



2009

Ana R. C. Valentim Análise Farmacogenómica de Efeitos Secundários da Analgesia Epidural com Morfina no Tratamento da Dor Pós-cesariana

FACULDADE DE MEDICINA

UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**Análise Farmacogenómica de Efeitos
Secundários da Analgesia Epidural com
Morfina no Tratamento da Dor Pós-cesariana**

Ana do Rosário Caleiro Valentim

2009



FACULDADE DE MEDICINA

UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**Análise Farmacogenómica de Efeitos
Secundários da Analgesia Epidural com
Morfina no Tratamento da Dor Pós-cesariana**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Anestesiologia e Terapêutica da Dor, realizada sob a orientação da Professora Doutora Maria Manuela Monteiro Grazina e co-Orientação do Professor Doutor Joaquim Manuel Vieira da Silva Viana.
Copyright© 2009. Todos os direitos reservados.

Ana do Rosário Caleiro Valentim

2009

Agradecimentos

Este trabalho não seria possível sem a contribuição de inúmeros intervenientes. A eles, expresso publicamente a minha gratidão:

À Professora Doutora Manuela Grazina, minha Orientadora, pelo entusiasmo e apoio constantes ao longo deste último ano e sobretudo pela amizade que foi crescendo com o desenvolver deste projecto.

À Professora Doutora Catarina Resende de Oliveira, Directora do Instituto de Bioquímica da Faculdade de Medicina de Coimbra e Presidente do Centro de Neurociências e Biologia Celular, por ter permitido a realização do trabalho laboratorial que conduziu a esta dissertação

Ao Professor Doutor Joaquim Manuel Vieira da Silva Viana pelo incentivo na participação no Mestrado em Anestesiologia e Terapêutica da Dor.

Aos colegas de anestesia que colaboraram no recrutamento de doentes.

Às equipas de enfermagem do bloco operatório e enfermaria de cirurgia da Maternidade Daniel de Matos a ajuda nunca negada, para a concretização deste projecto.

Ao Doutor Filipe Miguel Pereira da Silva, pela valiosa contribuição, sugestões, disponibilidade e ajuda no desenho e concretização do estudo genético.

À Mestre Carolina Ribeiro, pelo trabalho técnico relacionado com as análises genéticas, que são uma componente essencial neste trabalho.

Aos elementos do Laboratório de Bioquímica Genética do Centro de Neurociências e Biologia Molecular, agradeço a disponibilidade e colaboração manifestadas sem as quais este trabalho não teria sido realizado.

A minha família e amigos, um agradecimento muito especial à sensibilidade com a qual tiveram a bondade de me incentivar.

Ao Zé pela sua enorme compreensão e envolvimento solidário na feitura deste trabalho.

Índice de Texto

	Página
1. Introdução	1
1.1 A Farmacogenómica	2
1.2 Anestesia regional para cesariana	4
1.2.1 Anestésicos locais	5
1.3 Tratamento da dor pós-cesariana	6
1.3.1 Opióides por via neuro-axial	7
1.3.1.1 Efeitos secundários associados à analgesia com opióides	8
1.4 Opióides – características gerais, metabolismo e acção	10
1.5 Polimorfismos genéticos e influência na acção dos opióides	15
2. Amostragem e métodos	21
2.1 Recrutamento das participantes	22
2.1.1 Critérios de inclusão e exclusão	22
2.2 Metodologia	23
2.2.1 Anestesia	23
2.2.2 Avaliação e registo de dados	24
2.2.3 Análise genética e estudo farmacogenómico	26
2.3 Análise Estatística	28
3. Resultados	31
3.1 Caracterização clínica	32
3.2 Estudo genético dos polimorfismos val158met do gene COMT e 118A> G do gene <i>OPRM1</i>	37
3.3. Análise farmacogenómica	38
3.3.1 Impacto da variabilidade genética no aparecimento do efeito prurido	38
3.3.2 Impacto da variabilidade genética na dor	41
4. Discussão e Conclusões	48
5. Bibliografia	55
Anexos	60
Anexo I- Parecer da Comissão de Ética dos HUC	61
Anexo II- Formulário do consentimento informado	63
Anexo III- Ficha de registo de dados clínicos	69

Índice de Figuras

	Página
Figura 1.1- Modelo esquemático para a estrutura dos receptores opióides δ κ e μ	11
Figura 1.2- Modelo de activação do receptor opióide e transdução do sinal	13
Figura 1.3- Esquema representativo da reacção bioquímica catalisada pela COMT, relacionada com o metabolismo da dopamina	18
Figura 1.4- Esquema representativo da variação na estrutura da enzima COMT de acordo com a variação genética val108/158met	19
Figura 2.1- Fotografia ilustrativa dos resultados da análise de PCR-RFLP para o polimorfismo val158met do gene <i>COMT</i>	27
Figura 2.2- (A) Fotografia ilustrativa dos resultados da análise de PCR e (B) electroforetogramas representativos dos resultados da análise de sequenciação para o polimorfismo 118A> G do gene <i>OPRM1</i>	29
Figura 3.1- Representação gráfica dos dados relativos à indicação para cesariana	33
Figura 3.2- Evolução do score de prurido durante 12 horas de observação após a administração de morfina por via epidural	36
Figura 3.3- Evolução do score dor durante durante 12 horas de observação após a administração de morfina por via epidural	37
Figura 3.4- Distribuição do efeito prurido de acordo com as frequências dos genótipos associados ao polimorfismo val158met do gene <i>COMT</i>	39
Figura 3.5- Distribuição do efeito prurido de acordo com as frequências alélicas associadas ao polimorfismo val158met do gene <i>COMT</i>	39
Figura 3.6- Distribuição do efeito prurido de acordo com as frequências dos genótipos associados ao polimorfismo 118A>G do gene <i>OPRM1</i>	40
Figura 3.7- Distribuição do efeito prurido de acordo com frequências alélicas associadas ao polimorfismo 118A>G do gene <i>OPRM1</i>	40
Figura 3.8- Distribuição dos scores de dor de acordo com as frequências dos genótipos associados ao polimorfismo val158met do gene <i>COMT</i>	42
Figura 3.9- Distribuição dos scores de dor de acordo com as frequências alélicas associadas ao polimorfismo val158met do gene <i>COMT</i>	43
Figura 3.10- Distribuição dos scores de dor de acordo com as frequências dos genótipos associados ao polimorfismo 118A>G do gene <i>OPRM1</i>	43
Figura 3.11- Distribuição dos scores de dor frequências alélicas associadas ao polimorfismo val158met do gene <i>COMT</i>	44

Índice de Tabelas

	Página
Tabela 1.1- Efeitos mediados pela activação dos diferentes tipos de receptores de opióides	14
Tabela 2.1- Dados e parâmetros a registar da população em estudo	25
Tabela 3.1- Características demográficas, clínicas e obstétricas da população em estudo	32
Tabela 3.2- Complicações no período intra-operatório	34
Tabela 3.3- Distribuição dos genótipos e alelos relativos aos polimorfismos val/met158 do gene <i>COMT</i> e 118A>G do gene <i>OPRM1</i>	38
Tabela 3.4- Comparação entre mulheres com e sem o efeito secundário prurido relativamente a variáveis demográficas e clínicas	42
Tabela 3.5- Análise de associação entre as variáveis dor e prurido	45
Tabela 3.6- Análise da associação entre os factores demográficos e clínicos e os scores de dor	46
Tabela 3.7- Distribuição do consumo de efedrina de acordo com os genótipos do gene <i>OPRM1</i>	47
Tabela 3.8- Distribuição do consumo de efedrina de acordo com os genótipos do gene <i>COMT</i>	47

Abreviaturas

Abreviatura	Nome completo
AC	adenilato ciclase
AINS	anti-inflamatórios não esteróides
AL	anestésico local
AMPC	nucleótido de adenosina 5'-monofosfato cíclico
ATP	adenosina 5'-trifosfato
Ca ²⁺	ião cálcio
CI	<i>confidence interval</i> ; em Português intervalo de confiança
CNC	Centro de Neurociências e Biologia Celular de Coimbra
<i>COMT</i>	gene que codifica a COMT
COMT	catecol-O-metiltransferase
CREB	<i>cAMP response element binding protein</i> .
CSA	<i>combined spinal anesthesia</i> , em português "associação das duas técnicas de anestesia regional: a subaracnoideia com a epidural, também designada por anestesia sequencial"
CYP	citocromo P450
DA	dopamina
DOP	receptor de opióides tipo δ
DP	desvio padrão
Epi-raqui	associação de anestesia subaracnoideia com epidural
FC	frequência cardíaca
FR	frequência respiratória
GDP	guanosina difosfato
GTP	guanosina trifosfato
HUC	Hospitais da Universidade de Coimbra

IT	intratecal
KOP	receptor de opióides tipo κ
LCR	líquido céfalo-raquídeo
M3G	morfina-3-glicurónido
M6G	morfina -6-glicurónido
MDM	Maternidade Daniel de Matos
<i>MDR1</i>	gene que codifica a glicoproteína P
MOP	receptor de opióides tipo μ
MRP1	<i>motility-related protein 1</i>
MRP2	<i>motility-related protein 2</i>
MRP3	<i>motility-related protein 3</i>
NA	noradrenalina
Na ⁺	ião sódio
<i>OPRM1</i>	gene que codifica o receptor μ dos opióides
PCA	<i>patient controlled analgesia</i> ; em Português "analgesia controlada pela doente"
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> ; em Português "reacção da polimerase em cadeia"
P-gp	glicoproteína P
PKA	proteína cinase A dependente de AMPc
PKC	proteína cinase K dependente do AMPc
PLC	fosfolipase C
Qui-2	qui quadrado
RFLP	<i>restriction fragment lenght polymorphysm</i> ; em Português "polimorfismo do tamanho do fragmento de restrição"

SNP	<i>single nucleotide polymorphism</i> ; em Português "variação na sequência de DNA, envolvendo um nucleótido"
SpO ₂	Oximetria de pulso
UGT	uridino-difosfato-glucuronosil-transferase

Objectivos

Neste estudo, pretende-se identificar variações genéticas que permitam explicar o aparecimento/intensidade de um efeito secundário (prurido), observado em mulheres submetidas a analgesia por via epidural com morfina, para o tratamento da dor aguda pós-cesariana.

Com este propósito, procedemos à análise de associação entre os polimorfismos (variáveis independentes) 118A>G, do gene *OPRM1*, que codifica o receptor opióide- μ , e Val158Met, do gene *COMT*, que codifica a enzima catecol-O-metil-transferase (EC 2.1.1.6), no sentido de verificar a influência destas variações genéticas no aparecimento do efeito secundário prurido (variável dependente).

Resumo

O tratamento da dor pós-cesariana é essencial para a recuperação precoce e a longo prazo da puérpera. No entanto, coloca desafios adicionais aos médicos, porque existem diferenças entre a população obstétrica e a população cirúrgica geral, especificamente por causa dos receios da exposição do recém-nascido aos analgésicos administrados à mãe, além de que é desejável uma autonomia precoce e mobilização da puérpera para poder cuidar do recém-nascido.

A dor é um processo complexo, em que, provavelmente, a interacção de múltiplos genes, cada um com um papel individual diminuto, juntamente com a acção de factores ambientais, influencia a eficácia clínica dos opióides, mais do que um gene isolado. Polimorfismos nos genes que codificam o receptor μ e a catecol-o-metiltransferase podem ser importantes moduladores da eficácia dos opióides.

Os opióides são os fármacos mais utilizados para o tratamento da dor pós-cesariana por via sistémica ou neuro-axial. O prurido é o efeito secundário mais frequente decorrente da administração da morfina por via neuro-axial em obstetrícia. Pensa-se que esta vulnerabilidade pode ser causada por uma ligação alterada dos opióides a locais do receptor opióide por competição com os estrogéneos. O mecanismo subjacente ao aparecimento do prurido, após administração de opióides por via neuro-axial, não está completamente esclarecido.

No presente trabalho, foi realizado um estudo de associação entre os polimorfismos 118A>G, do gene *OPRM1*, que codifica o receptor μ , e o polimorfismo val158met do gene *COMT*, que codifica a catecol-o-metiltransferase, e o efeito secundário prurido, em mulheres nas quais tinha sido administrada morfina por via epidural para o tratamento da dor pós-cesariana.

Após aprovação pela comissão de ética, quarenta mulheres submetidas a cesariana sob anestesia regional receberam 2,5 mg de morfina por via epidural,

para o tratamento da dor. No pós-operatório, além do efeito secundário prurido foram analisados outros, como náuseas e vômitos, tendo sido também avaliados os *scores* de dor, a sedação e a depressão respiratória. No estudo efectuado a incidência de prurido foi de 67,5%.

No presente trabalho, a análise genética dos polimorfismos 118A>G do gene *OPRM1* e val150met do gene *COMT* nas quarenta mulheres revelou que as frequências genótípicas na população em estudo são, respectivamente: homozigóticas AA118 – 0,70, heterozigóticas A118G – 0,275, homozigóticas 118GG – 0,025; homozigóticas val-val158 – 0,225, heterozigóticas val158met – 0,625, homozigóticas 158met-met – 0,15. As frequências alélicas encontradas foram de 0,538 e 0,463, respectivamente, para as variantes val158 e 158met, e de 0,837 e 0,162, respectivamente, para as variantes A118 e 118G.

O estudo de associação destes polimorfismos (genótipos e alelos) com o efeito secundário “prurido”, decorrente da administração de opióides, foi negativo, não sendo as diferenças encontradas estatisticamente significativas.

No entanto, este é um trabalho pioneiro, não existindo previamente, tanto quanto é do nosso conhecimento, dados publicados relativamente ao estudo de associação farmacogenética entre os polimorfismos val108/158met e 118A>G, dos genes *COMT* e *OPRM1*, respectivamente, realizado numa população obstétrica.

Os resultados apresentados são preliminares, para uma população de 40 mulheres. São necessários estudos adicionais, para avaliação da associação de genes e eficácia clínica da morfina por via epidural, envolvendo um número maior de participantes.

Palavras-chave:

Analgesia epidural

COMT

Dor

Dor pós-cesariana

Farmacogenética/ Farmacogenómica

Morfina

Opióides

OPRM1

Polimorfismos (118A>G, val108/158met)

Prurido

Variabilidade genética

Resumo

O tratamento da dor pós-cesariana é essencial para a recuperação precoce e a longo prazo da puérpera. No entanto, coloca desafios adicionais aos médicos, porque existem diferenças entre a população obstétrica e a população cirúrgica geral, especificamente por causa dos receios da exposição do recém-nascido aos analgésicos administrados à mãe, além de que é desejável uma autonomia precoce e mobilização da puérpera para poder cuidar do recém-nascido.

A dor é um processo complexo, em que, provavelmente, a interacção de múltiplos genes, cada um com um papel individual diminuto, juntamente com a acção de factores ambientais, influencia a eficácia clínica dos opióides, mais do que um gene isolado. Polimorfismos nos genes que codificam o receptor μ e a catecol-o-metiltransferase podem ser importantes moduladores da eficácia dos opióides.

Os opióides são os fármacos mais utilizados para o tratamento da dor pós-cesariana por via sistémica ou neuro-axial. O prurido é o efeito secundário mais frequente decorrente da administração da morfina por via neuro-axial em obstetrícia. Pensa-se que esta vulnerabilidade pode ser causada por uma ligação alterada dos opióides a locais do receptor opióide por competição com os estrogéneos. O mecanismo subjacente ao aparecimento do prurido, após administração de opióides por via neuro-axial, não está completamente esclarecido.

No presente trabalho, foi realizado um estudo de associação entre os polimorfismos 118A>G, do gene *OPRM1*, que codifica o receptor μ , e o polimorfismo val158met do gene *COMT*, que codifica a catecol-o-metiltransferase, e o efeito secundário prurido, em mulheres nas quais tinha sido administrada morfina por via epidural para o tratamento da dor pós-cesariana.

Após aprovação pela comissão de ética, quarenta mulheres submetidas a cesariana sob anestesia regional receberam 2,5 mg de morfina por via epidural,

para o tratamento da dor. No pós-operatório, além do efeito secundário prurido foram analisados outros, como náuseas e vômitos, tendo sido também avaliados os *scores* de dor, a sedação e a depressão respiratória. No estudo efectuado a incidência de prurido foi de 67,5%.

No presente trabalho, a análise genética dos polimorfismos 118A>G do gene *OPRM1* e val150met do gene *COMT* nas quarenta mulheres revelou que as frequências genótípicas na população em estudo são, respectivamente: homozigóticas AA118 – 0,70, heterozigóticas A118G – 0,275, homozigóticas 118GG – 0,025; homozigóticas val-val158 – 0,225, heterozigóticas val158met – 0,625, homozigóticas 158met-met – 0,15. As frequências alélicas encontradas foram de 0,538 e 0,463, respectivamente, para as variantes val158 e 158met, e de 0,837 e 0,162, respectivamente, para as variantes A118 e 118G.

O estudo de associação destes polimorfismos (genótipos e alelos) com o efeito secundário “prurido”, decorrente da administração de opióides, foi negativo, não sendo as diferenças encontradas estatisticamente significativas.

No entanto, este é um trabalho pioneiro, não existindo previamente, tanto quanto é do nosso conhecimento, dados publicados relativamente ao estudo de associação farmacogenética entre os polimorfismos val108/158met e 118A>G, dos genes *COMT* e *OPRM1*, respectivamente, realizado numa população obstétrica.

Os resultados apresentados são preliminares, para uma população de 40 mulheres. São necessários estudos adicionais, para avaliação da associação de genes e eficácia clínica da morfina por via epidural, envolvendo um número maior de participantes.

Capítulo 1

1. Introdução

1.1 A Farmacogenómica

Em 2003, o Consórcio Internacional para a sequenciação do genoma humano declarou que o projecto tinha sido concluído (Collins et al., 2003), criando grandes expectativas de aplicação desta informação na área das Ciências Biomédicas.

