabalho foram realizados inúmeros contactos com profissionais médicos, académicos, farmacêuticos hospitalares, com o intuito de perceber *in loco* o que poderia ser o estado da arte em Portugal sobre este assunto. Da pesquisa efectuada e das informações recolhidas a farmacogenómica/farmacogenética parece ser um campo de investigação que reúne ainda poucos profissionais adeptos, podendo ser identificados pequenos nichos de interessados nomeadamente nas áreas da genética, oncologia e doenças infecciosas. Estas equipas compreendem o potencial desta área científica para os cuidados de saúde e como poderá ser promissora a utilização de fármacos que se

encaixam na utilidade da farmacogenómica/farmacogenética: fármacos com margem terapêutica estreita, utilização em patologias graves em que é crucial otimizar a sua eficácia e diminuir ao mínimo os efeitos adversos, entre outros.

Da literatura analisada e referida de forma mais exaustiva na introdução deste trabalho, esta realidade portuguesa assemelha-se à realidade dos outros países. Na verdade, o desenvolvimento da farmacogenómica/farmacogenética não tem sido tão célere quanto se poderia inicialmente esperar. E é um facto que nem tudo é pacífico. A estratificação de uma população em sub-populações, provocada pela aplicação da farmacogenómica, poderá causar constrangimentos, de que são exemplos o não investimento no desenvolvimento de fármacos para populações específicas pouco numerosas, dado que não constitui um investimento atractivo para as Empresas, o que releva questões de equidade. Esta situação poderá dar origem a “populações órfãs” que são economicamente pouco atractivas para a indústria farmacêutica, podendo estas deixar de ter acesso a terapêuticas novas e mais efectivas, o que poderá assumir diferentes formas, considerando entre outros aspectos, as particularidades na organização dos sistemas de saúde nos diferentes países.

É de notar que o acesso à terapêutica eficaz poderá ficar desigual para estas sub-populações, nomeadamente porque a terapêutica para estes indivíduos, quando desenvolvida, poderá vir a ser bastante mais cara. Aqui poderão estar em causa problemas éticos sérios que terão que ser considerados pelas entidades reguladoras nacionais e sobretudo, pelas internacionais.

5.1. Perspectivas futuras – da euforia à desilusão?

Sem dúvida que a farmacogenómica/farmacogenética na última década despertaram uma popularidade que ganhou vitalidade com o mapeamento do genoma humano, como foi referido inicialmente. Muitos artigos têm sido publicados sobre este tema e uma pesquisa na Pubmed usando apenas a palavra-chave “*pharmacogenetics*” ou “*pharmacogenomics*” apresenta um resultado de pesquisa de mais de 6200 artigos, em que aproximadamente 3500 foram publicados nos últimos cinco anos. Em 2004, chegou mesmo a ser considerada uma das dez tecnologias mais promissoras (Møldrup, 2009).

A fase de descoberta de algumas das novas tecnologias apresenta um processo cíclico que apresenta três fases: a primeira fase caracterizada por esperança, oportunidade e euforia; a segunda fase marcada pelo cepticismo e pela crítica; e a terceira fase pela esperança de melhores alternativas.

Talvez a farmacogenómica/farmacogenética seja uma dessas tecnologias que segue este ciclo. Nos últimos anos o cepticismo relativamente ao sucesso da farmacogenómica/farmacogenética tem vindo a aumentar lentamente, sobretudo porque o valor clínico da sua utilização continua por ser provado (Kollek R., 2006). Na verdade a análise pura da farmacogenómica/farmacogenética poderá não trazer os resultados expectados no início do seu desenvolvimento. Mas talvez esta tecnologia possa trazer mais respostas e utilidade se abordada holisticamente, ou seja: se integrada numa análise global que permita um entendimento geral dos fenómenos. A verdade é que até agora muito poucas das expectativas iniciais foram atingidas. As razões para este facto são várias e prendem-se com obstáculos de ordem científica, política e económica.

Numa perspectiva analítica da sociedade é mais do que comprovado e referenciado que o indivíduo é fruto não só do seu genoma, mas também do meio envolvente. Estes dois factores completam o indivíduo. Tendo por base esta premissa, e depois de analisadas várias publicações sobre a intervenção da farmacogenómica/farmacogenética na prática clínica, seria redutor continuarmos a afirmar que o conhecimento purista de alterações genéticas pode explicar por si só a resposta individual à terapêutica.

A abordagem da farmacogenómica/farmacogenética tem sido feita com base na individualização referente a um fenómeno biológico. No entanto, não tem tido em conta a integração do fenómeno biológico com múltiplos aspectos individuais (Schmedders M., 2003; Møldrup, 2005).

Neste sentido, a optimização do tratamento farmacológico não poderá estar condicionada à análise isolada das características do genoma. Será muito importante incluir nesta análise as características individuais e os factores sociais dos indivíduos. Este racional aplica-se perfeitamente ao tema desta dissertação. Poder-se-á concluir, numa abordagem mais minuciosa, que é fundamental nos doentes que fazem terapêutica com os fármacos referidos (e com outros que continuam a ser investigados), integrar o conhecimento do seu genoma e das suas características pessoais e sociais (peso corporal, idade, sexo, alimentação, estilo de vida, entre outros). A resposta à terapêutica é resultado da variabilidade e sinergia de todos estes factores.

Em suma, o futuro da individualização da terapêutica passará pela abordagem integrada não só das características genéticas, mas também pela inclusão de outros factores, como por exemplo: indicações resultantes de um diálogo próximo entre o médico e o doente; escolha individualizada da terapêutica pelo médico tendo em conta a melhor alternativa terapêutica para aquele indivíduo em particular; adequação da melhor forma farmacêutica e via de administração tendo em conta o estado do doente; individualização da dose com base numa monitorização médica efectiva do doente; adequação da informação a ser prestada ao doente, assim como preparação de suportes materiais informativos, tendo em conta a sua condição social e intelectual, para promoção de uma adesão à terapêutica efectiva - entre outros.

Em jeito de conclusão e em poucas palavras na afirmação seguinte poderá estar uma das respostas possíveis aos objectivos deste trabalho:

“...pharmacogenetics and pharmacogenomics are simply one of many tools that can be used in the attempt to realize individualized medicine in healthcare systems in the future”.

Claus Møldrup

6. *Farmacogenómica e Farmacogenética: Realidades e Perspectivas na Prática Clínica - O Exemplo da Varfarina*

No seguimento dos resultados obtidos relativos aos objectivos iniciais deste projecto, que não foram os expectáveis, e na perspectiva de concretizar o estado da arte da utilização da farmacogenómica/farmacogenética numa área clínica em particular, optou-se por uma revisão bibliográfica sobre um tema em particular – o exemplo da varfarina.

Em Agosto de 2007, a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou a alteração do Resumo das Características do Medicamento (RCM) da varfarina passando este a incluir a informação das diferenças genéticas conhecidas que podem implicar o metabolismo e efeito terapêutico da varfarina.

Mais especificamente, indivíduos com polimorfismos em 2 genes implicados na via metabólica e no mecanismo de acção (CYP2C9 e VKORC1, respectivamente) podem necessitar doses diferentes do que os indivíduos sem estas variantes genéticas. Mais precisamente, o gene CYP2C9 está envolvido no metabolismo da varfarina, ou seja, é responsável pela codificação de uma proteína importante para a sua transformação em metabolitos inactivos, enquanto que o VKORC1 codifica a proteína alvo sobre a qual a varfarina vai exercer o seu efeito.

Neste novo RCM é sugerido/recomendado que seja feita a genotipagem destes dois genes, cujos resultados irão fundamentar os ajustes das doses de varfarina nos doentes com os polimorfismos referidos. Para os médicos esta informação poderá ser útil na prescrição e poderá auxiliar no ajuste da dose de varfarina uma vez que a informação proveniente deste teste aumenta o conhecimento sobre a probabilidade de ocorrer uma reacção iatrogénica, nomeadamente em doentes de maior instabilidade clínica, risco, idade, etc. Estes factores contribuem para um aumento da segurança na utilização da varfarina, uma vez que podem contribuir para a prevenção da formação de coágulos e para a diminuição do risco de hemorragias.

Além disso, a escolha deste exemplo concreto da aplicação da farmacogenética à terapêutica com varfarina prende-se com o facto de a varfarina ser o anticoagulante oral mais prescrito em Portugal e no resto do mundo, e dado o facto de fazer parte da

terapêutica de uma percentagem considerável da população, nomeadamente da população idosa, quase sempre polimedicada. Dados dos Estados Unidos da América referem que por ano a varfarina é prescrita a mais de 1 milhão de pessoas, e muitos destes doentes fazem terapêutica de longa duração (Carlquist, *et al.*, 2006). Além disso, o uso de varfarina está associado a mais de 800 casos de reacções adversas reportados à FDA só no ano de 2004, levando o doente à urgência do hospital pelo menos uma vez nesse ano (Flockhart, *et al.*, 2008).

A varfarina inclui-se nos fármacos alvo da investigação farmacogenómica/farmacogenética porque, sendo um fármaco com uma margem terapêutica estreita, acresce a essa particularidade o facto de ser um fármaco de difícil ajuste de dose para cada doente, e da variabilidade inter e intra-individual dessa mesma dose. É por isso uma questão epidemiológica com um nível de significância considerável em que vale a pena investir novas linhas estratégicas que contribuam para o controlo da dose efectiva e segura deste fármaco (Garcia D., 2009).

Interessa por isso perceber o estado da arte da utilização da farmacogenómica/farmacogenética em doentes a fazer terapêutica anticoagulante oral com varfarina.

6.1. Terapêutica antitrombótica

O tratamento das trombozes requer uma intervenção terapêutica com o objectivo de inibir parcialmente os mecanismos de coagulação ou de estimular a lise de trombos já formados.

Os fármacos usados para tratar ou prevenir a trombose afectam a hemostasia de três formas distintas, mediante a situação (Lichtman, *et al.*, 2006; Rang, *et al.*, 2007; INFARMED, 2008):

- **heparinas e antagonistas da vitamina K** – interferem na coagulação sanguínea, diminuindo-a;
- **antiagregantes plaquetares** – interferem na função plaquetária, com actividade dirigida principalmente para a trombogénese intra-arterial;
- **fibrinolíticos** – interferem na remoção da fibrina.

O objectivo da terapêutica anticoagulante é a diminuição da coagulabilidade do sangue, de um modo controlado e reversível, permitindo a obtenção de um máximo de protecção contra episódios tromboembólicos, com um mínimo de risco de ocorrência de hemorragias (FCSA, 1998).

A terapêutica anticoagulante é usada para prevenir variadas situações, algumas delas já referidas (Rang, *et al.*, 2007):

- trombose venosa profunda,
- extensão de trombose venosa profunda estabelecida,
- embolia pulmonar,
- trombose e embolia em doentes com fibrilhação auricular,
- trombose em próteses valvulares,
- coagulação em circulação extra-corpórea (no caso da hemodiálise, por exemplo),
- enfarte do miocárdio em doentes com angina instável.

No grupo dos anticoagulantes orais constam os derivados da 4-hidroxycumarina, como a varfarina, o dicumarol, o acenocumarol, por exemplo, e da indano-1,3-diona, como a fenindiona, difenadiona e anisindiona. A sua acção é indirecta por alterarem a síntese hepática dos factores de coagulação II, VII, IX e X, através da inibição da vitamina K (Fauci, *et al.*, 2008; INFARMED, 2008).

De todos estes, os derivados cumarínicos, são os mais utilizados na prática clínica, em especial a varfarina.

Dado o objectivo a que este trabalho se propõe, vão ser apenas focados os anticoagulantes orais, antagonistas da vitamina K, em especial a varfarina.

6.1.1. Varfarina

Histórico:

Os anticoagulantes orais foram descobertos como resultado indirecto de uma alteração na política da agricultura na América do Norte por volta de 1920. O meliloto substituiu o milho na alimentação do gado e esta alteração provocou uma epidemia de mortes de animais. Associou-se depois que a causa das mortes era a presença de bis-hidroxycumarina no meliloto estragado, levando à descoberta da varfarina (em inglês Warfarin – Wisconsin Alumni Research Foundation).

Uma das primeiras utilizações foi como veneno de rato, por provocar hemorragias internas (Rang, et al., 2007).

A varfarina é um anticoagulante oral cumarínico, ou seja, é um antagonista da vitamina K. É o anticoagulante oral mais usado em todo o mundo e apesar da sua utilização terapêutica exigir alguns cuidados especiais, é o mais bem tolerado. Outras alternativas, com mecanismo de acção semelhante, como a fenindiona ou o acenocumarol, são usadas apenas nos casos raros de doentes com reacções adversas idiossincráticas à varfarina (Rang, *et al.*, 2007)

A terapêutica com varfarina requer uma monitorização muito rigorosa do doente através de análises ao sangue para a determinação do *International Normalized Ratio* (INR) para se conseguir atingir e manter uma dose terapêutica individualizada. Esta monitorização é de extrema importância dado que a varfarina é um fármaco com uma margem de segurança terapêutica muito estreita, como já foi referido.

Em Portugal, a varfarina encontra-se disponível unicamente em comprimidos, para administração oral, de dosagem única (5 mg). É administrada clinicamente como uma mistura racémica dos dois enantiómeros. Ou seja, a molécula de varfarina apresenta na sua estrutura um átomo de carbono assimétrico (C9), existindo como dois enantiómeros activos: R e S-varfarina (Kelly, *et al.*, 1979).

Apesar da varfarina racémica ser considerada como um único fármaco, há estudos que detalham cada um dos enantiómeros separadamente, cujos autores referem que as diferenças na actividade anticoagulante e no metabolismo são tão acentuadas que poderiam ser tratados como fármacos distintos (Alfred Googman Gilman, *et al.* 2006).

Evidências indicadas por esses estudos demonstram que após doses orais equivalentes, a intensidade e duração da acção farmacológica do isómero S são significativamente diferentes das do isómero R, o que poderá reflectir uma potência farmacológica do enantiómero S cerca de 3 a 5 vezes superior ao enantiómero R (Costa, 2001).

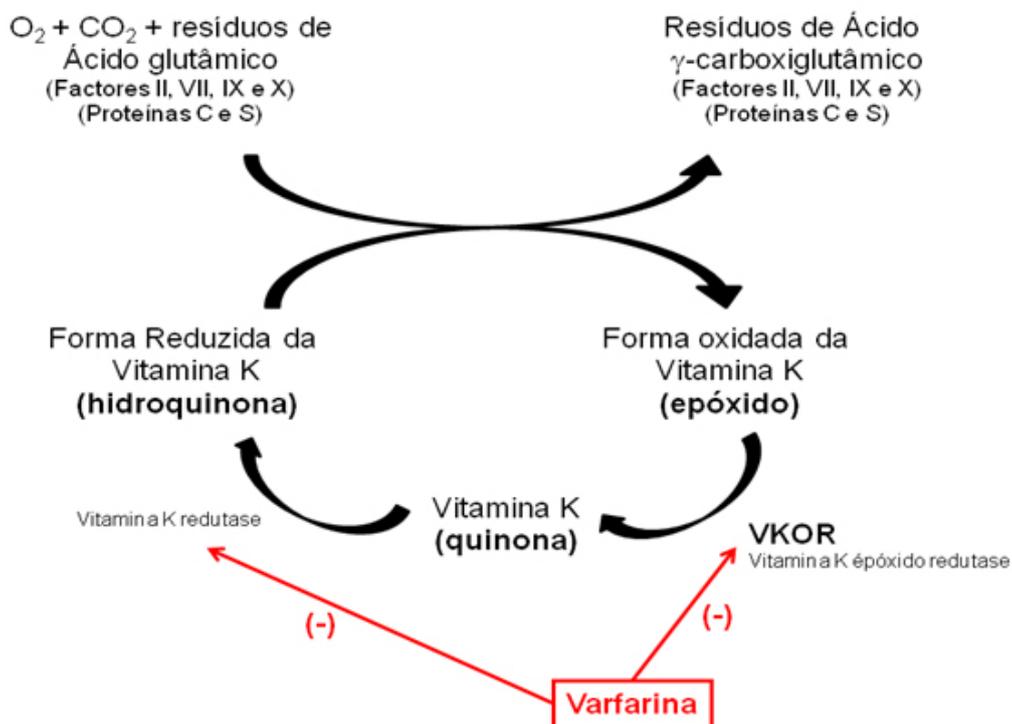
Mecanismo de acção

A varfarina é um antagonista da vitamina K. Esta vitamina é essencial para a reacção de carboxilação que activa alguns dos factores da coagulação.

Os factores da coagulação II, VII, IX e X, assim como as proteínas anticoagulantes C e S são sintetizados principalmente no fígado e não são biologicamente activos. Para que sejam activados, os resíduos de ácido glutâmico aminoterminais 9 e 12 têm que sofrer uma reacção de carboxilação. Os resíduos de γ -carboxiglutamato (Gla) conferem propriedades de ligação do Ca^{2+} a essas proteínas, situação essencial para que elas se agreguem num complexo catalítico eficiente. Esta reacção de carboxilação necessita de vários co-factores como o dióxido de carbono (CO_2), o oxigénio molecular (O_2) a vitamina K reduzida, assim como da forma precursora da proteína alvo que contenha um local de reconhecimento do pró-peptídeo. A vitamina K reduzida é originada a partir da vitamina K oxidada (epóxido), para sustentar a carboxilação e a síntese dos factores da coagulação referidos (Alfred Googman Gilman, *et al.* 2006).

A inibição da actividade da vitamina K pela varfarina resulta do bloqueio das enzimas vitamina-k-epóxido-redutase e vitamina-k-redutase, que são responsáveis pela redução da vitamina K, que foi oxidada como resultado da sua actividade como co-factor na reacção de carboxilação de moléculas de ácido glutâmico. Ou seja, para que haja reacção de carboxilação dos factores de coagulação a vitamina K tem que estar na sua forma reduzida (Giglio, *et al.*, 2007). Se se evitar a redução desta vitamina, a carboxilação fica comprometida e os factores de coagulação não são activados. É este o princípio de actuação dos anticoagulantes cumarínicos.

Esquema 1: Mecanismo de Acção da Varfarina



Fontes: McDonnell, 2007 e Rang, Dale, Ritter, & Flower, 2007

O efeito terapêutico da varfarina leva vários dias a ser efectivo devido ao tempo necessário para ocorrer a degradação dos factores de coagulação pré-formados. O seu início de acção depende das meias-vidas de eliminação dos factores em causa: FVII, meia-vida de 6 horas; FIX, meia vida de 24 horas; FX, meia vida de 40 horas; FII, meia vida de 60 horas (Guimarães, *et al.*, 2006 e Rang, *et al.*, 2007).

Farmacocinética

A varfarina é absorvida rápida e completamente no intestino após administração oral. Encontra-se fortemente ligada às proteínas plasmáticas (99%), nomeadamente à albumina, pelo que apresenta um pequeno volume de distribuição, confinando-a ao espaço vascular. Distribui-se rápida e uniformemente no organismo tendo a capacidade de atravessar livremente a barreira placentária, causando efeitos teratogénicos. Por esta razão a sua administração durante a gravidez é altamente contra-indicada. No entanto, esta contra-indicação não se verifica para o período de amamentação dado que a

varfarina não é secretada para o leite materno. Apesar disso, a sua indicação nesta situação deverá ser ponderada.

A fracção livre do fármaco (fracção activa) presente no sangue une-se a receptores específicos presentes na membrana dos hepatócitos entrando no fígado, onde exerce a sua acção anticoagulante.

O pico de concentração no sangue é atingido 1 hora após a toma, mas não coincide com o pico do seu efeito farmacológico, que ocorre 48 horas depois devido ao seu mecanismo de acção (Alfred Googman Gilman, *et al.* 2006, Rang, *et al.*, 2007, e Katzung, *et al.*, 2009).

A varfarina é metabolizada pelo fígado e pelos rins em metabolitos inactivos que são excretados na urina e nas fezes. A semi-vida varia de 25 a 60 horas, com uma média de cerca de 40 horas. Assim se compreende que a duração de acção de uma dose de varfarina seja tão prolongada (2 a 5 dias) (Alfred Googman Gilman, *et al.* 2006, e McPhee, *et al.*, 2009).

Em relação à fase de metabolização, ela merece especial atenção neste trabalho porque envolve enzimas específicas do retículo endoplasmático do hepatócito que poderão ser diferentes de indivíduo para indivíduo devido a diferenças genéticas.

Metabolismo da varfarina

A biotransformação de fármacos em metabolitos mais hidrófilos é essencial para o término da actividade biológica destas substâncias e para a sua eliminação do organismo. Em geral, as reacções de biotransformação geram metabolitos inactivos mais polares que são depois facilmente excretados pelo organismo. No entanto, no caso dos pró-fármacos, são produzidos metabolitos com actividade biológica.

A maioria das vias de metabolismo envolve reacções de oxidação, redução, hidrólise e conjugação. As reacções oxidativas, de **fase I**, determinam a actividade biológica do fármaco, situação que pode ocorrer em vários passos, através de várias reacções. Os sistemas enzimáticos responsáveis por estas reacções encontram-se no retículo endoplasmático de determinadas células. As reacções de **fase II** são reacções de conjugação, que pretendem completar o processo de transformação dos metabolitos em compostos mais hidrossolúveis, de forma a poderem ser eliminados mais facilmente

pelos rins. Os sistemas enzimáticos envolvidos nestas reacções localizam-se no citoplasma das células em causa.

Com alguma frequência, os fármacos metabolizados por uma reacção de fase I no retículo endoplasmático são conjugados no citoplasma da mesma célula.

A maior parte das reacções de fase I são catalizadas por proteínas *heme*, do complexo enzimático Citocromo P₄₅₀ (Cit.P₄₅₀), tendo já sido identificados 40 genes humanos para este sistema enzimático.

As diferenças entre a actividade enzimática do Cit.P₄₅₀, independentemente da causa (variações genéticas, dieta, idade, sexo, estado de saúde, hormonas, doença hepática, nutrição, gravidez, entre outros), podem afectar a eficácia do fármaco no organismo. Ou seja, as diferenças na actividade das isoenzimas podem afectar o tempo que o fármaco demora a atingir o desejado efeito terapêutico e os correspondentes níveis plasmáticos, assim como, o tempo de eliminação do fármaco do organismo (Carlquist, *et al.*, 2006).

