

Estudo da Farmacogenética para a Varfarina

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.		
História familiar:	N.A.	Data de entrada:	N.A.
Motivo do médico requisitante:	Adequação terapêutica	Data de saída:	2017-12-11
Motivo do laboratório de genética:	N.A.		
Propósito do teste:	Farmacogenética		
Tipo de amostra:	Saliva		

1. RESULTADOS

1.1. INFORMAÇÃO SOBRE DOSAGEM

- *VKORC1* AA - *CYP2C9* 1*/3*: Elevada sensibilidade à varfarina

Torna-se necessária uma **dosagem menor que a dose padrão** para manter valores terapêuticos de anticoagulação, correspondentes a nível de INR de 2-3.

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. São conhecidos vários fármacos que interagem com a varfarina, nomeadamente alguns antibióticos, fármacos de aplicação no foro cardiovascular e fármacos que atuam no sistema nervoso central. O efeito clínico da varfarina pode também ser influenciado pela interação com a dieta, especialmente com vegetais ricos em vitamina K.

O *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC) [1] do *National Institutes of Health Pharmacogenomics Research Network* desenvolve orientações clínicas sobre as interações gene-fármaco, as quais são publicadas e actualizadas periodicamente de acordo com os novos desenvolvimentos na área.

O CPIC estabeleceu várias recomendações sobre a interpretação e aplicação clínica dos genótipos de *CYP2C9* e *VKORC1* na dosagem de varfarina, para atingir um INR terapêutico [2].

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 pela análise de três variantes genéticas dos genes *VKORC1* e *CYP2C9*, associadas à farmacocinética e farmacodinâmica da varfarina.
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

CYP2C9 : cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 9 | NM_000771
VKORC1 : vitamin K epoxide reductase complex, subunit 1 | NM_024006

2.3. RISCOS E LIMITAÇÕES

O Warfarin 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 Warfarin 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, 2017-12-11
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 ¹	Alteração aminoacídica	Observação ²
<i>CYP2C9</i>	CM994193	rs1799853	c.430C>T	p.Arg144Cys	WT
<i>CYP2C9</i>	CM960481	rs1057910	c.1075A>C	p.Ile359Leu	HTZ
<i>VKORC1</i>	CR052440	rs9923231	c.-1639G>A	-	HMZ

¹A 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>).

²HMZ – 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.

CYP2C9, CM994193 / rs1799853 + CYP2C9, CM960481 / rs1057910

O gene *CYP2C9* é um membro da superfamília do citocromo P450 com um papel importante no metabolismo da varfarina [3, 4]. Os polimorfismos no gene *CYP2C9* conduzem à expressão de proteínas com actividades catalíticas diferentes, diminuindo o metabolismo da S-varfarina [3]. O alelo *CYP2C9*1* é considerado como referência para uma actividade enzimática normal. Os alelos *CYP2C9*2* e *CYP2C9*3* são responsáveis por uma redução na actividade enzimática de aproximadamente 30-40% e 80-90%, respetivamente [3, 4, 5, 6]. O aumento dos níveis plasmáticos de varfarina é um reflexo da dose excessiva, elevando os valores de INR acima do nível terapêutico alvo e conduzindo ao aumento de eventos hemorrágicos em alguns doentes [4]. Neste contexto, é necessária uma dosagem de varfarina inferior [4].

Um estudo de meta-análise demonstra que os alelos *CYP2C9*2* e *CYP2C9*3* se encontram associados não só a uma redução da dose diária necessária de varfarina de 17 e 37%, respetivamente, como também a um aumento do risco relativo de hemorragia (OR = 1.91 95%CI = [1.16;3.17] para *CYP2C9*2* e OR = 1.77 95%CI = [1.07;2.91] para *CYP2C9*3*) [7].

VKORC1, CR052440 / rs9923231

O gene *VKORC1* codifica a proteína epóxido reductase da vitamina K, que cataliza o passo limitante na reciclagem da vitamina K: a conversão do epóxido de vitamina K em vitamina K. A forma reduzida da vitamina K é um cofactor essencial para a ativação pós-traducional dos fatores de coagulação II, VII, IX e X, e das proteínas anticoagulantes C, S e Z. A varfarina exerce a sua atividade antigulante ao inibir *VKORC1* [3, 4, 8, 9]. Durante a fase inicial da anticoagulação, as variantes genéticas do gene *VKORC1* são um dos maiores determinantes da variabilidade na sensibilidade à varfarina entre os doentes [8]. A variante -1639G>A, dentro da região promotora do gene, é comum e está fortemente associada à sensibilidade à varfarina e requisito de dosagens mais reduzidas, sendo que portadores do alelo -1639A necessitam de doses iniciais de varfarina mais baixas que os portadores do alelo -1639G [3, 4, 10]. A variabilidade genética do gene *VKORC1* é responsável por uma variação da dose de varfarina, entre indivíduos até 25% [4, 11, 12].

Portadores do alelo -1639A em homozigotia necessitam de doses mais baixas de varfarina (OR = 4.47; p = 0.03) para atingir um valor de INR superior a 5 em comparação com portadores heterozigóticos [3, 13].