Uma das áreas em que o impacto dessa informação se fez sentir com notoriedade foi a Farmacogenómica, que, em íntima associação com a Farmacocinética, pretende explicar de que forma a genética determina as variações individuais na resposta aos fármacos.

O conceito de diferença inter-individual na resposta aos fármacos foi referido pela primeira vez em 1909, por Archibald Garrod, no seu ensaio sobre os erros hereditários do metabolismo (Garrod, 1909).

As primeiras observações de que factores genéticos poderiam ter algum impacto na resposta a agentes farmacológicos usados na anestesia, ocorreu em meados dos anos 50. Kalow et al. (1957) notaram que ocorria relaxamento muscular prolongado após a administração de succinilcolina, tendo atribuído este facto a variações genéticas associadas ao metabolismo do fármaco, envolvendo a enzima butirilcolinesterase.

As diferenças no efeito dos fármacos e no aparecimento de efeitos secundários decorrentes da sua acção têm o contributo de factores genéticos. Existem variações normais de uma sequência genética, que se denominam polimorfismos genéticos, que podem traduzir-se em pequenas diferenças nas actividades enzimáticas. Estas variações podem ocorrer em genes que codificam proteínas e enzimas envolvidas no metabolismo e no transporte de fármacos, ou em factores que influenciam directa ou indirectamente os alvos terapêuticos (Kirchheiner et al., 2006), tais como receptores membranares, entre outros.

A Farmacogenómica, prometendo o fim de fármacos adequados a todos os doentes de igual forma, *one size fits all*, e erros na farmacoterapia, poderá ter neste âmbito uma das suas principais aplicações (Collins et al., 2001).

Actualmente o conceito de farmacogenómica, nomeadamente no que diz respeito à variação na resposta aos fármacos relacionada com variações genéticas, é amplamente reconhecido e poderá, num futuro próximo, levar à identificação de testes que permitam determinar qual a terapêutica mais adequada para cada indivíduo (Weinshilboum et al., 2004).

No entanto, deve ter-se em conta que as vias terapêuticas que estão envolvidas no metabolismo e acção da maior parte dos fármacos são complexas, para além de existirem factores não genéticos que também contribuem para a resposta celular, molecular e fisiológica aos fármacos (Swen et al., 2007).

Apesar do número crescente de achados científicos que demonstram o potencial dos estudos de Farmacogenómica para o benefício clínico, cujos alvos principais são as enzimas envolvidas na metabolização de fármacos e alguns receptores que constituem alvos terapêuticos, a transposição desses dados para aplicações clínicas tangíveis ocorre muito lentamente (Manolopoulos et al., 2007).

A maior parte dos resultados disponíveis na literatura, provém da análise de uma população pequena, específica para o estudo, composta de voluntários sãos em vez de doentes, com administração de uma única dose, usando diferentes transposições genótipo-fenótipo. Além disso, a maior parte dos estudos de associação positiva precisam de ser validados em populações de doentes independentes.

Os dados disponíveis ainda são limitados e sugerem que os testes de Farmacogenómica para polimorfismos simples podem ser responsáveis, apenas por parte da variabilidade da resposta aos fármacos. Os critérios de diagnóstico dos estudos de sensibilidade, especificidade e valor preditivo são aplicáveis a testes nos quais a resposta é determinada como uma variável dicotómica. Contudo, a resposta ao fármaco não pode ser sempre considerada um fenómeno do tipo tudo ou nada. Os critérios de testes diagnósticos de farmacogenómica não são habitualmente publicados, mas são muito importantes para implementação clínica da terapêutica, bem como para avaliar diferentes respostas ou eventual toxicidade.

Dado que a variação na resposta aos fármacos está, em alguma medida, relacionada com variações genéticas, os testes de Farmacogenómica têm o potencial

para uma utilização mais segura e eficaz permitindo terapêuticas individualizadas. Estudos recentes sugerem que as variações genéticas influenciam a resposta aos fármacos, designadamente aos analgésicos e aos anestésicos locais (Fozzard et al., 2005).

1.2 Anestesia regional para cesariana

A anestesia obstétrica evoluiu muito nos últimos 20 anos, tendo-se assistido a uma utilização crescente das técnicas de anestesia regional para cesariana. Este facto deveu-se ao reconhecimento de que a anestesia geral está associada a uma mortalidade materna mais elevada.

Além de evitar a necessidade de uma entubação, com todos os riscos inerentes na grávida, uma anestesia regional bem sucedida, reduz o risco de tromboembolismo, mortalidade respiratória pós-operatória e perdas sanguíneas peri-operatórias, quando comparada com a anestesia geral. Por outro lado são apontados outros benefícios, designadamente melhor analgesia, menor estase gástrica e melhores índices de apgar no recém-nascido (Burns et al., 2000).

Existem três opções possíveis: a anestesia epidural, a anestesia espinhal (subaracnoideia) ou uma associação de ambas. A maior parte das unidades obstétricas têm técnicas preferenciais para cesariana electiva, o que está relacionado com factores como recursos materiais e treino dos profissionais desta área clínica. A anestesia subaracnoideia permite um bloqueio mais previsível e de instalação mais rápida e com menor risco de toxicidade devido às pequenas quantidades de anestésico local utilizadas. A hipotensão e a cefaleia pós-perfuração da dura são as principais complicações associadas à anestesia subaracnoideia. A anestesia epidural é actualmente muito utilizada em cesariana quando já existe um cateter *in situ*, para a analgesia de trabalho de parto. Pode ser utilizada nestas circunstâncias para a realização de cesarianas urgentes. A anestesia combinada (epi-raqui), também designada por anestesia sequencial, permite o uso dos benefícios inerentes a cada

técnica quando utilizadas isoladamente. Assim, um bloqueio rápido e intenso é obtido com a anestesia subaracnoideia, que pode ser suplementado no intra-operatório o que é particularmente útil quando se usam doses baixas. Com a descoberta da existência dos receptores opióides na medula espinhal, generalizou-se o uso de fármacos opióides associados aos anestésicos locais por via intratecal.

1.2.1 Anestésicos locais

Os fármacos classificados como anestésicos locais bloqueiam de forma reversível a propagação dos potenciais de acção nos axónios (Heavner et al., 2007). Todas as moléculas de anestésico local (AL) para uso clínico contêm 3 partes: um domínio lipofílico (aromático), um domínio hidrófilo e uma cadeia intermediária, que pode ser um éster ou uma amida. O protótipo do AL aminoamida é a lidocaína, que tem uma duração de acção intermédia. Durante muitas décadas a bupivacaína foi o anestésico local de longa duração mais utilizado, mas a publicação de vários casos de paragem cardiorrespiratória após a sua utilização, levou à procura de ALs mais seguros. A bupivacaína é uma mistura racémica dos enantiómeros S e R. O enantiómero R é responsável pela cardiotoxicidade. Os novos anestésicos locais ropivacaína e levobupivacaína são manufacturados como enantiómeros-S. A ropivacaína tem uma estrutura semelhante à da bupivacaína. A levobupivacaína é o enantiómero-S da bupivacaína e foi o último anestésico local a ser introduzido na prática clínica. Os estudos *in vitro* e *in vivo* indicam que a levobupivacaína é tão potente como a bupivacaína, embora menos cardiotoxicidade. A levobupivacaína tem grande afinidade para as proteínas plasmáticas (>97%) e atravessa a placenta. É extensamente metabolizada pelo sistema citocromo P450 (CYP) nomeadamente pelas isoformas CYP1A2 e CYP3A4 e depois excretado pela urina (71%) e fezes. A ropivacaína é ligeiramente menos potente que a bupivacaína, produz maior diferenciação entre o bloqueio sensitivo e motor o que a torna particularmente adequada para analgesia de trabalho de parto.

1.3 Tratamento da dor pós-cesariana

O tratamento óptimo da dor peri-operatória é essencial para a recuperação precoce e a longo prazo. Este princípio também se aplica às mulheres submetidas a cesariana. No entanto, o tratamento da dor pós-cesariana coloca desafios adicionais aos médicos, porque existem diferenças entre a população obstétrica e a população cirúrgica geral, especificamente por causa dos receios da exposição do recém-nascido aos analgésicos administrados à mãe, além de que é desejável uma autonomia precoce e mobilização da puérpera para poder cuidar do recém-nascido (Lavand'homme, 2008).

Quando questionadas sobre os seus receios e expectativas, as grávidas referem como maior receio a dor, seguida da náusea e vômito, cólicas e prurido (Carvalho et al., 2005).

Os opióides são os fármacos mais utilizados para o tratamento da dor pós-cesariana. Eles podem ser utilizados por via sistémica ou por via neuro-axial. Os opióides sistémicos são eficazes para o tratamento da dor em repouso, sendo menos eficazes na dor em movimento. Várias revisões indicam que os opióides por via neuro-axial produzem analgesia superior aos opióides por via sistémica (Block, 2006). Como a maior parte das cesarianas são realizadas sob anestesia regional, a técnica utilizada condiciona a via de administração dos opióides (intratecal ou epidural).

A morfina é um opióide muito hidrossolúvel, o que condiciona uma longa duração de acção. Dados provenientes da literatura sugerem que o uso de doses elevadas de morfina por via epidural embora proporcione melhores níveis de analgesia associam-se a maior incidência de efeitos secundários (Dualé et al., 2003). A eficácia da analgesia é dependente da dose, observando-se um efeito "tecto", acima dos 3,75mg. A terapêutica analgésica multimodal tem como objectivo proporcionar um efeito aditivo, com menos efeitos secundários, combinando menores quantidades de cada fármaco com diferentes mecanismos de acção (Pan, 2006). Têm sido utilizados outros fármacos, associados aos opióides, tais como anti-

inflamatórios não esteróides (AINS) e paracetamol. Uma revisão sistemática de 36 estudos em 3.362 doentes, comparando a eficácia de adicionar o paracetamol ou seu precursor, AINS ou uma associação de ambos, aos opióides no pós-operatório, demonstrou que o paracetamol é uma alternativa útil aos AINS com baixa incidência de efeitos secundários e com uma eficácia muito semelhante aos AINS (Pan, 2006).

1.3.1 Opióides por via neuro-axial

Quase todos os opióides disponíveis têm sido utilizados por via epidural para o tratamento da dor pós-operatória. O local de acção dos opióides administrados por via espinal localiza-se na substância cinzenta, que está envolvida pela substância branca.

Qualquer fármaco colocado no espaço epidural difundirá de acordo com um gradiente de concentração, entre o espaço epidural e os tecidos circundantes. A velocidade com que o fármaco se desloca para um determinado tecido depende do volume de tecido e das suas propriedades físico-químicas. As leis termodinâmicas ditam a distribuição dos fármacos hidrófobos para os ambientes hidrófobos. Em certa medida, pode-se afirmar que a medula espinal compete com os tecidos adjacentes para o opióide disponível. Assim, ao escolher um opióide que apresente baixa captação pelos tecidos extra-espinais, resultará numa maior quantidade de fármaco que atinge os alvos medulares (receptores) com menor absorção sistémica.

Um dos factores clínicos mais importantes que distingue os opióides é a sua propensão para difundir rostralmente. O movimento dos fármacos no líquido cefalorraquídeo (LCR) deve-se a dois mecanismos: difusão e movimento deste fluido biológico.

A taxa de difusão de qualquer molécula num líquido ideal, é proporcional à temperatura e inversamente proporcional à raiz quadrada do peso molecular. Como a temperatura do LCR é constante e a raiz quadrada do peso molecular das moléculas de opióides é muito semelhante, a difusão não pode explicar as diferenças

na distribuição dos opióides no LCR. A principal causa de distribuição no LCR é o seu movimento. No entanto, como os movimentos do LCR são semelhantes para todas as moléculas de opióides, o factor determinante de distribuição é a taxa de eliminação do fármaco (*clearance*) do LCR. A *clearance* da morfina do LCR é muito lenta, o que, conseqüentemente, faz com que permaneça nele o tempo suficiente para atingir os centros cerebrais em concentrações suficientes para produzir efeitos secundários supra-espinhais, isto é, a sedação e a depressão respiratória. Os opióides muito lipossolúveis como o fentanil e o sufentanil, também produzem efeitos supra-espinhais mas que são devidos à sua eliminação rápida para o plasma e conseqüente redistribuição sistémica para o cérebro (Bernard, 2002).

1.3.1.1 Efeitos secundários associados à analgesia com opióides

Os principais efeitos dos opióides por via neuro-axial são: náusea, vômito, depressão respiratória, retenção urinária e prurido.

A náusea e o vômito são comuns com a administração de opióides por via neuro-axial provavelmente devido à migração rostral dos opióides para a zona alvo quimiorreceptora. Estes efeitos ocorrem com mais frequência com a morfina do que com os opióides lipossolúveis.

A depressão respiratória é o efeito potencial mais grave com a utilização de opióides administrados por via neuro-axial. Os estudos não obstétricos relatam uma incidência de depressão respiratória após a acção de opióides administrados por via neuro-axial, que varia entre 0,01%-7%. Os opióides deprimem os centros respiratórios cerebrais por mecanismos directos e indirectos, designadamente devido à captação vascular do fármaco pelos plexos venosos epidurais e subaracnoideus, difusão rostral através do LCR, ou difusão rostral perimedular directa através de canais vasculares (Carvalho, 2008). Pode ter um padrão bifásico, isto é, uma depressão precoce que pode ocorrer até duas horas após a administração do

fármaco, ou uma depressão tardia. A maior parte dos casos de depressão precoce descritos envolveu o fentanil e o sufentanil. A depressão tardia ocorre geralmente 6-12 horas depois da administração da morfina. É dependente da dose e deve-se à difusão rostral do fármaco.

A retenção urinária é mais comum com a utilização da morfina por via espinhal do que por via sistémica, não estando relacionada com a dose administrada. A acção dos opióides nos receptores opióides na medula sagrada, produz uma diminuição do fluxo parassimpático sagrado, relaxamento do detrusor e aumento da capacidade vesical, o que promove a retenção urinária, que pode persistir até 16 horas após a administração da morfina.

O prurido ocorre frequentemente a seguir à utilização de opióides, em particular por via neuro-axial. A incidência de prurido com opióides administrados por esta via situa-se entre 30 e 100%. A grande variação de incidência de prurido associado ao uso de opióides por via neuro-axial sugere que pode haver diferenças individuais que influenciem a percepção do prurido. Este efeito parece ser dependente da dose de analgésico administrado. As parturientes parecem ser mais susceptíveis, com uma incidência de 60-100%. O aumento da incidência de prurido durante a gravidez poder-se-á dever a uma interacção dos estrógenos com os receptores opióides. Embora não colocando a vida do doente em risco, pelo desconforto que ocasiona, este efeito secundário pode ter um impacto muito significativo nos níveis de satisfação dos doentes (Szarvas et al., 2003; Meek, 2006).

O mecanismo exacto pelo qual os opióides administrados por via neuroaxial produzem prurido continua a ser desconhecido (Ganes et al., 2007). Vários mecanismos têm sido propostos, que incluem a presença de um centro de prurido no SNC; activação medular no corno posterior da medula e antagonismo de transmissores inibitórios. A modulação da via serotoninérgica e o envolvimento das prostaglandinas pode também ser importante no desenvolvimento do prurido induzido por opióides.

Existe uma evidência crescente de que o prurido é mediado primariamente através de receptores opióides μ centrais. Ko et al. (2004) identificaram os receptores opióides μ , que estão primariamente envolvidos no desenvolvimento de

prurido. Administraram agonistas destes receptores, alfentanil, fentanil e remifentanil, por via intravenosa, em macacos. O prurido resultante foi revertido de forma eficaz com a administração periférica de um antagonista dos receptores μ .

Scott e Fisher (1982) sugeriram que a preponderância de receptores opióides no núcleo espinhal do trigémio, poderia explicar a grande incidência de prurido na distribuição do nervo trigémio. Szarvas et al. (2003) sugeriram que os opióides lipofílicos, ao contrário da morfina, não poderiam causar prurido através de receptores μ no cérebro, mas sim através de uma acção nos receptores μ medulares, tendo sido este mecanismo já proposto por Ballantines et al. (1989). Há ainda outros mecanismos que têm sido propostos, designadamente envolvendo os receptores centrais D2 (Horta & Viana, 2003). Também tem sido sugerido o envolvimento de receptores não opióides como o GABA e os receptores da glicina (KrajniK et al., 2001), para o aparecimento do prurido como efeito secundário decorrente da administração de opióides. No entanto, o mecanismo exacto para a sua ocorrência continua desconhecido.

1.4 Opióides – características gerais, metabolismo e acção

Os opióides são utilizados para o tratamento da dor aguda e da dor crónica. De acordo com a sua estrutura, podem ser classificados em 3 grupos: o primeiro grupo contém os produtos naturais morfina, codeína e tebaína, que foram isolados a partir do ópio; o segundo grupo contém os opióides totalmente sintéticos, que têm, muitas vezes uma estrutura química totalmente diferente dos opióides semi-sintéticos, mas que actuam nos mesmos receptores opióides e apresentam o mesmo espectro de analgesia e efeitos secundários que os compostos naturais; o terceiro grupo inclui os peptídeos que ocorrem naturalmente e os peptídeos sintéticos com propriedades *opioid-like* (Buschmann et al., 2002).

Os receptores opióides (Figura 1) foram classificados pela primeira vez (Martin et al., 1976) em receptores μ , κ e σ . Mais tarde, o grupo de Hans Kosterlitz

(1975), que descobriu os peptídeos opióides endógenos, introduziu o receptor δ na classificação dos receptores opióides. O receptor σ foi retirado desta família de receptores, porque não é activado pelos peptídeos opióides endógenos, não é antagonizado pela naloxona, nem activado pela morfina. Actualmente, conhece-se a composição em aminoácidos dos receptores opióides e a sequência de nucleótidos dos genes que os codificam. A recomendação actual do comité de nomenclatura da IUPHARI (*International Union of Basic and Clinical Pharmacology*) é de usar a designação DOP para o receptor δ , KOP para o receptor κ e MOP para o receptor μ .