No caso da varfarina, como já foi referido de forma sumária, o metabolismo hepático é a principal via de eliminação nomeadamente através do Cit.P₄₅₀. A actividade destas enzimas metabólicas hepáticas representa uma das mais importantes fontes de variabilidade intra e interindividual na resposta à terapêutica com varfarina (Guimarães, *et al.*, 2006, e Fauci, *et al.*, 2008)

As enzimas do CYP2C9 metabolizam o isómero S da varfarina (o que tem potência farmacológica superior), por oxidação do seu anel aromático, em metabolitos hidroxilados que são eliminados pela bÍlis. O enantiómero R é sobretudo metabolizado pelas enzimas CYP1A2 em álcoois secundários, que são excretados pela urina, e em menor quantidade em metabolitos hidroxilados.

Neste caso, alterações genéticas que interferem na codificação destas proteínas poderão ser significativas na resposta à terapêutica com varfarina.

6.1.1.1. Indicações terapêuticas da varfarina

A varfarina é largamente utilizada na prevenção e tratamento de doenças tromboembólicas, quer para prevenir o desenvolvimento de trombos em indivíduos

susceptíveis, quer para prevenir a sua extensão e subsequente embolia no caso de trombos já formados (Fauci, *et al.*, 2008, e Katzung, *et al.*, 2009).

Em situações normais, a taxa de síntese dos factores de coagulação compensa a taxa de degradação, mantendo a actividade plasmática normal. Quando é administrado um fármaco anticoagulante, como a varfarina, a síntese destes factores dependentes de vitamina K é reduzida e a sua concentração plasmática diminui exponencialmente até se estabelecer um novo estado de equilíbrio entre síntese hepática e de degradação.

A varfarina não afecta o catabolismo dos factores de coagulação, nem a actividade dos factores sintetizados previamente à exposição do fármaco. Assim, há um período de tempo que corresponde à diminuição dos factores existentes em circulação através do seu catabolismo normal, antes de se começarem a verificar os efeitos terapêuticos da varfarina. Daí a necessidade dos primeiros dias de terapêutica com varfarina, em situações clinicamente agudas, serem acompanhados da administração concomitante de heparina de baixo peso molecular, por via subcutânea, que tem um efeito mais imediato. A dose de varfarina administrada influi profundamente com o grau de depressão dos factores de coagulação. Pretende-se então, conseguir um correcto equilíbrio entre a varfarina administrada e a vitamina K activa existente no organismo. O excesso de vitamina K (fornecido pela dieta, por exemplo) ou as doses demasiado baixas de varfarina podem resultar numa terapêutica ineficaz. Por outro lado, doses excessivas de varfarina ou carências em vitamina K, podem causar episódios de hemorragia difíceis de controlar (Alfred Googman Gilman, *et al.* 2006; Fauci, *et al.*, 2008; McPhee, *et al.*, 2009)

É importante referir que a varfarina produz dois distintos efeitos farmacológicos. Por um lado, actua como anticoagulante, como tem vindo a ser referido, ou seja, prolonga os tempos dos resultados de coagulação, por outro lado actua como antitrombótico, impedindo a formação e/ou expansão de trombos. Este último efeito é o que mais demora a ser evidente (4 a 6 dias após o início da terapêutica), devido ao facto da acção antitrombótica depender fundamentalmente da protrombina que apresenta uma semi-vida de 72 a 96 horas.

O efeito anticoagulante depende da *clearance* dos factores funcionais de coagulação após a administração do fármaco, sendo condicionado pelo tempo de semi-vida de eliminação destes factores.

As indicações terapêuticas da varfarina são várias, nomeadamente a profilaxia e tratamento das afecções tromboembólicas venosas e pulmonares, a profilaxia do embolismo na doença cardíaca reumática e fibrilhação auricular, a profilaxia após inserção de prótese valvular cardíaca e ataques isquémicos transitórios (INFARMED, 2008). Mais algumas das indicações para terapêutica com varfarina estão descritas na tabela 10.

Tabela 8: Principais Indicações Terapêuticas da Varfarina - Profilaxia e Situações Clínicas

Profilaxia com varfarina:
Profilaxia e tratamento da doença tromboembólica venosa profunda
Profilaxia do tromboembolismo cardíaco nos casos de:
.. fibrilhação auricular
.. doença cardíaca valvular
.. insuficiência cardíaca congestiva
.. cardiomiopatia
.. inserção de próteses valvulares cardíacas (de 1ª geração e de 2ª geração)
Profilaxia do enfarte agudo do miocárdio recorrente
Profilaxia do tromboembolismo venoso, cardíaco ou arterial recorrente

Situações clínicas com indicação terapêutica para a varfarina
Acidentes isquémicos
<i>By-pass</i> arterial coronário
Embolismo pulmonar ou cerebral
Enfarte agudo do miocárdio (alguns casos)
Doenças valvulares cardíacas
Episódios tromboembólicos venosos:
.. imobilização prolongada
.. neoplasias pulmonares ou do aparelho digestivo
.. cirurgia ortopédica, abdominal ou pélvica em doentes com mais de 40 anos
Trombose venosa profunda

Fontes: Alfred Googman Gilman, *et al.* 2006; Fauci, *et al.*, 2008; McPhee, *et al.*, 2009

6.1.1.2. Contra-indicações

A varfarina está contra-indicada nas situações de hipersensibilidade a esta substância e também, em indivíduos em situações de hemorragia activa, ou em grave risco de hemorragia, tais como: os que sofrem de distúrbios hemorrágicos, úlcera péptica, feridas graves (incluindo as feridas cirúrgicas), endocardite bacteriana, insuficiência renal ou hepática graves, e hipertensão severa. Esta situação é perceptível dado o facto de a varfarina potenciar estados hemorrágicos com sérios riscos de provocar hemorragias graves. No entanto, pode haver situações destas em que há necessidade de fazer terapêutica com varfarina, o que irá exigir um controlo rigoroso da sua administração (INFARMED, 2008, e Katzung, *et al.*, 2009).

Outra situação em que a varfarina está contra-indicada é a gravidez, uma que vez que é altamente teratogénica. A varfarina atravessa a barreira placentária e afecta gravemente o desenvolvimento do feto. Se administrada durante a gravidez, pode provocar anomalias congénitas no feto e até o aborto. Deverá ser evitada sempre que possível a sua administração, sobretudo no primeiro e terceiro trimestres da gravidez. No primeiro trimestre da gravidez é responsável pelo aparecimento de uma síndrome caracterizada por hipoplasia nasal e calcificações epifisárias, semelhantes às da *condrodisplasia puntacta*, que se deve a uma interferência da varfarina na deposição de cálcio no osso em rápido crescimento. Podem ainda ocorrer, ainda que mais raramente, durante qualquer período da gravidez, problemas no sistema nervoso central (malformação Dandy-walker, agenesia do corpo caloso, atrofia óptica e atraso mental) e anomalias congénitas, que podem incluir a fenda palatina, a microcefalia, cegueira, espinha bífida, malformações cardíacas, leucoma córneo, polidactilia e alterações do tracto digestivo e urinário. Nos segundo e terceiro trimestres da gravidez, a administração de varfarina pode originar hemorragias fetais cranianas com consequentes alterações neurológicas (Guimarães, *et al.*, 2006; Tripathi, 2006; e INFARMED, 2008).

Assim, uma mulher que esteja a fazer terapêutica com varfarina deverá planear a sua gravidez para que haja possibilidade de o seu médico assistente programar a substituição da varfarina por heparina de baixo peso molecular, sem qualquer risco de anomalias para o feto.

Tabela 9: Contra-Indicações da Varfarina

Contra-indicações Absolutas	
Gravidez	
Hemorragias graves recentes	
Hipertensão grave	
Contra-indicações Relativas	
<p>Cardiovasculares</p> <p>Hipertensão arterial</p> <p>Endocardite bacteriana</p> <p>Pericardite</p> <p>Gastrointestinais</p> <p>Úlcera péptica</p> <p>Varizes esofágicas</p> <p>Hematológicas</p> <p>Alterações hemostáticas pré-existentes</p> <p>Hemofilia</p> <p>Leucemia</p> <p>Trombocitopenia idiopática</p> <p>Gerais</p> <p>Tumores malignos</p> <p>Má adesão à terapêutica</p> <p>Alcoolismo</p> <p>Alterações mentais</p> <p>Hipertiroidismo</p> <p>Mal-absorção</p>	<p>Neurológicas</p> <p>Aneurisma cerebral</p> <p>Aterosclerose avançada</p> <p>Acidentes vasculares não embólicos recentes</p> <p>Cirurgia recente ou trauma do sistema nervoso central ou do olho</p> <p>Hepáticas</p> <p>Doença hepática</p> <p>Cirrose descompensada</p> <p>Renais</p> <p>Insuficiência renal</p>

Fontes: Alfred Googman Gilman, *et al.* 2006; Fauci, *et al.*, 2008; McPhee, *et al.*, 2009

6.1.1.3. Precauções especiais de utilização

Doentes com disfunção hepática ligeira a moderada, que necessitam de terapêutica com varfarina devem ser rigorosamente monitorizados, nomeadamente com a avaliação frequente do INR.

Outras situações que também requerem uma atenção especial, quando necessitam de terapêutica anticoagulante oral são por exemplo, os doentes com hipertensão descontrolada, doentes com desordens ao nível da tiróide, doentes com deficiência de vitamina K ou doentes que fazem outros medicamentos.

Nas situações de doença aguda, o início ou a retirada de uma terapêutica concomitante, que tenha efeito na hemostase ou tenha interacção directa com a varfarina, exige uma monitorização muito próxima dos valores de INR para que as doses de varfarina possam ser adequadamente ajustadas.

As variações na dieta (especialmente ao nível de saladas ou vegetais) e o consumo de álcool interferem também no controlo da terapêutica com varfarina.

Os doentes com hipotroteinemia são outro grupo que exige especial atenção uma vez que, necessitam de doses inferiores às estabelecidas por terem um aumento da fracção livre do medicamento no plasma.

Há que ter em conta que sempre que um doente apresenta um episódio hemorrágico sem causa aparente, dentro dos valores normais de INR, deve investigar-se a causa subjacente (que poderá ser doença renal, por exemplo) (INFARMED, 2008; e Katzung, *et al.*, 2009).

6.1.1.4. Efeitos adversos

Além dos efeitos teratogénicos já descritos, a terapêutica com varfarina pode ainda provocar outros efeitos que vale a pena serem referidos.

Hemorragias

O maior risco da terapêutica com varfarina é a hemorragia, que pode afectar qualquer órgão, com a conseqüente formação de hematomas ou desenvolvimento de anemia. (INFARMED, 2008). Os sinais, sintomas e severidade da hemorragia dependem da sua localização e extensão (Fauci, *et al.*, 2008)

Particularmente graves são os episódios hemorrágicos que envolvem lesão irreversível, por compressão de estruturas vitais ou as hemorragias maciças que, pela sua localização, são por vezes difíceis de diagnosticar (Lichtman, *et al.*, 2006)

A hematúria, os derrames na pele e mucosas e as hemorragias do tracto gastrointestinal são os episódios mais frequentes.

O risco de hemorragia é mais elevado em doentes idosos, em indivíduos com doses elevadas de varfarina e em doentes com medicações concomitantes que podem originar interações medicamentosas potencializadoras da varfarina, ou ainda em doentes com patologia cujo risco hemorrágico esteja aumentado - como referido anteriormente (Fauci, *et al.*, 2008).

Necrose dérmica

A necrose dérmica é uma complicação que ocorre ocasionalmente em indivíduos idosos e obesos.

É o efeito adverso não hemorrágico mais importante da varfarina que, embora pouco frequente, pode ser extremamente severo e desfigurante. Ocorre com mais frequência nas mulheres, e mais em especial, em doentes com deficiência nas proteínas C e S, surgindo logo na primeira semana de tratamento.

As manifestações clínicas passam pelo escurecimento da pele, seguido de necrose e escaras. As zonas do corpo mais afectadas são as extremidades, nomeadamente os dedos. Também as zonas ricas em tecido adiposo são focos potenciais de aparecimento da necrose cutânea.

Nos casos em que esta complicação se verifica, ocorre uma trombose generalizada da microvasculatura, erupção maculopapular dolorosa e sensação de queimadura intensa nos primeiros dias de tratamento, podendo evoluir para um estado de necrose e cicatriz permanente (Tripathi, 2006; e Katzung, *et al.*, 2009).

Outros efeitos

A varfarina pode ainda causar outros efeitos adversos menos frequentes, como por exemplo, a síndrome púrpura do dedo do pé, agranulocitose, leucopenia, anorexia, intolerância digestiva, alopecia, dermatite, urticária, entre outras (Fauci, *et al.*, 2008; INFARMED, 2008)

6.1.1.5. Interações medicamentosas

A terapêutica com varfarina é sobretudo frequente em doentes polimedicados. Quer isto dizer que além da varfarina tomam concomitantemente outros fármacos que poderão interferir com o seu efeito anticoagulante. Apesar de muitas destas interações não

serem clinicamente significativas, outras há que podem conduzir a sérias complicações, como hemorragias graves, por aumento do efeito anticoagulante, ou pelo contrário, problemas tromboembólicos, devido à diminuição da acção terapêutica da varfarina.

A susceptibilidade aumentada da varfarina a interacções medicamentosas, potencialmente graves, prende-se com três razões essenciais:

- . elevada ligação às proteínas plasmáticas,
- . metabolismo hepático dependente do Cit. P₄₅₀,
- . estreita margem terapêutica.

Além disso, uma vez que as duas formas enantioméricas da varfarina são metabolizadas de forma distinta, a administração concomitante de outros fármacos pode afectar estas vias metabólicas em diferentes graus.

Existem mais de 250 substâncias activas capazes de interferir com a varfarina. Os mecanismos responsáveis pelas potenciais interacções estão sobretudo relacionados com dois aspectos:

. farmacocinético

as interacções medicamentosas a nível farmacocinético contribuem para a alteração dos níveis plasmáticos do fármaco, nomeadamente através da alteração da absorção e do metabolismo, e da ligação da varfarina às proteínas plasmáticas.

. farmacodinâmico

As interacções medicamentosas a nível farmacodinâmico não afectam a concentração plasmática da varfarina. Há sim, uma alteração da síntese ou metabolismo dos factores de coagulação dependentes da vitamina K, ou uma interferência com outras vias da hemostase (como acontece na toma concomitante com heparina e agentes antiplaquetários).

As interacções com a varfarina podem potenciar a sua acção, como é o caso do cloranfenicol, que inibe as enzimas do Cit. P₄₅₀ responsáveis pelo metabolismo da varfarina, ou dos anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) que deslocam a varfarina das proteínas plasmáticas, nomeadamente da albumina, aumentando a sua fracção livre na circulação. Ou, por outro lado, podem diminuir o seu efeito anticoagulante, como é o

caso dos barbitúricos ou da carbamazepina, que aceleram o metabolismo da varfarina por indução das enzimas microsossomiais.

Outros fármacos interferem com a varfarina por mecanismos ainda não explicados. Ainda assim, a lista de potenciais interacções é extensa. Algumas destas interacções são referidas nas tabelas seguintes.

Tabela 10: Interacções que potenciam o Efeito Anticoagulante da Varfarina

Mecanismo de interacção		
Diminuição dos níveis de vitamina K por redução da flora intestinal		
Aminoglicósidos	Cloranfenicol	Miconazol
Ampicilina	Cotrimoxazol	Tetraciclina
Cefalosporinas	Gentamicina	Tobramicina
Cetoconazol	Isoniazida	Penicilina
Cicloserina	Metronidazol	Sais de quinino
Clofibrato	Neomicina	Sulfonamidas
Aumento da Varfarina livre por deslocamento da albumina		
Antidiabéticos orais	Furosemda	Miconazol
AINEs	Indometacina	Paracetamol
Esteróides	Fenitoína	Sulindac
Estrogénio		
Diminuição do metabolismo da varfarina		
Amiodarona	Dissulfiram	Metronidazol
Antidepressivos tricíclicos	Eritromicina	Omeprazol
Cimetidina	Fenitoína	Quinidina
Cloranfenicol	Fluconazol	Quinina
Cotrimoxazol	Lovastatina	
Outros		
Agentes antiplaquetários	Heparina	Ranitidina
Alopurinol	Mercaptopurina	Sinvastatina
Ciclofosfamida	Metildopa	Tamoxifeno
Clorpromazina	Metotrexato	Vacina da gripe
Corticosteróides	Naproxeno	Valproato
Genfibrozil	Piroxicam	Vitamina E
Glucagon	Propanolol	Vitamina K
	Quinolonas	

Fontes: Alfred Googman Gilman, *et al.*, 2006; Lichtman, *et al.*, 2006; Tripathi, 2006; Giglio, *et al.*, 2007; Rang, *et al.*, 2007; Fauci, *et al.*, 2008; INFARMED, 2008; e McPhee, *et al.*, 2009

Tabela 11: Interações que antagonizam o Efeito Anticoagulante da Varfarina

Mecanismo de Interação	
Diminuição da absorção da varfarina	
Anti-ácidos	Laxantes
Colestipol	Sucralfato
Colestiramina	Trisilicato de magnésio
Aumento do metabolismo da varfarina	
Aminoglutetimida	Glutetimida
Barbitúricos	Rifampicina
Carbamazepina	
Outros	
Anti-histamínicos	Diuréticos tiazídicos
Contraceptivos orais	Haloperidol

Fontes: Alfred Googman Gilman, *et al.*, 2006; Lichtman, *et al.*, 2006; Tripathi, 2006; Giglio, *et al.*, 2007; Rang, *et al.*, 2007; Fauci, *et al.*, 2008; INFARMED, 2008; McPhee, *et al.*, 2009

6.1.1.6. Monitorização do efeito anticoagulante da Varfarina

Como já foi referido, o uso terapêutico da varfarina requer um equilíbrio cuidadoso das doses para o efeito anticoagulante pretendido: por um lado, uma dose subterapêutica que pode dar origem a episódios trombóticos, e por outro, uma sobredosagem que poderá dar origem a hemorragias.

O tratamento com varfarina é complexo, não apenas pelo efeito de cada dose ser máximo após, aproximadamente, dois dias da sua administração, mas também porque várias condições interferem e modificam a sensibilidade à varfarina, como já foi referido anteriormente. O efeito anticoagulante da varfarina é monitorizado através da dosagem do tempo de protrombina (TP), que é usualmente expresso como um *índice internacional normalizado*, *INR – International Normalized Ratio* (Rang, *et al.*, 2007; e Fauci, *et al.*, 2008)

TP e INR

O TP é o tempo necessário para ocorrer coagulação de sangue citratado após a adição de Ca^{2+} e tromboplastina padronizada de referência. É expresso como uma fracção do TP

do doente em relação ao TP de um conjunto de plasmas de indivíduos são que não fazem qualquer terapêutica.

Devido à variedade de tromboplastinas, são obtidos diferentes resultados em diferentes laboratórios, o que levou à necessidade de padronizar as medidas de forma internacional. Assim, cada tromboplastina recebe um índice de sensibilidade internacional (ISI) e o TP do doente é expresso como um INR, onde:

$$\text{INR} = (\text{PTd} / \text{PTm})^{\text{ISI}}$$

Sendo:

PTd – PT do doente

PTm – PT normal médio

Este tipo de normalização pode ser polémico para alguns, mas a verdade é que fornece resultados comparáveis quando um doente tem necessidade de fazer a determinação do INR em laboratórios diferentes, o que permite o ajuste da dose da varfarina de forma fiável e segura (Rang, *et al.*, 2007; e Katzung, *et al.*, 2009).

O INR a atingir depende do objectivo terapêutico que advém da história clínica do doente e o tempo de terapêutica também varia de situação para situação.

6.2. Farmacogenética e Varfarina

6.2.1. Variações genéticas relevantes na terapêutica com varfarina – CYP2C9 e VKORC1

Como já foi referido anteriormente, a varfarina é o anticoagulante oral mais prescrito, nomeadamente ao nível da Europa (Lee, *et al.*, 2007; McDonnell, 2007; Miao, *et al.*, 2007; Miyata, 2007). Embora apresente uma variabilidade inter e intra-individual ao nível do ajuste da dose terapêutica muito elevada a sua utilização aumentou drasticamente nos últimos 40 anos. A acrescer a este factor, este fármaco apresenta uma margem terapêutica muito estreita com episódios hemorrágicos frequentes (Carlquist, *et al.*, 2006; Lee, *et al.*, 2007; McDonnell, 2007; Miao, *et al.*, 2007; Miyata, 2007; Flockhart, *et al.*, 2008). A terapêutica com varfarina apresenta por isso dois grandes desafios:

.. em primeiro lugar, a estabilização da dose de forma segura e efectiva deverá ser feita nos primeiros meses de terapêutica,

.. em segundo lugar, a monitorização e manutenção das doses deverá ter em conta as alterações intrínsecas do doente como a alteração do peso corporal, da dieta, de doenças e terapêuticas concomitantes, entre outras (Rieder, *et al.*, 2005).

Tem sido considerado que a informação que advém da farmacogenética poderá ser, na terapêutica com a varfarina, uma mais-valia na optimização da dose eficaz e na minimização dos efeitos adversos. Actualmente, na prática clínica, os testes relacionados com a farmacogenética e a farmacogenómica são preconizados para apenas alguns fármacos, e a varfarina poderá ser um potencial e interessante fármaco candidato para a sua utilização (Miyata, 2007).

A maioria da informação que advém dos testes de farmacogenética e farmacogenómica é baseada no estudo de polimorfismos dos genes que codificam as enzimas responsáveis metabolização dos fármacos, os transportadores, os receptores (moléculas alvo de acção do fármaco), e proteínas envolvidas nas vias de sinalização (Miyata, 2007; e Vladutiu, 2008).

No caso da varfarina, os polimorfismos dos genes que codificam a enzima CYP2C9 (uma das enzimas responsáveis pelo metabolismo) e a subunidade 1 do complexo vitamina K-epóxido-redutase (VKORC1, enzima alvo do mecanismo de acção da

varfarina) afectam a farmacocinética e a farmacodinâmica deste fármaco e consequentemente o seu efeito anticoagulante (Flockhart, *et al.*, 2008; e Wu, *et al.*, 2008).

