



## Estudo da Farmacogenética para o Clopidogrel

PACIENTE		INSTITUIÇÃO DE SAÚDE	
Nome:	N.A.	Nome do médico:	N.A.
Data de nascimento:	N.A.	Referência médica:	N.A.
Gênero:	N.A.	Instituição de colheita:	N.A.
Etnia:	N.A.	Instituição:	N.A.
Número de consulta/processo:	N.A.	Data de entrada:	N.A.
História familiar:	N.A.	Data de saída:	2017-12-12
Motivo do médico requisitante:	Adequação terapêutica		
Motivo do laboratório de genética:	N.A.		
Propósito do teste:	Farmacogenética		
Tipo de amostra:	Sangue		

## 1. RESULTADOS

### 1.1. INFORMAÇÃO SOBRE DOSAGEM

- \*2/\*2: CYP2C19 metabolizador fraco

É recomendado considerar uma terapêutica antiplaquetária alternativa (se não existirem contra-indicações) ex: prasugrel ou ticagrelor. Com base no resultado do genótipo, este doente é definido como um metabolizador fraco, apresentado níveis significativamente reduzidos de inibição plaquetária e níveis aumentados de agregação plaquetária residual em resposta à terapêutica com clopidogrel. Neste contexto, o doente tem risco aumentado de eventos cardiovasculares adversos (adaptado de [1]).

### 1.2. RECOMENDAÇÕES DE GUIDELINES

Os resultados do teste genético devem ser interpretados no contexto da avaliação clínica, história familiar e origem racial/étnica do doente. Outros fatores como a idade, índice de massa corporal, diabetes *mellitus* e a administração de determinados inibidores de bombas de prótons (tal como o omeprazole), podem influenciar a resposta à terapêutica com clopidogrel [1, 2, 3]. O *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC) [4] do *National Institutes of Health Pharmacogenomics Research Network* desenvolve orientações clínicas (*peer-reviewed*) sobre as interações gene-fármaco, as quais são publicadas e atualizadas periodicamente em <http://www.pharmgkb.org> de acordo com os novos desenvolvimentos na área. O CPIC estabeleceu várias recomendações sobre terapia antiplaquetária com base na interpretação e aplicação clínica dos genótipos de CYP2C19 [5].

## 2. INFORMAÇÃO TÉCNICA

### 2.1. METODOLOGIA

1. A extração de DNA foi realizada num equipamento de extração automática pela utilização de um kit comercial. A avaliação da concentração e qualidade de DNA foi realizada por recurso a um espectrofotómetro.
2. A genotipagem foi realizada pelo estudo de três variantes genéticas do gene CYP2C19, associadas à farmacocinética e farmacodinâmica do clopidogrel.
3. A genotipagem foi realizada utilizando um Microchip de DNA numa plataforma de alto débito, que faz uso da tecnologia iPLEX® MassARRAY® (Agena Bioscience, Inc). O Microchip de DNA permite uma análise genética otimizada, combinando uma reação de PCR específica a cada variante alélica, pela química de extensão de primer, com a espectrometria de massa MALDI-TOF. As diferentes massas obtidas são convertidas em informação genética.
4. De acordo com a brochura da tecnologia iPLEX® da Agena Bioscience, o sistema MassARRAY® realiza a genotipagem de SNPs com um elevado nível de precisão e reprodutibilidade (em ensaios validados, demonstrou uma taxa de atribuição de genótipo com uma precisão superior a 99%).

## 2.2. PAINEL GENÉTICO

*CYP2C19* : Cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 19 | ENSG00000165841

## 2.3. RISCOS E LIMITAÇÕES

O Clopidogrel PGX Kit | 2016 foi produzido sob um elevado processo de controlo de qualidade, o qual não poderá excluir totalmente a possibilidade de existência de erros que possam influenciar os resultados. A fiabilidade dos resultados está garantida sempre e quando tenham sido seguidas as recomendações da HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA, para a realização deste teste genético. Os resultados do presente relatório estão limitados ao conhecimento científico existente até à data de desenvolvimento deste exame. A HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA garante a qualidade do conhecimento científico apresentado no relatório. Assumiram-se como verdadeiras as declarações relativas à identidade do doente e médico, propósito do estudo, caso índice e à natureza e identificação dos produtos biológicos analisados.