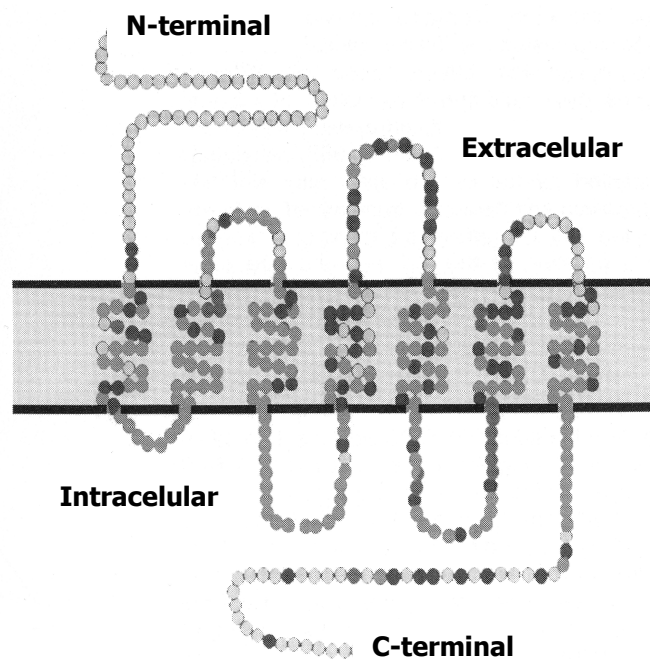


Figura 1.1- Modelo esquemático para a estrutura dos receptores opióides δ κ e μ (adaptado de Buschman et al., 2002).

Podem ser consideradas três regiões num receptor opióide: a extracelular, a intracelular e a região transmembranar. A porção extracelular é a parte que está localizada no lado externo da membrana celular, fora da célula, contém um N-terminal (amina) e está envolvida na selecção e ligação de ligandos específicos ao receptor. Estudos recentes indicam que são predominantemente a segunda e a terceira ansa extracelulares que determinam a selectividade do receptor. O C-terminal (carboxilo) contém grupos que podem ser fosforilados e que estão envolvidos na internalização do receptor e sua inactivação. Os sete domínios transmembranares estão associadas por regiões das ansas intra e extracelulares. As ansas externas e a parte terminal estão envolvidas na selecção e ligação de ligandos e contêm os elementos estruturais que determinam a selectividade do receptor (Buschman et al., 2002).

Os receptores opióides estão acoplados a proteínas G, que utilizam um sistema de segundos mensageiros para levar o sinal da activação do receptor para o interior da célula. As proteínas G são compostas por 3 subunidades: alfa (α), beta (β) e gama (γ). A unidade α possui um sítio de ligação com a guanosina trifosfato (GTP) ou guanosina difosfato (GDP). As subunidades β e γ permanecem sempre unidas. A proteína G localiza-se na superfície interna da membrana da célula, acoplada ao receptor.

Quando um ligando activa o receptor acoplado à proteína G (Figura 2), induz uma mudança conformacional no receptor, que permite que este funcione como um "factor de troca" do nucleótido de guanina, colocando o GTP no local do GDP, na subunidade $G\alpha$. Isso desencadeia a dissociação da subunidade $G\alpha$ (que está ligada ao GTP) do dímero $G\beta\gamma$ e do receptor. Ambas, $G\alpha$ -GTP e $G\beta\gamma$, podem então activar diferentes cascatas de sinalização (vias de segundo mensageiro, como a formação de AMPc, por exemplo) e proteínas efectoras. A molécula de GTP ligada é finalmente hidrolisada pela subunidade $G\alpha$ (que possui actividade enzimática de uma cinase), convertendo-se novamente em GDP, o que permite que a subunidade $G\alpha$ se recombinem com o dímero $G\beta\gamma$, iniciando um novo ciclo. Existem receptores opióides nas regiões pré- e pós-sinápticas. A nível pré-sináptico a activação dos receptores opióides produz uma diminuição do *firing* (estimulação) dos neurónios por inibição

dos canais de cálcio e estimulação dos canais de potássio, resultando na inibição da libertação de neurotransmissores e hormonas, tais como a acetilcolina, noradrenalina, somatostatina, etc. A nível pós-sináptico, a sua activação resulta na inibição da adenilciclase, que cataliza a transformação do ATP em AMPc, regulando a actividade da proteína cinase A, dependentes do AMPc, resultando na alteração do metabolismo e da transcrição nas células, dependente da CREB.

Por outro lado, a estimulação das proteínas G pode resultar na activação da fosfolipase C (PLC), levando à formação de inositol-1,4,5-trifosfato (IP3) e de di-acilglicerol (DAG), que, respectivamente, estimula a libertação de cálcio do retículo endoplasmático e activa a proteína cinase C (PKC).

As propriedades farmacológicas dos opióides dependem fundamentalmente de três mecanismos: (1) activação dos canais de K⁺; (2) inactivação dos canais de cálcio dependentes de voltagem (N, P e R); (3) inibição da adenilato ciclase.

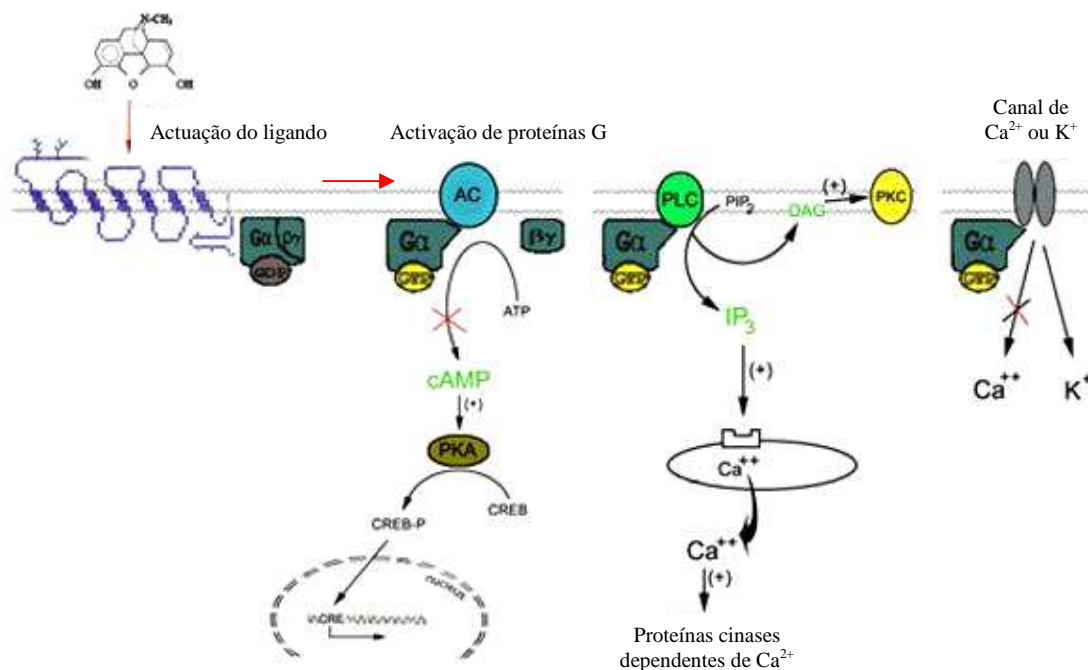


Figura 1.2- Modelo de activação do receptor opióide e transdução do sinal (adaptado de <http://www.medscience.us/page10.html>). Legenda: AC- adenilciclase; PLC- fosfolipase C; PKC- proteína-cinase C; (CREB- *AMPc response element-binding protein*), AMPc – Nucleótido de adenosina 5'-monofosfato cíclico.

A estrutura peptídica dos diferentes receptores de opióides é muito semelhante, razão pela qual a maior parte dos ligandos mostra afinidade para mais do que um receptor.

Os efeitos mediados pela activação dos diferentes tipos de receptores opióides estão representados na (Tabela 1.1).

Tabela 1.1- Efeitos mediados pela activação dos diferentes tipos de receptores de opióides (adaptado de Buschman et al., 2002).

<i>MOP</i>	<i>DOP</i>	<i>KOP</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Analgesia (acção supramedular) • Analgesia (acção medular) • Depressão respiratória • Dependência • Obstipação • Euforia 	<ul style="list-style-type: none"> • Analgesia (?) • Ansiólise (?) 	<ul style="list-style-type: none"> • Analgesia (acção supramedular) • Analgesia (acção medular) • Depressão respiratória • Sedação • Disforia • Diurese

O metabolismo dos opióides está intimamente relacionado com a sua estrutura química (Lotsch et al., 2004.). A O-desmetilação é catalizada pela enzima citocromo P 450 (CYP) 2D6, enquanto a desmetilação no átomo de nitrogénio (azoto) é catalizada principalmente pelo CYP3A4. Os opióides morfina, alfentanil, fentanil e sufentanil são substratos do CYP3A4. A morfina é glicuronoconjugada a morfina 3-glicurónido e 6-glicurónido. A glicuroconjugação da morfina é mediada principalmente pela uridino-difosfato-glucuronosil-transferase (UGT).

Os opióides também interagem com outras proteínas, como a glicoproteína P (P-gp), que está envolvida na sua distribuição. Esta proteína é um transportador

membranar, que é codificada pelo gene de resistência múltipla a fármacos (*MDR1*), presente em diversos tecidos. De entre as variações genéticas descritas, o SNP C3435 no exão 26 do *MDR1* tem sido extensivamente investigado pelas consequências fenotípicas associadas (Lotsch et al., 2004). Outros transportadores potencialmente envolvidos na distribuição de opióides são o MRP1, MRP2 e MRP3.

Algumas causas genéticas, responsáveis pela variabilidade individual da resposta aos opióides, são conhecidas há vários anos (Lotsch et al., 2004). Os polimorfismos genéticos afectam não só a farmacocinética, como também a farmacodinâmica dos analgésicos opióides.

1.5 Polimorfismos genéticos e influência na acção dos opióides

As variações genéticas no gene *OPRM1*, que codifica o receptor opióide μ são candidatos primários para a influência nos efeitos dos opióides. O polimorfismo mais comum do gene do receptor μ tem implicações na modulação da dor e analgesia (Lötsch et al., 2004). A influência do polimorfismo no gene *COMT*, que codifica a catecol-o-metiltransferase (COMT), na dor, também tem sido alvo de investigação intensa nesta área de estudos.

Vários polimorfismos têm sido descritos no gene *OPRM1* (Grosch et al., 2001; Landau et al., 2005; Lotsch et al., 2005; Chou et al., 2006). A variação de sequência mais comum consiste na substituição da adenina (A) pela guanina (G), na posição 118 (118A>G) do exão 1. Esta variação de sequência leva à substituição do aminoácido asparagina (Asn) pelo aspartato (Asp), carregado negativamente, na posição 40 do terminal N extracelular do receptor μ (Lotsch et.al., 2005; Lotsch et al., 2006). Na literatura, a frequência alélica foi descrita com uma ocorrência de 10-20% (Landau, 2005). Um estudo funcional *in vitro* demonstrou um aumento da afinidade e potência da β -endorfina, um ligando endógeno pela variante GG do receptor μ . Assim, indivíduos que tenham esta variante poderiam apresentar

diferenças em algumas das funções mediadas pela acção da β -endorfina no receptor. O aumento da afinidade da endorfina para o receptor quando a variante genética é 118G não é uma observação constante nos diferentes trabalhos publicados (Lotsch et al., 2005). Os resultados de um estudo norueguês com doentes oncológicos demonstraram variações significativas de consumo de morfina de acordo com os genótipos. Os doentes com o genótipo GG necessitaram de doses mais altas de morfina do que os indivíduos com genótipo AA.

A variabilidade étnica também tem sido referida como sendo importante, influenciando as frequências alélicas. A frequência de indivíduos homozigóticos 118G e heterozigóticos tem sido relatada como entre 2% e 20% respectivamente, com uma frequência alélica 118G de 11,5%, independente do género, entre os caucasianos. Nos asiáticos, a frequência desta variante é mais alta, variando entre 35% e 47%, enquanto que nos afro-americanos a variante é mais rara do que nos outros grupos étnicos (Landau, 2005).

A influência do polimorfismo 118A>G na constricção da pupila em resposta à morfina e ao seu metabolito activo morfina-6-glicurónido (M6G), tem sido avaliada, tendo sido demonstrado que os portadores do alelo 118G exibem menor resposta ao efeito clínico vasconstrictor da morfina do que ao seu metabolito M6G. Os autores postularam que o alelo 118G pode ser um de vários factores que confere protecção contra os efeitos secundários e, provavelmente, contra a toxicidade relacionada com o M6G (Lotsch et al., 2005).

Num estudo efectuado por Landau et al. (2004) verificou-se que a frequência da variante 118G era relativamente alta numa população obstétrica constituída por dois grupos étnicos, provenientes de duas instituições diferentes. A frequência alélica global 118G era 18,8%. Landau et al. (2008) demonstraram que a variante 118G reduz significativamente o ED₅₀ de fentanil intratecal para analgesia de trabalho de parto, sugerindo que as mulheres com esta variante alélica respondem mais a este tipo de opióides, requerendo menores doses de analgésico. O polimorfismo 118A>G tem um efeito significativo na percepção da dor, nas necessidades de analgésico e no desenvolvimento de náuseas nas primeiras 24 horas, pós-cesariana, em mulheres às quais foi administrada morfina por via

intratecal e analgesia controlada pela doente com morfina (PCA). As mulheres portadoras do genótipo AA consumiram menor quantidade de morfina e apresentaram *scores* de dor mais baixos que os outros grupos de genótipos (Sia et al., 2008).

A COMT é uma enzima que transfere um grupo metil da S-adenosil para um substrato catecol, produzindo assim a S-adenosyl-l-homocisteína e um catecol O-metilado (Figura 3). Qualquer composto que tenha uma estrutura catecol é um potencial substrato para a COMT. A sua principal função é eliminar catecóis activos ou tóxicos. As catecolaminas noradrenalina (NA), adrenalina (A) e dopamina (DA) e os seus metabólitos hidroxilados estão entre os principais substratos para a COMT (Anderson et al., 2009).

Numerosas variações de sequência têm sido descritas no gene *COMT*, que codifica a enzima com o mesmo nome. A maior parte dos polimorfismos descritos estão localizados em regiões não codificadoras ou não altera a sequência de aminoácidos da proteína COMT.

O único SNP que prediz uma alteração na sequência de aminoácidos é o rs4680, no exão 3, que causa uma substituição da valina (val) pela metionina (met) na posição 158 (Figura 4). Esta variante está associada a uma diferença na termoestabilidade da enzima levando a uma redução de 3 a 4 vezes da

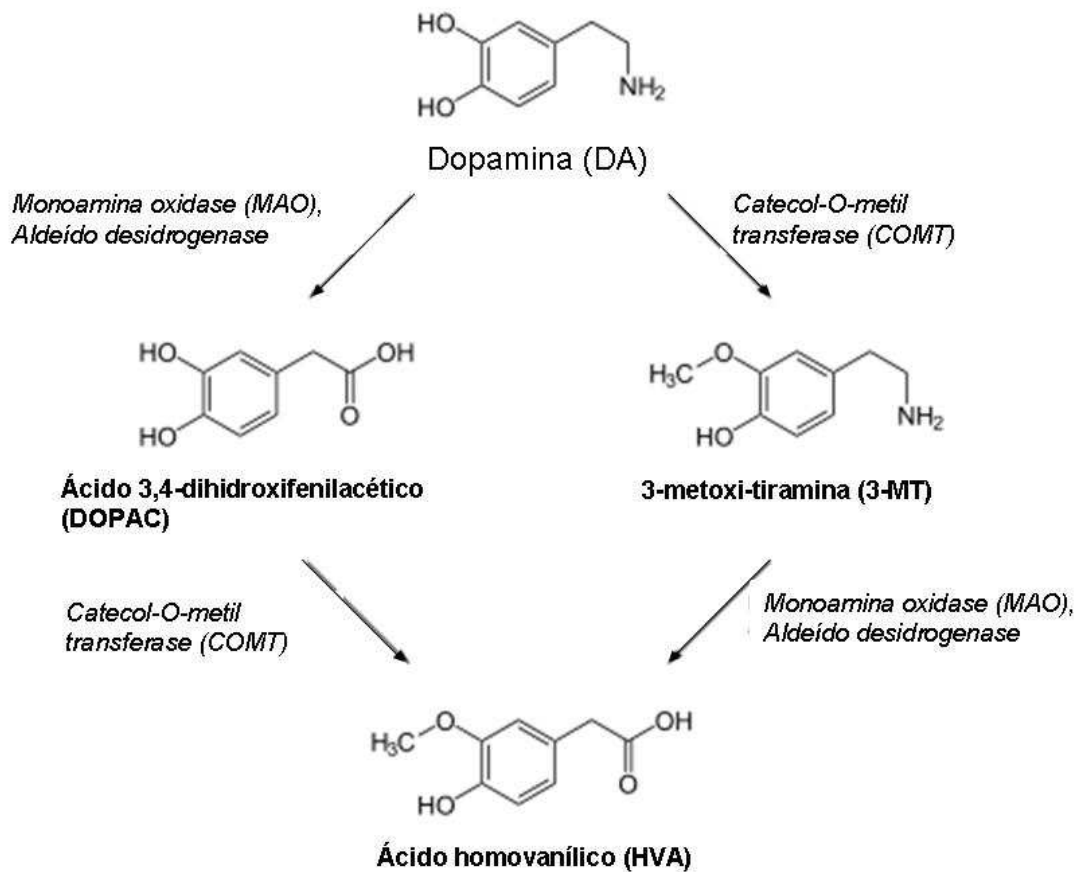


Figura 1.3- Esquema representativo da reacção bioquímica catalizada pela COMT, relacionada com o metabolismo da dopamina.

actividade da enzima COMT. Os alelos são codominantes e, por isso, indivíduos com o genótipo val/val têm a maior actividade da COMT, os com o genótipo met/met têm a mais baixa actividade e os heterozigóticos apresentam actividade enzimática em valores intermédios (Zubieta et al., 2003).