A variabilidade que advém da existência ou não destes polimorfismos, a acrescer aos factores que previamente foram referidos como interferentes na optimização da terapêutica com varfarina, como a idade, o sexo, o peso corporal, a etnia, a dieta, a terapêutica concomitante, as comorbilidades, entre outros (Rieder, *et al.*, 2005, Flockhart, *et al.*, 2008; McDonnell, 2007; Wu AC., 2008; e Meckley, *et al.*, 2008), tornam a utilização deste fármaco um desafio constante e com uma necessidade de monitorização muito exigente.

No entanto, a identificação dos polimorfismos referidos poderão ser uma ajuda adicional à definição da dose terapêutica para o doente que é avaliado, tentando abreviar as complicações hemorrágicas e/ou trombóticas que se obtêm por sobre ou subdosagens, respectivamente.

Podem existir duas situações clínicas relacionadas com a dose da varfarina: resistência e sensibilidade.

A resistência à varfarina é um cenário menos frequente que pode ser devido a mutações específicas no gene da VKORC1. Esta mutação torna a VKORC1 menos susceptível à inibição da varfarina. Os indivíduos heterozigóticos necessitam de um aumento significativo da dose (na ordem dos 80mg/semana) para que a dose seja efectiva (Miao, *et al.*, 2007; e Meckley, *et al.*, 2008).

O cenário mais frequente é a sensibilidade à varfarina que normalmente está associada a um INR>5. Neste caso, os indivíduos necessitam de uma diminuição na dose de varfarina e estão sujeitos a episódios hemorrágicos *major*, incluindo hemorragia cerebral, com um aumento da morbidade e da mortalidade (Flockhart, *et al.*, 2008).

6.2.1.1. Polimorfismos genéticos do CYP2C9

Já foi referido que a varfarina é uma mistura racémica (enantiómeros R- e S-), sendo a S-varfarina 5 vezes mais potente na sua acção terapêutica e responsável por 60 a 70% da resposta anticoagulante da varfarina (Miyata, 2007). É importante referir que as duas

formas isoméricas não são metabolizadas exactamente pelas mesmas enzimas do complexo enzimático do Cit. P₄₅₀. A S-varfarina é metabolizada primariamente pelo CYP2C9, e a R-varfarina é metabolizada principalmente pelos CYP3A4, 1A2 e 1A1 (Redman, *et al.*, 2004; Miyata, 2007; Flockhart, *et al.*, 2008; e Limdi, 2009).

As variações genéticas nos CYP2C9, 3A4, 1A2 e 1A1 podem potenciar a variabilidade na dose efectiva de varfarina. O mais estudado até hoje é o CYP2C9 que tem descritas mais de 50 variantes (Miyata, 2007). É provavelmente o mais importante na metabolização da varfarina, dado que é responsável por 80 a 85% do metabolismo da S-varfarina (Redman, *et al.*, 2004). Neste contexto, os polimorfismos CYP2C9*2 e CYP2C9*3 têm sido os mais amplamente investigados no que diz respeito à sua interferência na dose efectiva de varfarina (Redman, *et al.*, 2004; McDonnell, 2007; Miyata, 2007; e Limdi, 2009) e estão relacionados com a diminuição da actividade enzimática e consequentemente com uma redução da dose terapêutica necessária (Miao, *et al.*, 2007; e Meckley, *et al.*, 2008),

O alelo comum, a que corresponde uma resposta terapêutica “normal” à varfarina é o CYP2C9*1 (Miyata, 2007; Flockhart, *et al.*, 2008; Limdi, 2009). As duas outras variantes (*2 e *3), estão associadas a uma redução no metabolismo da varfarina. O polimorfismo CYP2C9*2 apresenta uma alteração das bases na posição 144, de arginina para cisteína (Arg144Cys), enquanto o polimorfismo CYP2C9*3 apresenta uma alteração das bases na posição 359, de isoleucina para leucina (Ile359Leu) (Miyata, 2007).

A capacidade máxima de metabolização do CYP2C9*2 é aproximadamente 50% da do alelo normal e o CYP2C9*3 apresenta uma *clearance* intrínseca baixa que diminuí em aproximadamente 90% a hidroxilação da S-varfarina (Miyata, 2007). Doentes com estas variantes necessitam por isso de doses de manutenção da terapêutica significativamente mais baixas, necessitando de mais tempo para a estabilização da dose e apresentando maior risco hemorrágico do que os doentes com o alelo comum - CYP2C9*1 (Rieder, *et al.*, 2005; e Meckley, *et al.*, 2008).

A associação directa entre o genótipo CYP2C9 e o efeito anticoagulante da varfarina foi referida pela primeira vez por Higashi *et al.*, em 2002, num artigo publicado no *Journal of the American Medical Association*. Posteriormente uma meta-análise sistemática (Sanderson, *et al.*, 2005) mostrou que os doentes que possuíam o polimorfismo CYP2C9*2 ou o CYP2C9*3 necessitavam de uma dose de manutenção inferior. Esta diferença era sobretudo mais marcada nos indivíduos portadores do CYP2C9*3 que

apresentavam uma redução na dose de varfarina que chegava aos 30%. Ainda assim, o risco de hemorragia dos indivíduos com estes genótipos (CYP2C9*2 e/ou *3) é aproximadamente o dobro dos que apresentam o alelo normal. Como metabolizam a varfarina de forma muito mais lenta podem sofrer episódios hemorrágicos com doses definidas como “normais” para o alelo mais comum - CYP2C9*1 (Miyata, 2007).

Os indivíduos portadores dos polimorfismos referidos (CYP2C9*2 e/ou *3) normalmente apresentam tempos de protrombina (PT) e valores de INR elevados e requerem muito tempo para a estabilização da dose terapêutica de varfarina, podendo até esse momento sofrer episódios hemorrágicos (Miyata, 2007).

Outras variantes do CYP2C9 foram recentemente identificadas: CYP2C9*5 (com 8% da capacidade de metabolização do CYP2C9*1) e o CYP2C9*6 - os estudos feitos revelam que é uma mutação nula, desprovida de actividade (Redman, *et al.*, 2004).

6.2.1.2. Polimorfismo genético do VKORC1

Como foi referido anteriormente, a enzima VKOR é o alvo do mecanismo de acção da varfarina (Flockhart, *et al.*, 2008). Ou seja, a varfarina bloqueia especificamente esta enzima evitando a formação dos factores da coagulação e a consequente cascata (McDonnell, 2007; Miao, *et al.*, 2007; Miyata, 2007).

A VKOR foi identificada pela primeira vez em 1974 mas o gene que a codifica, o VKORC1, apenas foi descoberto recentemente, em 2004. A deficiência congénita no VKORC1 traduz um fenótipo hemorrágico (Miyata, 2007).

As alterações genéticas do gene VKORC1, que afectam a farmacodinâmica da varfarina (Flockhart, *et al.*, 2008), têm sido referidas nos vários estudos como as responsáveis por variações de 20-25% na dose de varfarina (Flockhart, *et al.*, 2008; e Meckley, *et al.*, 2008).

Como já foi referido anteriormente, a função do VKORC1 é converter a vitamina K-epóxido (formada durante a carboxilação de proteínas), em vitamina K-quinona, permitindo o ciclo da vitamina K e a consequente formação de resíduos gama-carboxilglutâmicos de proteínas (incluindo os factores da coagulação). A deficiência em VKORC1 resulta em menos gama-carboxilação destas proteínas e portanto, numa

redução da produção de factores da coagulação. Esta deficiência leva ao aumento dos tempos de protrombina e dos valores de INR.

Foram várias as mutações identificadas neste gene em doentes que apresentavam resistência à varfarina. São exemplos: Val45Ala, Arg58Gly, Leu128Arg. Estas mutações afectam a função enzimática da VKOR levando a uma diminuição da produção de todos os factores da coagulação dependentes da vitamina K. Por vezes, estas mutações podem levar a uma não-resposta à terapêutica com varfarina (Miyata, 2007).

Na literatura são referidas maioritariamente 5 variantes para o gene VKORC1:

-1639G→A, 1173C→T, 1542G→C, 2255T→C e 3730G→A. A variação funcional identificada no VKORC1 é o promotor -1639G→A. Indivíduos com esta alteração expressam menos VKOR (Flockhart, *et al.*, 2008).

Outros polimorfismos identificados para o gene VKORC1 podem ser referidos: o 1173C>T no intrão 1 e o 3730G>A na região 3' não codificada (definida pela posição do nucleótido do lado que começa a tradução) (Miyata, 2007). A dose terapêutica de varfarina necessária é mais elevada (6,2mg/dia) nos doentes com o genótipo VKOCR1 1173CC do que nos doentes com o genótipo VKORC1 1173CT (4,8mg/dia) ou naqueles com genótipo VKOCR1 1173TT (3,5mg/dia) (Miyata, 2007).

Embora a influência dos vários polimorfismos do gene VKORC1 na variabilidade da resposta à terapêutica com varfarina actualmente seja alvo de muita pesquisa: 3730G/A [rs7294], 2255C/T [rs2359612], 1542G/C [rs8050894], 1173C/T [rs9934438], -1639G/A [rs9923231]), os mais estudados têm sido os 1173C/T e -1639G/A. Estes poderão estar associados a níveis baixos de RNA mensageiro.

6.2.2. Estado da arte - Análise de estudos relevantes

Neste capítulo, de forma a conhecer a evidência científica actual existente sobre a utilização da farmacogenética nos doentes anticoagulados com varfarina, fez-se uma pesquisa bibliográfica com o intuito de identificar os principais ensaios clínicos/estudos observacionais, revisões sistemáticas e meta-análises. Esta pesquisa pretendia responder à questão sobre qual o estado da arte ao nível da prática clínica na utilização do

conhecimento do genótipo no controlo das doses de varfarina em doentes a fazer terapêutica de longa duração. Foi efectuada entre Fevereiro e Junho de 2009.

A estratégia de pesquisa foi desenvolvida utilizando as palavras-chave – *pharmacogenetics/pharmacogenomics of warfarin, CYP2C9, VKORC1* – e efectuada nas bases de dados:

- . Pubmed,
- . Biblioteca do Conhecimento On-Line (B-ON) e
- . Cochrane Library.

Aos resultados desta pesquisa foram aplicados filtros de pesquisa de forma a identificar os estudos observacionais e/ou ensaios clínicos aleatorizados, meta-análises e revisões sistemáticas. Além disso, foram identificados também casos clínicos.

Os resumos dos estudos identificados foram analisados de forma a seleccionar quais os estudos a serem incluídos na análise.

Após a decisão dos estudos a incluir foram obtidos os artigos completos para serem analisados. A estratégia de pesquisa também incluiu a consulta de referências dos estudos identificados.

Como critérios de inclusão para análise definiram-se:

- . estudos que avaliam a influência da genotipagem dos indivíduos, relativamente aos genes VKORC1 e/ou CYP2C9, na resposta à terapêutica com varfarina;
- . estudos que avaliem algoritmos que tenham em conta o factor genético no ajuste da dose de varfarina
- . meta-análises e/ou revisões sistemáticas;
- . casos clínicos;
- . publicações entre 2004 e 2009.

Como critérios de exclusão definiram-se:

- . editoriais, cartas ou artigos de opinião,
- . artigos de revisão,
- . estudos que não estejam publicados em inglês e português,
- . estudos anteriores a 2004.

Após a aplicação da estratégia de pesquisa foram seleccionados 11 artigos que serão resumidos de seguida.

Estudos Observacionais

Rieder et al, 2005

É um estudo retrospectivo publicado no *New England Journal of Medicine*, em Junho de 2005 e que incluiu doentes que faziam terapêutica de longa duração com varfarina.

Os objectivos deste estudo incluíam a determinação dos polimorfismos, em regiões não-codificadas, ou as combinações de haplotipos únicos do gene VKORC1 que contribuem para a variabilidade das doses de manutenção da varfarina, provar que existiam diferenças específicas das etnias, ao nível da dose de varfarina, e investigar os mecanismos moleculares relacionados com os efeitos do VKORC1.

As frequências dos haplotipos no gene VKORC1 foram determinadas em populações com ascendência africana, europeia e asiática, a viver na América. Além disso, foi ainda analisado o RNA mensageiro (RNAm) dos indivíduos.

Neste estudo os resultados foram analisados com o objectivo de determinar o efeito dos haplotipos do gene VKORC1 nas doses de varfarina. Foram identificados dois grupos: um grupo (A) com haplotipo denominado “baixa-dose” e um outro grupo (B) com haplotipo denominado “alta-dose”. A dose de manutenção de varfarina diferia significativamente entre os 3 grupos combinados: $2,7 \pm 0,2$ mg por dia para o grupo A/A, $4,9 \pm 0,2$ mg por dia para o grupo A/B e $6,2 \pm 0,3$ mg por dia para o grupo B/B ($p < 0,001$). Verificou-se ainda que a população americana com ascendência asiática tem maior proporção do haplotipo do grupo A, e os afro-americanos uma maior proporção do haplotipo B. Os níveis de RNAm de VKORC1 variam de acordo com a combinação do haplotipo.

Este estudo da Universidade de Washington conclui que é possível usar os haplotipos do gene VKORC1 para estratificar os doentes segundo as doses de varfarina que necessitam: “dose-baixa”, “dose-intermédia”, e “dose-alta”. Esta diferença poderá, segundo os autores, explicar as diferenças de dose entre doentes com ancestrais diferentes. A acrescer a estas considerações, consideram também a hipótese do mecanismo molecular dose-resposta da varfarina poder ser regulado pelo nível de transcrição.

Foram definidas duas sub-populações:

- a população primária, constituída por doentes que previamente participaram num estudo que pretendeu analisar a associação entre as variações do CYP2C9 e os níveis de anticoagulação, e em que os critérios de inclusão dos doentes no estudo foram definidos (confirmação da data de início de terapêutica com varfarina, terapêutica anticoagulante actual, e idade superior a 18 anos) assim como, os critérios de exclusão foram também explicitados (descendentes de africanos ou asiáticos, doentes que faziam a monitorização da dose pelo telefone, ausência de consentimento informado assinado), ficando uma amostra de 186 indivíduos elegíveis para participar no estudo;

- a população secundária, constituída por indivíduos maiores de 18 anos, cuja monitorização da dose terapêutica de varfarina era efectuada numa clínica da University of Washington Medical Center. Os critérios de exclusão foram também definidos (origem ancestral não-europeia, ausência de consentimento informado assinado) e os 47 indivíduos incluídos na amostra foram seguidos de forma prospectiva. Estes doentes tinham começado recentemente a terapêutica com varfarina e ainda não tinham atingido a dose de manutenção.

Os dados clínicos dos doentes foram recolhidos através da revisão dos processos clínicos dos doentes - informação dos valores de INR, dose diária de varfarina, e terapêutica concomitante prescrita e não prescrita. Na população secundária os dados recolhidos incluíam também informações relacionadas com a dieta.

A dose de manutenção diária de varfarina foi definida como a dose que o doente fazia ao fim de 3 visitas clínicas consecutivas e que permitia um valor de INR dentro da margem terapêutica.

Nos resultados deste estudo na população primária obtiveram-se 28 SNPs em regiões não codificadas (correspondente aos 186 doentes que constituíam a amostra) e um doente heterozigótico que foi o doente com a dose de manutenção de varfarina mais elevada dentro desta sub-população (15,5 mg/dia).

Foram feitos testes individuais para cada SNP que revelaram que 7 SNPs específicos (alterações em 7 posições distintas: 381, 3673, 5808, 6484, 6853, 7566, 9041) estavam significativamente associados com a dose de varfarina ($p < 0,001$). Cinco destes SNPs (nas posições 381, 3673, 6484, 6853, 7566) foram considerados os mais preditivos (de aproximadamente 25% das variações na dose de varfarina). Na mesma análise, o genótipo do CYP2C9 contribui com 10% na variabilidade nas doses de varfarina.

Os investigadores deste estudo concluíram que na população primária aproximadamente 25% da variabilidade na dose de varfarina é explicada pelo haplotipo do gene VKORC1

isoladamente. No entanto, foi necessária uma verificação independente de uma associação genética para determinar a sua validade e importância. Por isso replicou-se a associação numa segunda população clínica em que 21% da variância é explicada pelo VKORC1. O grupo do haplotipo A é preditivo de um fenótipo de baixa dose e é relativamente comum na população americana com ancestrais asiáticos. Este facto suporta a hipótese de que a associação entre as origens ancestrais e as doses de varfarina têm, em parte, o efeito do haplotipo do gene VKORC1. Por outro lado, dados da literatura revelam que a prevalência do grupo do haplotipo B é relativamente elevada na população afro-americana, dando razão ao aumento de dose necessário nesta população. Embora o gene CYP2C9 explique 6 a 10% da variabilidade nestas duas amostras de doentes, o haplotipo do gene VKORC1 aparece como o factor genético mais importante e determinante na variabilidade da dose de varfarina – nas 2 populações este efeito é aproximadamente 3 vezes maior do que o genótipo do gene CYP2C9.

Estes dados também sugerem que a análise do gene VKORC1 poderá ser uma componente essencial para estudos prospectivos na investigação que visa identificar o valor da genotipagem na terapêutica com varfarina.

Ainda assim, os autores são cuidadosos na conclusão destes dados e sugerem que serão necessários estudos adicionais com doentes com ascendência africana e asiática, a fazer terapêutica com varfarina, para confirmar as associações entre os haplotipos do gene VKORC1 e as doses de varfarina nestas populações.

Carlquist et al, 2006

Trata-se de um estudo prospectivo sobre a genotipagem dos genes CYP2C9 e VKORC1 para a determinação de uma dose estável de varfarina, publicado em 2006 no *European Journal of Clinical Pharmacology*. Neste estudo é colocada a hipótese de que variantes destes dois genes poderão explicar uma parte substancial da variabilidade das doses de varfarina, podendo a genotipagem ser usada como base para melhorar os algoritmos já existentes.

A amostra incluiu 213 doentes, com valores de INR estáveis (entre 2 e 3) há pelo menos 1 mês, com trombose venosa profunda (n=107) e com fibrilhação auricular (n=106). Nestes indivíduos foram recolhidas amostras de DNA na mucosa bucal para a genotipagem dos genes CYP2C9 e VKORC1. Foram também avaliados vários factores clínicos, como a medicação concomitante que se sabe que prolonga o tempo de

protrombina (como a amiodarona e os inibidores selectivos da ciclooxigenase 2), e outros factores clínicos como a idade, o sexo, o peso, por forma a não constituírem variáveis de confundimento na análise genotípica da dose de varfarina.

Ao nível dos resultados, a dose média semanal de varfarina é de $30,8 \pm 13,9$ mg/semana (aproximadamente $4,4 \pm 2,0$ mg/dia) e os valores de INR variam, em média, entre $2,42 \pm 0,72$.

A análise estatística neste estudo foi feita separadamente relativamente aos genes CYP2C9 e VKORC1. Em relação ao gene CYP2C9 foram analisadas as frequências de cada alelo CYP2C9*2 (C e T) e CYP2C9*3 (A e C), e além disso foram analisadas as frequências do genótipo de cada alelo.

Tabela 12: Resumo das Frequências dos Alelos e do Genótipos CYP2C9*2 e CYP2C9*3

	Frequências do alelo	Frequências do Genótipo	Dose de manutenção
CYP2C9*2	C 90,6%	CC 81,5%	31,8mg/semana
	T 9,4%	CT 18,5%	26,6mg/semana
		TT 0,0%	
CYP2C9*3	A 94,8%	AA 89,9%	31,9mg/semana
	C 5,2%	AC 10,1%	21,4/semana
		CC 0,0%	

Legenda: Para as duas variantes. *2 e *3, os indivíduos heterozigóticos têm doses de manutenção significativamente menores do que os indivíduos com o alelo comum. Para os *2 a dose semanal para o genótipo CC foi de 31,8mg/semana versus 26,6mg/semana para o CT ($P < 0,004$).

Para a variante *3, a dose semanal para o genótipo AA foi de 31,9mg/semana versus 21,4/semana para o AC ($P < 0,001$).

Combinando os dois *loci*, CYP2C9*2 e *3, seriam possíveis 9 genótipos. Destes só 4 foram observados: CC/AA=71,4%, CT/AA=18,3%, CC/AC=9,4%, e CT/AC=1%.

Em relação ao genótipo VKORC1 verificou-se a seguinte distribuição: CC=36,6%, CT=50,7% e TT=12,7%.

Indivíduos com uma, ou com ambas, as variantes genéticas tendem a necessitar de uma dose de varfarina de manutenção mais reduzida e necessitam de mais tempo para atingirem uma dose estável. Até atingirem esta dose estável apresentam tempos de protrombina mais elevados e acima da margem terapêutica, estando mais susceptíveis a

efeitos hemorrágicos quando comparados com indivíduos com o genótipo comum (CYP2C9*1/*1).

Os resultados comprovam que as doses de varfarina variam com o genótipo: CYP2C9 (CC/AA)=33,3mg/semana, (CT/AA)=27,2mg/semana, (CT/AA)=23,0mg/semana, (CT/AC)=6,0mg/semana; e VKORC1: 38,4mg/semana para o genótipo (CC), 28,6mg/semana para o (CT) e 20,95mg/semana para o (TT).

Na análise estatística dos resultados, o genótipo foi o factor predominante para a predição da dose de varfarina. Outros factores foram tidos em conta mas com menor expressão (o peso, a idade e o sexo). O modelo baseado na genotipagem explica cerca de 33% da variação da dose, comparado com 12% dos factores referidos isoladamente.

Neste estudo prospectivo, indivíduos portadores de variantes simples ou duplas do gene CYP2C9 reduzem as doses de varfarina de 18 a 72%, e as variantes do gene VKORC1 fazem variar as doses em 65%. Ou seja, este modelo pretende explicar quase metade da variação da dose. Sugere ainda que um algoritmo quantitativo da dose que incorpore os genótipos CYP2C9 e VKORC1 pode aumentar substancialmente o acerto da dose inicial de varfarina e reduzir as complicações inerentes a doses não ajustadas a cada doente em particular.