3.3. INFORMAÇÃO ADICIONAL

A varfarina é o anticoagulante oral mais usado e é um dos agentes mais eficazes na prevenção de eventos tromboembólicos numa variedade de situações clínicas [4, 8, 14, 15, 16, 17, 18]. A eficácia da varfarina depende em grande parte da capacidade de atingir e manter um apertado intervalo terapêutico, normalmente um valor de INR (*International Normalized Ratio*, sigla em inglês para Razão Normalizada Internacional) entre 2 e 3 [14, 17]. A administração de varfarina está associada a um risco aumentado tanto de formação de coágulos sanguíneos quando o tratamento é sub-terapêutico (INR inferior a 2) como também de hemorragias quando supra-terapêutico (INR superior a 4) [3, 8].

Fatores clínicos e demográficos, assim como variantes nos genes *CYP2C9* e *VKORC1* contribuem significativamente para a variabilidade nos requisitos de dosagem de varfarina entre os doentes [3, 11, 15, 17, 18].

Com base nestas observações, a FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou um documento sobre a varfarina que descreve os efeitos reportados dos genes *VKORC1* e *CYP2C9* nos requisitos de dosagem (ver tabela abaixo) [18, 19].

Níveis de dosagem de varfarina de acordo com o genótipo combinado de <i>CYP2C9</i> e <i>VKORC1</i>							
Genótipo do gene		Genótipos do gene <i>CYP2C9</i>					
		*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
Genótipo do gene	GG	Superior	Superior	Padrão	Padrão	Padrão	Inferior
	GA	Superior	Padrão	Padrão	Padrão	Inferior	Inferior
<i>VKORC1</i>	AA	Padrão	Padrão	Inferior	Inferior	Inferior	Inferior

4. REFERÊNCIAS

- [1] Clin Pharmacol Ther **89**, 464 (2011).
- [2] Clin Pharmacol Ther **90**, 625 (2011).
- [3] F. Kamali and H. Wynne, Annual review of medicine **61**, 63 (2010).
- [4] T. P. Moyer, D. J. O'Kane, L. M. Baudhuin, C. L. Wiley, A. Fortini, P. K. Fisher, D. M. Dupras, R. Chaudhry, P. Thapa, A. R. Zinsmeister, *et al.*, in *Mayo Clinic Proceedings*, Vol. 84 (Elsevier, 2009) pp. 1079–1094.
- [5] M. K. Higashi, D. L. Veenstra, L. M. Kondo, A. K. Wittkowsky, S. L. Srinouanprachanh, F. M. Farin, and A. E. Rettie, *Jama* **287**, 1690 (2002).
- [6] C. R. Lee, J. A. Goldstein, and J. A. Pieper, *Pharmacogenetics and Genomics* **12**, 251 (2002).
- [7] S. Sanderson, J. Emery, and J. Higgins, *Genetics in Medicine* **7**, 97 (2005).
- [8] U. I. Schwarz, M. D. Ritchie, Y. Bradford, C. Li, S. M. Dudek, A. Frye-Anderson, R. B. Kim, D. M. Roden, and C. M. Stein, *New England Journal of Medicine* **358**, 999 (2008).
- [9] L. Dean, (2013).
- [10] E. A. Sconce, T. I. Khan, H. A. Wynne, P. Avery, L. Monkhouse, B. P. King, P. Wood, P. Kesteven, A. K. Daly, and F. Kamali, *Blood* **106**, 2329 (2005).
- [11] M. J. Rieder, A. P. Reiner, B. F. Gage, D. A. Nickerson, C. S. Eby, H. L. McLeod, D. K. Blough, K. E. Thummel, D. L. Veenstra, and A. E. Rettie, *New England Journal of Medicine* **352**, 2285 (2005).
- [12] F. Takeuchi, R. McGinnis, S. Bourgeois, C. Barnes, N. Eriksson, N. Soranzo, P. Whittaker, V. Ranganath, V. Kumanduri, W. McLaren, *et al.*, *PLoS genetics* **5**, e1000433 (2009).
- [13] L. M. Meckley, A. K. Wittkowsky, M. J. Rieder, A. E. Rettie, D. L. Veenstra, *et al.*, *Thromb Haemost* **100**, 229 (2008).
- [14] P. G. Joseph, G. Pare, S. Ross, R. Roberts, and S. S. Anand, *Clinical cardiology* **37**, 48 (2014).
- [15] I. W. P. Consortium *et al.*, *The New England journal of medicine* **360**, 753 (2009).
- [16] J. Ansell, J. Hirsh, L. Poller, H. Bussey, A. Jacobson, and E. Hylek, *CHEST Journal* **126**, 204S (2004).
- [17] A. L. Jorgensen, R. J. FitzGerald, J. Oyee, M. Pirmohamed, and P. R. Williamson, *PloS one* **7**, e44064 (2012).
- [18] J. Johnson, L. Gong, M. Whirl-Carrillo, B. Gage, S. Scott, C. Stein, J. Anderson, S. Kimmel, M. Lee, M. Pirmohamed, *et al.*, *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **90**, 625 (2011).
- [19] F. COUMADIN, "Tablets (warfarin sodium tablets, usp) crystalline; coumadin® for injection (warfarin sodium for injection, usp). 2007 [updated 2007; cited 2008 11-23]; fda (food and drug administration)," .