Zubieta e colaboradores demonstraram que polimorfismos no gene que codifica a COMT podem influenciar a experiência de dor, estudando o efeito do polimorfismo val158met em 29 voluntários saudáveis, que foram sujeitos a uma dor muscular de intensidade controlada (Zubieta et al., 2003). Os indivíduos homozigóticos para o alelo 158Met apresentavam *scores* afectivos e de intensidade de dor mais altos. Com o uso da tomografia com emissão de positrões e um

radiofármaco marcador selectivo para o receptor μ , foi demonstrado que estes indivíduos apresentavam menor activação do receptor opióide μ e a maior densidade regional de locais de ligação a estes receptores. Efeitos opostos foram demonstrados nos indivíduos homozigóticos 158 Val. Estes resultados são semelhantes aos observados em modelos animais, nos quais a activação crónica da neurotransmissão dopaminérgica conduz a uma situação semelhante à que se encontra nos indivíduos met/met com baixa actividade da COMT, estando associada a um conteúdo reduzido de encefalinas e a um aumento na concentração regional de receptores opióides tipo μ .

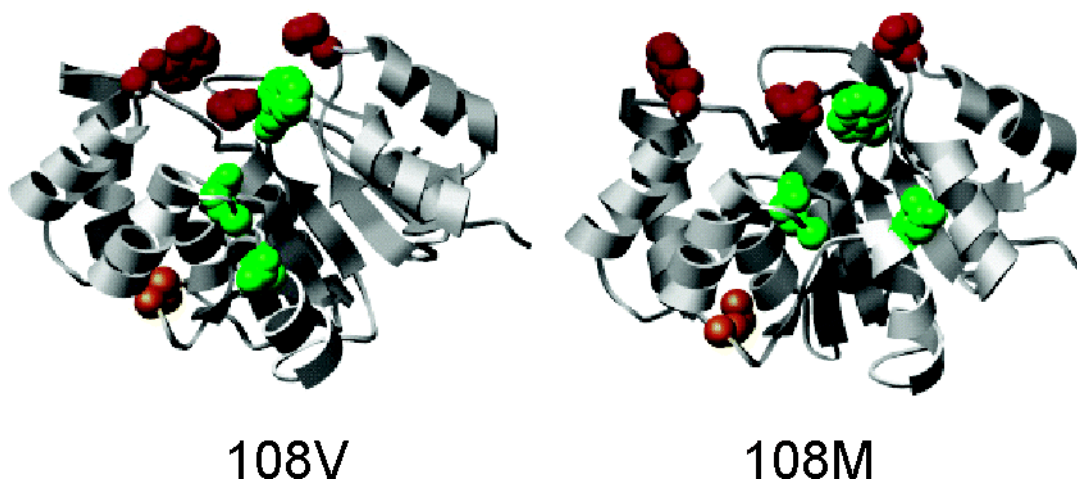


Figura 1.4- Esquema representativo da variação na estrutura da enzima COMT de acordo com a variação genética val108/158met (adaptado de Rutherford et al., 2006).

O polimorfismo val158met pode também ser relevante no tratamento da dor oncológica. Num estudo efectuado em 207 doentes noruegueses com cancro, tratados com morfina, verificou-se que os doentes que eram homozigóticos para o

alelo val158 recebiam, em média, 50% mais morfina por dia, em comparação com os doentes homozigóticos 158met (Klepstad et al., 2004; Anderson et al., 2009).

Variações no gene da COMT podem também influenciar o aparecimento de efeitos secundários indesejáveis, no tratamento com opióides. Num estudo com 228 doentes oncológicos ingleses, tratados com morfina, foi demonstrado que um SNP no intrão 1 (rs740603) tinha um efeito protector contra a sonolência, alucinações e confusão. No entanto, os autores deste estudo não observaram nenhum impacto do polimorfismo val158met nos efeitos secundários centrais nem nas necessidades de morfina (Anderson et al., 2009).

Os diversos estudos publicados na literatura apontam no sentido de existirem efeitos diferenciados de acordo com variantes genéticas. Por outro lado, o aparecimento de efeitos secundários pode ter uma componente farmacogenética, o que sublinha a importância desta área de estudos na realidade clínica actual.

Capítulo 2

2. Amostragem e métodos

2.1 Recrutamento das participantes

O presente estudo foi observacional, prospectivo, realizado no Departamento de Obstetrícia dos Hospitais da Universidade de Coimbra e o trabalho laboratorial decorreu no Instituto de Bioquímica da Faculdade de Medicina de Coimbra/ Laboratório de Bioquímica Genética do Centro de Neurociências e Biologia Celular (CNC), da Universidade de Coimbra.

Este estudo foi sujeito à aprovação pela comissão de ética hospitalar (Anexo I) e todos as participantes deram o seu consentimento informado (Anexo II) oral e por escrito.

Foram recrutadas de forma aleatória e sequencial mulheres propostas para cesariana nas quais foi realizada anestesia regional (epidural ou sequencial), sem recurso a opióides no intra-operatório, nas quais a analgesia pós-operatória foi realizada com morfina por via epidural (2,5 mg) de 12 em 12 horas e paracetamol 1 g de 6 em 6 horas como base analgésica. A todas as grávidas foram explicados os objectivos do estudo, assim como a necessidade de recolha de sangue para estudo genético e dados clínicos. Estas doentes foram recrutadas de acordo com os critérios de inclusão e exclusão que se expõem seguidamente.

2.1.1 Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão no presente estudo foram os seguintes: (1) idade superior a 18 anos; (2) gravidez única ou múltipla; (3) cesariana sob anestesia regional e (4) Asa I /II.

Os critérios de exclusão no presente estudo foram os seguintes: (1) doença crónica cardiovascular grave ou provocada pela gravidez; (2) história de consumo de opióides; (3) alergias a anestésicos locais e/ou opióides; (4) contra-indicação para a realização de anestesia regional; (5) história de prurido durante a gravidez.

2.2 Metodologia

2.2.1 Anestesia

A anestesia regional foi realizada de acordo com as técnicas padronizadas. Em todas as mulheres foi realizado o preenchimento vascular com um cristalóide lactato de *ringer* ($20 \text{ mlKg}^{-1}\text{h}^{-1}$) antes da realização da anestesia regional. A execução das técnicas ocorreu em todos os casos com as grávidas em decúbito lateral. Foi cateterizado o espaço L2-L3 ou L3-L4. Quando foi utilizada a técnica sequencial, isto é, uma associação de um bloqueio subaracnoideu com um cateter colocado no espaço epidural, administrou-se 10-12,5 mg de levobupivacaina a 0,5%, no espaço subaracnoideu.

Nas grávidas em que a técnica eleita foi a anestesia epidural, foi utilizada a levobupivacaína 0,5%, num volume que variou entre 15-20 ml. Não foi administrada qualquer pré-medicação. Foi administrado um antibiótico a todas as grávidas, em geral a cefazolina, excepto se contra-indicado. Quando ocorreu hipotensão durante a intervenção cirúrgica, foram administrados bólus de efedrina 5 mg, como é rotina na Maternidade Daniel de Matos. Em algumas doentes foi administrada ocitocina. A metoclopramida foi administrada quando ocorreram náuseas e/ou vômitos. Não se verificou nenhuma complicação cirúrgica neste grupo de mulheres. No fim da cirurgia, foi colhido 10 ml de sangue de uma veia dorsal do pé, que foi acondicionado em frascos com 2,5 ml de EDTA devidamente rotulados.

Em todas as mulheres a analgesia foi realizada com morfina, sem conservantes, numa dose de 2,5 mg, administrada por via epidural e paracetamol 1g a cada 6 horas, como base analgésica.

Todas as mulheres submetidas a cesariana foram monitorizadas continuamente nas primeiras 12 horas. Essa monitorização incluiu parâmetros hemodinâmicos, oximetria de pulso, frequência respiratória, *scores* de dor, bloqueio

motor e efeitos secundários associados ao uso de opióides por via neuro-axial especificamente: náusea e vômito, depressão respiratória, prurido, retenção urinária e nível de consciência.

A natureza dos efeitos secundários foi explicada a todas as utentes, assim como os meios de avaliação.

Considerou-se depressão respiratória se a frequência respiratória fosse inferior a 10 ciclos por minuto e/ ou se a SpO₂ fosse inferior a 90%, ou caso se verificasse um *score* de sedação ≥ 3 (Tabela 2.1).

Nas mulheres submetidas a cesariana, é colocada, por rotina, uma sonda vesical, que é retirada ao fim de 12 horas. Considerou-se retenção urinária, se não ocorresse micção espontânea até seis horas depois da retirada da sonda vesical.

A dor foi avaliada utilizando uma escala numérica de 0 a 10, em que 0 equivale a não ter dor e 10 é o máximo de dor que é possível sentir. Apenas se avaliou a dor em repouso.

2.2.2 Avaliação e registo de dados

Os dados e parâmetros registados para cada doente estão descritos na Tabela 2.1.

Foram avaliados os dados clínicos em 4 momentos: T0, T1, T2 e T3 e registados em ficha própria (Anexo III). O momento T0 (avaliação basal) correspondeu à avaliação clínica imediatamente antes da administração da morfina por via epidural. A primeira administração da morfina foi efectuada 1h30 a 2h00 depois de efectuado o bloqueio subaracnoideu ou epidural para a realização da cesariana. Os momentos T1, T2 e T3 corresponderam, respectivamente, às avaliações 4, 8 e 12 horas após a administração da morfina por via epidural.

Tabela 2.1- Dados e parâmetros a registrar da população em estudo.

Tipo de dado	Parâmetros
Demográficos	Idade Peso Altura Etnia (caucasiana, africana ou asiática)
Parâmetros vitais* (T0, T1, T2, T3)	PA FC Oximetria de pulso (SpO ₂) FR Dor
Sedação	Avaliada de acordo com a seguinte escala: 1-acordada 2-sonolenta facilmente despertável 3-sonolenta dificilmente despertável 4-não despertável
Bloqueio motor	Avaliada de acordo com uma escala de <i>bromage</i> modificada: 0-sem bloqueio motor 1-não levanta a perna esticada, mexe os joelhos 2-não levanta a perna esticada, não mexe os joelhos, mexe os pés 3-bloqueio motor completo
Hipotensão	Pressão arterial sistólica inferior a 90 mm Hg ou uma redução nos valores basais superior a 30%
Náusea e Vômito (T0, T1, T2, T3)	Avaliados por escala ordinal de 3 pontos: 0=ausência de sintomas 1=náusea (sensação subjectiva desagradável com desejo intenso de vomitar) 2=vômito (contrações espasmódicas da parede abdominal e músculos diafragmáticos com expulsão forçada de conteúdo gástrico).
Prurido (T0, T1, T2, T3)	Avaliado com uma escala ordinal: 0-sem prurido 1-ligeiro 2-moderado 3-insuportável
Satisfação ^s	Avaliada de acordo com a escala: 1-Não satisfeita 2-Pouco satisfeita 3-Satisfeita 4-Muito satisfeita

Legenda: PA – pressão arterial; FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória.

* A dor foi avaliada com uma escala numérica de 10 unidades em que 0 corresponde a não ter dor e 10 é o máximo de dor possível. A 1ª avaliação da dor (T0) é feita imediatamente antes da administração da morfina por via epidural. A reavaliação da dor é feita às 4, 8 e 12 horas (T1, T2 e T3 respectivamente). Os restantes parâmetros clínicos são avaliados em simultâneo com a avaliação da dor.

Para o tratamento das náuseas e vômitos foi utilizado droperidol 1,25 mg intravenoso e/ou metoclopramida 10 mg. O prurido foi tratado com hidroxizina 25 mg ou, se fosse insuficiente, com bólus de naloxona 0,04 mg intravenoso repetidamente ou 0,4 mg intramuscular. A analgesia de resgate foi efectuada com morfina (2 mg) por via intravenosa quando a puérpera referiu um *score* de dor superior a 3. No final do estudo todas as utentes foram inquiridas sobre os níveis de satisfação em relação à analgesia.

2.2.3 Análise genética e estudo farmacogenómico

O sangue periférico (10 ml) foi colhido em tubos com EDTA. A colheita de amostras foi efectuada de acordo com as regras da Comissão de Ética dos HUC e apenas nos casos em que foi dado o consentimento informado (Anexo II) das doentes.

O DNA foi obtido após extracção das amostras de sangue de acordo com métodos padronizados e a sua concentração foi avaliada por espectrofotometria, através da determinação da densidade óptica a 260 nm, usando a Lei de Beer-Lambert.

A análise genética foi realizada utilizando técnicas comuns em Genética Molecular Humana, como a PCR (*polymerase chain reaction*; em Português "reação da polimerase em cadeia"), RFLP (*restriction fragment length polymorphism*; em Português "polimorfismo do tamanho do fragmento de restrição") e sequenciação automática. Foi utilizada a base de dados genéticos NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) para verificação das sequências genéticas.

O polimorfismo val158met do gene *COMT* foi estudado de acordo com as condições previamente descritas (Hoda et al., 1996), usando 50 ng de DNA, 1 µM de primers, 0,5 U de Taq polimerase, em solução tampão, submetidos a 30 ciclos de PCR, a 56°C de temperatura de annealing, para um fragmento de 217 pares de

bases. A análise de RFLP foi efectuada com a enzima de restrição NlaIII, produzindo fragmentos de 114 pb + 83 pb (genótipo val/val); 114 pb + 96 pb + 83 pb (genótipo val/met) e 96 pb + 83 pb (genótipo met /met), conforme exemplificado na Figura 2.1.

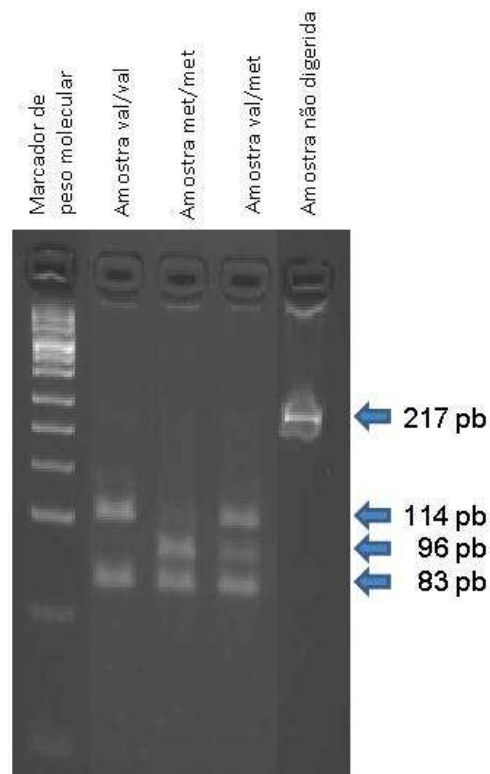


Figura 2.1- Fotografia ilustrativa dos resultados da análise de PCR-RFLP para o polimorfismo val158met do gene *COMT*.

O polimorfismo 118A>G, do gene *OPRM1* foi estudado de acordo com as modificações às condições previamente descritas (Bergen et al., 1997), usando 50 ng de DNA, 1 μ M de *primers*, 0,5 U de *Taq* polimerase, em solução tampão, submetidos a 30 ciclos de PCR, a 59°C de temperatura de *annealing*, para um fragmento de 508 pares de bases. Os produtos foram em seguida purificados com *Sephadex* e submetidos a sequenciação num analisador *ABI 3100 Avant* (Applied Biosystems). As sequências foram examinadas recorrendo ao programa *SeqScape® v2.1* (Applied Biosystems). As determinações dos genótipos estão esquematizadas na Figura 2.2.

A visualização dos fragmentos de DNA decorreu após electroforese em gel de agarose a 2%, em tampão tris-borato-EDTA, corado com brometo de etídeo, sob radiação ultravioleta.

As frequências genóticas e alélicas foram determinadas a partir dos resultados da análise genética.

Foi usada uma abordagem farmacogenómica para determinar a influência das variantes genéticas no aparecimento dos efeitos secundários descritos anteriormente. Os grupos de estudo foram constituídos tendo por base os genótipos ou alelos, de acordo com a "presença" ou "ausência" do tipo de efeito.

2.3 Análise Estatística

Foi realizada uma caracterização da amostragem de quarenta mulheres. Para as variáveis qualitativas, foram determinadas frequências absolutas e frequências relativas.

A média amostral e o desvio padrão foram utilizados para caracterizar a idade, o peso e a altura.