As doses de varfarina também variam significativamente quando o genótipo combina os dois-locus (CYP2C9*2/*3): a dose para o alelo comum (CC/AA) foi de 32,2mg/semana comparada com 27,2mg/semana para CT/AA, 3,28mg/semana para CC/AC, e 6,0mg/semana para CT/AC, representando reduções na dose de 18-31% para os *single* e 82% para duplos portadores de alterações.

É de referir que, neste estudo, 29% do total do número de doentes são portadores de pelo menos uma variante.

Em relação à variação da dose de varfarina com o genótipo VKORC1, os portadores do alelo comum (CC) necessitaram aproximadamente 38,4mg/semana, que diminui 25% para os heterozigóticos (CT) o que corresponde a 28,6mg/semana ($p<0,001$), e 45% para os homozigóticos (TT) o correspondente a 20,9mg/semana ($p<0,001$).

Este estudo tende a demonstrar que o conhecimento de 3 SNPs em 2 genes podem explicar a contribuição quase 4 vezes superior da variação inter-individual da dose de varfarina quando comparado com os factores clínicos isolados (33,2 vs 12%).

A amostra reduzida deste estudo foi apontada como uma limitação porque não permite reflectir a magnitude das reduções na dose de varfarina provocadas pelas variações genéticas referidas.

Ainda assim, na perspectiva dos autores são necessários mais estudos prospectivos de genotipagem para se estabelecer definitivamente a superioridade deste método sobre o modelo empírico. Outra situação que necessita ser comprovada com outros estudos é a possibilidade da aplicação deste método poder reduzir o tempo de ajuste de dose, conseguindo-se mais facilmente e em menos tempo atingir os valores terapêuticos de INR (reduzindo também as determinações deste parâmetro) e diminuir a frequência de efeitos adversos (complicações hemorrágicas ou eventos tromboembólicos).

Miao et al, 2007

Este estudo, também publicado pelo *European Journal of Clinical Pharmacology*, em 2007, foi realizado na China e pretendeu analisar a contribuição da idade, peso corporal, genótipo do CYP2C9 e do VKCOR1 na resposta à varfarina, propondo um novo regime de dose para doentes chineses. Participaram no estudo 178 doentes que tinham as doses de varfarina estabilizadas e que tinham valores de INR dentro dos intervalos terapêuticos (entre 1,5 e 3,0). Neste sentido, definiu-se como doente estável aquele em que a dose de varfarina se mantinha constante há pelo menos 3 consultas, num período mínimo de 3 meses e com INR dentro do intervalo terapêutico. Os polimorfismos destes doentes para os genes CYP2C9 (CYP2C9*3) e VKORC1 (-1639GA) foram analisados, assim como os valores de INR e a concentração de varfarina no plasma (nomeadamente a fracção não ligada).

Na população analisada 149 doentes (83,7%) eram homozigóticos (AA) para o gene VKOCR1 (-1639G>A), 28 (15,7%) eram heterozigóticos (GA) e um deles era homozigótico para o genótipo GG. Em relação ao alelo CYP2C9*3, 162 (91%) doentes eram homozigóticos (*1/*1) e 16 (9%) eram heterozigóticos (*1/*3).

Os doentes com genótipo VKORC1 (-1639 GG+GA) ($3,32 \pm 1,02$ mg/dia) e com CYP2C9*1/*1 ($2,06 \pm 0,82$ mg/dia) necessitavam uma dose de varfarina significativamente mais elevada do que os doentes com genótipo VKORC1 (-1639AA) ($1,76 \pm 0,57$ mg/dia; $p < 0,001$) ou com CYP2C9*1/*3 ($1,60 \pm 1,29$ mg/dia; $p < 0,001$). O único doente com genótipo GG necessitava de uma dose de manutenção de 6,25mg/dia. As concentrações de varfarina e de varfarina não ligada foram menores para os doentes com genótipo AA ($p < 0,001$ para os dois casos). Para o caso do genótipo do CYP2C9 não houve diferenças nas concentrações de varfarina e de varfarina não ligada.

O sexo não foi factor significativo nas diferenças de dose diária de varfarina (mulheres 2,01mg/dia; homens 2,02mg/dia; $P>0,05$).

O modelo estatístico utilizado para analisar a dose de varfarina indicou contribuições significativas para os vários factores em conjunto (a idade, o peso corporal e o genótipo do VKORC1 e CYP2C9) – variações na ordem dos 63% na dose diária de varfarina.

O estudo apontou ainda para diminuições na dose, de aproximadamente 0,2mg por cada década, entre as idades de 10 aos 90 anos, não relacionada com o peso ou com o genótipo.

Neste modelo o genótipo CYP2C9*3 só conseguiu explicar 1,7% da variabilidade interindividual. E os indivíduos com genótipo comum, CYP2C9*1/*1, necessitaram doses significativamente mais elevadas do que os doentes com CYP2C9*1/*3 ($p<0,001$).

No mesmo estudo o genótipo VKORC1 explicou cerca de 49,4% da variabilidade interindividual nas doses de varfarina, tendo tido uma maior contribuição na estimativa das doses terapêuticas. As diferenças na sensibilidade à varfarina entre doentes com genótipo AA e GG (VKORC1) foram sugeridas por alterações na região promotora do gene VKORC1: o facto de os indivíduos com genótipo -1639 GG necessitarem de uma dose superior de varfarina poderá ser explicado pelo facto de, quando a região promotora do gene VKORC1 está aumentada a transcrição do VKORC1 no RNAm está aumentada. Um nível elevado de VKORC1 RNAm pode levar a elevada actividade do VKORC1 e em última análise, poderá resultar numa dose superior de varfarina para alcançar o efeito anticoagulante necessário.

Os autores apontam para que o uso de regimes de ajuste de terapêutica com varfarina que têm em conta a idade, o peso e o genótipo dos genes referidos aumentam a segurança do uso da varfarina, mas sugerem mais estudos prospectivos para que algoritmos que incluam factores como a idade, o peso, o genótipo, tenham evidência significativa e sejam assim aplicados na prática clínica, para a individualização da terapêutica com varfarina no início e na fase de manutenção.

Meckley et al, 2008

É um estudo retrospectivo que incluiu 172 doentes anticoagulados que foram estudados desde o início da terapêutica com varfarina. O objectivo deste estudo americano, que foi publicado em Julho de 2008 no *Blood Coagulation, Fibrinolysis and Cellular*

Haemostasis, foi avaliar a influência relativa das variantes dos genótipos do VKORC1 e do CYP2C9 não só nos resultados do tratamento anticoagulante, como também na estabilização da dose.

Foram avaliados os seguintes *outcomes*: tempo necessário para estabilizar a dose, tempo que os doentes permaneceram com os valores de INR acima e abaixo dos valores terapêuticos; a probabilidade de sobre-anticoagulação (INR>5); a frequência de visitas clínicas; a contribuição da genética para a manutenção da dose.

Doentes com variantes do gene CYP2C9, comparados com os que não tinham estas variantes, atingiram a dose estável 48% mais tarde ($p < 0,01$), passando a maior parte do tempo acima da margem terapêutica no primeiro mês de terapêutica (14% vs 25%, $p=0,07$), tendo uma maior razão de prevalência de INR>5. Em contraste, o único efeito estatisticamente significativo relacionado com o gene VKORC1 foi uma elevada razão de prevalência do INR>5 ($P=0,03$) para os doentes homocigóticos (AA) comparados com os heterocigóticos. Não foi detectada a influência dos genes CYP2C9 ou VKORC1 na frequência das visitas clínicas. As variações dos genes CYP2C9 e VKORC1 isoladas e em conjunto e a sua combinação com os factores clínicos explicaram 12%, 27% e 50%, respectivamente, da variação da dose de manutenção de varfarina.

Neste estudo foram excluídos doentes de raça africana e asiática e menores de 18 anos. Os valores de INR foram recolhidos em todas as visitas clínicas. A comparação em relação ao gene VKORC1 foi feita entre os haplotipos AA (“dose baixa”), AB (“dose intermédia”), e BB (“dose elevada”). O grupo AB é o grupo de referência. Foi escolhido este grupo de referência porque necessitava de uma dose média de 5mg/dia, sendo esta a dose mais comum (dose padrão) na terapêutica com varfarina.

Os grupos do genótipo VKORC1 foram considerados tendo em conta os SNPs -4931, (rs7196161), -1639 A>G, +1173 T>C (rs9934438), +1542 C>G (rs8050894), e +2255C>T (rs2359612). As variantes identificadas do genótipo CYP2C9 foram *1/*1 (alelo comum – grupo de referência), *1/*3, *2/*2, *2/*3, *3/*3 e *1/*11.

A estabilidade da dose de varfarina foi definida como a dose que se mantém constante em 3 consultas consecutivas com valores de INR dentro do intervalo 2-3 ($\pm 0,2$), à excepção dos doentes com cirurgia valvular cujo intervalo varia entre 2,5-3,5 ($\pm 0,2$).

O tempo de seguimento foi medido em dias, desde a toma da primeira dose até à terceira medição de INR. As potenciais variáveis de confundimento consideradas foram: a idade, peso corporal, sexo, medicação concomitante e o genótipo.

O tempo médio para estabilizar a dose foi de 55 dias para os doentes com a variante CYP2C9*1/*1 e 106 dias para os doentes com as variantes CYP2C9*2 ou *3. O tempo médio para estabilizar a dose dos doentes com o haplotipo VKORC1 BB (“dose elevada”) foi de 76 dias, de 72 dias para os doentes com haplotipo VKORC1 AB (“dose-intermédia) e de 36 dias para os doentes com haplotipo VKORC1 AA (“dose baixa”). No primeiro mês de terapêutica com varfarina os doentes VKORC1 BB passaram 37% do tempo abaixo da margem terapêutica, em comparação com os VKORC1 AA que passaram apenas 19% do tempo abaixo dessa margem.

A média de visitas dos doentes no primeiro mês foi de 5,3, de 8,7 nos primeiros 3 meses e de 12,8 nos primeiros 6 meses.

Não foi registada variação nem diferenças estatisticamente significativas no número de visitas entre as variantes do gene CYP2C9 e a variante comum, nem entre os grupos dos diferentes haplotipos VKORC1: AA, AB e BB.

Ao longo do primeiro mês de terapêutica com varfarina, 7% do número total de doentes tiveram pelo menos uma vez o INR>5. Aos 3 meses e aos 6 meses de terapêutica a percentagem de doentes que teve pelo menos uma vez o INR>5 foi de 8,7% e ,9% respectivamente. Durante o primeiro mês de terapêutica os doentes com haplotipo VKORC1 AA (“dose-baixa”) eram os mais susceptíveis de estarem sobre-anticoagulados quando comparados com o haplotipo AB. Foram registados 31 episódios hemorrágicos neste estudo.

Em relação à estabilização da dose ficou demonstrado que dependia sobretudo do *status* do VKORC1, e as variantes do CYP2C9 parecem ter uma associação mais forte a efeitos clínicos associados, como o risco de hemorragia, a sobre-coagulação, o tempo para estabilizar a dose.

A expressão das variantes CYP2C9*2 e *3 resultaram num aumento de 39% e 112%, respectivamente, do tempo de semi-vida da varfarina. Os tempos de semi-vida aumentados podem resultar numa dificuldade acrescida no ajuste da dose no período inicial, devido ao tempo acrescido que o doente necessita para responder a alterações da dose. Os doentes com variantes CYP2C9 tendem a passar mais tempo acima do intervalo terapêutico de valores de INR, especialmente no primeiro mês de terapêutica, e têm também por isso um risco acrescido de hemorragia.

O estudo sugere ainda que o conhecimento do genótipo VKORC1 pode aumentar as possibilidades de ajuste da dose inicial, isto porque permite aos médicos tratar os doentes com haplotipo BB (“dose elevada”) com doses mais ajustadas, diminuindo

neste grupo o risco de eventos tromboembólicos e permitindo que estes doentes atinjam valores terapêuticos de INR mais rapidamente. A esta situação está inerente uma diminuição dos custos.

Apesar destas conclusões, os autores referem as limitações do estudo: o facto de ser um estudo coorte retrospectivo a amostra pode ser tendenciosa, uma vez que os doentes incluídos faziam terapêutica de longa duração com varfarina, o que pode ter permitido que os padrões da prática clínica possam ter variado várias vezes ao longo desse tempo; além disso, dados relacionados com as variáveis de potencial confundimento estavam indisponíveis (dieta e medicação concomitante), o que condiciona à partida a validade dos resultados obtidos. Há a registar também, limitações ao nível do número de doentes na amostra nomeadamente, o facto de só existirem 22 doentes com a variante VKORC1 AA (“dose baixa”).

Em conclusão, este estudo sugere que as variações nos genes VKORC1 e CYP2C9 têm diferente influência nos *outcomes* da terapêutica com varfarina (eventos hemorrágicos e tempo para atingir intervalos terapêuticos). Esta diferença poderá ser devida, em parte, a factores farmacocinéticos (por exemplo, tempos de semi-vida), que são influenciados primariamente pelo CYP2C9. No entanto os autores sugerem mais estudos para que estas situações possam ser confirmadas.

Wu et al, 2008

Com base no pressuposto, amplamente publicado na literatura, de que os polimorfismos nos genes CYP2C9 e VKORC1 afectam a farmacocinética e a farmacodinâmica da varfarina, foi desenvolvido e validado neste estudo (publicado na revista *Pharmacogenomics* em 2008), um algoritmo da dose de varfarina, para uma população com múltiplas etnias, que pretende auxiliar a pré-definição da dose de varfarina para uma estabilização mais eficaz do efeito anticoagulante.

Participaram 92 doentes norte-americanos (afro-americanos, asiáticos e latinos) a fazer terapêutica com varfarina, em que foram determinadas as frequências dos alelos CYP2C9 e VKORC1. Nesta amostra foi desenvolvida uma equação que pretendeu determinar a dose necessária para manter os níveis terapêuticos de anticoagulação e que teve em conta as variáveis demográficas e genóticas. Foi validada contra um grupo de indivíduos saudáveis.

A variante CYP2C9*2 neste estudo foi mais frequente entre os caucasianos e estava ausente nos asiáticos e nos latinos. A prevalência deste alelo na população foi de 7,5%; a prevalência total do CYP2C9*3 foi de 5% entre os caucasianos e asiáticos ocidentais e de 3,9% na população total; a prevalência encontrada dos polimorfismos CYP2C9*2 e *3 entre os africo-americanos e latinos foi baixa; foram identificados 4 indivíduos com um alelo raro do CYP2C9 (todos homens). Para os indivíduos com genótipo *1/*3 a dose média foi de $3,1 \pm 1,4$ mg, sendo mais baixa que a dos genótipos *1 e *2 (não atingindo no entanto uma diferença estatisticamente significativa: $p=0,069$).

Para o polimorfismo VKORC1 3673G/A a frequência do alelo G foi muito superior na população afro-americana (88%), intermédia nos caucasianos e nos latinos (59% e 52%) e baixa entre os asiáticos (12%). Os doentes com estes polimorfismos também necessitaram de doses mais baixas ($2,6 \pm 1,6$ mg, $P < 0,0001$).

A amostra deste estudo é muito heterogénea ao nível da etnia (mais até do que as populações de estudos prévios), mas muito pequena. Muitos doentes faltaram às consultas de rotina e à determinação dos valores de INR, além disso a população não aderiu às recomendações relativas à ingestão de dieta com vitamina K.

Ainda assim, este estudo verificou diferenças significativas nas doses de varfarina entre as várias etnias, especialmente entre os asiáticos *versus* as outras etnias, e também entre os afro-americanos *versus* os latinos.

Limdi et al, 2009

Este estudo recentemente publicado na revista *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, pretendeu demonstrar a influência dos genes CYP2C9 e VKORC1 na resposta à varfarina nos primeiros 30 dias de terapêutica. Mais especificamente: avaliar a influência do CYP2C9 e do VKORC1 na taxa de aumento do INR, a percentagem de determinações do INRs dentro do intervalo terapêutico, e o risco de sobre-coagulação. É um estudo coorte prospectivo com um período de *follow-up* de 2 anos. Os doentes que foram incluídos eram maiores de 20 anos, necessitavam da terapêutica com varfarina durante 2 ou mais anos, e o intervalo terapêutico do INR a atingir estava entre 2 e 3. Foram recolhidos dados relacionados com estilo de vida, medicação concomitante, história clínica, peso corporal, idade, sexo, hábitos tabágicos, consumo de álcool, actividade física, dieta e ingestão de vitamina K na dieta. Não havia diferenças

significativas na idade, indicação da terapêutica, comorbilidades, proporção de homens, fumadores.

A dose de varfarina foi determinada determinada em 250 afro-americanos e em 271 europeu-americanos. A influência do genótipo CYP2C9 (*2,*3,*5,*6 e *11) e do genótipo VKORC1 C1173T na taxa de aumento do INR, na manutenção do efeito anticoagulante, no risco de sobre-anticoagulação, e nas alterações da dose durante os 30 dias iniciais da terapêutica, foi avaliada depois do ajuste da dose ter sido feito tendo em conta os factores sócio-demográficos e clínicos.

Verificou-se que a presença da variante do gene VKORC1 (\pm a variante do gene CYP2C9) estava associada a maior frequência de ajuste da dose. Os euro-americanos que possuíam a variante no genótipo VKORC1 (\pm CYP2C9) tiveram maior risco de sobre-anticoagulação, ao contrário dos afro-americanos. Verificou-se também neste estudo que nem o gene VKORC1 nem o CYP2C9 influenciaram o risco *minor* de hemorragia.

Por outro lado, a presença dos genes CYP2C9 e VKORC1 explicaram, na população do estudo, 6.3% das variações de dose nos primeiros 30 dias de terapêutica, demonstrando a utilidade da genotipagem para o acerto de dose da varfarina para além do primeiro dia de terapêutica.

Para os alelos testados do gene CYP2C9 os alelos *5, *6 e *11 apenas foram observados nos afro-americanos, enquanto o *2 e *3 são observados nas 2 sub-populações. As variantes do genótipo do CYP2C9 são mais comuns nos europeu-americanos do que nos afro-americanos (33% vs 11%, $p < 0,0001$). Verifica-se também uma frequência mais elevada da variante VKORC1 C1173T (60,4% vs 20,1%, $p < 0,0001$) nos europeu-americanos assim como, uma maior prevalência de múltiplas variantes (variantes no genótipo CYP2C9 e VKORC1).

O tempo mediano para atingir o INR terapêutico foi de 9 dias. A capacidade para atingir este INR é significativamente maior nos doentes apenas com a variante do gene VKORC1 (mediana de 6 dias), e ainda mais rápida nos doentes com variantes nos 2 genes, CYP2C9 e VKORC1 (mediana de 5 dias), quando comparada com os doentes com variantes apenas no gene CYP2C9 (mediana de 12,7 dias) e nos doentes sem variantes nos alelos CYP2C9 e VKORC1 (mediana de 12,3).

Concluiu-se que a taxa de variação do INR é significativamente influenciado pela posse de alelos variantes nos genes CYP2C9 e VKORC1 em análises uni e multivariadas ($p < 0,0001$). Nem os factores sócio-demográficos (idade, sexo, consumo de álcool,

tabagismo...) nem a medicação concomitante influenciam a taxa de aumento do INR. Por outro lado, a elevada comorbilidade, a dose média de carga, e o peso corporal apresentam influência estatística marginal.

Como este é um estudo observacional prospectivo, a determinação da dose foi feita com base nas características demográficas e clínicas com ajustamento das doses sem conhecimento prévio do genótipo. As doses iniciais de varfarina determinadas pelos médicos que fizeram o acompanhamento reflectiram um padrão com 61% dos doentes a receberem 5mg/dia (dos restantes: 17,5% receberam 2,5mg, 3,5% receberam 7,5mg, 10,5% receberam 10mg, e 7,5% receberam outra dose).

Análises variadas demonstraram uma associação forte entre o genótipo e a dose no tempo inicial (considerando este como o tempo que foi necessário para atingir a dose de varfarina que permitiu o primeiro valor terapêutico de INR), e entre o genótipo e a dose no 30º dia do estudo ($p < 0,0001$ para europeu e afro-americanos). Mais análises múltiplas demonstraram influência significativa das variantes do genótipo nas duas raças (valores de $p < 0,0004$).

Entre os euro-americanos variantes apenas no gene VKORC1 ($p < 0,0001$), ou no gene CYP2C9 isoladamente ($p = 0,0004$) e nos genes em conjunto (VKORC1±CYP2C9) ($p < 0,0001$), estiveram associadas a reduções significativas nas doses (27%, 26% e 50% respectivamente). Entre os afro-americanos estiveram também associadas a reduções significativas na dose (24% e 80% respectivamente). A posse da variante isolada do gene CYP2C9 nesta população não teve uma redução estatisticamente significativa.

Entre os doentes com os genótipos comuns dos genes CYP2C9 e VKORC1, a dose no dia 1 foi significativamente mais baixa (aproximadamente 0,5mg/dia), do que a dose de manutenção alcançada no dia 30. Entre os doentes com as variantes dos genes CYP2C9 e VKORC1, a dose no dia 1 foi significativamente mais elevada (aproximadamente 2mg/dia), do que a dose de manutenção no dia 30. Estes dados sugerem ser consistentes com a contribuição dos genes CYP2C9 e VKORC1 de 6,3% na variação de doses (dose dia 30 – dose dia 1).

Nos primeiros 30 dias os doentes portadores de variações em ambos os genes e os doentes portadores apenas da variante VKORC1 tiveram uma maior frequência de visitas clínicas e o ajuste de dose teve que ser feito com mais frequência. Entre os doentes sem variantes, 54% dos ajustes de dose de varfarina necessitaram uma diminuição da dose, enquanto 46% requereram um aumento.

Os ajustes de dose que mais frequentemente envolveram a diminuição da dose registam-se nos doentes com variantes nos genótipos VKORC1 (80%), CYP2C9 (67%) e VKORC1+CYP2C9 (89%). Depois de atingir o primeiro valor terapêutico de INR, a percentagem de valores de INR no intervalo terapêutico (até ao fim dos 30 dias), foi maior entre os doentes sem variantes comparado com os que possuíam variantes CYP2C9, variantes VKORC1 e variantes CYP2C9+VKORC1.