## 2.4. GESTÃO DA QUALIDADE

O Clopidogrel PGX Kit | 2016 é um dispositivo médico com certificação CE-IVD, desenvolvido pela HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA. Este produto foi registado na Autoridade Reguladora Portuguesa INFARMED (Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde). A HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA é uma empresa com Sistema de Gestão da Qualidade com certificação ISO NP 9001 e ISO 13485, e que aplica um Programa de Avaliação Externa da Qualidade do UK NEQAS. O laboratório que realiza os testes genéticos compromete-se, em qualquer momento, a cumprir todas as certificações e leis aplicáveis no seu território.

## 2.5. TERMOS E CONDIÇÕES

A HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA não será responsável, seja por contrato, responsabilidade civil, garantia ou qualquer outro estatuto ou qualquer outra base de danos especiais, incidentais, indiretos, punitivos, múltiplos ou consequenciais em relação aos resultantes deste documento ou a utilização inadequada do produto descrito neste documento ou qualquer utilização deste produto fora do âmbito de aplicação das licenças escritas expressas ou permissões concedidas pela HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA, na medida permitida pela lei.

Os resultados apresentados na Secção 3.1, Informações Genéticas, são da responsabilidade do laboratório que realizou o teste genético.

Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida, distribuída ou transmitida sob qualquer forma ou por qualquer meio (eletrónico, mecânico, fotocópia ou gravação) ou armazenada num sistema de recuperação, por qualquer motivo que não seja o uso interno pelo licenciado sem a permissão prévia por escrito da HeartGenetics.

No desenvolvimento da sua atividade a HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA cumpre com rigor todas as exigências previstas na legislação adotada pelas instâncias da União Europeia. Cabe aos parceiros da HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA o cumprimento das normas internas dos ordenamentos jurídicos respetivos. A HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA não se responsabiliza por eventuais violações das normas vigentes nos países de origem dos seus parceiros.

© 2017 HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA. **Todos os direitos reservados.**

### DIREÇÃO TÉCNICA

HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA  
Cantanhede, 2017-12-12  
Portugal



**Helena Vazão**

Bióloga Molecular, PhD  
Diretora Associada de Laboratório  
(Responsabilidade da operação)



**Susana Rodrigues Santos**

Especialista em Genética Humana; Bióloga Molecular, PhD  
Diretora de Laboratório  
(Responsabilidade da validação)

### 3. APÊNDICE

#### 3.1. INFORMAÇÃO GENÉTICA

Os resultados, descritos de acordo com a nomenclatura HGVS (<http://www.hgvs.org>), são apresentados na tabela seguinte.

Gene	Referência da alteração genética HGMD	Ensembl	Alteração nucleotídica <sup>1</sup>	Alteração aminoácida	Observação <sup>2</sup>
<i>CYP2C19</i>	CM942096	rs4986893	c.636G>A	p.Trp212Term	WT
<i>CYP2C19</i>	CS941458	rs4244285	c.681G>A	p.Pro227Pro	HMZ
<i>CYP2C19</i>	CR067132	rs12248560	c.-806C>T	-	WT

<sup>1</sup>A identificação numérica associada a cada uma das alterações é indexada a uma sequência de referência obtida da base de dados Ensembl (<http://www.ensembl.org/index.html>).

<sup>2</sup>HMZ – Homozigotia; HTZ – Heterozigotia; WT – Wild type

#### 3.2. EVIDÊNCIAS PARA OS MARCADORES MOLECULARES

O anexo inclui a interpretação detalhada, relativa à informação genética associada à adequação terapêutica. Todas as evidências são suportadas através de artigos científicos indexados na PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), PharmGKB e a base de dados HGMD Professional 2015.4 (<http://www.hgmd.org>), consultados em Outubro de 2016.

##### **CYP2C19, CM942096 / rs4986893 + CYP2C19, CS941458 / rs4244285 + CYP2C19, CR067132 / rs12248560**

##### **CYP2C19 metabolizador fraco**

O clopidogrel é um pró-fármaco (inativo) que requer bio-ativação hepática por várias enzimas da família do citocromo P-450, incluído a enzima CYP2C19.

Doentes portadores de dois alelos de perda-de-função (*CYP2C19*\*2 e/ou *CYP2C19*\*3) são definidos como metabolizadores fracos tendo um efeito antiplaquetário associado ao clopidogrel muito reduzido [1, 6].