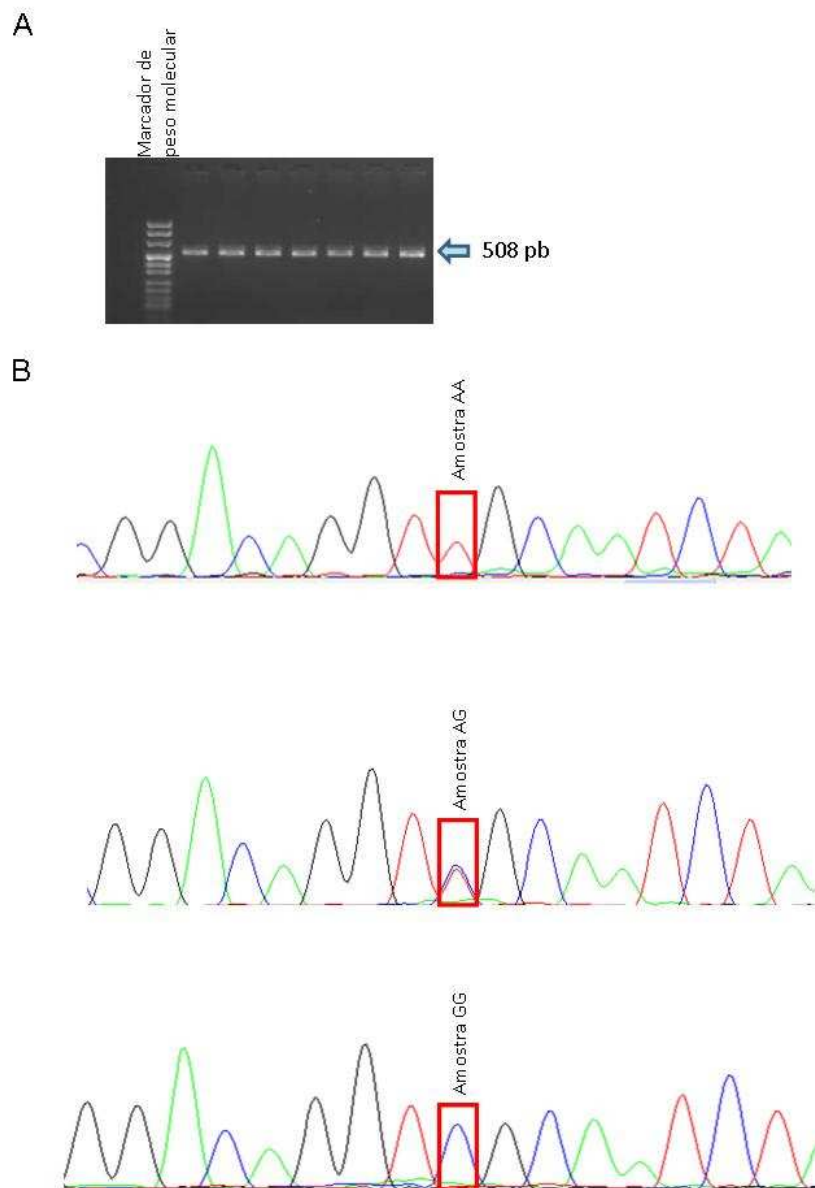


Figura 2.2- (A) Fotografia ilustrativa dos resultados da análise de PCR e (B) electroforetogramas representativos dos resultados da análise de sequenciação para o polimorfismo 118A>G do gene *OPRM1*.

A idade gestacional foi caracterizada recorrendo à mediana e intervalo interquartil.

As comparações entre os grupos com e sem prurido e com e sem *score* de dor superior a 3 no instante T0, foram realizadas utilizando as mesmas análises estatísticas descritivas.

O Equilíbrio de Hardy-Weinberg foi testado nos polimorfismos, val158met do gene da COMT e o 118A>G do gene OPRMI, pelo teste qui-quadrado (Qui-2) com dois graus de liberdade. A comparação das características qualitativas entre dois grupos foi feita pelo teste Qui-2 ou teste exacto de *Fisher*, conforme o mais apropriado.

Para a comparação de variáveis contínuas entre dois grupos usou-se o teste *t de student*, sempre que a normalidade dos valores foi comprovada pelo teste *Shapiro-Wilks*. Nos restantes casos, utilizou-se o teste *Mann-Whitney*.

O teste de *Friedman* foi utilizado para testar se houve evolução nas quatro medições dos *scores* de dor e prurido nas mulheres. Todos os testes foram realizados com nível de significância 0,05.

Os programas utilizados para a análise estatística foram R e SPSS® versão 13.

Capítulo 3

3. Resultados

3.1 Caracterização clínica

As características demográficas, clínicas e obstétricas da amostra populacional em estudo (n=40) são apresentadas na Tabela 3.1. Quanto à etnia, apenas uma das mulheres do estudo é africana, as restantes são caucasianas.

Tabela 3.1- Características demográficas, clínicas e obstétricas da população em estudo.

n=40	Média ± desvio padrão
Idade (anos)	32 ± 4
Peso (Kg)	74,7 ± 10,0
Altura (cm)	163 ± 6
Nuliparas	(20/40) 50,0%
Multiparas	(20/40) 50,0%
Idade Gestacional (Semanas)	38,3 ± 1,2

As indicações que motivaram a realização da cesariana encontram-se representadas na Figura 3.1.

A causa mais frequente de cesariana foi a apresentação pélvica, seguida de antecedentes de cesariana anterior, sendo menos frequente a gravidez gemelar, como indicação para cesariana.

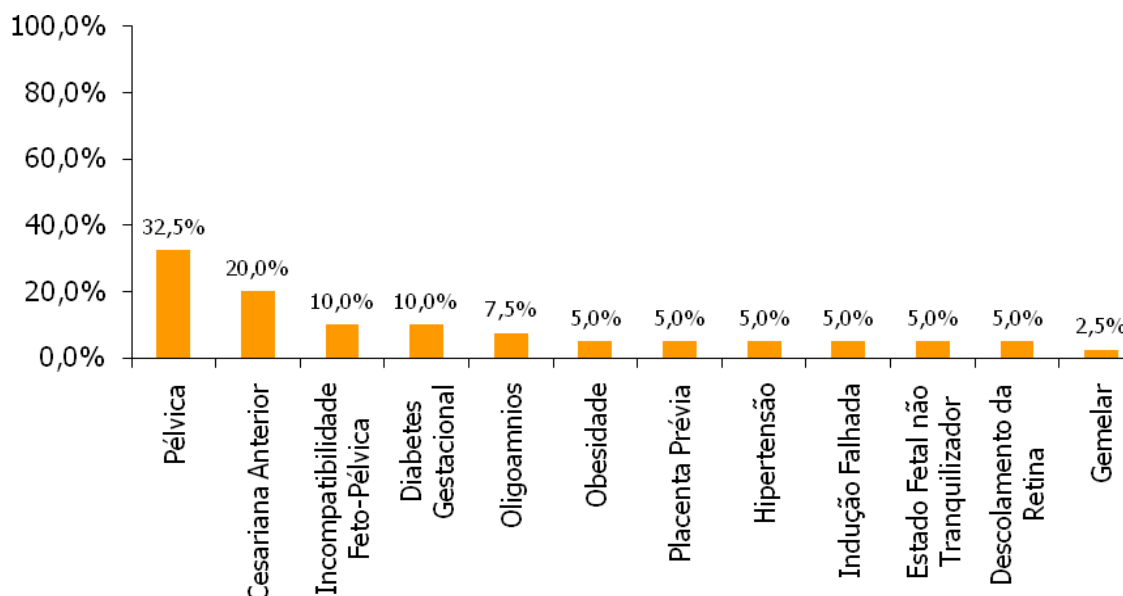


Figura 3.1- Representação gráfica dos dados relativos à indicação para cesariana.

Observámos que, em vinte e quatro das quarenta cesarianas efectuadas, foi realizada anestesia sequencial; nas restantes dezasseis, a técnica eleita foi a anestesia epidural. Das quarenta mulheres recrutadas, vinte e uma foram classificadas de acordo com a Associação Americana de Anestesia (ASA) em ASA I, enquanto as restantes foram classificadas como ASA II. Três cesarianas foram urgentes por estado fetal não tranquilizador. As restantes cesarianas foram electivas.

Durante o período intra-operatório observaram-se as seguintes complicações: náusea, vômitos, hipotensão e bradicardia (Tabela 3.2).

A náusea e o vômito foram tratados com metoclopramida. Quando a náusea e o vômito estiveram associados a hipotensão, além da metoclopramida utilizamos a efedrina que permitiu reverter a situação. A hipotensão no intra-operatório foi tratada com bólus de efedrina. Foi necessário utilizar atropina para reversão de bradicardia sinusal num único caso.

Tabela 3.2- Complicações no período intra-operatório.

Complicação	Número de casos/total (%)
Náusea	13/40 (32,5%)
Vômito	6/40 (15,0%)
Hipotensão	16/40 40,0%
Bradycardia	1/40 2,5%

No período pós-operatório foram avaliados diversos parâmetros, tais como: pressão arterial, frequência cardíaca, oximetria de pulso, intensidade da dor, bloqueio motor, náusea, vômito, prurido, sedação e retenção urinária. No fim do estudo, todas as mulheres foram inquiridas acerca do nível de satisfação com a analgesia do pós-operatório.

A hipotensão foi observada apenas numa mulher e reverteu com uma perfusão rápida de colóides. A náusea ocorreu em duas mulheres, uma das quais também apresentou vômitos. Neste último caso, administrou-se metoclopramida, que reverteu a sintomatologia. O bloqueio motor foi avaliado utilizando uma escala de Bromage modificada. Na segunda medição (T1), quatro horas depois da primeira (T0), foi observado o *score* de 1 apenas em duas mulheres. Em todas as mulheres, a SpO2 durante todo o período de estudo foi superior a 98%, não se tendo verificado nenhum caso de depressão respiratória. No que respeita à sedação, observou-se um *score* de 1 em todas as avaliações feitas a todas as doentes. A retenção urinária, tal como referido anteriormente, foi considerada quando não se verificou micção espontânea até 6 horas depois da remoção da sonda vesical. Ocorreu num único

caso. Foi necessário realizar novo cateterismo vesical e a utilização de baixas doses de naloxona. O prurido ocorreu em 67,5% das mulheres. Apenas em 2 casos foi considerado severo e determinou o tratamento com hidroxizina e naloxona.

Quando analisamos a evolução do *score* prurido durante as 12 horas de observação das mulheres, verificamos que a puérpera que registou prurido no instante T0 manteve o *score* prurido de "1" nos três instantes seguintes. No instante T1, surgiram seis mulheres com *score* prurido de "1" e surgiram quatro com *score* de "2". No instante T2, sete mulheres mantiveram o *score* prurido observado em T1, duas mulheres aumentaram o *score* (passaram de "1" a "2" e de "2" a "3"; esta última foi sujeita a tratamento), surgiu uma mulher a queixar-se pela primeira vez de prurido com *score* de "1" e, finalmente, duas baixaram o *score* (uma passou de "2" para "1" e a outra de "1" para "0").

No instante T3, das onze mulheres com prurido em T2, seis mantiveram o *score*, duas pioraram (de "1" para "2" e de "2" para "3"), duas deixaram de ter prurido (de "1" para "0") e, finalmente, a que estava a fazer tratamento de prurido, passou de "3" para "0". Surgiu uma mulher com prurido pela primeira vez com *score* de "2", que fez tratamento. Estes resultados estão apresentados na figura 3.2.

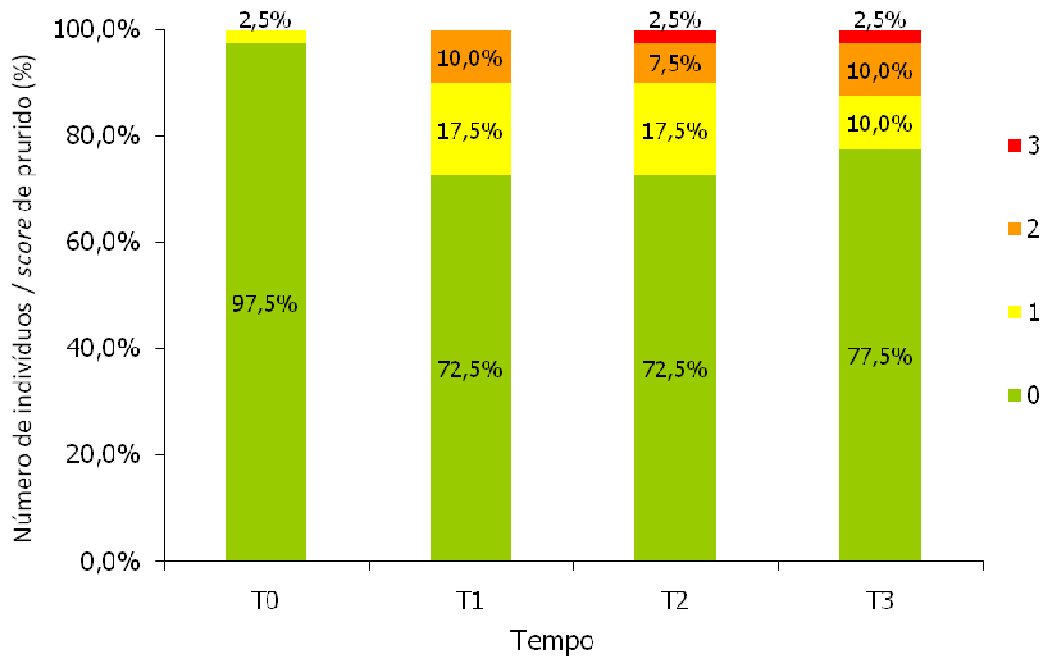


Figura 3.2- Evolução do *score* de prurido durante 12 horas de observação após a administração de morfina por via epidural. Representa-se a percentagem de mulheres em cada avaliação do *score* de prurido (0 a 3). Legenda: T0-1ª avaliação antes da administração da morfina. T1;T2 e T3 correspondem às avaliações efectuadas 4, 8 e 12 horas depois da administração da morfina. Escala do *Score*: 0=ausente; 1=ligeiro; 2=moderado; 3=insuportável.

Verificou-se que existem diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,001$) entre os *scores* de prurido observados nos 4 instantes de avaliação (T0, T1;T2 e T3).

Relativamente ao efeito "dor", verificamos que existe uma evolução dos *scores* ao longo das 12 horas de observação do estudo. No instante T0, a mediana do *score* dor é 3, mantendo-se no instante T1, baixando para *score* mediano de 2 em T2 e para 1,5 em T3. Verificamos que estas diferenças são significativas ($p < 0,001$). A figura 3.3 ilustra a evolução dos *scores* de dor.

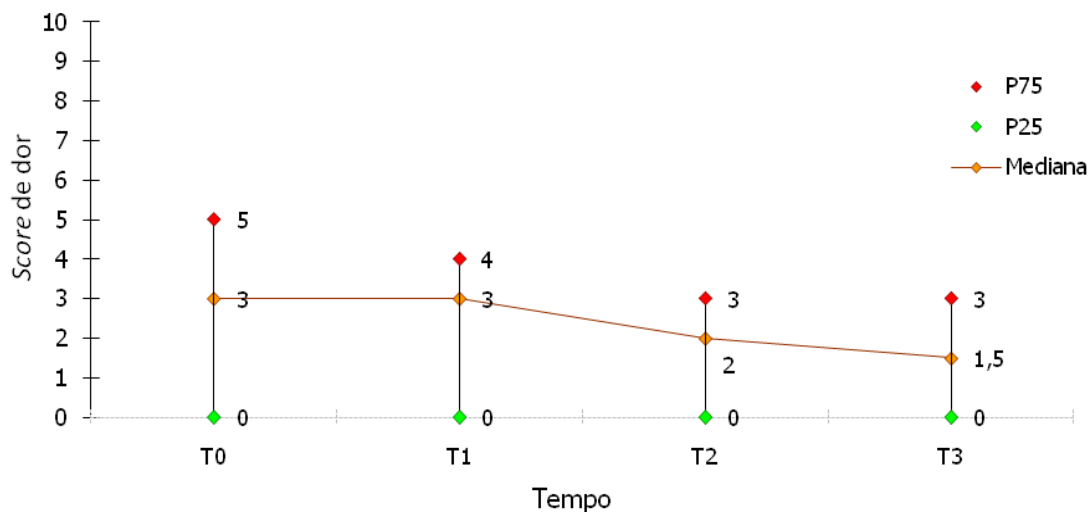


Figura 3.3- Evolução do *score* dor durante durante 12 horas de observação após a administração de morfina por via epidural.

Em relação aos graus de satisfação, verificou-se que dez mulheres ficaram satisfeitas e trinta muito satisfeitas com a analgesia obtida.

3.2 Estudo genético dos polimorfismos val158met do gene *COMT* e 118A>G do gene *OPRM1*

Foi analisada uma amostragem de quarenta mulheres (n=40) submetidas a cesariana. A amostra está em equilíbrio de Hardy-Weinberg para os polimorfismos val/met do gene *COMT* ($p=0,5077$; $\chi^2=1,356$) e 118A>G do gene que codifica o OPRM1 ($p=1$; $\chi^2=0$). A distribuição dos genótipos e alelos nos dois polimorfismos está descrita na tabela 3.3.

Tabela 3.3- Distribuição dos genótipos e alelos relativos aos polimorfismos val/met158 do gene *COMT* e 118A>G do gene *OPRM1*.

N = 40	OPRM1	COMT
GENÓTIPOS	AA 28 (0,700)	val/val 9(0,225)
	AG 11 (0,275)	val/met 25 (0,625)
	GG 1 0,025)	met/met 6(0,150)
ALELOS	A 67 (0,837)	val (V) 43(0,538)
	G 13 (0,162)	met (M) 37 (0,463)

3.3. Análise farmacogenómica

3.3.1 Impacto da variabilidade genética no aparecimento do efeito prurido

Quando pretendemos relacionar o efeito prurido com a variabilidade genética, tratamos este efeito como presente/ausente durante o período de 12 horas após a administração de morfina. Comparamos o efeito prurido com as frequências genóticas (Figura 3.4) e alélicas (Figura 3.5) do gene da *COMT* e com as frequências genóticas (Figura 3.6) e alélicas do gene *OPRM1* (Figura 3.7).

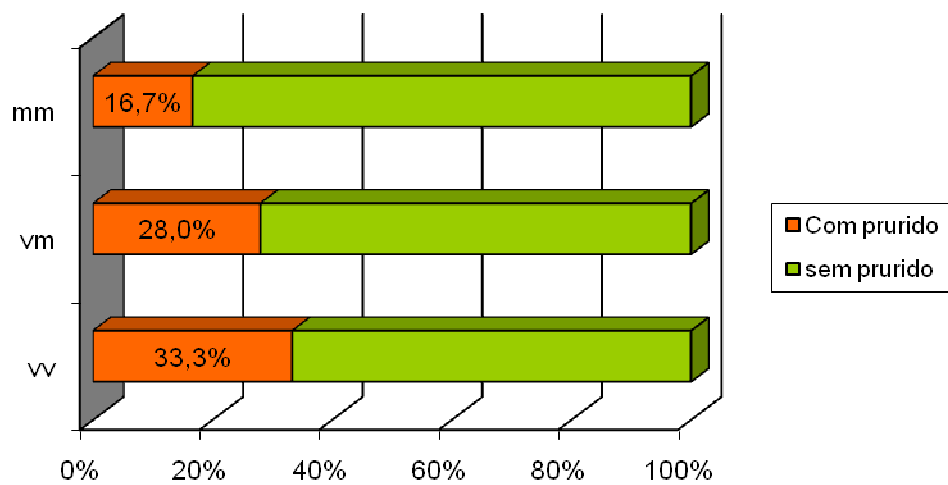


Figura 3.4- Distribuição do efeito prurido de acordo com as frequências dos genótipos associados ao polimorfismo val158met do gene *COMT*.