Neste estudo, os doentes que atingiram os valores terapêuticos de INR em menos de 5 dias estavam significativamente mais dispostos a terem valores de INR<2 ($p=0,02$), menos dispostos a manter os valores de INR em níveis terapêuticos ($p=0,0002$), e mais dispostos a ter valores de INR>3 ($p=0,04$). Neste ponto, a influência dos genótipos CYP2C9 e VKORC1 não foram estatisticamente significativos ($p>0,12$).

Foram registados 158 episódios hemorrágicos em 124 doentes, nos primeiros 30 dias de terapêutica. Este efeito foi menos frequente entre os doentes sem variantes e mais frequente em euro-americanos (98 episódios em 78 doentes) do que nos afro-americanos (60 episódios em 46 doentes), mas não diferiu entre sexos. Nas duas subpopulações as hemorragias foram mais frequentes entre doentes com variantes no genótipo VKORC1.

Foram registadas 37 hemorragias *minor* em 28 doentes durante o primeiro mês de terapêutica. Não houve diferenças na ocorrência destas hemorragias entre as duas subpopulações, nem os genótipos CYP2C9 e VKORC1 influenciaram o risco destes eventos.

Este estudo prospectivo sugere que na população em análise a posse de variantes do gene VKORC1 esteve associada com uma redução significativa da dose nas duas etnias, enquanto a posse de variantes CYP2C9 esteve associada a reduções significativas nas doses de varfarina só na população europa-americana.

Entre os doentes que possuíam variantes isoladas dos genes VKORC1 e CYP2C9 a dose inicial (baseada nos critérios clínicos e demográficos) foi aproximada da dose ao fim dos 30 dias iniciais de terapêutica. Tanto os doentes sem alelos variantes como os doentes que possuíam as duas variantes em simultâneo, necessitaram de um ajuste de dose mais significativo ao fim dos 30 dias. Ao fim deste período de tempo, a variante no gene VKORC1 esteve também associada a um difícil controlo do efeito anticoagulante.

Os autores concluíram que o benefício da prescrição com base na genotipagem pode ser alargado além dos primeiros dias de terapêutica. A incorporação da informação genética depois da toma de algumas doses permitiu ainda de forma atempada a diminuição do

risco de hemorragia, aumentando o controlo do efeito anticoagulante e aumentando a eficácia da terapêutica com varfarina.

Segundo os autores, a genotipagem poderá diminuir o risco hemorrágico, aumentar o controlo da anticoagulação, e mais importante ainda, aumentar os *outcomes* da terapêutica com varfarina.

Della Valle et al, 2009

Este estudo foi realizado nos EUA e publicado recentemente no *Clinical Orthopaedics and Related Research* e avaliou de que modo variantes no genótipo do VKORC1 poderiam alterar a possibilidade de um indivíduo ser muito ou pouco sensível à varfarina. A população do estudo foi constituída por doentes que foram submetidos a cirurgia ortopédica, nomeadamente uma artroplastia. Foram excluídos os doentes com história de doença hepática, com doença do cólon irritable, doença inflamatória intestinal, ou com qualquer alteração clínica que se sabe que pode afectar a resposta à varfarina, reduzindo assim os factores que poderiam influenciar a resposta à varfarina.

A primeira dose de varfarina era administrada na noite do dia da cirurgia com o objectivo de atingir e manter o INR=2 no 3º dia do pós-operatório. Foi usado um algoritmo padronizado para o doseamento no primeiro e no segundo dia do pós-operatório. O INR foi determinado diariamente enquanto o doente esteve hospitalizado assim como depois em ambulatório. Foi também determinado no 3º dia após a cirurgia e os doentes foram definidos como muito sensíveis à varfarina com um INR igual ou superior a 3, e pouco sensíveis quando o valor de INR era igual ou inferior a 1,07. Paralelamente foi identificado um grupo controlo de doentes que respondiam de forma normal à varfarina. Num coorte de 1125 doentes a fazer tromboprolifaxia com varfarina foram identificados 30 com factores que poderiam afectar a resposta à varfarina: 10 muito sensíveis, 8 pouco sensíveis, e 12 com resposta normal. Os portadores homocigóticos do genótipo VKORC1 AA eram mais susceptíveis de serem muito sensíveis à varfarina e pelo contrário, os homocigóticos do VKORC1 GG eram susceptíveis de terem pouca sensibilidade.

Quando comparados, os portadores dos alelos GG ou GA os VKORC1 AA eram hipersensíveis à varfarina. Comparando estes (AA) ou os (GA), os portadores VKORC1 (GG) são mais susceptíveis de ser pouco sensíveis à varfarina.

Quando comparados os hipersensíveis com os pouco sensíveis, a frequência do alelo mutante VKORC1 A foi maior nos hipersensíveis. Os hipersensíveis foram mais suscetíveis de serem homozigóticos AA e os pouco sensíveis de serem homozigóticos GG.

As limitações deste estudo reconhecidas pelos autores estão relacionadas com a pequena dimensão da amostra e pelo facto de ser um estudo retrospectivo *versus* um estudo prospectivo em que os doentes fazem a genotipagem antes da cirurgia.

A dificuldade em atingir um INR terapêutico foi enfatizada neste estudo em que no 3º dia do pós-operatório 5,6% dos 1125 doentes eram hipersensíveis à varfarina e estavam hipercoagulados sofrendo risco de hemorragia. E por outro lado, 3,9% da mesma amostra eram pouco sensíveis à varfarina (com INR <1,05) e estavam por isso subprotegidos dos riscos tromboembólicos.

Os autores concluem que a triagem pré-operatória para o genótipo VKORC1 pode identificar doentes com potencial de serem pouco ou muito sensíveis à varfarina. Isto poderá permitir um ajuste da dose baseado na farmacogenética para a optimização do efeito anticoagulante reduzindo os riscos hemorrágicos ou tromboembólicos do pós-operatório.

Casos Clínicos

Lee et al, 2007

Este é a descrição de um caso de intolerância à dose de varfarina devido ao metabolismo enfraquecido numa doente com a variante CYP2C9*3/*4. A doente coreana tinha 73 anos e fibrilhação auricular (diagnosticada havia dois anos) e estava a fazer terapêutica com varfarina. Foi admitida no serviço de urgência queixando-se de um desconforto no peito, dispneia e agitação. A medicação nesses dois últimos anos incluía diltiazem 90mg, metoprolol 25mg e aspirina 100mg, duas vezes ao dia. Além disso a doente tinha tomado também mirtrazapina 30mg, alprazolam 0,25mg e zolpidem 10mg diárias, por história de seis anos de distímia. Os exames médicos efectuados mostraram uma pressão arterial 100/83mmHg, 100 pulsações/minuto e temperatura corporal normal. O seu peso corporal era de 62,3Kg e média 158cm. As análises ao sangue revelaram valores normais e um INR=1,0. Uma leve cardiomegália foi encontrada no Rx ao tórax. O electrocardiograma mostrou fibrilhação auricular. A

ecocardiografia revelou ligeira regurgitação da válvula aórtica, mitral e tricúspida e um ligeiro aumento da aurícula esquerda. A doente começou terapêutica com heparina bólus e depois heparina por infusão contínua durante 6 dias. Posteriormente iniciou com 2 a 3 mg diárias de varfarina (16,3mg/semana) para prevenir um possível tromboembolismo e ao fim de 3 dias tinha um INR de 2,81. Atingia valores de INR muito elevados com doses padrão durante a indução da anticoagulação. A doente teve que descontinuar temporariamente a terapêutica 3 vezes. A dificuldade no ajuste de doses no início da terapêutica persistiu por mais de 2 meses. Continuou a fazer varfarina em ambulatório com uma dose semanal de 6,5mg. Finalmente foi escolhida uma dose (muito baixa = 6,5mg/semana) para atingir os valores terapêuticos de INR. Quando foi feita a genotipagem do CYP2C9 revelou um genótipo CYP2C9*3/*4 com diminuição da actividade do CYP2C9. Este estudo refere o primeiro reporte de um doente coreano com CYP2C9*3/*4 apresentando intolerância à varfarina. Enquanto a dose de manutenção da varfarina é normalmente de 4-6mg/dia, esta doente necessitava de uma dose extremamente mais baixa (0,5-1mg/dia) para atingir valores terapêuticos de INR.

Redman et al, 2004

Neste artigo são apresentados 2 casos distintos de resposta à varfarina. No primeiro caso, um homem de raça caucasiana, de 37 anos, não fumador, foi estabilizado com uma dose de varfarina de 10,5mg por semana. As indicações para fazer terapêutica com varfarina incluíam tromboembolismos venosos recorrentes e lúpus. Quando foi feita a recolha do sangue para a análise do CYP2C9 o doente não tinha outras situações clínicas, não tomava mais nada além da varfarina, tinha a função hepática normal, e a albumina estava dentro dos limites normais. O doente iniciou a terapêutica com varfarina de longo prazo em 1994. Os registos de desde 1997/1998 revelavam que o doente foi mantido estável com uma dose terapêutica de 9 a 10mg/semana. Com esta dose o doente apresentava valores de INR entre 3,72 e 4,6 que eram atribuídos a reacções idiossincráticas com a dieta. Em 1999 foi considerado um doente “sensível à varfarina”. Em 2000 depois de uma trombose venosa profunda na perna esquerda o INR pretendido tinha aumentado para 2,5-3,5. Para atingir mais facilmente estes valores a dose de varfarina foi aumentada para 10-10,5mg/semana. O INR atingiu valores de 8,48 e o doente apresentou episódios de hematúria e epistáxis. Além disso, na mesma altura, um pequeno acidente traumático no cotovelo resultou num hematoma persistente.

Nos dois meses seguintes o doente foi à clínica 7 vezes e a dose de varfarina foi diminuída de forma titulada. Em Novembro de 2000, a dose óptima de varfarina para este doente foi determinada: 10,5mg/semana. Tinha valores de INR consistentes e não teve episódios hemorrágicos durante 27 meses com esta dose. Os médicos estranharam a dose tão reduzida de varfarina para este doente e desconfiaram de um metabolismo diferente. Uma amostra de sangue do doente foi genotipada e foram medidas as concentrações de S- e R-varfarina que apresentaram um *ratio* de 1:1 (quando o normal seria de 0,5:1). Esta situação revelava um metabolismo fraco da varfarina. Além disso o doente era portador da variante CYP2C9*3/*1.

No segundo caso, um homem de 77 anos afro-americano, fumador, estabilizado com uma dose semanal de varfarina de 10mg foi avaliado ao nível das concentrações de S:R varfarina e ao nível do genótipo do CYP2C9. Fazia terapêutica com varfarina devido a tromboembolismos venosos recorrentes e devido a um acidente vascular cerebral. Quando foi feita a recolha da amostra, a história clínica do doente apresentava hipertensão, doença coronária arterial, hipertrofia benigna prostática, osteoartrite, anemia, e diverticulose. Além da varfarina o doente apenas fazia terapêutica com terazosina (que não apresenta interacção significativa com a varfarina). O doente tinha função hepática normal e os níveis de albumina eram também normais. No início da terapêutica com varfarina, em 1992 o doente fazia doses diárias de 7,5 a 20mg quando foi admitido no hospital e apresentava valores de INR de 7,5. Mesmo quando a dose semanal desceu para 17,5mg os valores de INR mantinham-se elevados (10,79). Depois de vários ajustes chegou-se à dose de 9 a 10mg/semana como dose óptima para este doente. As análises ao sangue revelaram um *ratio* S:R varfarina de 3,2:1, seis vezes superior ao esperado (0,5:1), o que transmite clara evidência da diminuição da clearance da S-varfarina (forma activa). Além disso o doente era homozigótico para o alelo CYP2C9*6 (alelo nulo), um alelo raro.

Meta-análise e revisão sistemática

Lindh et al, 2009

O *European Journal of Clinical Pharmacology* publicou este estudo que teve como objectivo quantificar os efeitos do genótipo individual do CYP2C9 na definição da dose de varfarina, com recurso a uma revisão sistemática da literatura e meta-análise. Foram incluídos estudos segundo os seguintes critérios: estudos coorte com doentes tratados com varfarina, genotipagem do CYP2C9 em todos os doentes de uma população ou numa população randomizada, dose estabilizada de varfarina em doentes com CYP2C9*1 separadamente de doentes com pelo menos uma das variantes, CYP2C9*1/*2, *2/*2, *3/*3. Em cada estudo incluído as doses de varfarina nos vários genótipos do CYP2C9 foram normalizadas usando como referência as doses do grupo com CYP2C9*1/*1 e foram feitas meta-análises separadas para cada um deles.

No total foram incluídos 39 estudos todos publicados entre 1999 e 2007. Doze estudos foram realizados na Ásia, 13 na América e 14 na Europa. Foram incluídos um total de 8048 doentes e puderam ser avaliados dados de 7907 doentes (5749 portadores do CYP2C9*1/*1, 1216 *1/*2, 759 *1/*3, 78 *2/*2, 81 *2/*3 e 24 *3/*3). A idade média dos doentes foi de 64 anos e 59% eram homens.

Nesta revisão sistemática foi possível demonstrar que os portadores dos genótipos CYP2C9 *1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3 e *3/*3 requerem doses de varfarina que são 19,6, 33,7, 36,0, 56,7 e 78,1% inferiores que as doses dos doentes portadores do alelo comum CYP2C9*1/*1, respectivamente, e por outro lado, o uso de medicação concomitante que interage com a varfarina estava associado a um efeito atenuado gene-dose na maioria dos genótipos.

A falta de dados do VKORC1 é uma fragilidade desta meta-análise. O número de publicações que abordam a dose de varfarina em estudos coorte considera os dados do VKORC1 muito limitados para permitir uma meta-análise ampla das potenciais interacções do VKORC1 e do CYP2C9 como ajuda na definição da dose de varfarina. Ou autores reconhecem ainda que a maior limitação deste estudo é a dependência dos dados agregados, tornando menos fácil de analisar a influência das características individuais dos doentes na definição da dose de varfarina.

Conclui-se que esta análise poderá ajudar a estimar o impacto que tem o genótipo CYP2C9 na definição da dose de varfarina; poderá auxiliar na interpretação dos

resultados genotípicos clínicos e na precisão dos modelos PK/PD baseados em associações gene-dose-efeito publicadas.

You et al, 2004

Este estudo foi desenvolvido pelo Centro de Pesquisa Farmacoeconómica da Faculdade de Medicina com o apoio da School of Pharmacy da Universidade Chinesa de Hong Kong e publicado em 2004 no *Blood Coagulation, Fibrinolysis and Cellular Haemostasis*. O objectivo definido foi avaliar os potenciais *outcomes* clínicos e económicos que advêm do uso da genotipagem do CYP2C9 para a monitorização da terapêutica com varfarina e a identificação de factores que influenciam o custo-efectividade deste esquema de tratamento. Foi desenhada uma árvore de decisão para simular, durante 12 meses, os *outcomes* clínicos e económicos dos doentes que iniciavam terapêutica com varfarina, que contemplava: um grupo de doentes genotipados (grupo não-genotipado) e um segundo grupo em que os doentes eram genotipados antes do início da terapêutica com varfarina (doentes genotipados). Cada alternativa podia levar a 3 possíveis resultados: ausência de eventos, eventos hemorrágicos *major* ou eventos tromboembólicos *major*. Os eventos *major* incluíam, pela definição adoptada neste estudo, hemorragias gastrointestinais, hematúria, hemoptises, hemorragia que podia levar ao comprometimento cardiopulmonar com intervenção cirúrgica ou angiográfica, com sequelas irreversíveis como enfarte do miocárdio, défice neurológico ou hemotórax massivo, hipotensão sistólica ou morte. Os eventos tromboembólicos *major* poderiam ser acidentes isquémicos transitórios, enfarte, trombooses venosas profundas recorrentes, embolismo pulmonar, embolismo sistémico. O grupo de doentes não-genotipados recebeu tratamento padrão numa clínica de anticoagulação; os doentes genotipados, com pelo menos uma variante no alelo CYP2C9, receberam tratamento intensivo. Este tratamento estimava a dose inicial de varfarina com base num modelo farmacogenético que utiliza factores demográficos, clínicos e farmacogenéticos que são recolhidos aquando do início da terapêutica.

Este estudo foi elaborado com base na análise em vários artigos publicados. Os critérios de inclusão dos estudos incluíram: estudos escritos em inglês, com doentes com idade superior a 18 anos, cuja terapêutica com varfarina fosse prescrita há pelo menos 3 meses, que reportassem a incidência de eventos *major* (hemorrágicos e tromboembólicos). Foram incluídos dados de 23 estudos: 13 reportavam a prevalência

dos polimorfismos CYP2C9 na população caucasiana. Nenhum estudo reportava a efectividade da terapêutica orientada pela farmacogenética na prevenção das complicações hemorrágicas.

Os custos médicos directos relativos aos eventos hemorrágicos e trombóticos foram estimados pelos encargos do *Diagnosis-Related Group* e pela literatura. Os custos anuais da rotina do tratamento padrão, incluindo os custos da equipa de investigação, testes de laboratório e custos administrativos foram recolhidos da literatura. Os custos da genotipagem foram estimados tendo em conta os consumíveis *major*: recolha de sangue e cultura de células, kit de DNA.

O número total de eventos e os custos médicos directos por 100 doentes/ano no grupo genotipado e no grupo não genotipado foram de 155,700 dólares e 150,500 dólares, respectivamente. Os custos marginais por eventos hemorrágicos *major* adicionais evitados, no grupo genotipado foram de 5778 dólares. Os autores concluem que a monitorização da terapêutica com varfarina recorrendo à farmacogenética poderá ser potencialmente mais efectiva na prevenção dos custos com os eventos hemorrágicos *major*. A relação custo-benefício deste esquema de tratamento dependeu da relação custo e efectividade do tratamento intensivo de uma terapêutica orientada pela farmacogenética comparada com o tratamento padrão.

Os autores admitem que este estudo apresenta como limitação o facto das probabilidades clínicas advirem de estudos observacionais retrospectivos o que limita os dados do risco de hemorragia associados às variantes do CYP2C9. Outra limitação é que nenhum ensaio clínico tem reflectido a efectividade da genotipagem na prevenção dos eventos hemorrágicos.

6.2.2.1. Principais pontos de intercepção que resultam da análise dos artigos

Na sua maioria, os estudos analisados são estudos realizados nos Estados Unidos da América. Alguns deles, pelo menos três (Rieder, *et al.*, 2005; Wu, 2008; Limdi, 2009), analisam as diferenças étnicas na população norte americana, tendo em conta as frequências das variantes nos genes CYP2C9 e VKORC1 e a sua implicação na variabilidade da resposta nas doses de varfarina. Um dos estudos analisados foi realizado na China (Miao, *et al.*, 2007), e um dos casos clínicos referido analisa a história clínica de uma doente coreana.

Ao nível das diferenças étnicas analisadas, regra geral, os caucasianos têm maior percentagem de variantes em ambos os genes estudados (VKORC1 e CYP2C9) e os afro-americanos têm uma maior variabilidade de genótipos sem que exista necessariamente uma variante que tenha maior expressão. Esta variabilidade do genótipo poder-se-á dever à forte componente de migração que caracteriza a população africana e que permite uma maior variabilidade genética ao nível da descendência.

Os doentes com variantes genéticas no CYP2C9 são muito sensíveis à varfarina e podem sofrer efeitos hemorrágicos com doses terapêuticas. Já foram reportados mais de 20 variantes do CYP2C9 e estudos prévios demonstraram que os mais comuns, CYP2C9*2 e CYP2C9*3 estão associados a uma redução da actividade catalítica do CYP2C9. Indivíduos que são homo ou heterozigóticos para estas variantes requerem doses de manutenção de varfarina mais reduzidas.

Os caucasianos possuem maior frequência do alelo CYP2C9*3 que os asiáticos; em relação ao alelo CYP2C9*2 nunca foi reportado nesta população, e a frequência entre os caucasianos atinge os 8-20%. Experiências *in vitro* demonstram que os alelos CYP2C9*2 e *3 metabolizam a S-varfarina com uma capacidade 12 e <5% inferior, respectivamente, quando comparados com o alelo comum CYP2C9*1. Infelizmente estas estimativas *in vitro* não são fáceis de traduzir para recomendações clínicas uma vez que, as propriedades farmacológicas da varfarina são complicadas com os dois enantiómeros contribuindo para o efeito anticoagulante com diferenças potenciais e com farmacocinéticas completamente distintas. As recomendações farmacogenéticas devem portanto preferencialmente ser baseadas em estimativas realizáveis *in vivo*, que podem também ser muito úteis no desenvolvimento e avaliação de modelos de simulação computacionais farmacocinéticos e farmacodinâmicos.

Quase todos os estudos foram realizados com base numa amostra relativamente pequena (entre 92 e 521 indivíduos). Regra geral as populações dos estudos foram constituídas por doentes estabilizados, tendo sido a definição de “doente estabilizado” relacionada com a de “dose estável” e homogénea entre os vários artigos: doentes com valores de INR estáveis (2-3) há pelo menos 1 mês (Carlquist, *et al.*, 2006), ou doentes com dose de varfarina constante há pelo menos 3 consultas, num período mínimo de 3 meses e com INR dentro de valores terapêuticos (Rieder, *et al.*, 2005; Miao, *et al.*, 2007; e Meckley, *et al.*, 2008).

Foi analisado um estudo coorte prospectivo (Limdi, 2009) com tempo de *follow-up* de 2 anos e que pretendeu demonstrar que a genotipagem dos doentes é útil não só nos primeiros dias de terapêutica com varfarina mas também, se tal não for possível, poderá ser útil fazê-lo pelo menos no primeiro mês de tratamento. A amostra deste estudo é significativa (quando comparada com as dos restantes estudos) n=521. Talvez este seja o estudo mais interessante analisado sobre o tema, devido à sua amostra mais alargada, ao interesse dos *outcomes* estabelecidos e à sua subsequente análise. Embora os estudos prospectivos tentem demonstrar a mais-valia da genotipagem na predição da dose de varfarina, têm falhado na demonstração da melhoria do controlo da anticoagulação.