Estudos de meta-análise são consistentes em demonstrar que portadores de pelo menos uma cópia de um alelo de perda de função, tratados com clopidogrel, apresentam risco significativamente mais elevado de eventos cardiovasculares [7, 8, 9], como morte cardíaca (OR = 2.07, 95%CI = [1.22;3.52] [8]; RR = 1.28, 95%CI = [0.95;1.73] [7]), enfarte do miocárdio não-fatal (OR = 1.69, 95%CI = [1.09;2.61] [8]; RR = 1.48, 95%CI = [1.05;2.07] [7]), acidente vascular cerebral (OR = 5.78, 95%CI = [1.62;20.65] [8]; RR = 1.98, 95%CI = [0.77;5.09] [7]) e trombose de stent (OR = 3.81, 95%CI = [2.27;6.40] [8]; RR = 1.75, 95%CI = [1.50;2.03] [7]) comparativamente a não portadores. Como esperado, o risco combinado de morte cardiovascular, enfarte do miocárdio e acidente vascular cerebral isquémico em portadores de dois alelos de perda-de-função (RR = 1.76, 95%CI = [1.24;2.50]) é superior ao de portadores de apenas um alelo (RR = 1.55, 95%CI = [1.11;2.17] [9]). Por outro lado, portadores de pelo menos um alelo de perda de função apresentam menor risco de hemorragia comparativamente a portadores de alelos *CYP2C19*\*1 ou *CYP2C19*\*17 (RR = 0.84, 95%CI = [0.75;0.94]) [7].

#### 3.3. INFORMAÇÃO ADICIONAL

O clopidogrel é um agente antiagregante plaquetário amplamente utilizado a nível mundial, sendo indicado para o tratamento ou prevenção de eventos aterotrombóticos. Está indicado nos casos de contra indicação da aspirina, em casos de doença arterial periférica, em doentes com história de cirurgia de revascularização miocárdica e em doentes com doença cardiovascular conhecida. A terapêutica dupla com clopidogrel e aspirina é indicada nos casos de angioplastia percutânea com implante de *stent*, em síndromas coronárias agudas sem implante de *stent*, em casos de fibrilhação auricular em que não é possível administrar anti-coagulantes orais e em doentes com doença cardiovascular conhecida [7, 8, 10, 11, 12, 13].

A inibição da agregação plaquetária pelo clopidogrel deve-se a um metabolito activo (Clop-AM) [2]. Sendo um pró-fármaco, o clopidogrel requer a biotransformação num metabolito activo (Clop-AM), pelas enzimas do citocromo P-450, para exercer o seu efeito antiplaquetário [2, 6, 7, 8, 9, 14]. O Clop-AM inibe seletivamente a ligação da adenosina difosfato ao seu recetor na superfície das plaquetas, inibindo assim a sua agregação. Esta ação é irreversível, ou seja, quando expostas ao metabolito ativo do clopidogrel, as plaquetas são afectadas até ao final do seu tempo de vida (cerca de 10 dias) [2].

O CYP2C19 é uma importante enzima hepática, metabolizadora de fármacos, responsável pela ativação metabólica do clopidogrel [6]. Esta ativação pode ser influenciada por variantes genéticas no gene *CYP2C19* e crescentes evidências mostram que os polimorfismos de perda-de-função, neste gene, estão associados a uma diminuição da exposição ao Clop-AM, afetando o nível de inibição plaquetária [2, 8, 14].

A importância clínica do genótipo do *CYP2C19* na terapêutica com clopidogrel foi amplamente estudada nos últimos anos. Os alelos de perda-de-função *CYP2C19*\*2 e *CYP2C19*\*3 causam uma diminuição no efeito antiplaquetário em doentes tratados com clopidogrel, resultando assim num aumento do risco de recorrência de eventos cardiovasculares adversos [1, 6, 9, 11]. O alelo de ganho-de-função *CYP2C19*\*17 está associado a um aumento do risco de eventos hemorrágicos [1, 6]. A frequência destes três alelos difere entre populações, sendo que na população Europeia o alelo *CYP2C19*\*17 é prevalente (21%), seguido pelos alelos *CYP2C19*\*2 (15%) e *CYP2C19*\*3 (0.42%) [1, 6].

Neste contexto, a FDA (*Food and Drug Administration*) publicou um *Boxed Warning* sobre os doentes que não metabolizam eficazmente o clopidogrel e que podem, por este motivo, não beneficiar totalmente da ação deste fármaco. É recomendado que os profissionais de saúde considerem a utilização de outros agentes antiplaquetários ou estratégias alternativas na dosagem de clopidogrel. Foi ainda declarado que a genotipagem de *CYP2C19* pode auxiliar na otimização de estratégias terapêuticas [2]. Por sua vez, o *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC) estabeleceu também várias recomendações terapêuticas tendo em conta o fenótipo associado ao gene *CYP2C19* [1].