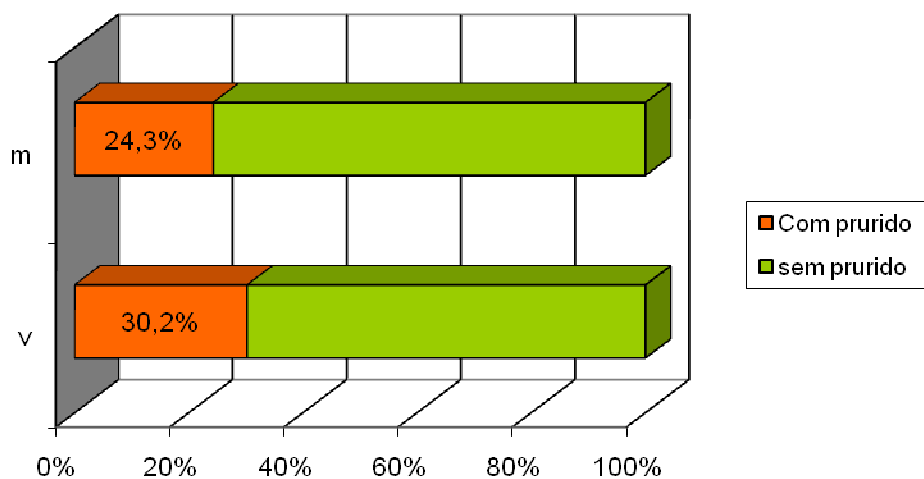


Figura 3.5- Distribuição do efeito prurido de acordo com as frequências alélicas associadas ao polimorfismo val158met do gene *COMT* (v=val; m=met).

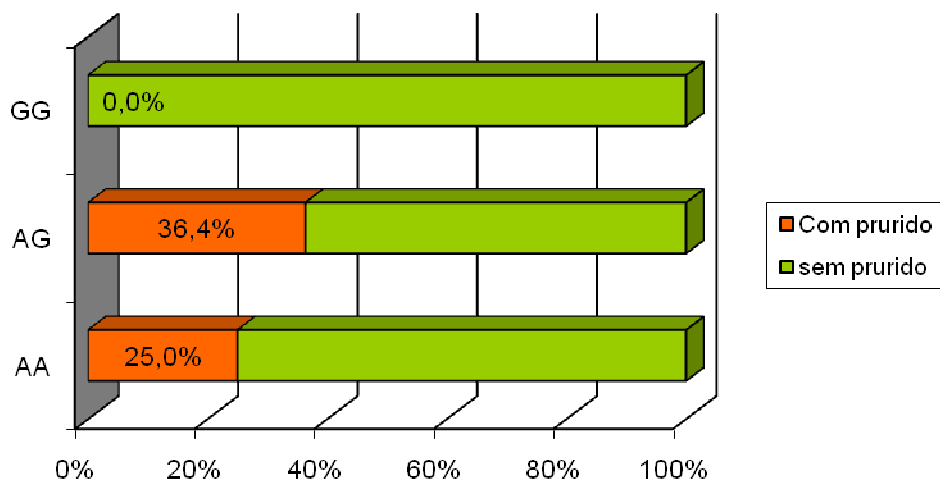


Figura 3.6- Distribuição do efeito prurido de acordo com as frequências dos genótipos associados ao polimorfismo 118A>G do gene *OPRM1*.

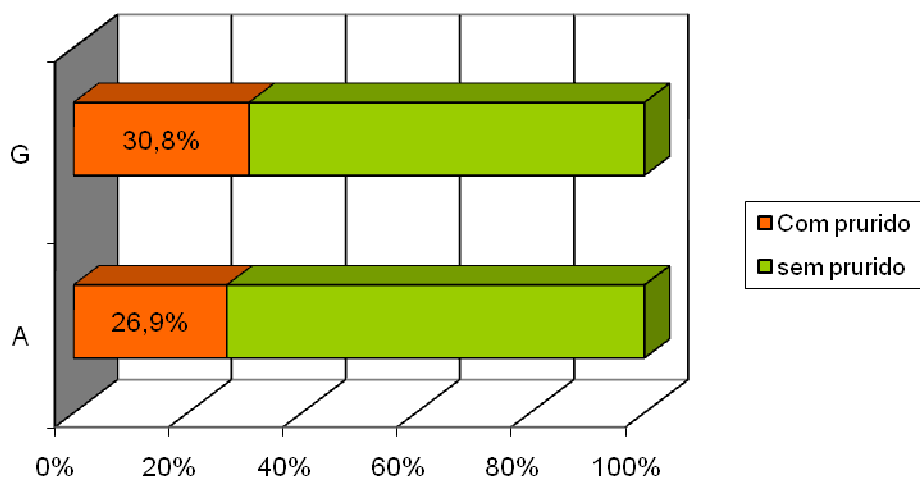


Figura 3.7- Distribuição do efeito prurido de acordo com frequências alélicas associadas ao polimorfismo 118A>G do gene *OPRM1*.

Não foram encontradas diferenças significativas, respectivamente, tanto para o polimorfismo do gene *COMT*, como do *OPRM1*, na distribuição dos genótipos ($\chi^2=0,510$; $p=0,775$; $\chi^2=0,901$; $p=0,638$) ou dos alelos ($p=0,621$; *odds ratio*: 1,348; IC95% 0,499 -3,643; risco relativo: 1,243; IC95% 0,600 - 2,573; $p=0,745$; *odds ratio*: 0,827; CI 95% 0,226 - 3,021; risco relativo: 0,873; CI95% 0,353 - 2,161) de acordo com a presença/ausência de prurido.

Verificamos que a diferença de frequências entre os grupos em estudo não é significativa, tanto para genótipos como para alelos.

Tendo em conta que os polimorfismos investigados parecem não influenciar o aparecimento de prurido, averiguámos ainda se os restantes parâmetros analisados [idade, peso, altura, idade gestacional, tipo de cesariana (electiva/urgente), técnica anestésica (epiraqui), ASA (I/ II), medicação e complicações no intra-operatório] estariam associados ao aparecimento de prurido. Na Tabela 3.4 encontram-se descritos os resultados obtidos.

3.3.2 Impacto da variabilidade genética na dor

Quando pretendemos associar os *scores* de dor com a variabilidade genética, comparamos as doentes que tinham tido um *score* de dor >3 com as frequências genotípicas (Figura 3.8) e alélicas (Figura 3.9) do gene *COMT* e com as frequências genotípicas (Figura 3.10) e alélicas (Figura 3.11) do gene *OPRM1*.

Não foram encontradas diferenças significativas, respectivamente, tanto para o polimorfismo do gene *COMT*, como do *OPRM1*, na distribuição dos genótipos ($\chi^2=2,442$; $p=0,295$; $\chi^2=1,511$; $p=0,470$) ou dos alelos ($p=0,265$; *odds ratio*=1,352 IC95% 0,8153 - 2,243; risco relativo=1,721; IC 95% 0,7039-4,208; $p=0,770$; *odds ratio*: 0,838;IC95% 0,254 - 2,764; risco relativo: 0,906; IC95% 0,472- 1,738), de acordo com a presença/ausência de dor.

Tabela 3.4- Comparação entre mulheres com e sem o efeito secundário prurido relativamente a variáveis demográficas e clínicas.

Variáveis	Sem Prurido	Com Prurido	p
Nº de Mulheres	n = 27	n = 13	
Idade (anos), Média ± DP	32 ± 4	33 ± 3	0,590
Peso (kg), Média ± DP	75 ± 11	75 ± 9	0,950
Altura (cm), Média ± DP	163 ± 5	163 ± 5	0,970
Idade Gest. (sem), Med (P25 - P75)	38 (38 - 39)	39 (38 - 39)	0,180
Cesariana Electiva	(1/27) 3,7%	(2/13) 15,4%	0,242
Técnica Anestésica			
Epiraquí	(17/27) 63,0%	(7/13) 53,8%	0,580
Epidural	(10/27) 37,0%	(6/13) 46,2%	
ASA			
I	(15/27) 55,6%	(6/13) 46,2%	0,580
II	(12/27) 44,4%	(7/13) 53,8%	
Medicação no Intra-Operatório			
Efedrina	(12/27) 44,4%	(4/13) 30,8%	0,408
Metoclopramida	(10/27) 37,0%	(4/13) 30,8%	1,000
Cefazulina	(18/27) 66,7%	(9/13) 69,2%	1,000
Ocitocina	(6/27) 22,2%	(4/13) 30,8%	0,700
Complicações Intra-Operatório			
Náusea	(7/27) 25,9%	(6/13) 46,2%	0,280
Vômito	(5/27) 18,5%	(1/13) 7,7%	0,640
Bradicardia	(0/27) 0,0%	(1/13) 7,7%	0,320
Hipotensão	(12/27) 44,4%	(4/13) 30,8%	0,500

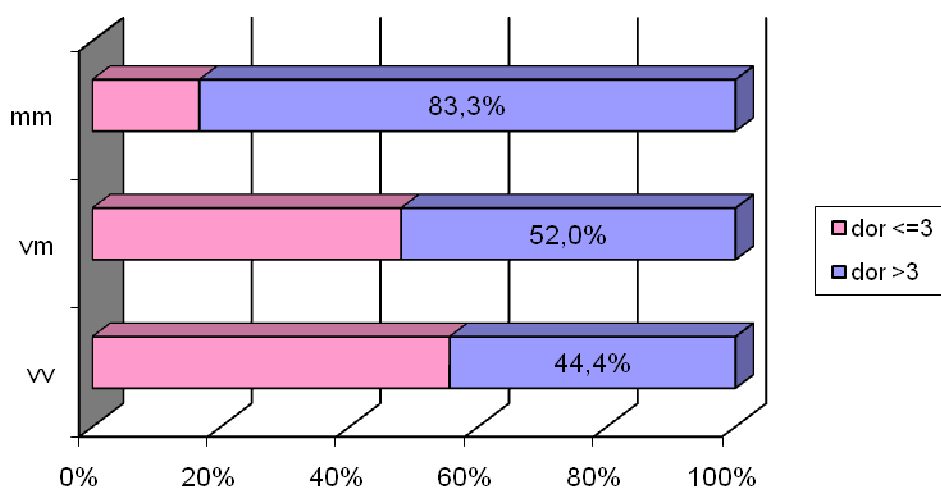


Figura 3.8- Distribuição dos *scores* de dor de acordo com as frequências dos genótipos associados ao polimorfismo val158met do gene *COMT*.

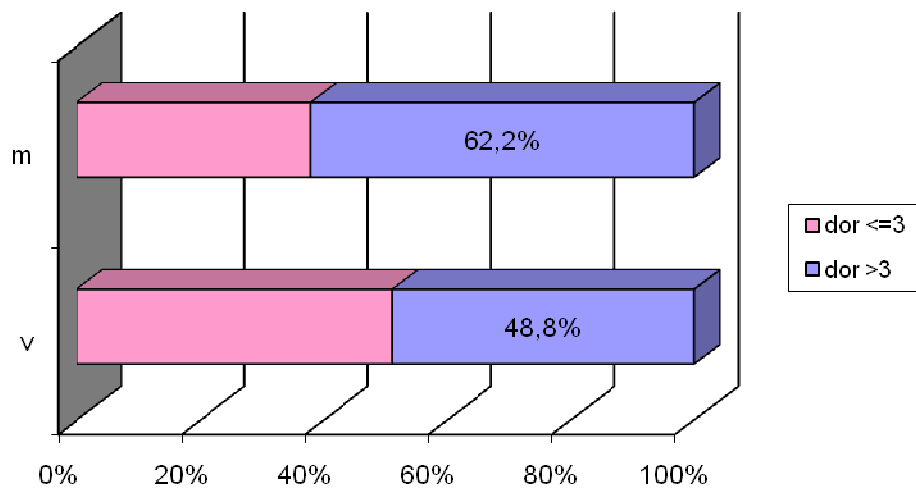


Figura 3.9- Distribuição dos *scores* de dor de acordo com as frequências alélicas associadas ao polimorfismo val158met do gene *COMT*.

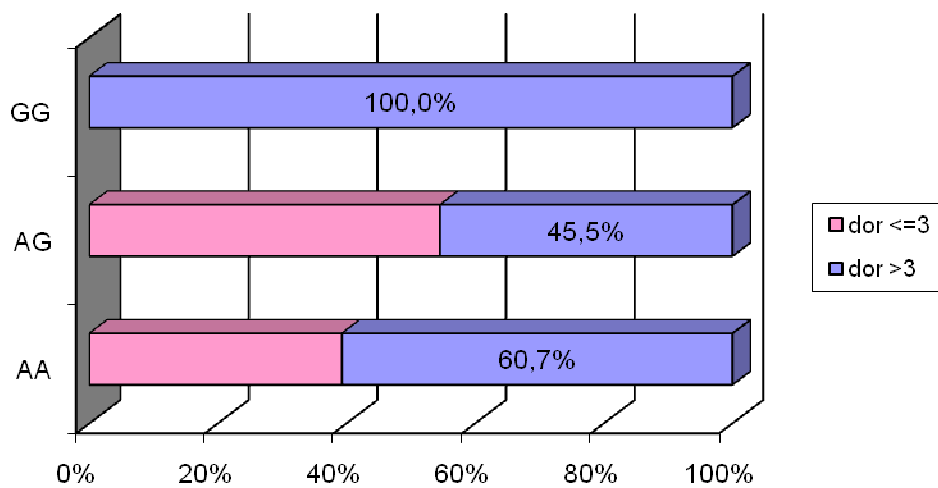


Figura 3.10- Distribuição dos *scores* de dor de acordo com as frequências dos genótipos associados ao polimorfismo 118A>G do gene *OPRM1*.

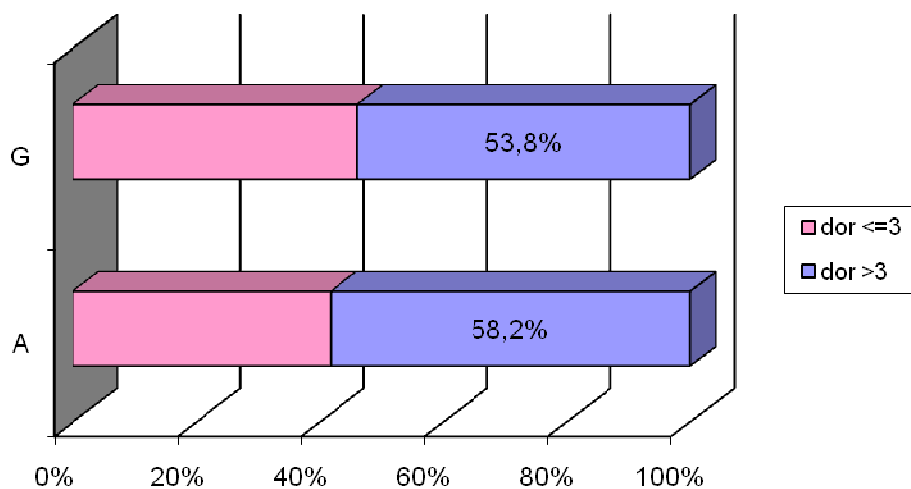


Figura 3.11- Distribuição dos *scores* de dor frequências alélicas associadas ao polimorfismo val158met do gene *COMT*.

Verificamos que a diferença de frequências entre os grupos em estudo não é significativa, tanto para genótipos como para alelos.

No sentido de analisar a possível interação entre as duas variáveis dor e prurido (Tabela 3.5), fomos averiguar se o aparecimento do prurido estava associado a um *score* de dor mais elevado. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas (Qui-2=0,014 e p=0,906).

Tabela 3.5-Análise de associação entre as variáveis dor e prurido.

		Prurido	
		não	sim
Dor>3	não	14 (51,9%)	7 (53,8%)
	sim	13 (48,1%)	6 (46,2%)

Tendo em conta que os polimorfismos investigados parecem não influenciar o aparecimento de dor, averiguámos ainda se os restantes parâmetros analisados [idade, peso, altura, idade gestacional, tipo de cesariana (electiva/urgente), técnica anestésica (epiraqui/epidural), ASA (I/ II), medicação e complicações no intra-operatório] estariam associados ao aparecimento de dor. Na Tabela 3.6 encontram-se descritos os resultados obtidos.

Tabela 3.6- Análise da associação entre os factores demográficos e clínicos e os *scores* de dor.