Há excepção de 2 artigos (Rieder, *et al.*, 2005; e Valle A., 2009), que analisaram apenas a influência das variantes do gene VKORC1 na variação das doses de varfarina, os restantes artigos analisaram as variantes não só do gene VKORC1 mas também do CYP2C9. Em alguns estudos a influência do genótipo foi associada à influência de outros factores como a idade e o peso (Miao, *et al.*, 2007), ou foi associada à influência da etnia (Rieder, *et al.*, 2005; e Wu, 2008) ou ainda, analisada de forma a ser mais um factor a ter em conta em algoritmos já existentes (Carlquist, *et al.*, 2006; Meckley, *et al.*, 2008). Nos estudos retrospectivos um dos *outcomes* definido foi comum em todos eles - a variabilidade nas doses de varfarina - e foram analisadas as suas causas através da genotipagem dos dois genes mais estudados até à data (CYP2C9 e VKORC1) nos indivíduos seleccionados.

Em 1999 foram publicadas as primeiras evidências que os polimorfismos no gene que codifica a enzima CYP2C9 têm um impacto significativo na definição da dose de varfarina. Desde aí, um grande número de estudos em várias populações de doentes tem confirmado que os portadores de um ou dois alelos requerem doses mais baixas de varfarina. Os alelos CYP2C9*2 e *3 são os mais bem documentados (Lindh, 2009) e são também os mais referenciados nos artigos analisados (sobretudo as variantes *2 e *3) (Carlquist, *et al.*, 2006; Meckley, *et al.*, 2008; Wu, 2008; e Lindh, 2009), embora um dos estudos tivesse analisado também as variantes *5, *6 e *11, e um outro estudo (Miao, *et al.*, 2007) analisou apenas a variante CYP2C9*3 isoladamente.

As variantes do genótipo do CYP2C9 estão associadas a baixas doses de manutenção na terapêutica com varfarina e com o risco aumentado de eventos hemorrágicos (You J., 2004).

Investigações no efeito do alelo CYP2C9*3 mostram que a frequência desta variante é elevada nos doentes que necessitam das doses mais baixas de varfarina (<3,1mg/dia) e os doentes homocigóticos estão em alto risco de hemorragia durante os 3 primeiros meses de terapêutica.

Os doentes que necessitam de uma dose de 1,5mg/dia ou menor serão positivos a um ou mais alelos variantes do CYP2C9 e têm maior probabilidade de sofrer episódios hemorrágicos *major*. Doentes com pelo menos uma variante no alelo CYP2C9 têm risco aumentado de exceder o intervalo terapêutico dos valores de INR e requerem também mais tempo para estabilizar a dose quando comparados com os que são portadores do alelo comum (CYP2C9*1).

Em relação ao gene VKORC1 a variante mais analisada foi a VKORC1 (-1639GG+GA) (Rieder, *et al.*, 2005; Carlquist, *et al.*, 2006; Miao, *et al.*, 2007; Meckley, *et al.*, 2008; e Valle A., 2009). Um estudo analisou a variante VKORC1 (3673GA) (Wu, 2008) e outro a variante VKORC1 (C1173T) (Limdi, 2009). O gene VKORC1 está localizado no cromossoma 16, e não está por isso relacionado com o CYP2C9 localizado no cromossoma 10, e contribui por isso de forma independente para a definição da dose de varfarina. Os alelos do VKORC1 sensíveis à varfarina (haplotipo A) são menos comuns nos africanos do que nos caucasianos ou nos asiáticos (Lee, *et al.*, 2007).

Ao nível dos resultados outras situações são transversais aos vários estudos analisados. Por exemplo, e tendo em conta a contribuição das variantes nos genes CYP2C9 e VKORC1, em todas as amostras analisadas a estabilização da dose de varfarina depende sobretudo do gene VKORC1 e das variantes deste. Contribuem de 25 a 49,9% para a variação nas doses de varfarina, chegando a ser uma contribuição quase três vezes superior à contribuição do gene CYP2C9. Estas variações traduzem-se quase sempre na redução da dose (num dos estudos chegou a uma redução de 80%), à excepção do polimorfismo VKORC1 (-1639GG) que necessita de doses superiores quando comparadas com o genótipo comum do VKORC1. Por outro lado, o gene CYP2C9 contribui para 6 a 10% de variabilidade na dose e pode provocar uma redução desta de 18 a 72%. As variantes neste gene contribuem para aumentar o tempo necessário para atingir um valor de INR dentro do intervalo terapêutico.

No entanto, os estudos deixam transparecer que, na rotina clínica, a avaliação da informação genética antes da primeira administração de varfarina não é viável para a

maioria dos doentes. Atrasar a administração de varfarina, até o resultado do teste estar disponível, não é uma opção na prática clínica actual uma vez que manteria os doentes mais tempo hospitalizados e prolongaria a terapêutica com heparinas (mesmo em ambulatório), aumentando os custos com estes doentes. Por isso, a maioria dos doentes inicia esta terapêutica sem informação genética.

Embora as doses padrão de varfarina difiram significativamente entre os doentes, reconhece-se que o tempo necessário para atingir o intervalo terapêutico de INR, pode ser influenciado pelas doses administradas nos primeiros dias de terapêutica.

Por exemplo, um doente pode receber 10mg/dia de varfarina, enquanto outro pode receber 5mg/dia, nos primeiros 2 dias. No entanto, a dose de 10mg/dia pode encurtar o tempo para atingir o INR terapêutico e a capacidade de manutenção do valor de INR pode diferir com o doente que recebeu a dose de 5 mg. Portanto, o tempo para atingir o INR terapêutico pode ser independente da capacidade de manutenção do efeito anticoagulante.

Os artigos analisados são consensuais na hipótese de que um conhecimento *a priori* do genótipo dos doentes poderá ajudar o médico na triagem dos doentes para uma estratégia de monitorização da anticoagulação que inclua o polimorfismo do CYP2C9 como um factor de risco e que determine a frequência de monitorização do INR.

Um modelo de dose que estime a estabilização da dose tendo em conta os factores demográficos, clínicos e farmacogenéticos (genótipos do CYP2C9) obtidos no início da terapêutica com varfarina, pode reduzir a incidência de sobredosagens de varfarina significativamente (em 10%). Estes dados necessitam de confirmação prospectiva.

A viabilidade da genotipagem em tempo útil é um factor crítico para a implementação desta metodologia.

Alguns estudos indicam que, embora o tempo de espera dos testes de genotipagem possam levar a um breve atraso na iniciação da terapêutica com varfarina e aumentar ligeiramente o risco de enfarte, os poucos enfartes causados por este atraso podem ser contrabalançados pela prevenção das complicações prevenidas pela dosagem definida pelos resultados da genotipagem (You J., 2004).

Além destes pontos de intersecção entre os estudos analisados é muito importante referir que todos eles referem também que serão necessários mais estudos sobre este tema para que as conclusões retiradas sejam validadas e acrescidas de evidência clínica e científica. Como foi dito anteriormente, a maior parte dos estudos realizados até hoje

sobre a influência dos genes, nomeadamente do gene VKORC1 e do gene CYP2C9, na variabilidade da resposta à terapêutica com varfarina, são estudos observacionais realizados em populações com características específicas, podendo numa última análise serem considerados estudos experimentais. A maioria são observacionais retrospectivos, e mesmo os estudos prospectivos apenas permitem validar a influência do genótipo nas doses de varfarina. Por isso, todos eles referem uma enorme necessidade de realizar estudos coorte, randomizados, controlados e multicêntricos, que permitam uma comparação entre dois grupos de doentes: um exposto à genotipagem antes ou no início da terapêutica, e outro seguido com base num ajuste de doses empírico (método habitualmente utilizado na monitorização da dose da varfarina no período inicial e no período de manutenção da terapêutica).

Aumentar a população da amostra é outra condição essencial para que os resultados tenham evidência clínica. Todos os estudos referidos foram realizados em populações com um número de indivíduos relativamente reduzido, quando comparado com o número de doentes que actualmente faz terapêutica com varfarina. A varfarina, como já foi amplamente referenciado neste trabalho, é o anticoagulante mais prescrito a nível mundial, sendo também um fármaco que exige um extremo cuidado na monitorização do efeito anticoagulante devido às complicações que podem provocar doses desajustadas. Estas razões e todas as outras referidas nos primeiros capítulos deste trabalho são argumentos válidos para estudos que permitam confirmar as situações em que a genotipagem dos doentes, com determinadas características, poderá ser uma mais-valia e que trará relações custo-benefício e custo-efectividade positivas.

Tabela 13: Resumo dos Resultados dos Estudos Observacionais

Ref.	Resultados - Análise CYP2C9	Resultados - Análise VKORC1
<i>Meckley et al., 2008</i>	<p>Doentes com variantes atingem a dose estável 48% mais tarde do que os que não têm variantes; passam a maior parte do tempo acima da margem terapêutica; têm maior razão de prevalência de INR>5</p> <p>Tempo médio para estabilizar a dose: *1/*1 = 55 dias, *2 ou *3=106 dias</p> <p>Variantes do CYP2C9 mais associadas a efeitos clínicos associados – risco de hemorragia, sobre-coagulação, tempo para estabilizar a dose</p> <p>*2 e *3 aumentam o tempo de semi-vida da varfarina em 39% e 112% - dificuldade acrescida no ajuste de doses no período inicial, devido ao tempo necessário para responder a alterações na dose.</p>	<p>Os homocigóticos AA têm maior prevalência de INR>5 quando comparados com os heterocigóticos</p> <p>AA – dose baixa AB – dose intermédia (5mg/dia) BB – dose elevada</p> <p>Tempo médio para estabilizar a dose: BB = 76 dias, AB = 72 dias, AA = 36 dias</p> <p>Os BB, no 1º mês, passaram 37% abaixo da margem terapêutica; No 1º mês os AA eram os que estavam mais susceptíveis de estarem sobre-anticoagulados quando comparados com os AB; A estabilização da dose depende sobretudo do status do VKORC1</p>
As variações do CYP2C9 e do VKORC1 isoladas e em conjunto explicam 12%, 27% e 50% respectivamente		
<i>Rieder et al., 2005</i>	<p>As variantes do CYP2C9 contribuem entre 6 a 10% na variabilidade da dose de varfarina</p>	<p>As variantes do genótipo VKORC1 são as mais preditivas de aproximadamente 25% da variabilidade da dose;</p> <p>O VKORC1 aparece como o factor genético mais importante e determinante na dose de varfarina – 3 vezes superior ao efeito do CYP2C9;</p> <p>Haplótipo A – comum nos asiático-americanos – fenótipo baixa dose (3mg/dia);</p> <p>Haplótipo B – maior proporção nos afro-americanos (estes têm maior diversidade de haplótipos) – fenótipo de alta dose</p> <p>Dose varfarina AA = 2,7 +/-0,2mg/dia AB = 4,9 +/-0,2mg/dia BB = 6,2 +/-0,3mg/dia</p>
<i>Carlquist et al., 2006</i>	<p>Freq. Genótipo/dose de manutenção</p> <p>*2 CC (81,5%) = 31,8mg/semana CT (18,5%) = 26,6mg/semana TT (0%)</p> <p>*3 AA (89,9%) = 31,9mg/semana AC (10,1%) = 21,4mg/semana CC (0%)</p> <p>*2/*3 CC/AA (71,4%) = 32,2mg/semana CT/CA (18,3%) = 27,2mg/semana CC/AC (9,4%) = 3,28mg/semana CT/AC (1%) = 6mg/semana</p> <p>Variantes simples ou duplas reduzem as doses em 18-72%; Doentes com 1 ou ambas as variantes tendem a necessitar uma dose mais reduzida de varfarina e de + tempo para estabilizar a dose.</p>	<p>Freq. Genótipo/dose de manutenção</p> <p>CC (36,6%) = 38,4mg/semana CT (50,7%) = 28,6mg/semana TT (12,7%) = 20,9mg/semana</p>

Para definir a dose - 33% explicado pelo genótipo + outros factores; 12% explicado pelos outros factores isolados

Ref.	Resultados - Análise CYP2C9	Resultados - Análise VKORC1
<i>Wu et al., 2008</i>	<p>*2 é mais frequente nos caucasianos e está ausente nos asiáticos e latinos: *3 corresponde a 5% nos caucasianos e asiáticos: *2e*3 nos afro e latinos é baixa: Dose média para *1/*3 = 3,1+/-1,4mg/dia</p>	<p>G – muito superior nos afro (88%); Intermédia nos caucasianos e latinos (59% e 52%); Baixa nos asiáticos (12%) Polimorfismos reduzem a dose</p>
<i>Limdi et al., 2009</i>	<p>*5,*6,*11 – só observados nos afro-americanos *2 e *3 – observados nos afro e euro-americanos</p> <p>As variantes são mais comuns nos europeus do que nos afro-americanos (33% vs 11%)</p> <p>Tempo mediano para atingir o INR - só variações CYP2C9 = 12,7 dias - variações nos 2 genes = 5 dias - sem variações = 12, 3 dias</p> <p>Reduções na dose: Euro-americanos - CYP2C9 isolado – 26% - 2 genes – 50 % Afro-americanos - 2 genes – 80% - CYP2C9 isolado – não reduz significativamente</p> <p>Diminuição da dose na população - CYP2C9 – 67% - 2 genes – 89%</p>	<p>Frequência elevada da variante VKORC1 C1173T nos euro-americanos (60,4% vs 20,1%)</p> <p>Tempo mediano para atingir o INR Apenas variações VKORC1 – 6 dias</p> <p>Reduções na dose: Euro-americanos - só VKORC1 – 27% Afro-americanos - só VKORC1 – 24%</p> <p>Diminuição da dose na população - VKORC1 – 80%</p> <p>O VKORC1 está associado a um difícil controlo do efeito anticoagulante.</p>
as variações nos 2 genes explicam na amostra, 6,3% das variações da dose nos primeiros 30 dias de tratamento		
<i>Miao et al., 2007</i>	<p>Análise da população *1/*1 - 91 % *1/*3 - 9%</p> <p>*3 explica 1,7% da variabilidade e os *1/*1 necessitam doses mais elevadas do que os *1/*3</p>	<p>Análise da população 83,7% - AA (1,76+/-0,57mg/dia) - muito sensíveis 15,7% - GA n=1 – GG (6,25mg/dia) – pouco sensível</p> <p>O VKORC1 explica 49,4% da variabilidade tendo maior contribuição na estimativa das doses</p>

6.3. Análise Crítica

As recomendações das organizações médicas, nomeadamente ao nível dos EUA, não têm sido muito favoráveis à adopção da farmacogenética na definição da dose de varfarina, o que ainda acentua mais a necessidade de estudos mais rigorosos e com uma abrangência maior da população.

Já em 2009, organizações que representam médicos geneticistas, cardiologistas entre outros publicaram recentemente declarações e recomendações relativamente à definição da dose de varfarina com recurso à farmacogenética:

. Um grupo de trabalho do *American College of Medical Genetics* concluiu que não há evidências suficientes para recomendar na prática clínica por rotina a genotipagem do CYP2C9 e do VKORC1.

. A oitava edição das guidelines do *American College of Chest Physicians Antithrombotic and Trombolytic Therapy* concluiu que não há evidências suficientes para suportar a determinação da dose inicial de varfarina com base nos testes de farmacogenética.

. O *Center for Medicare and Medicaid Services* solicitou um contributo público acerca dos testes de farmacogenética acrescentando a questão no seu encontro anual de 2008, usando a varfarina e a farmacogenética como um exemplo de potencial aplicação, mas com falta de evidência de alta qualidade dos ensaios clínicos para a aplicação e utilidade na prática diária (Eby, 2009).

Ainda assim, estão em desenvolvimento 2 grandes ensaios clínicos (um na América e outro na Europa) que pretendem comparar o início da terapêutica com varfarina baseada no genótipo *versus* o início do tratamento de forma convencional. Estes estudos tiveram início este ano de 2009. Se os resultados forem encorajadores (e existem estudos prévios que sugerem que serão) a definição da dose com base na farmacogenética poderá ser finalmente introduzida na prática clínica nas situações previamente identificadas (Wadellius, 2008).

Estes estudos e os estudos analisados e referidos anteriormente, denominados originalmente de “*guide-wide association studies*” (GWAS) são uma abordagem relativamente recente e interessante das abordagens tradicionais. Os GWAS são um tipo de estudo que é definido como qualquer estudo sobre o genoma humano total e que é desenhado para identificar associações genéticas com traços observacionais (como a

pressão arterial, o peso, os valores de INR), ou para analisar a presença ou a ausência de uma condição. Toda a informação do genoma, quando combinada com dados clínicos ou outros dados fenotípicos, têm o potencial de aumentar a compreensão do processo biológico base que afecta a saúde humana, aumentar a predição da doença e mais recentemente, a realização da medicina personalizada.

Além disso, os rápidos avanços na compreensão dos padrões da variação genética e dos métodos de custo-efectividade para a genotipagem permitem ferramentas de pesquisa mais poderosas para a identificação de variantes genéticas que contribuem para a saúde e para a doença.

Até agora, todos os estudos realizados concluíram as mesmas limitações da utilização deste método, que inclui a informação genética no algoritmo de ajuste e manutenção da dose de varfarina. O facto de a varfarina ser um fármaco com inúmeras interacções identificadas (além das interacções com medicamentos e com alimentos, também a influência de outros factores sócio-demográficos como o sexo, a idade, o estilo de vida) as alterações nos genes CYP2C9 e VKORC1 acabam por não poder ser considerados biomarcadores “fiáveis”, ou seja, que traduzem a resposta clara e inequívoca da dose ideal para determinado indivíduo. Além disso, tudo indica que mesmo ao nível genético os genes CYP2C9 e VKORC1 não serão os únicos a influenciar a resposta ao tratamento com varfarina, o que complica ainda mais a possibilidade da genotipagem ser aceite de forma pacífica na rotina clínica com os dados disponíveis actualmente.

Ainda assim, é reconhecido que o conhecimento do genótipo destes dois genes, cuja contribuição na variabilidade da dose de varfarina está mais bem documentada, poderá ser uma mais-valia para determinadas situações clínicas. Ou seja, como todos os meios complementares de diagnóstico, este também poderá não ter uma aplicação global mas ter indicações específicas para a sua realização e poder nessas situações ter uma relação custo-benefício muito positiva. É o caso, por um lado dos doentes que quando iniciam terapêutica com doses-padrão diárias apresentam quase no imediato eventos hemorrágicos, ou por outro lado, dos doentes que com doses padrão no início da terapêutica apresentam valores de INR muito baixos. No primeiro caso, os doentes têm uma sensibilidade acrescida à varfarina e no segundo caso apresentam uma resistência ao medicamento. Estas situações têm quase sempre uma forte componente genética associada e o estudo do genótipo dos dois genes CYP2C9 e VKORC1 poderá auxiliar

em muito o ajuste da dose, de forma a prevenir os efeitos secundários associados (hemorrágicos no primeiro caso e trombóticos no segundo caso).

Num estudo sobre farmacogenética divulgado pelo *International Warfarin Pharmacogenetics Consortium* (Garcia D., 2009) os investigadores concluíram que o modelo deles seria mais útil no caso dos doentes para quem a dose estável de varfarina seria menor que 22mg/por semana, ou maior que 48mg/semana e que seria menos útil para doentes com doses intermédias.

Embora os dados genéticos aumentem a exactidão dos modelos disponíveis para definir a dose de varfarina, a questão se a adição dos testes genéticos pode reduzir o risco de hemorragia ou trombose, continua a ser alvo de investigação.

Novos ensaios clínicos randomizados e controlados que comparam a terapêutica com auxílio da farmacogenética e com a monitorização da terapêutica de forma tradicional estão a decorrer nos EUA, Europa e Coreia. Estes estudos serão um passo determinante na demonstração da forma como a farmacogenética poderá aumentar o controlo do efeito anticoagulante. Esta abordagem de monitorização baseada na farmacogenética poderá afectar de forma determinante os custos associados à terapêutica com varfarina, como as visitas ao hospital. É importante referir que até a redução de hemorragias *minor* poderão aumentar a qualidade de vida dos doentes.

6.3.1. COAG - Um novo ensaio promissor?

Um novo ensaio clínico que teve início no princípio de 2009, o COAG (*Clarification of Optimal Anticoagulation through Genetics*), e que ainda não está em fase de recrutamento (até à presente data), irá randomizar doentes em início de terapêutica com varfarina para determinar algoritmos que incluam: o genótipo e os dados clínicos, ou só os dados clínicos.

Este ensaio clínico da *Bristol-Myers Squibb* é um estudo randomizado, duplamente cego, de comparação da dose, e é também um estudo de eficácia.

O ensaio será duplamente cego quanto ao algoritmo utilizado e os ajustes de dose basear-se-ão nos subsequentes valores de INR que resultarão do seguimento do protocolo.

O objectivo do ensaio COAG é avaliar o incremento dos efeitos que advêm do uso da informação genética no controlo do efeito anticoagulante. O *endpoint* primário deste

estudo é baseado na evidência de que o aumento do controlo dos valores de INR está associado à redução de complicações hemorrágicas e trombóticas e à redução dos custos médicos associados, nomeadamente no início da terapêutica.

É um estudo de fase III e como tal a exposição ao teste é aplicada em grupos alargados da população (1000 a 3000), para confirmar a efectividade, monitorizar os efeitos secundários, comparar com tratamentos usuais e recolher informação que permitirá que o teste seja usado de forma segura.

O estudo intitula-se “*Ensaio clínico randomizado, multicêntrico, duplamente cego, para avaliar o uso da clínica baseada na informação genética para monitorizar o início da terapêutica com varfarina e aumentar a monitorização do efeito anticoagulante dos doentes*”.

Este estudo irá comparar as duas abordagens à definição da dose de varfarina, uma vez que analisa a utilidade do uso da informação genética no ajuste da dose de varfarina. Será direccionado para os indivíduos a tomar varfarina e que muito frequentemente necessitam de alterações na dose por atingirem valores de INR muito elevados ou muito reduzidos, o que pode resultar num risco elevado de hemorragia ou de tromboembolismo (levando por vezes à descontinuação desta terapêutica por parte do doente).