#### Recomendações terapêuticas para o clopidogrel de acordo com o fenótipo e genótipo do gene *CYP2C19*

Fenótipo	Haplótipo	Implicações associadas ao clopidogrel	Recomendações terapêuticas
Metabolizador extensivo	*1/*1	Inibição plaquetária normal. Agregação plaquetária residual normal.	Prescrever dosagem padrão.
Metabolizador ultra-rápido	*1/*17; *17/*17	Aumento da inibição plaquetária. Diminuição da agregação plaquetária residual.	Prescrever dosagem padrão.
Metabolizador intermédio	*1/*2; *1/*3; *2/*17	Diminuição da inibição plaquetária. Aumento da agregação plaquetária residual. Risco aumentado de eventos cardiovasculares adversos.	Considerar terapêutica antiplaquetária alternativa (se não existirem contra-indicações), ex. prasugrel, ticagrelor.
Metabolizador fraco	*2/*2; *2/*3; *3/*3	Diminuição significativa da inibição plaquetária. Aumento da agregação plaquetária residual. Risco aumentado de eventos cardiovasculares adversos.	

Adaptado de [1]

**NOTA:** *CYP2C19*\*1 denota o alelo *wild-type* (ou seja, função normal). Este teste genético apenas avalia os alelos *CYP2C19*\*1, \*2, \*3 e \*17. Note-se que alelos, como *CYP2C19*\*4 e \*5, também resultam na diminuição da atividade enzimática, mas são raros em todas as etnias (<1%) e o seu efeito em termos laboratoriais não foi ainda totalmente documentado.

#### 4. REFERÊNCIAS

- [1] S. A. Scott, K. Sangkuhl, C. M. Stein, J.-S. Hulot, J. L. Mega, D. M. Roden, T. E. Klein, M. S. Sabatine, J. A. Johnson, and A. R. Shuldiner, *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **94**, 317 (2013).
- [2] U. Food, D. Administration, *et al.*, Accessed March **19** (2010).
- [3] D. J. Angiolillo, A. Fernandez-Ortiz, E. Bernardo, F. Alfonso, C. Macaya, T. A. Bass, and M. A. Costa, *Journal of the American College of Cardiology* **49**, 1505 (2007).
- [4] *Clin Pharmacol Ther* **89**, 464 (2011).
- [5] *Clin Pharmacol Ther* **90**, 625 (2011).
- [6] Y. Li, H.-L. TANG, Y.-F. HU, and H.-G. XIE, *Journal of Thrombosis and Haemostasis* **10**, 199 (2012).
- [7] M. V. Holmes, P. Perel, T. Shah, A. D. Hingorani, and J. P. Casas, *Jama* **306**, 2704 (2011).
- [8] B. Jin, H.-C. Ni, W. Shen, J. Li, H.-M. Shi, and Y. Li, *Molecular biology reports* **38**, 1697 (2011).
- [9] J. L. Mega, T. Simon, J.-P. Collet, J. L. Anderson, E. M. Antman, K. Bliden, C. P. Cannon, N. Danchin, B. Giusti, P. Gurbel, *et al.*, *Jama* **304**, 1821 (2010).
- [10] S. B. King, S. C. Smith, J. W. Hirshfeld, A. K. Jacobs, D. A. Morrison, D. O. Williams, T. E. Feldman, M. J. Kern, W. W. O'Neill, H. V. Schaff, *et al.*, *Circulation* **117**, 261 (2008).
- [11] D. Sibbing, W. Koch, D. Gebhard, T. Schuster, S. Braun, J. Stegherr, T. Morath, A. Schömig, N. von Beckerath, and A. Kastrati, *Circulation* **121**, 512 (2010).
- [12] M. Yildiz, B. Sahin Yildiz, M. Ozan Gursoy, and I. Akin, *Cardiovascular & Haematological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Cardiovascular & Hematological Disorders)* **14**, 225 (2014).
- [13] T. O. Bergmeijer, P. W. Janssen, J. C. Schipper, K. Qaderdan, M. Ishak, R. S. Ruitenbeek, F. W. Asselbergs, A. W. van't Hof, W. J. Dewilde, F. Spanó, *et al.*, *American heart journal* **168**, 16 (2014).
- [14] J. L. Mega, S. L. Close, S. D. Wiviott, L. Shen, R. D. Hockett, J. T. Brandt, J. R. Walker, E. M. Antman, W. Macias, E. Braunwald, *et al.*, *New England Journal of Medicine* **360**, 354 (2009).