Variáveis	Dor no T0 ≤ 3		Dor no T0 > 3		p
Nº de Mulheres	n = 21		n = 19		
Idade (anos), Média ± DP	32 ± 4		32 ± 4		0,850
Peso (kg), Média ± DP	74 ± 11		76 ± 10		0,570
Altura (cm), Média ± DP	164 ± 6		162 ± 7		0,600
Idade Gest. (sem), Med (P25 - P75)	39 (38 - 39)		39 (38 - 39)		0,500
Cesariana Electiva	(3/21)	14,3%	(0/19)	0,0%	0,230
Técnica Anestésica					
Epiraquí	(11/21)	52,4%	(13/19)	68,4%	0,300
Epidural	(10/21)	47,6%	(6/19)	31,6%	
ASA					
I	(10/21)	47,6%	(11/19)	57,9%	0,520
II	(11/21)	52,4%	(8/19)	42,1%	
Medicação no Intra-Operatório					
Efedrina	(5/21)	23,8%	(11/19)	57,9%	0,030
Metoclopramida	(8/21)	38,1%	(6/19)	31,6%	0,670
Cefazulina	(16/21)	76,2%	(11/19)	57,9%	0,220
Ocitocina	(7/21)	33,3%	(3/19)	15,8%	0,280
Complicações Intra-Operatório					
Náusea	(7/21)	33,3%	(6/19)	31,6%	0,910
Vómito	(4/21)	19,0%	(2/19)	10,5%	0,660
Bradicardia	(1/21)	4,8%	(0/19)	0,0%	1,000
Hipotensão	(5/21)	23,8%	(11/19)	57,9%	0,030

p<0,005 significa que o resultado do teste é estatisticamente significativo

Quando fomos analisar a utilização intra-operatória de efedrina e as frequências genóticas das doentes relativas aos polimorfismos estudados dos genes *OPRM1* e *COMT* (Tabelas 3.7 e 3.8 respectivamente), verificamos que nesta amostra o maior consumo de efedrina ocorreu nas mulheres com genótipo AA, embora a diferença não seja estatisticamente significativa (p=0,729). É de notar que se consideraram no mesmo grupo os genótipos AG e GG, pelo facto de existir apenas um caso GG. Em relação ao gene *COMT*, a maior utilização de efedrina ocorreu nas mulheres VM. No entanto, a diferença não é estatisticamente significativa (p=0,814).

Tabela 3.7- Distribuição do consumo de efedrina de acordo com os genótipos do gene *OPRM1*.

Efedrina	AG+GG		AA		Total
Não	(8/12)	66,7%	(16/28)	57,1%	24
Sim	(4/12)	33,3%	(12/28)	42,9%	16
Total	12		28		40

Tabela 3.8- Distribuição do consumo de efedrina de acordo com os genótipos do gene *COMT*.

Efedrina	VV		VM		MM		Total
Não	(6/9)	66,7%	(14/25)	56,0%	(4/6)	66,7%	24
Sim	(3/9)	33,3%	(11/25)	44,0%	(2/6)	33,3%	16
Total	9		25		6		40

Capítulo 4

4. Discussão e Conclusões

O estudo da associação que efectuámos não detectou diferenças estatisticamente significativas na associação do efeito prurido e os polimorfismos estudados dos genes *COMT* e *OPRM1*. Tal como já foi referido, o estudo realizado pretendeu examinar o efeito da associação de dois polimorfismos nos genes *COMT* e *OPRM1* no aparecimento do efeito secundário prurido, depois da administração de morfina por via epidural.

Os receptores opióides são os alvos principais para a analgesia opióide. Embora os efeitos dos opióides sejam mediados por diferentes receptores, os de tipo μ assumem um papel predominante. A maior parte dos estudos de farmacogenética envolvendo o gene *OPRM1*, que codifica aquele receptor, realizados até ao momento actual, têm-se focado no polimorfismo 118A>G, cuja frequência alélica *minor* se situa entre 10-15%, nos caucasianos, (Kosarac et al., 2009), havendo, contudo, resultados controversos. Sia et al. (2008) avaliaram a associação deste polimorfismo e a adequação da analgesia pós-operatória em 588 mulheres chinesas, nas quais tinha sido administrada 0,1 mg de morfina por via intratecal (IT), para o tratamento da dor pós-cesariana. As frequências alélicas para o alelo A e o alelo G eram, respectivamente, 0,660 e 0,340. As mulheres foram avaliadas no pós-operatório para diferenças inter-individuais nos *scores de dor* relatados, consumos de morfina nas 24 horas e incidência de efeitos secundários. Os autores concluíram que o consumo de morfina nas 24 horas diferia significativamente entre os três genótipos ($p=0,001$). O grupo de mulheres com o genótipo AA foi o que consumiu doses menores de morfina intravenosa (média 5,9 mg; enquanto nos grupos AG e GG, os consumos foram maiores (dose média de 8 mg e de 9,4 mg, respectivamente). Foi também nas mulheres com o genótipo AA, que se verificou a incidência mais alta de náuseas. Embora neste estudo se tivesse verificado uma incidência de prurido considerada alta (49%), não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos: 136 de 272 mulheres (50%) no grupo AA tinham prurido *versus* 113 de 234 (48%) no grupo AG *versus* 35 de 82 no grupo GG. No entanto, a todas as mulheres incluídas neste estudo foi administrada uma associação de anti-eméticos, (metoclopramida, ondansetron e dexametasona) no fim da intervenção cirúrgica. Embora a avaliação do efeito prurido, não fosse o objectivo primário deste estudo, parece-nos que a utilização do fármaco ondansetron pode ter

tido impacto nos resultados observados, relativamente a este efeito. Numa revisão sistemática recente (Bonnet e al., 2008,) os autores concluem que o uso de bloqueadores dos receptores 5HT₃ pode ser uma estratégia efectiva na prevenção do prurido provocado pela administração de opióides por via neuro-axial. Num outro estudo (Hayashida et al., 2008), em 138 adultos japoneses submetidos a grande cirurgia abdominal, nos quais foi utilizada uma anestesia geral combinada, com uma anestesia epidural, em que a analgesia pós-operatória foi realizada por via epidural com levobupivacaína a 0,25%, com morfina ou fentanil, os autores também verificaram consumos menores de analgésico nos portadores do genótipo AA118 do *OPRM1*. Por outro lado, Landau et al. (2008) avaliaram a associação entre este polimorfismo e a eficácia analgésica do fentanil intratecal em 224 mulheres, nas quais tinha sido realizado um bloqueio sequencial para o tratamento do dor no trabalho de parto. Verificaram que, ao contrário dos dois estudos anteriormente mencionados, as mulheres homozigóticas AA118 apresentavam uma dose média eficaz (ED50) de fentanil significativamente maior do que os outros genótipos ($p < 0,001$).

O prurido é o efeito secundário mais comum associado à administração da morfina por via intratecal ou epidural. No presente estudo, a incidência de prurido foi de 67,5%, o que está de acordo com os dados publicados na literatura (Charuluxananan et al., 2003); Szarvas et al., 2003). Tal como noutros estudos, os locais do prurido referidos habitualmente pelas utentes avaliadas neste trabalho, foram a face, tronco e dorso. Na face, o prurido foi mais comum à volta dos olhos e nariz.

O mecanismo que explica o aparecimento de prurido subsequente à administração neuro-axial de opióides ainda não se encontra completamente esclarecido. Várias teorias têm sido propostas. Provavelmente, não está relacionado com a libertação de histamina, porque os anti-histamínicos são ineficazes no tratamento do prurido causado pela morfina espinal, embora possa ocorrer alívio associado à sedação produzida por estes fármacos. Os receptores opióides no sistema nervoso central são activados pela morfina. Estes receptores estão localizados a nível espinal e supra espinal. Os opióides administrados por via

neuro-axial activam os receptores na substância gelatinosa no corno posterior da medula. O receptor μ é responsável pela modulação da dor e está envolvido no aparecimento de alguns efeitos secundários, designadamente a náusea, o vômito e o prurido. Isto explicaria o efeito antipruriginoso dos antagonistas dos receptores opióides. Há evidências de que os opióides e o sistema serotoninérgico interagem estreitamente; a morfina produz parte do seu efeito analgésico através da libertação de serotonina (Szarvas et al., 2003). O ondansetron, um antagonista dos receptores 5HT₃, tem um efeito anti-prurido. Foi publicado que a morfina pode activar os receptores 5HT₃ por um mecanismo independente do receptor μ . Assim, a estimulação directa dos receptores da serotonina 5HT₃, no corno posterior da medula, é um mecanismo possível para o surgimento de prurido.

O estudo da associação que apresentamos não detectou diferenças estatisticamente significativas na associação do efeito prurido e o polimorfismo 118A>G, tal como no estudo publicado por Sia et al. (2008). No entanto, existem diferenças entre este estudo e o que realizámos. Em primeiro lugar, as etnias dos dois estudos não são idênticas. O impacto desse factor no aparecimento de efeitos secundários não está devidamente avaliado, embora seja conhecido que a percepção da dor varia entre diferentes etnias. Outro dado, que em nossa opinião poderá ser relevante para este estudo de associação, é o uso de fármacos anti-eméticos com comprovada eficácia na prevenção e tratamento do prurido como é o caso dos antagonistas dos receptores 5HT₃. No nosso estudo, não foi administrado este tipo de fármacos como medicação anti-emética a nenhuma das mulheres submetidas a cesariana, de forma a não introduzir um viés nos resultados.

A noradrenalina (NA), a adrenalina (A) e a dopamina (DA) têm múltiplas funções no cérebro, incluindo o processamento e a modulação da dor. Mecanismos noradrenérgicos e adrenérgicos podem modular a dor a nível supra-espinhal, espinhal e periféricamente. A nível supra-espinhal, a NA, actuando em receptores adrenérgicos, pode facilitar ou inibir a dor, dependendo do local supra-espinhal de libertação, o tipo de receptor adrenérgico activado e a intensidade e natureza do estímulo estudado. Há evidências de uma interacção fisiológica e funcional entre os adrenoreceptores α_2 e os receptores μ , nas células nervosas (Skorpen et al., 2009).

A co-administração de compostos noradrenérgicos e opióides pode resultar em sinergismo. As catecolaminas são metabolizadas pela COMT e alterações na actividade desta enzima têm implicações na percepção da dor e no seu tratamento. Vários estudos envolvendo o polimorfismo val158met do gene *COMT* têm sido realizados. Num estudo que envolveu 207 doentes noruegueses, tratados com morfina por dor oncológica (Rakvag et al., 2005) os autores verificaram um maior consumo de morfina nos doentes homozigóticos val-val108/158, que, em média, consumiram 50% mais morfina por dia do que os homozigóticos 158met-met. Os autores especularam que a morfina poderia ser mais eficaz nos doentes portadores do alelo 158met.

Num estudo inglês, que envolveu 228 doentes oncológicos, os autores não verificaram nenhum impacto do polimorfismo val158met nos efeitos secundários centrais dos opióides, nem nas necessidades de morfina entre os doentes (Ross et al., 2008). Estes factos reflectem a relação complexa, directa ou indirecta, entre a neurotransmissão dopaminérgica e/ou noradrenérgica e o sistema opióide μ supraespinal (Andersen et al., 2009).

Recentemente, num estudo efectuado com doentes oncológicos (Reyes-Gibby et al., 2007), em que foi avaliado o efeito da associação do polimorfismo 118A>G do gene *OPRM1* e o polimorfismo val158met do gene *COMT*, verificaram que os doentes com os génotipos AA118 e 158met-met, necessitavam de doses mais baixas para o alívio da dor.

O estudo de associação que efectuámos não detectou diferenças estatisticamente significativas com o efeito prurido e o polimorfismo da *COMT*. A potência do teste Qui-2 para a comparação das proporções da presença de prurido entre os grupos de mulheres AA e AG+GG é de 9,8%, enquanto a potência do teste Qui-2 para a comparação entre os grupos VV, VM e MM é de 11,6%. A presença de potências tão baixas leva-nos a pensar que o estudo deve continuar, com o objectivo de atingir potências mais elevadas, ou seja, maior capacidade de detectar uma diferença entre as proporções, quando esta existe na população do estudo. No caso da primeira comparação, precisamos de recorrer a um total de 284 mulheres para atingir uma potência de 50% e na segunda comparação precisamos de 180

mulheres para que esta meta seja atingida. Um estudo de associação de dois polimorfismos requer amostras muito numerosas porque o número de pessoas que possam ter determinada combinação de genótipo com um interesse particular, diminui dramaticamente à medida que vão sendo estudados mais genes em simultâneo.

No nosso estudo, encontramos uma associação estatisticamente significativa entre a utilização de efedrina, hipotensão e *scores* de dor, apesar deste não ser o objectivo primário do estudo. Não somos capazes de explicar a associação estatisticamente significativa entre o uso de efedrina no intra-operatório e *scores* de dor. Na nossa amostra, todas as mulheres que levaram efedrina foram as mesmas que tiveram hipotensão. Tanto quanto é do nosso conhecimento, não está documentada nenhuma associação entre o efeito secundário hipotensão e a severidade da dor; contudo, parece-nos razoável assumir que estudos futuros devem avaliar a interacção de fármacos utilizados para o tratamento da hipotensão associada ao bloqueio simpático na anestesia regional e a severidade da dor e efeitos secundários observados nesta população de doentes. Não detectámos diferenças estatisticamente significativas na distribuição dos consumos de efedrina de acordo com os genótipos relativos aos polimorfismos val108/158met e 118A>G, dos genes *COMT* e *OPRM1*, respectivamente. Possivelmente, este facto está relacionado com a dimensão reduzida da amostra, que não permite encontrar diferenças estatisticamente significativas quando se analisam os grupos estratificados.

Contudo, o estudo apresentado nesta Dissertação parece-nos relevante por algumas razões, que passamos a descrever: (1) tanto quanto é do nosso conhecimento, e de acordo com os dados disponíveis na literatura, o presente trabalho é o primeiro estudo de associação entre os polimorfismos val108/158met e 118A>G, dos genes *COMT* e *OPRM1*, respectivamente, realizado numa população obstétrica; (2) o desenho do estudo permitiu evitar vieses múltiplos na interpretação dos resultados, omitindo por exemplo terapêuticas com eficácia na prevenção/tratamento do prurido, ou a utilização de opióides por qualquer via no intra-operatório. Esta metodologia teve impacto no número de doentes recrutados. Por

esta razão, são apresentados apenas resultados preliminares, uma vez que o estudo ainda está em curso.

5. Bibliografia

- Andersen S, Skorpen F .Variation in the COMT gene: implications for pain perception and pain treatment. *Pharmacogenomics* 2009;10(4):669-684.
- Bernard CM. Understanding the physiology and pharmacology of epidural anintrahecal opioids: *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2002;16(4):489-505.
- Block BM, Liu SS, Rowlingson AJ, Cowan AR, Cowan JA Jr, Wu CL. Efficacy of postoperative epidural analgesia: a meta-analysis. *JAMA* 2003;290(18):2455-2463.
- Bountra C, Gale JD, Gardner CJ, Jordan CC, Kilpatrick GJ, Twissell DJ, et al. Towards understanding the aetiology and pathophysiology of the emetic reflex: novel approaches to antiemetic drugs. *Oncology* 1996;53(S1):102-109.
- Burns SM, Barclay P. Regional anaesthesia for Caesarean section. *Curr Anaesth Crit Care* 2000;11(2):73-79.
- Buschman H, Christoph T, Friderichs E, Maul C, Sundermann B, editors. *Analgesics: from chemistry and pharmacology to clinical application*. Aachen: Wiley Verlag; 2002.
- Carvalho B, Cohen SE, Lipman SS, Fuller A, Mathusamy AD, Macario A. Patient preferences for anesthesia outcomes associated with cesarean delivery. *Anesth Analg* 2005;101(4):1182-1187.
- Carvalho B. Respiratory Depression After Neuraxial Opioids in the Obstetric Setting *Anesth Analg* 2008;107:956-961.
- Charuluxananan S, Kyokong O, Somboonviboon W, Narasethakamol A, Promlok P. Nalbuphine versus ondansetron for prevention of intrathecal morphine-induced pruritus after cesarean delivery. *Anesth Analg* 2003;96(6):1789-1793.
- Chou WY, Yang LC, Lu HF, Ko JY, Wang CH, Lin SH et al. Association of mu-opioid receptor gene polymorphism (A118G) with variations in morphine consumption for analgesia after total knee arthroplasty. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006;50 87):787-792.
- Collins FS, Green ED, Guttmacher AE, Guyer MS; US National Human Genome Research Institute. A vision for the future of genomics research. *Nature* 2003;422(6934):835-847.
- Collins FS, McKusick VA. Implications of the Human Genome Project for medical science. *JAMA* 2001;285:540–544.
- Dualé C, Frey C, Bolandard F, Barrière A, Schoeffler. Epidural versus intrathecal morphine for postoperative analgesia after Caesarean section. *Br J Anaesth* 2003;91(5):690-694.

- Fozzard HA, Lee PJ and Lipkind GM. Mechanism of Local Anesthetic Drug Action on Voltage-Gated Sodium Channels. *Curr Pharm Des* 2005;11(21):2671-2686.
- Fozzard HA, Lee PJ and Lipkind GM. Mechanism of Local Anesthetic Drug Action on Voltage-Gated Sodium Channels. *Curr Pharm Des* 2005;11(21): 2671-2686.
- Friederichs E. 3. Opioids: Introduction. In: Buschman H, Christoph T, Friderichs E, Maul C, Sundermann B, editors. *Analgesics: from chemistry and pharmacology to clinical application*. Aachen: Wiley Verlag, 2002.
- Ganesh A, GL Maxwell. Pathophysiology and Management of Opioid-Induced Pruritus. *Drugs* 2007;67(16):2323-2333.
- Garrod AE. *The inborn errors of metabolism*. London: Oxford University Press; 1909. p. 168.
- Horta ML, Vianna PT. Effect of intravenous alizapride on spinal morphine-induced pruritus. *Br J Anaesth* 2003;91(2):287-289.
- IUPHAR receptor database (November 2003) www.iuphar-db.org/iuphar-rd.
- Janicki PK, Schuler G, Francis D, Bohr A, Gordin V, Jarzembowski T, et al. A genetic association study of the functional A118G polymorphism of the human mu-opioid receptor gene in patients with acute and chronic pain. *Anesth Analg* 2006;103(4):1011-1017.
- Kalow W, Gunn DR. The relation between dose of succinylcholine and duration of apnea in man. *J Pharmacol Exp Ther* 1957;120(2):203-214.
- Kirchheiner J, Seeringer A, Brockmüller J., [State of the art of pharmacogenetic diagnostics in drug therapy]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2006;49(10):995-1003.
- Klepstad P, Rakvag Tt, Kaasa S, Holyhe M, Borchgrevink PC, Baar C et al. The 118A>G polymorphism in the human μ -opioid receptor gene may increase morphine requirements in patients with pain caused by malignant disease. *Acta Anaesth Scand* 2004;48:1232-1239
- Ko MC, Song MS, Edwards T, Lee H, Naughton NN. The role of central mu opioid receptors in opioid-induced itch in primates. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;310(1):169-176.
- Kosarac B, Fox AA; Collard CD. Effect of genetic factors on opioid action. *Curr Opin Anaesthesiol* 2009;22:476-482.
- Kosterlitz HW, Hughes J. Some thoughts on the significance of enkephalin, the endogenous ligand. *Life Sci* 1975;17(1):91-96.