Foram definidos os *outcomes* do estudo, tendo em conta que o que se pretende avaliar é o comportamento do indivíduo nas primeiras quatro semanas de terapêutica com varfarina:

Outcome primário – percentagem de tempo que os doentes apresentam valores de INR dentro do intervalo terapêutico;

Outcome secundário – ocorrência de valores de INR superiores a 4 ou eventos clínicos.

O estudo teve início em Abril de 2009 e terminará em Março de 2012. A estimativa de recrutamento é de 1238 indivíduos. As situações clínicas a incluir são o enfarte, a trombose venosa, a fibrilhação auricular.

O estudo terá dois braços distintos: braço experimental e braço do comparador activo. No braço experimental os participantes vão receber as doses de varfarina com base na informação genética e na informação clínica individual (*genotype-guided dosing*): a dose inicial de varfarina para os primeiros 3 a 4 dias de tratamento será determinada por um algoritmo que utiliza informação genética e clínica. Depois deste período de início de terapêutica é feito um segundo ajuste, depois de 3 ou 4 doses usando um algoritmo de revisão da dose que utiliza informação genética e clínica.

No braço do comparador activo os participantes vão receber as doses de varfarina com base apenas na informação clínica (*clinical-guided dosing*): a dose inicial de varfarina para os primeiros 3 a 4 dias de tratamento será determinada por um algoritmo que utiliza informação clínica. À semelhança do braço anterior, depois deste período de início de terapêutica é feito um segundo ajustamento depois de 3 ou 4 doses, usando um algoritmo de revisão da dose que utiliza apenas a informação clínica.

São comparadas portanto duas abordagens para estabelecer a dose inicial de varfarina:

- 1) início da terapêutica com base em algoritmos que utilizam a informação clínica e a informação do genótipo do doente, usando a genotipagem dos genes mais documentados que influenciam a resposta à varfarina (*genotype-guided dosing*), e
- 2) início da terapêutica com varfarina com base em algoritmos que utilizam apenas a informação clínica.

Com a comparação destas duas estratégias, este estudo poderá determinar de que forma a informação genética proporciona vantagem no ajuste da dose de varfarina nas primeiras quatro semanas de terapêutica, além da informação que pode ser adquirida apenas com a informação clínica.

Uma vez que a eficácia não está ainda bem estabelecida para “*genotype-guided dosing*” da varfarina, é importante perceber se esta abordagem pode, de facto, melhorar e aumentar os resultados da terapêutica anticoagulante sob condições controladas.

O recrutamento será feito em doentes maiores de 18 anos, de ambos os sexos, com vontade e capacidade para assinar o consentimento informado, capazes de fazerem o tratamento em ambulatório, a fazer terapêutica com varfarina pelo menos durante 3 meses, com patologias que exigem que os valores de INR estejam entre 2 e 3.

Serão excluídos os doentes: que já estejam a fazer terapêutica com varfarina e com a dose estabilizada, com esperança média de vida inferior a um ano, grávidas ou mulheres a amamentar, com factores que limitem a adesão à terapêutica, com genótipo do CYP2C9 e VKORC1 conhecido antes de iniciar o estudo, entre outros.

O estudo decorrerá nos EUA e é conceptualmente uma prova de eficácia, sendo esta definida como uma medida se, sob aplicação óptima, os algoritmos para determinação da dose levarão a um aumento nos cuidados de saúde.

6.4.2. A questão do custo–efectividade da farmacogenética aplicada aos doentes anticoagulados – breve apontamento

Como foi referido na introdução, desde que a sequenciação do genoma humano ficou concluída a predição da resposta ao tratamento com base nas variações genéticas tem sido um objectivo a alcançar.

Para que o uso dos testes farmacogenéticos seja uma realidade na prática clínica, é importante fazer projecções do seu custo-efectividade para que o seu uso generalizado seja uma realidade e para que a sua utilidade seja otimizada e potenciada. É por isso imprescindível que a formulação dos testes assim, como a sua aplicação seja muito bem definida. Dar resposta a questões como por exemplo:

- como é que estes testes podem ser formulados para maximizar o seu desempenho?,
- quais são os potenciais benefícios na identificação de doentes que não respondem *versus* os riscos de errar na medicação para um doente erradamente classificado?,
- deverão ser realizados a todos os doentes ou só a sub-grupos de alto-risco, e deverão estes sub-grupos ser definidos?, quais serão os custos destes testes? (Wu AC., 2008)

Neste apontamento sobre o custo-efectividade é importante referir, em traços gerais, que é necessário ter em conta alguns factores importantes imprescindíveis numa análise farmacoeconómica. Por exemplo:

1. Custo do teste farmacogenético – com os rápidos avanços da tecnologia genética, o custo dos testes tem diminuído nos últimos anos. Esta diminuição leva à proliferação da pesquisa nesta área e contribui para a probabilidade destes

testes serem acessíveis. É importante referir, que os custos incluem não só os custos directamente relacionados com os testes de farmacogenética mas também, os custos relacionados com a obtenção das amostras, com o tempo e recursos necessários para a obtenção dos resultados. Além disso, os custos evitáveis com o teste também deverão ser contabilizados. Por exemplo, se um teste permite prevenir efeitos adversos que implicam hospitalização do doente, então os custos inerentes à hospitalização (e que vão ser evitados) devem ser tidos em conta nesta análise.

2. Custo da medicação – este parâmetro está intimamente relacionado com o custo-efectividade de um medicamento. Um fármaco caro é menos provável ser custo-efectivo a menos que a associação com o teste seja exacta, a medicação seja significativamente benéfica e existam poucas alternativas terapêuticas disponíveis.
3. Desempenho do teste – é avaliado através da sensibilidade, especificidade, valor predictivo positivo ou negativo, entre outros. Para que um teste farmacogenético seja adoptado é necessário que tenha um elevado valor preditivo.

No caso de um teste ter fraca sensibilidade para prever a resposta a uma terapêutica, o teste poderá não ser viável economicamente uma vez que não tem capacidade para identificar os doentes que não respondem ou que têm que descontinuar a terapêutica, por exemplo.

A elevada especificidade é também particularmente importante. Quanto mais específico for o teste para determinada situação mais hipóteses tem de ter uma relação custo-benefício positiva.

4. A expressão da doença – é suposto que os testes que são direccionados para doenças comuns deverão ter maiores custos globais do que os direccionados para doenças raras, assumindo que o custo por pessoa é o mesmo. No entanto, se existir uma elevada proporção de testes positivos e houver benefícios com esse resultado, é mais provável que o teste seja custo-efectivo.
5. Benefícios do teste quando comparados com o tratamento empírico – os benefícios dos testes, idealmente, terão que permitir a identificação de doentes que apresentam resistência ao fármaco (ou mesmo que não respondem à terapêutica), ou de doentes que necessitam elevadas doses de fármaco para atingirem o efeito terapêutico, e que não são facilmente detectados pela clínica empírica. (Wu AC., 2008)

O caso do teste farmacogenético da varfarina poderá ser analisado segundo estes parâmetros.

1. Custo do teste farmacogenético – o teste para a detecção dos polimorfismos do CYP2C9 e VKORC1 em Portugal assume um valor considerável tendo em conta que não é comparticipado (rondando valores entre 100 a 200€).
2. Custo com a medicação – a varfarina é um anticoagulante relativamente barato. O maior custo da varfarina prende-se com os potenciais efeitos adversos e complicações associadas, principalmente as hemorragias. Entre 2003 e 2004 os anticoagulantes foram os primeiros no *ranking* no total de mortes causadas por efeitos adversos da terapêutica nos EUA.
3. Desempenho do teste – neste trabalho foram referidos alguns dos muitos estudos que têm tentado demonstrar que a estabilização do INR em níveis terapêuticos está fortemente relacionada com o genótipo CYP2C9 e VKORC1. No entanto, e também como já foi referenciado, são necessárias mais avaliações clínicas e estudos clínicos que continuam a ser desenvolvidos.
4. A expressão da doença – nos EUA mais de 2 milhões de doentes por ano iniciam terapêutica com varfarina e destes, mais de 800 podem ter reacções adversas associadas à varfarina. Assim, o número de indivíduos que poderão beneficiar com este teste é um número consideravelmente elevado.
5. Benefícios dos testes comparados com o tratamento empírico: um potencial benefício deste teste é permitir um curto período de titulação da dose no início da terapêutica, permitindo atingir os valores terapêuticos de INR de forma mais rápida. (Wu AC., 2008)

Em resumo, serão necessárias avaliações económicas rigorosas para permitir perceber o custo-efectividade da utilização da farmacogenética na terapêutica com varfarina. A quantificação do potencial impacto económico na saúde é essencial para auxiliar os médicos e os regulamentadores na recomendação da execução do teste.

Actualmente os testes farmacogenéticos são caros e raramente estão disponíveis, mas com o aumento da realização destes testes o seu custo reduziria e a sua realização tornar-se-ia mais ampla. No entanto, os custos relacionados com a análise PCR terão

que ser considerados em relação ao custo potencial do tratamento dos efeitos adversos da terapêutica com varfarina - hemorrágicos e tromboembólicos (You J., 2004).

6.5. Reflexão e Notas Finais

O desenvolvimento deste exemplo de aplicação da farmacogenómica nos doentes anticoagulados foi escolhido com base em dados que se antevinham promissores relativamente ao uso da farmacogenética no tratamento de doentes a fazer terapêutica com varfarina.

Um objectivo potencial da farmacogenética é, como foi referido ao longo deste trabalho, permitir alcançar a “medicina personalizada” possibilitando que as decisões que optimizam a saúde do doente sejam baseadas no seu genoma. Os testes farmacogenéticos idealmente têm o potencial de: predizerem a resposta pretendida como resultado de uma terapêutica, predizerem as respostas involuntárias como os efeitos adversos, titularem a dose da medicação e fornecerem informação para o desenvolvimento de novas terapêuticas (Wu AC., 2008).

A recomendação da FDA para que fosse feita a genotipagem dos genes CYP2C9 e VKORC1 nos indivíduos que iam iniciar tratamento com varfarina criou grandes expectativas em torno deste tema. Poderia ser o começo da terapêutica individualizada com base no genoma, num tratamento que envolve uma parte considerável da população mundial.

A varfarina é sem dúvida um fármaco que se aplica às premissas da aplicação da farmacogenética/farmacogenómica, por ser um fármaco com uma estreita margem terapêutica, com tempo de tratamento normalmente longo, e de difícil monitorização.

A perspectiva das reacções adversas da varfarina poderem ser reduzidas e assim poderem ser potenciadas as questões relacionadas com a segurança, com uma intervenção prévia à toma do medicamento, foi sem dúvida uma ideia que agradou a muitos intervenientes na área.

No entanto, e porque a varfarina e a variação das doses inter e intra-individuais são multifactoriais, sendo a genética apenas mais um dos factores que contribui para a variabilidade da dose, a ideia promissora e as esperanças apostadas desde o final de 2007 têm tido alguma dificuldade em vingar no cerne da comunidade clínica. Os estudos realizados com o intuito de provar a relação benefício-efectividade da

genotipagem dos indivíduos no início da terapêutica, para um mais rápido e eficaz ajuste de doses, foram estudos com pouca evidência, com amostras reduzidas e com metodologias que não permitiram esclarecer todas as questões relacionadas com este assunto (Gulseth MP, 2009).

Talvez não se consiga atingir a resposta ampla que se esperou no início, em que seria expectável que a genotipagem viesse dar resposta aos problemas relacionados com o início e monitorização da terapêutica com varfarina, e em quem o resultado de um simples teste genético poderia solucionar todas essas questões. Tendo em conta o amplo espectro de utilização da varfarina teria sido sem dúvida um enorme avanço na prevenção dos efeitos adversos deste fármaco. Mas ainda assim, é um esforço acrescido na procura de uma melhor resolução dos problemas relacionados com a segurança associados à varfarina e muito útil em situações especificamente identificadas. Além disso, a literatura deixa antever a continuação da investigação nesta área, na procura de resultados mais efectivos e mais promissores e também na identificação de outros genes que contribuem para a variabilidade da resposta.

No entanto, como foi referido, tal como todos os testes de diagnóstico, os testes genéticos não irão beneficiar todas as pessoas. É suposto que os médicos avaliem os actuais níveis de evidência e decidam se deverão aplicá-los actualmente, (e se sim em que situações), ou se deverão esperar os resultados dos ensaios clínicos que adoptam esta abordagem.

Talvez possamos dizer que a mais-valia desta metodologia na definição da dose de varfarina, em que se associa a informação genética conhecida e identificada até ao momento aos factores clínicos e sócio-demográficos, não tem uma resposta fechada e taxativa. Poder-se-á dizer que é talvez uma forma de diagnóstico personalizada para uma terapêutica também ela personalizada.

7. Bibliografia

Agendia. <http://usa.agendia.com/en/mammaprint.html>. <http://usa.agendia.com>. [Online] 2008.

Alfred Googman Gilman, et al. *Goodman & Gilman - As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 11ª edição. Rio de Janeiro : McGraw-Hill, 2006.

Astigarraga, Eneko. *El Método Delphi*. San Sebastian: Universidad de Deusto, 2007.

Carlquist, John F., et al. Genotypes of the Cytochrome p450 isoform, CYP2C9, and the vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 conjointly determine stable warfarin dose: a prospective study. *Journal Thromb Thrombolysis* . 2006, Vol. 22, pp. 191-197.

Chasman, D., et al. Pharmacogenetic Study of statin therapy and cholesterol reduction. *Journal American Medical Association*. 2004, Vol. 291, pp. 2821-27.

Pharmacogenetic Study of Statin Therapy and Cholesterol Reduction. *JAMA*. 2004, Vol. 291, pp. 2821-27

Coelho, H.T. e Moreira, A. L. Função Hemostática e sua Avaliação (aula teórico-prática): Faculdade de Medicina da Universidade do Porto - Serviço de Fisiologia, 2001/2.

Compton, C.C. e Greene, F.L. The staging of colorectal cancer: 2004 and beyond. *Cancer J. Clin*. 2004, Vol. 6, pp. 295-308.

Costa, Isabel Margarida Reis. *Análise Populacional da Varfarina - Contributo para a optimização da terapêutica na prática clínica*. Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra. Coimbra, 2001. Tese de Doutoramento.

Dai, Z., et al. Genotyping panel for assessing response to cancer chemotherapy. *BMC Med. Genomics* 1. 2008, Vol. 24.

D'Andrea G., et al. A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood*. 2005, Vol. 105, pp. 645-9.

Danesi, R., et al. 2009. Pharmacogenomics in non-small-cell lung cancer chemotherapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2009, Vol. 61, pp. 408-417.

Dick, JE. Looking ahead in cancer stem cells. *Nat. Biotechnol.* 2009, Vol. 27, pp. 44-46.

Eby, C. Pharmacogenetic-Based Initial Dosing of Warfarin: Not Ready for Prime Time. *Clinical Chemistry*. 2009, Vol. 54, pp. 712- 714.

Evans, W. e McLeod, H. Pharmacogenomics - Drug Disposition, Drug Targets and Side Effects. *The New England Journal of Medicine*. 2003, Vol. 348, pp. 538-49.

Evans, WE. Pharmacogenetics of thiopurine S-methyltransferase and thiopurine therapy. *Ther Drug Monit.* 2004, Vol. 26, pp. 186-91.

Fauci, A., et al. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17ª edição. Edição on-line: McGraw Hill, 2008.

FCSA, Federazione Centri Sorveglianza Anticoagulati. *A Guide to Oral Anticoagulant Therapy*. 1998.

FDA. <http://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm>. 2009.

FDA, Administration Food and Drug. Innovation or stagnation: challenge and opportunity of the critical path to new medical product. 2009.

www.fda.gov/oc/initiatives/critical_path/whitepaper.html. [Online] 2009.

Flockhart, D. A., et al. Pharmacogenetic testing of CYP2C9 and VKORC1 alleles for warfarin. *Genetics in Medicine*. 2008, Vol. 10, pp. 139-150.

Frueh, FW, et al. Pharmacogenomic Biomarker Information in Drug Labels Approved by the United States Food and Drug Administration: Prevalence of Related Drug Use. *Pharmacotherapy*. 2008, Vol. 28, pp. 992-8.

Gage BF, et al. Use of pharmacogenetics and clinical factors to predict the maintenance dose of warfarin. *Thrombosis and Haemostasis*. Janeiro de 2004, Vol. 91, pp. 87-94.

Garcia D., Hylek E. Warfarin Pharmacogenetics. *New England Journal of Medicine*. 4 de Junho de 2009, Vol. 360, pp. 2474- 5.

Giglio, Auro del e Kaliks, Rafael. *Princípios de Hematologia Clínica*. Tamboré: Manole, 2007.

Grant, S. e Hakonarson, H. Recent Development in Pharmacogenomics from Candidate Genes to Genome Wide Association Studies. *Future Drugs*. 2007, Vol. 7, pp. 371-393.

Guimarães, S. et al. *Terapêutica Medicamentosa suas Bases Farmacológicas*. 5ª edição. Porto Editora, 2006.

Gulseth M.P., et al. Pharmacogenomics of warfarin: uncovering a piece of the warfarin mystery. *American Journal of Health-System Pharmacy*. Janeiro de 2009, Vol. 66, pp. 123-33.

Harder, S., Thurmann, P. Clinically Important Drug Interactions with Anticoagulants (un Update). *Clin. Pharmacokinet*. 1996, Vol. 30, pp. 416-444.

Henrikson, N.B., et al. Ancillary Risk Information and Pharmacogenetic Tests: Social and Policy Implications. *The Pharmacogenomics Journal*. 2008, Vol. 8, pp. 85-89.

Hirsh J., Weitz J.I. Thrombosis and Anticoagulation. *Seminars in Hematology*. 1999, Vol. 4, pp. 118-132.

Horton, J.D. e Bushwick, B.M. Warfarin Therapy: Evolving Strategies in Anticoagulation. *Am. Fam. Phy.* 1999, Vol. 59, pp. 635-646.

<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00839657>. [Online]

<http://www.ror-sul.org.pt>, Instituto Português de Oncologia de Lisboa Francisco Gentil. <http://www.ror-sul.org.pt>. <http://www.ror-sul.org.pt>. [Online] [Citação: 20 de Julho de 2009.]

Husain, A., et al. Clinical Pharmacogenetics in Pediatric Patients. *Future Medicine*. 2007, Vol. 8, pp. 1403-11.

INFARMED, Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento. *Prontuário Terapêutico*. 2008.

Resumo das Características do Medicamento - Varfarina: Infarmed, 31 de Janeiro de 2006.

Ingelman-Sunberg, M. Pharmacogenomic Biomarkers for Prediction of Severe Adverse Drug Reactions. *The New England Journal of Medicine*. 2008, Vol. 358, pp. 637-39.

Katzung, B., et al. *Basic & Clinical Pharmacology*. 11^a. San Francisco: McGraw-Hill, 2009. edição on-line.

Kollek R., et al. Pharmacogenetics, adverse drug reactions and public health. *Community Genetics*. 2006, Vol. 9, pp. 50-54.

Landeta, Jon. *El Metodo Delphi*. Barcelona: Ariel, 1999.

Lee, S.Y., et al. A Case Report of a Patient Carrying CYP2C9*3/4 Genotype with Extremely Low Warfarin Dose Requirement. *Journal Korean Medicine Science*. 2007, Vol. 22, pp. 557-9.

Lichtman, M., et al. *Williams Hematology*. 7^a: McGraw-Hill, 2006. edição on-line.

Limdi, N.A., et al. Influence of CYP2C9 and VKORC1 on warfarin response during initiation of therapy. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. March de 2009, Vol. 43, pp. 119-128.

Limdi, N. A. e Veenstra, David. Warfarin Pharmacogenetics. *Pharmacotherapy*. 2008, Vol. 28(9), pp. 1084-97.

Lin, D., et al. Searching for "omic" biomarkers. *Can J Cardiol.* June de 2009, Vol. 25, pp. 9A-14A.

Lindh, J., et al. Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements - a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Clinical Pharmacology.* 2009, Vol. 65, pp. 365-375.

Linstone, H., et al. *The Delphi Method - Techniques and Applications.* Californi: Murray Turoff and Harold Linstone, 2002.

Ma, Q., et al. Advances in Pharmacogenomics of Antiretrovirals: an Update. *Future Medicine.* 2007, Vol. 8, pp. 1169-78.

Mallal, S., et al. HLA-B*55701 - Screening for Hypersensitivity to Abacavir. *The New England Journal of Medicine.* 2008, Vol. 358, pp. 568-79.

Marini, F. e Brandi, M.L. Pharmacogenetics of Osteoporosis: Future Perspectives. *Calcified Tissue International.* May de 2009, Vol. 84, pp. 337-47.

Martin, P. e Morrison, M. *Realising the Potencial of Genomic Medicine.* Institute for the Study of Genetics, Biorisks and Society, University of Nottingham. London : Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 2006.

McDonnell, E. K. & Patric. Building Individualized Medicine: Prevention of Adverse Reactions to Warfarin Therapy. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* Maio de 2007, Vol. vol.322, pp. 427-433.

McLeod, HL e Silva, C. The thiopurine S-methyltransferase gene locus - implications for clinical pharmacogenomics. *Pharmacogenomics.* 2002, Vol. 3, pp. 89-98.

McPhee, S., et al. *CURRENT Medical Diagnosis & Treatment 2009.* Online Eds. s.l. : McGraw-Hill , 2009.

Meckley, Lisa M., et al. An Analysis of the Relative Effects of VKORC1 and CYP2C9 Variants on Anticoagulation Related Outcomes in Warfarin-treated patients. *Thromb Haemost.* 2008, Vol. 100, pp. 229-239.

Miao, Liyan, et al. Contribution of age, body weight, and CYP2C9 and VKORC1 genotype to anticoagulant response to warfarin: proposal for a new dosing regimen in Chinese patients. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 2007, Vol. 63, pp. 1135-41.

Miyata, T. Y. & Toshiyuki. Warfarin dose and the pharmacogenomics of CYP2C9 and VKORC1 - Rationale and perspectives. *Thrombosis Research*. 2007, Vol. 120, pp. 1-10.

Møldrup, C. The prospects and bioethical dimensions of expanding the meaning of pharmacogenomics to compass individualized pharmacotherapy. *Per. Med.* 2005, Vol. 2, pp. 168-169.

Møldrup, Claus. Beyond personalized medicine. *Future Medicine*. Junho de 2009, Vol. 6, pp. 231-233.

Nemerson, Y. *Sequence of Coagulation Reactions.*: McGraw-Hill Publishing Company, 1991. pp. 1295-1304.

Oliveira, A. Gouveia. *Bioestatística, Epidemiologia e Investigação*. 1ª. Lisboa: Lidel, 2009.

Orland, M.J. *Manual de Terapêutica Clínica*. Rio de Janeiro: Medsi, 1988.

Pereira, Maurício G. *Epidemiologia - Teoria e Prática*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2003.

Peterson, C.E., Kwaan, H.A. Current Concepts of Warfarin Therapy. *Arch. Intern. Med.* 1986, Vol. 146, pp. 581-584.

Pinto, Anabela Mota. *Fisiopatologia, Fundamentos e aplicações*. Lisboa : Lidel, 2007.

Plosker, GL. e Keam, SJ. 2006. Trastuzumab: a review of its use in the management of HER2-positive metastatic and early-stage breast cancer. *Drugs*. 2006, Vol. 66, pp. 449-475.

Pohl, A., et al. Pharmacogenomics and -genetics in colorectal cancer. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2009, Vol. 61, pp. 375-380.

Pohl, A., et al. Targeting metastatic colorectal cancer in 2008: a long way from 5-FU. *Oncology*. 2008, Vol. 22, pp. 456-462.

Pyke, Donald L. A Practical Approach to Delphi. *FUTURES* 3. June de 1970, Vol. 2.

Raffa, R., et al. *Netter's Illustrated Pharmacology*: Elsevier, 2005.

Rang, H.P., et al. *Rang & Dale - Farmacologia*. Rio de Janeiro : Elsevier, 2007.

Redman, A., et al. CYP2C9 Genetic Polymorphisms and Warfarin. *Clin Appl Thrombosis/Hemostasis*. 2004, Vol. 10(2), pp. 149-154.

Rieder, Mark J., et al. Effect of VKORC1 Haplotypes on Transcriptional Regulation and Warfarin Dose. *The New England Journal of Medicine*. Junho de 2005, pp. 2285-93.

Roche, AmpliChip Package Insert.

http://amplichip.us/documents/Amplichip_CYP450_Test_Package_Insert.pdf.

www.roche.com. [Online] 2008.

Sanderson, S., et al. CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: a HuGENet systematic review and meta-analysis. *Genet Med*. 2005, Vol. 7, pp. 97-104.

Sanderson, S., et al. CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: A HuGENet systematic review and meta-analysis. *Genetics in Medicine*. 2005, Vol. 7(2), pp. 97-104.

Schmedders M., et al. Individualized pharmacogenetic therapy: a critical analysis. *Community Genetics*. 2003, Vol. 6, pp. 114-119.

Sconce, E., et al. The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. *Blood Journal*. October de 2005, Vol. 106.

Shin, J., et al. Pharmacogenetics: from discovery to patient care. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 1 de April de 2009, Vol. 66, pp. 625-37.

Suner, F. *Hemostasia para el Laboratorio Polivalente*: Consejo General de Colegios Oficiales Farmacêuticos, 1986.

Szklo, MM e Nieto, FJ. *Epidemiology: beyond the basics*: Aspen Publishers, 2002.

Thorn, C.F., et al. Pathway-Based Approaches to Pharmacogenomics. *Current Pharmacogenomics*. 2007, Vol. 5, pp. 76-86.

Tomalik-Scharte, D., et al. The Clinical Role Genetic Polymorphisms in Drug-Metabolizing Enzymes. *The Pharmacogenomics Journal*. 2008, Vol. 8, pp. 4-15.

Tripathi, K.D. *Farmacologia Médica*. 5ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Editora, 2006.

Valle A., et al. VKORC1 variant genotypes influence warfarin response in patients undergoing total joint arthroplasty. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. Julho de 2009, Vol. 467, pp. 1773-1780.

Venter, JC, et al. The Sequence of the Human Genome. *Science*. 2001, Vol. 5507, pp. 1304-1351.

Vladutiu, Georgirene D. The FDA Announces new drug labeling for pharmacogenetic testing: is personalized medicine becoming a reality? *Molecular Genetics and Metabolism*. 2008, Vol. 93, pp. 1-4.

Wadellius, M. Use of Pharmacogenetics in Guiding Treatment with Warfarin. *Clinical Chemistry*. 2008, Vol. 55, pp. 709-711.

Wiwanitkit, Viroj. Pharmacogenomic effect of Cytochrome P450 2C9 polymorphisms in different populations. *Clin Appl Thrombosis/Hemostasis*. 2006, Vol. 12(2), pp. 219-222.

Wu A.C., Fuhlbrigge A.L. Economic Evaluation of Pharmacogenetic Tests. *Practice - nature publishing group*. Agosto de 2008, Vol. 84, pp. 272- 274.

Wu, A., et al. Dosing algorithm for warfarin using CYP2C9 and VKORC1 genotyping from a multi-ethnic population: comparison with other equations. *Future Medicine*, 2008.

Wu, Alan HB, et al. Dosing Algorithm for Warfarin using CYP2C9 and VKORC1 genotyping from a multi-ethnic population: comparison with other equations. *Future Medicine*. 2008, Vol. 9(2), pp. 169-178.

You J., Chan F., Wong R., Cheng G. The potencial clinical and economic outcomes of pharmacogenetics-oriented management of warfarin therapy - a decision analysis. *Blood Coagulation, Fibrinolysis and Cellular Haemostasis*. Julho de 2004, Vol. 10, pp. 590-597.

Reconhecimento

Por que há coisas que não se agradecem, retribuem-se...

- Professor Doutor Sérgio Simões – a quem eu agradeço o facto de me ter dado a conhecer pela primeira vez o tema da Farmacogenómica
- Professor Doutor João Luís Baptista – que foi a pessoa que me apresentou o meu co-orientador, o Professor Doutor Luís Nunes
- Professora Doutora Ana Paula Marins – por todo o seu carinho, amizade, disponibilidade e atenção em todos os momentos
- Dra. Arminda Sustelo (Biblioteca do Hospital Professor Doutor Fernando Fonseca) – por toda a disponibilidade, carinho, dedicação e preciosa ajuda nas pesquisas bibliográficas
- Dra. Patrícia Ferreira – pela amizade e carinho que disponibilizou no tratamento de alguns dados
- Ao meu tio, José Carlos Mendes, pela paciência e carinho na revisão gramatical deste trabalho
- À minha irmã, por ter estado sempre presente

E porque este trabalho exigiu muitos contactos, conhecimentos, conversas, deixo uma palavra de reconhecimento a todos os que de uma forma ou de outra contribuíram com a sua disponibilidade e atenção:

- . Dra Ana Miranda – IPO Lisboa
- . Dr. António Moreira – IPO Lisboa
- . Professora Doutora Maria Gomes da Silva – IPO Lisboa
- . Dra. Fátima Vaz – IPO Lisboa
- . Dr. João Oliveira – IPO Lisboa
- . Dr. José Duro da Costa – IPO Lisboa
- . Dra Guadalupe Salta – IPO Lisboa
- . Dr. Mário Chagas – IPO Lisboa
- . Dr. Hugo Prazeres – IPO Coimbra
- . Dra. Beatriz Campos – IPO Coimbra

- . Professor Doutor Manuel Teixeira – IPO Porto
- . Dra. Lucília Norton – IPO Porto
- . Dr. Mário Mariz – IPO Porto
- . Dr. Campos Júnior – IPO Porto
- . Professor Doutor Bruno Sepodes – Faculdade de Farmácia de Lisboa
- . Professor Doutor Carolino Monteiro - Faculdade de Farmácia de Lisboa
- . Professora Doutora Carmo Fonseca – Instituto de Medicina Molecular
- . Dra. Teresa Porta-Nova – Genomed
- . Dr. Rui Rodrigues – Genomed
- . Dra. Maria João Toscano – Escola de Pós-Graduação em Saúde e Gestão

E àqueles que acompanharam mais de perto este meu projecto, os meus amigos:

Agradeço ao Frederico Silva e ao Nuno Machado, pela ajuda na análise de alguns artigos.

À minha querida amiga Susan Marum, pela sua amizade e disponibilidade à minha solicitação de última hora.

E, muito em especial, por todos os momentos de dúvida e angústia partilhados, por toda a força e por toda a cumplicidade desde o início, e sobretudo, por me terem feito sempre acreditar, agradeço e deixo uma grande palavra de AMIZADE:

- . à Rita
- . à Rose
- . à Cristina
- . e ao Hugo M.

Por fim, para ti. Eternamente. Sempre. *João.*

Anexos

Anexo 1a: carta sub-estudo 1

Anexo 1b: inquérito sub-estudo 1

Anexo 2: questionário sub-estudo 2

Anexo 3: cartas sub-estudo 2

Exmo(a) Sr(a)

Eu, Nélia Gouveia, aluna de do VIII curso de mestrado de "Tecnologias Farmacêuticas" da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, estou a realizar o meu trabalho de tese na área da Farmacogenómica em parceria com o Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa. O tema do trabalho é " Farmacogenómica: Realidades e Perspectivas na prática clínica".

Com o intuito de tentar saber qual a utilização desta nova área do conhecimento na prática clínica gostaria de solicitar-lhe a sua colaboração com o preenchimento do questionário em anexo e com a marcação de uma **entrevista** para poder recolher mais informações.

Grata pela sua atenção,
Envio os melhores cumprimentos,

Nélia Gouveia

neliagou@gmail.com

Farmacogenómica: Realidades e Perspectivas na prática clínica

Assunto: utilização da Farmacogenómica na prática clínica

Este inquérito destina-se a caracterizar a utilização de uma nova área do conhecimento na prática clínica - a Farmacogenómica -, ao nível de serviços alvo previamente identificados.

É um inquérito anónimo no que diz respeito ao respondente mas não em relação ao Serviço e ao Hospital.

A informação será tratada em conjunto e não de forma individual.

A farmacogenómica poderá deter hoje as ferramentas necessárias que possibilitam a construção de respostas terapêuticas dirigidas ao perfil genético dos indivíduos o que permite respeitar a variabilidade intra e inter-individual.

Com base nesta nova área do conhecimento poderá ser possível seleccionar, tendo em conta o genoma de cada indivíduo, o fármaco certo, para o doente certo, na dose certa. Esta situação implica a análise dos problemas relacionados com os medicamentos (nomeadamente os relacionados com a segurança e com a efectividade), a divisão da população em sub-populações mediante a resposta ao fármaco para a optimização da terapêutica, para o ajuste de doses, aumentando a eficácia e diminuindo a incidência das reacções adversas. Com esta intervenção poderá conseguir-se uma terapêutica mais personalizada e uma maior monitorização da relação benefício/risco.

1. Caracterização do Entrevistado:

Sexo: M F

Idade: _____

Especialidade: _____

Anos de actividade após o término do internato complementar _____

Cargo que ocupa no Serviço: _____

2. Caracterização do Serviço

- a) Serviço de _____
- b) Hospital _____
- c) Tempo de existência do serviço _____
- d) Número de médicos especialistas no serviço _____
- e) Número de primeiras consultas /ano _____
- f) Número total de doentes/ano _____

3. Caracterização do uso da Farmacogenómica

As perguntas que se seguem estão relacionadas com a utilização de testes genéticos com o objectivo de servir os princípios da farmacogenómica como sendo, o ajuste e a escolha da terapêutica, entre outros, para um perfil genético em particular e não com a utilização de testes genéticos para diagnóstico de doenças genéticas.

a) Utilizam a genética nas decisões terapêuticas?

Sim Não

Se sim:

b) em que situações?

- i) escolha de protocolo
- ii) ajuste das dosagens da terapêutica
- iii) ajustamento da duração da terapêutica
- iv) para escolha de um fármaco(s)

v) outra

c) Em que situações patológicas

d) Esta metodologia é utilizada com todos os doentes/casos? Sim Não

se não,
em que situações?

e) Esta metodologia está formalizada em protocolos ou normas de orientação clínica?

Sim Não

i) se sim, qual a fonte dos protocolos?

f) A prescrição dos testes é feita como?

pelo Médico de forma partilhada com o Farmacêutico

Especialidade _____

g) Onde é feito o processamento laboratorial dos testes de genética?

h) Uma vez tendo o resultado, a ponderação da terapêutica faz-se em articulação com o Farmacêutico?

Sim

Não

Observações

Obrigada pela sua colaboração

Questionário do Painei Delphi

Q1. Prática clínica

1. Que importância/utilidade tem o recurso à farmacogenómica na prática clínica?

- a. muita
- b. pouca
- c. Nenhuma

2. Na sua opinião, quando usada deverá permitir:

	Sempre	Depende	Nunca
Seleccção racional da terapêutica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diminuir problemas de compliance	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aumentar a efectividade do tratamento	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Reduzir custos da saúde (associados a tratamentos inefectivos)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Evitar reacções adversas a medicamentos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ajudar os clínicos a identificar quem é o melhor candidato ao tratamento eliminando tratamentos desnecessários	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dividir a população em sub-populações dependendo da resposta ao fármaco	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Desenvolvimento de novos fármacos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prever a resposta do indivíduo a um determinado fármaco permitindo ajustar a dose logo no início do tratamento	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

3. Considera que a introdução da Farmacogenómica nas guidelines da prática clínica são um contributo para melhorar/completar o diagnóstico e tratamento?

- a. Sim
- b. Não
- c. Em alguns casos quais?

Questionário do Painel Delphi

Q2. Formação

1. Concorda com a inserção de conceitos de Farmacogenómica na formação dos clínicos (médicos e farmacêuticos)?
 - a. Sim
 - b. Não

Se sim:

2. Deverá ser obrigatória?
 - a. Sim
 - b. Não
3. Em que tipo de formação deverá constar?
 - a. pré-graduada
 - b. pós-graduada
 - c. formação contínua
4. Deverá ser incorporada:
 - a. numa cadeira específica
 - b. numa cadeira já existente qual?
 - c. Num curso específico
 - d. Num curso já existente qual?
5. Qual o número de horas semanais, no caso de ter optado por uma cadeira?
 - a. 0-4h
 - b. 4-8h
 - c. Mais de 8
6. Qual o nº de horas do curso, caso tenha optado por um curso?
 - a. Meio dia
 - b. Um dia
 - c. 2 dias
 - d. Mais de 2 dias
7. A abordagem deverá ser
 - a. só teórica
 - b. teórico-prática

Questionário do Painel Delphi

8. Indique o grau de importância dos seguintes tópicos a constar no conteúdo programático:

	Muito importante	importante	indiferente
Conceitos básicos de genética e nomenclatura	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Identificação de doenças associadas a variações genéticas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Desenho da história familiar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Papel dos factores genéticos na manutenção da saúde e na prevenção da doença	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diferença entre o diagnóstico clínico da doença e a identificação da predisposição genética para a doença	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O papel dos factores não genéticos para modificar ou influenciar a genética na manifestação da doença	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Polimorfismos genéticos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Interpretação de <i>case studies</i> e modelos práticos relacionados com o uso da farmacogenética na prática clínica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Conhecimento dos testes disponíveis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Interpretação de resultados dos teste disponíveis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Alteração da terapêutica mediante resultados dos testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O papel da farmacogenética na medicina preditiva	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O papel da farmacogenética na oncologia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O papel da farmacogenética noutras patologias (cardiovasculares, asma, alzheimer, psíquicas)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Questionário do Painel Delphi

Q3. Farmácia de Oficina

Na área da Farmacogenómica deverá ser da competência do farmacêutico de oficina:

	Sempre	Depende	Nunca
Execução de testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Interpretação de testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fazer recomendações terapêuticas baseadas nos resultados dos testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Identificação de doentes com indicação para fazer testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Recolha de material para análise	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Explicar ao doente conceitos de probabilidade ou susceptibilidade à doença e a influência dos factores genéticos no desenvolvimento da doença	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Manter a confidencialidade e segurança dos resultados dos testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Transmitir os direitos dos doentes aquando da execução de um teste genético	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Obter informação actual sobre farmacogenómica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Identificar problemas relacionados com medicamentos que possam estar relacionados com a variabilidade genética, mesmo antes de serem feitos testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Identificar doentes que já fizeram testes de forma a que não os repitam desnecessariamente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Participar na educação profissional e do público em geral sobre farmacogenómica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Promover educação para os doentes acerca das potencialidades dos testes e das situações em que podem ser indicados	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dispensar informação adequada sobre potenciais riscos, benefícios e limitações dos testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dispensar materiais informativos sobre conceitos de genética e sobre os testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Questionário do Painel Delphi

Q4. Regulamentação

Na utilização da farmacogenómica na prática clínica será necessário regulamentar:

	sim	não
Em que situações devem ser feitos os testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
A formação necessária para o manuseamento dos testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
A formação necessária para a interpretação e análise dos resultados obtidos nos testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Quem executa o teste	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Quem decide a realização do teste	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Quem deve ter acesso aos resultados dos testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Quem transmite ao doente os resultados dos testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Quem comercializa o teste	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Condições de venda (com prescrição, venda livre)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
A quem deve ser vendido o teste (ao doente, aos hospitais,..)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Quem é responsável pela produção de informação dirigida ao doente sobre farmacogenómica e os respectivos testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O consentimento escrito do doente para a execução dos testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O nível de confidencialidade dos resultados dos testes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
A igualdade de oportunidade de tratamento independentemente da raça, grupo étnico, grupo etário, sexo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Exmo. Sr. Presidente do Colégio de Genética da Ordem dos Médicos,

Eu, Nélia Gouveia, aluna de do VIII curso de mestrado de "Tecnologias Farmacêuticas" da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, estou a realizar o meu trabalho de tese na área da Farmacogenómica em parceria com o Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa. O tema do trabalho é " Farmacogenómica: Realidades e Perspectivas na prática clínica".

Com o intuito de tentar saber qual a utilização desta nova área do conhecimento na prática clínica gostaria de lhe solicitar a indicação de **dois serviços a nível nacional** que possam ser por mim contactados com o intuito de explorar a utilização que fazem da Farmacogenómica.

Grata pela sua atenção,

Envio os melhores cumprimentos,

Nélia Gouveia

Exma. Sra. Presidente do Colégio de Farmácia Hospitalar da Ordem dos Farmacêuticos,

Eu, Nélia Gouveia, aluna de do VIII curso de mestrado de "Tecnologias Farmacêuticas" da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, estou a realizar o meu trabalho de tese na área da Farmacogenómica em parceria com o Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa. O tema do trabalho é " Farmacogenómica: Realidades e Perspectivas na prática clínica".

Com o intuito de tentar saber quais as perspectivas futuras da utilização desta nova área do conhecimento na prática clínica estou a organizar um painel de consenso (Painel Delphi) para o qual gostaria de lhe solicitar a indicação de **três Farmacêuticos de Farmácia Hospitalar** (de um qualquer hospital a nível nacional), que tenham contacto com esta área ou tenham conhecimentos sobre a mesma e que possam ser por mim contactados com o objectivo de participarem neste painel.

A metodologia do painel consiste no envio e preenchimento de um questionário do qual farei a análise dos níveis de concordância e que depois reenviarei aos participantes para que estes possam validar ou alterar a sua opinião de acordo com o consenso obtido em cada alínea.

Aguardo uma resposta tão breve quanto lhe for possível e agradeço desde já toda a atenção dispensada com este assunto,

Envio os melhores cumprimentos,

Nélia Gouveia

nelia.gouveia@anf.pt

91 218 01 09

Exm. Sr. Presidente do Colégio de Genética da Ordem dos Médicos,

Eu, Nélia Gouveia, aluna de do VIII curso de mestrado de "Tecnologias Farmacêuticas" da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, estou a realizar o meu trabalho de tese na área da Farmacogenómica em parceria com o Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa. O tema do trabalho é " Farmacogenómica: Realidades e Perspectivas na prática clínica".

Com o intuito de tentar saber quais as perspectivas futuras da utilização desta nova área do conhecimento na prática clínica estou a organizar um painel de consenso (Painel Delphi) para o qual gostaria de lhe solicitar a indicação de **três médicos especialistas em Genética** (de um qualquer hospital a nível nacional), que tenham contacto com esta área ou tenham conhecimentos sobre a mesma e que possam ser por mim contactados com o objectivo de participarem neste painel.

A metodologia do painel consiste no envio e preenchimento de um questionário do qual farei a análise dos níveis de concordância e que depois reenviarei aos participantes para que estes possam validar ou alterar a sua opinião de acordo com o consenso obtido em cada alínea.

Aguardo uma resposta tão breve quanto lhe for possível e agradeço desde já toda a atenção dispensada com este assunto,

Envio os melhores cumprimentos,

Nélia Gouveia

nelia.gouveia@anf.pt

91 218 01 09

Exma Coordenadora do Departamento
de Programas de Cuidados Farmacêuticos,
Dra Suzete Costa,

Eu, Nélia Gouveia, aluna de do VIII curso de mestrado de "Tecnologias Farmacêuticas" da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, estou a realizar o meu trabalho de tese na área da Farmacogenómica em parceria com o Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa. O tema do trabalho é " Farmacogenómica: Realidades e Perspectivas na prática clínica".

Com o intuito de tentar saber quais as perspectivas futuras da utilização desta nova área do conhecimento na prática clínica estou a organizar um painel de consenso (Painel Delphi) para o qual gostaria de lhe solicitar a indicação de **dez Farmacêuticos de Oficina que participem num qualquer Programa de Cuidados Farmacêuticos** (de qualquer zona do país) que possam ser por mim contactados com o objectivo de participarem neste painel.

A metodologia do painel consiste no envio e preenchimento de um questionário do qual farei a análise dos níveis de concordância e que depois reenviarei aos participantes para que estes possam validar ou alterar a sua opinião de acordo com o consenso obtido em cada alínea.

Aguardo uma resposta tão breve quanto lhe for possível e agradeço desde já toda a atenção dispensada com este assunto,

Envio os melhores cumprimentos,

Nélia Gouveia