- Krajnik M, Zylicz Z. Understanding Pruritus in Systemic Disease. *J Pain Symptom Manage* 2001;21(2):151-168.
- Landau R, Cahana A, Smiley R M, Antonarakis S E, Blouin J L. Genetic variability of mu receptor in an obstetric population. *Anesthesiology* 2004;100:1030-1033.
- Landau R, Kern C, Columb MO, Smiley RM, Blouin JL. Genetic variability of the mu-opioid receptor influences intrathecal fentanyl analgesia requirements in laboring women. *Pain* 2008;139(1):5-14.
- Landau R. Pharmacogenetics and obstetric anesthesia. *Anesthesiol Clin* 2008;26(1):183-195.
- Landau R. pharmacogenetics: implications for obstetric anesthesia. *Int J Obstet Anesth* 2005;14:316-323.
- Lavand'homme P. Postcesarean analgesia: effective strategies and association with chronic pain. *Curr Opin Anaesthesiol* 2006;19(3):244-248.
- Lötsch J, Geisslinger G. Are μ -opioid receptor polymorphisms important for clinical opioid therapy . *Trends in molecular Medicine* 2005;11(2):82-89.
- Lötsch J, Geisslinger G. current evidence for a genetic modulation of the response to analgesics. *Pain* 2006;121:1-5.
- Lötsch J, Skarke C, Liefhold J, Geisslinger G. Genetic predictors of the clinical response to opioid analgesics: clinical utility and future perspectives. *Clin Pharmacokinet* 2004;43(14):983-1013.
- Lötsch J, Skarke C, Liefhold J, Geisslinger G. Genetic predictors of the clinical response to opioid analgesics: clinical utility and future perspectives. *Clin Pharmacokinet* 2004;43(14):983-1013.
- Manolopoulos VG. Pharmacogenomics and adverse drug reactions in diagnostic and clinical practice. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45 (7):801-814.
- Meek T. Pruritus and anaesthesia. *Curr Anaesth & Crit Care* 2006;17:85-91.
- Mitchell RW, Smith G. The control of acute postoperative pain. *Br J Anaesth* 1980;63:147-158.
- Nestler E J .Historical review: Molecular and cellular mechanisms of opiate and cocaine addiction. *Trends Pharmacol Sci* 2004;25(4):210-218.
- Oertel B, Lötsch J. Genetic mutations that prevent pain: implications for future pain medication. *Pharmacogenomics* 2008;9(2):179-194.

- Pan PH. Post cesarean delivery pain management: multimodal approach. *Int J Obstet Anesth* 2006;15(3):185-188.
- Quigley EM, Hasler WL, Parkman HP. AGA technical review on Nausea and Vomiting. *Gastroenterology* 2001;120:263-286.
- Rakvag TT, Klepstad P, BaarC et al., The Val158Met polymorphism of the human catechol-O-methyltransferase (*COMT*) gene may influence morphine requirements in cancer pain patients. *Pain* 2005;116:73-78.
- Reyes-Gibby CC, Shete S, Rakvag T. Exploring joint effects of genes and the clinical efficacy of morphine for cancer pain: OPRM1 and COMT gene. *Pain* 2007;130:25-30.
- Ross JR, Riley J, Taegetmeyer AB, Sato H, Gretton S, du Bois RM, et al. Genetic variation and response to morphine in cancer patients: catechol-O-methyltransferase and multidrug resistance-1 gene polymorphism are associated with central side effects. *Cancer* 2008;112:1390-1403.
- Rutherford K, Bennion BJ, Parson WW, Daggett V. The 108M polymorphism of human catechol O-methyltransferase is prone to deformation at physiological temperatures. *Biochemistry* 2006;45(7):2178-2188.
- Sia AT, Lim Y, Lim EC, Goh RW, Law HY, Landau R, et al . A 118G single nucleotide polymorphism of human mu-opioid receptor gene influences pain perception and patient-controlled intravenous morphine consumption after intrathecal morphine for postcesarean analgesia. *Anesthesiology*. 2008 Sep;109(3):520-526.
- Swen J, Huizinga TW, Gelderblom H, de Vries EGE, Assendelft WJJ, Kirchheiner J, et al. Translating Pharmacogenomics: Challenges on the Road to the Clinic. *PLoS Med*. 2007;4(8):1317-1324.
- Szarvas S, Harmon D, Murphy D. Neuraxial opioid-induced pruritus: a review. *J Clin Anesth* 2003;15(3):234-239.
- Weinshilboum R, Wang L. Pharmacogenomics: Bench to Bedside. *Nat Rev Drug Discov* 2004;3(9):739-748.
- Zubieta JK, Heitzeg MM, Smith YR, Bueller JA, Xu K, Xu Y, et al. COMT val158met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor *Science* 2003;299:1240–1124.
- www.medscape.com/page10.html (consultado no dia 23 de Novembro de 2009).
- www.ncbi.nlm.nih.gov (consultado no dia 6 de Julho de 2009).

ANEXOS

Anexo I – Parecer da Comissão de Ética dos HUC



HOSPITAIS DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA, E.P.E.
COMISSÃO DE ÉTICA PARA A SAÚDE

Presidente: Prof. Doutor José Joaquim Sousa Barros;
Vogais: Dra. Maria Odete Isabel; Prof.^a Doutora Maria Fátima Pinto Saraiva Martins; Dr. Mário Rui Almeida Branco; Prof. Doutor Carlos Alberto Fontes Ribeiro; Enf.^o Adélio Tinoco Mendes;
Jurista: Dra. Alexandra Vilela;
Padre: José António Afonso Pais

Francisco Parente
Director Clínico
H.U.C. - EPE

Visto / Ao G.A.I.
para difusão
22/09/09

Exmo. Senhor:
Director Clínico dos
HUC, E.P.E.

N/Ref^a
CES

Ofício Nº
0198

Data
17.09.2009

ASSUNTO: [HUC-41-09] - *Estudo Observacional "Análise Farmacogenética da acção e efeitos secundários da anestesia e analgesia epidural com opióides na cesariana"* - Prof.^a Doutora Maria Manuela Monteiro Grazina - Professora Auxiliar da faculdade de Medicina de Coimbra (Co-Investigador - Dra. Ana do Rosário Caleiro Valentim - Serviço de Anestesiologia dos HUC) - estudo a ser realizado no Serviço de Obstetrícia dos HUC, E.P.E.

Cumpre-me informar Vossa Ex.^a que a Comissão de Ética dos Hospitais da Universidade de Coimbra, E.P.E. reunida em 15 de Setembro de 2009, com a presença da maioria dos seus membros, aprovou a nova versão do Consentimento Informado, referente ao projecto em epígrafe, o que torna exequível o anterior parecer favorável da Comissão de Ética.

Deliberação aprovada por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A COMISSÃO DE ÉTICA PARA A SAÚDE DOS HUC, E.P.E.

Prof. Doutor José Joaquim Sousa Barros
Presidente da CES

H. U. C., E. P. E.
Comissão de Ética para a Saúde

Anexo II – Formulário do consentimento informado

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

Colaboração sobre a Caracterização Genética de Efeitos Associados a Anestesia/Analgesia

IRB no. _____

Investigador Principal:

Maria Manuela Monteiro Grazina

Professora Auxiliar

Faculdade de Medicina de Coimbra

Centro de Neurociências e Biologia Celular

Co-investigador:

Ana do Rosário Caleiro Valentim

Assistente Graduada de Anestesiologia

Hospitais da Universidade de Coimbra

I. INTRODUÇÃO

Está convidado(a) a fazer parte de um estudo de investigação. Antes de decidir fazer parte deste estudo, precisa de compreender os riscos e os benefícios envolvidos. Este formulário de consentimento fornece informações sobre o estudo de investigação. Um membro da equipa de investigação estará ao seu dispor para responder às suas perguntas e fornecer explicações adicionais. Se concordar em fazer parte deste estudo de investigação, ser-lhe-á solicitado que assine este formulário de consentimento. Este processo é conhecido por consentimento com conhecimento de causa ou informado. A sua decisão em fazer parte do estudo é estritamente voluntária. É livre de optar ou não por participar.

II. OBJECTIVOS

Os Hospitais da Universidade de Coimbra – Maternidade Dr. Daniel de Matos, a Faculdade de Medicina de Coimbra e o Centro de Neurociências e Biologia Celular da Universidade de Coimbra estão a colaborar num estudo de investigação, para realizar a “Caracterização genética de efeitos associados a Anestesia/Analgesia”. Esta investigação está a ser realizada tendo em conta que a identificação dos genes levará a uma melhor compreensão da eficácia dos fármacos usados em anestesia e no tratamento da dor, bem como a um melhor conhecimento dos efeitos secundários associados, tendo em conta as características genéticas de um indivíduo.

III. PROCEDIMENTOS

Se fizer parte deste estudo, terá que submeter-se à colheita de amostras de sangue e ser-lhe-á solicitado que colabore na obtenção de vários dados de natureza clínica e demográfica.

IV. POSSÍVEIS RISCOS

A colheita do sangue pode causar equimoses ou sangramento localizado; raramente causa infecção, tonturas e uma ligeira sensação de dor que é provocada pela punção da agulha.

V. POSSÍVEIS BENEFÍCIOS

Não existe um benefício imediato para si, quer financeiro ou de qualquer outra natureza, devido à sua participação neste estudo. Julga-se que os resultados desta investigação levarão em última análise ao avanço da ciência e ao progresso que está a ser feito em relação ao uso de tratamentos adequados às características genéticas de cada indivíduo.

VI. CONSENTIMENTO PARA UTILIZAÇÃO E ELIMINAÇÃO DE TECIDOS OU DE SANGUE

Através da assinatura deste formulário, está a dar o seu consentimento para a utilização do seu sangue para este estudo de investigação e para a eliminação de qualquer sangue que reste após a sua utilização no referido estudo ou se for determinado que este não é adequado para a utilização no mesmo.

VII. CUSTOS

Não incorrerá em quaisquer despesas durante este estudo e relacionadas com este. Não será responsável por nenhuma das despesas decorrentes de análises, testes e avaliações exigidas por este protocolo.

VIII. COMPENSAÇÃO

Não está disponível qualquer tipo de compensação financeira (nenhum pagamento) para os participantes deste estudo.

IX. PAGAMENTO DEVIDO A LESÕES OU RISCOS

Fazer parte deste estudo de investigação pode provocar lesões ou riscos. (Isto foi explicado na secção intitulada, “POSSÍVEIS RISCOS”).

Se ocorrerem efeitos adversos que resultem directamente do estudo, os Hospitais da Universidade de Coimbra – Maternidade Dr. Daniel de Matos, a Faculdade de Medicina de Coimbra ou o Centro de Neurociências e Biologia Celular da Universidade de Coimbra providenciarão cuidados médicos a curto prazo para quaisquer lesões que resultem da sua participação neste estudo de investigação, na medida em que esses custos não sejam cobertos pelos seus seguros médicos ou do hospital. Tratamento médico de urgência está disponível, mas será providenciado, mediante o custo habitual, pelos Hospitais da Universidade de Coimbra, um afiliado do Centro de Neurociências e Biologia Celular da Universidade de Coimbra. Não deverá esperar que alguém pague pela dor, ansiedade, perda de rendimentos, ou despesas que não sejam de natureza médica em que possa incorrer devido a fazer parte deste estudo de investigação. Os Hospitais da Universidade de Coimbra não providenciarão cuidados médicos a longo prazo nem compensação financeira devido a lesões relacionadas com este estudo de investigação.

X. DIREITO A DESISTIR DO ESTUDO

A sua participação neste estudo de investigação é voluntária. Poderá decidir não começar ou cessar a sua participação neste estudo em qualquer altura. Os cuidados que receber e as relações que estabelecer com os prestadores de assistência médica dos Hospitais da Universidade de Coimbra, não serão afectados de forma nenhuma. Ser-lhe-ão comunicadas quaisquer novas informações sobre o estudo de investigação que possam fazer com que mude de ideias sobre a sua participação no mesmo. Deverá notificar o investigador principal deste estudo, caso decida cessar a sua participação no estudo, antes do tempo previsto.

XI. CONFIDENCIALIDADE DOS RELATÓRIOS MÉDICOS E DA INVESTIGAÇÃO

Nos Hospitais da Universidade de Coimbra – Maternidade Dr. Daniel de Matos será atribuído à sua amostra um número de identificação especial. A sua amostra será registada, acompanhada dos dados relativos ao tratamento, sexo, etnia, idade, indicação relativa à presença dos antecedentes familiares e sintomas de doença, dados relativos ao tratamento, eficácia do mesmo e efeitos secundários registados.

O seu nome, o número de Segurança Social, a informação de contacto e a data de nascimento não serão fornecidos a qualquer outra entidade para além das Instituições acima referidas, onde será conduzido o estudo.

É possível que representantes dos organismos regulamentares possam visitar os Hospitais da Universidade de Coimbra – Maternidade Dr. Daniel de Matos, para examinar as suas informações de natureza médica. Nesse caso, cópias das partes relevantes do seu registo médico serão divulgadas, mas todos os dados relativos à sua identificação serão ocultados.

Excepto no que se refere a estas entidades, os registos médicos e do estudo de investigação serão mantidos em sigilo, a menos que autorize a sua divulgação ou que os ditos registos sejam exigidos por decisão judicial.

Os resultados da investigação poderão ser publicados, mas a sua identificação (por exemplo, nome, número de segurança social) será sempre mantida em sigilo.

XII. PERGUNTAS

Se sentir um efeito secundário ou uma lesão que possa estar relacionada com este estudo ou se tiver que marcar uma consulta inesperada que possa estar relacionada com este estudo devido a assistência médica necessária por qualquer razão, queira contactar a Prof. Doutora Maria Manuela M. Grazina ou a Dra. Ana do Rosário Caleiro Valentim.

XIII. ASSINATURAS

Através da assinatura deste formulário de consentimento, afirma que leu este formulário de consentimento, que este estudo lhe foi explicado, que as suas perguntas foram respondidas, e que está de acordo em fazer parte deste estudo. Não está a abdicar de nenhum dos seus direitos legais ao assinar este formulário de consentimento com conhecimento de causa. Ser-lhe-á entregue a si e às investigadoras do projecto, Prof. Doutora Maria Manuela M. Grazina e Dra. Ana do Rosário C. Valentim, uma cópia deste formulário de consentimento. Através da assinatura deste formulário, também afirma que está a fazer parte deste estudo de sua livre vontade e que dá autorização a qualquer membro dos Hospitais da Universidade de Coimbra – Maternidade Dr. Daniel de Matos, e/ou a quaisquer entidades regulamentares governamentais para examinar a sua história clínica e registos médicos. Finalmente, através da assinatura deste formulário afirma que todas as informações que tiver prestado acerca dos seus antecedentes médicos são verdadeiras.

_____	_____	_____
Participante (nome em maiúsculas)	Assinatura	Data

_____	_____	_____
Pessoa obtendo consentimento (Imprimir nome)	Assinatura	Data

Se o participante puder compreender, mas não puder ler (por exemplo, se for cego), ou não puder assinar (por exemplo, se não puder usar as mãos) o formulário de consentimento, é necessária a assinatura de uma testemunha não relacionada com o estudo.

Nome da testemunha (Imprimir o nome) Assinatura Data

XIV. DECLARAÇÃO DOS INVESTIGADORES

Certifico que o estudo de investigação foi explicado por mim ao indivíduo acima mencionado, incluindo os objectivos, os procedimentos, os possíveis riscos e os benefícios latentes, relacionados com a participação neste estudo de investigação. Quaisquer perguntas feitas pelo dito indivíduo foram respondidas satisfatoriamente.

Maria Manuela Monteiro Grazina, PhD _____
Investigador principal (Imprimir ou dactilografar o nome) Assinatura Data

Ana do Rosário Caleiro Valentim, MD _____
Co-Investigador (Imprimir ou dactilografar o nome) Assinatura Data

Anexo III – Folha de registo dos dados clínico

P. ÚNICO _____ IDADE _____ DATA DE NASCIMENTO _____ PESO _____ ALTURA _____ ETNIA _____
 IDADE GESTACIONAL _____ ASA _____ PAT. ASSOCIADA _____ TÊC. ANESTÉSICA _____
 FARMACOS ADMINISTRADOS NO INTRA-OPERATORIO (AL) _____ INÍCIO DA ANESTESIA (h) _____
 ANALGESIA _____ INÍCIO DA ANALGESIA (h) _____ POLIMORFISMOS _____

	HORA	TA SIST	T.A. DIAST.	FC	FR	SPO2	DOR	NAÚSEA	VÔMITO	PRURIDO	SEDAÇÃO	BLOQUEIO MOTOR
T0												
T1												
T2												
T3												

FÁRMACOS ADMINISTRADOS	HORA	HORA	HORA	HORA	HORA
	h	h	h	h	h
NALOXONA					
HIDROXIZINA					
MORFINA					
METOCLOPRAMIDA					
DROPERIDOL					

SATISFAÇÃO (no fim do estudo)	
NÃO SATISFEITO	
POUCO SATISFEITO	
SATISFEITO	
MUITO SATISFEITO	

OBSERVAÇÕES (Ex: Metoclopramida,
Efedrina,...)
