

Projecto  
**Hipocoagulação segura**

Helena Alves  
INSA Doutor Ricardo Jorge  
UPSPDNT - CSPGF  
11-04-2014

## Situação em Portugal

- **Estima-se que em Portugal existam cerca de 100.000 doentes hipocoagulados, estando este número a aumentar a um ritmo próximo de 14% ao ano, segundo dados de 2005, do IMS (Intercontinental Marketing Services)**

## O QUE É A HIPOCOAGULAÇÃO ORAL?

- **A hipocoagulação oral é um tratamento que permite, através da ingestão de medicamentos, tornar o sangue “mais fluido”, reduzindo a possibilidade de formação de coágulos no coração e na circulação sanguínea.**

# Anticoagulação oral

- Fármacos anticoagulantes mais frequentes
  - **Varfarina (Varfine<sup>®</sup>)**
  - **Acenocumerol (Sintron<sup>®</sup>)**
  - **Dabigatrano (Pradaxa<sup>®</sup>)**
  - **Rivaroxabano (Xarelto<sup>®</sup>)**

# Anticoagulação oral

- Para que serve?

- prevenção de ocorrência dos fenômenos tromboembólicos

# Anticoagulação oral

- Tipo de anticoagulantes
  - Antivitaminicos K são os mais usados

## Anticoagulação oral

### Indicações

- **Patologias mais frequentes**
  - Fibrilhação auricular
  - AVC trombóticos
  - Próteses Valvulares
  - Tromboses Venosas profundas
  
- **Idades: a maioria dos doentes tem mais de 60 anos**

## Anticoagulação oral

### **Monitorização**

- Com teste de coagulação para determinação do
  - INR (International Normalized Ratio)  
(Rácio Internacional Normalizado)
- Deve ser regularmente monitorizada de forma a manter níveis terapêuticos seguros

## Anticoagulação oral

### Riscos

- Riscos de trombose, (que levam à prescrição de terapêutica anticoagulante)
- Riscos de hemorragia (que advêm dessa terapêutica)
- Margens terapêuticas:
  - INR com valores limite que dependem da patologia em causa,
  - Globalmente:
    - **INR: 2.0 - 3.5**

## Alguns medicamentos que intensificam o efeito dos derivados cumarínicos (antagonistas da Vitamina K)

- Analgésicos (por exemplo, ácido acetilsalicílico e AINEs)
- Anti-reumáticos e anti-inflamatórios
- Antibióticos (por exemplo, penicilina, ampicilina, tetraciclina)
- Anticolesterolaminas (Statine, fibratos)
- Agentes anti-arrítmicos (por exemplo amiodarona, Chinidin)
- Antidepressivos (antidepressivos tricíclicos)
- Diuréticos (por exemplo, ácido etacryn)
- Medicamentos hipoglicemiantes (por exemplo sulfonil carbamidas)
- Hormonas da tiróide

## Alguns medicamentos que reduzem o efeito dos derivados cumarínicos (AVKs)

- A redução do efeito significa o aumento do risco da trombofilia,
- Analiticamente há
  - Diminuição do INR
- Anti-epilépticos (por exemplo, carbamazepina, barbitúricos)
- Medicamentos antimicóticos (por exemplo, griseofulvina)
- Drogas antituberculose (por exemplo, rifampicina)
- Preparados de vitamina (vitamina K)
- Os laxantes têm efeito sobre a anticoagulação que não é previsível

## Anticoagulação oral

- Os hipocoagulantes aumentam o risco de hemorragias, sendo esta a principal complicação.
- A gravidade das hemorragias varia. Na maioria dos casos registados é de curta duração e de pequena gravidade.
- Equimoses e hematomas (“nódoas negras”), mesmo sem história de traumatismo que o justifique
- Hematúria (Perda de sangue na urina) - é das situações mais frequentes e normalmente não é grave;
- Perdas de sangue nasais e gengivais;
- Perdas de sangue gastrointestinais.
- Perdas menstruais mais abundantes que o habitual.

## Anticoagulação em caso de extracção dentária ou cirurgia programada

- Substituição da anticoagulação oral por injeção subcutânea de heparina de baixo peso molecular (Fraxiparina, Lovenox)
- a iniciar dois dias antes e
- a continuar após passar o risco de hemorragia, em simultâneo com anticoagulação oral e até serem atingidos níveis terapêuticos (2-3 dias).

## Projecto hipocoagulação segura

### Racional do projecto

- A colaboração do doente e familiares é fundamental para reduzir os riscos associados à trombofilia e anticoagulação
- O conhecimento da susceptibilidade genética associada permite prever a resposta à terapêutica e reduzir riscos
- Melhorar a capacitação dos doentes, familiares e cuidadores no que respeita às interferências da dieta e medicação concomitante, permitirá níveis terapêuticos mais estáveis e menores riscos.

## Mercado e concorrentes

### Oportunidades e ameaças

- Os Hospitais têm as consultas sobrecarregadas
- Os Hospitais não estão a fazer campanhas de informação
- Os Centros de saúde estão a receber doentes, mas os Médicos de família não se sentem à vontade para acompanhar os doentes hipocoagulados
  
- Há laboratórios privados a acompanhar alguns hipocoagulados
- Há testes genéticos disponibilizados por laboratórios privados, mas não é prática habitual usar essa informação.

# Laboratórios Privados

Utilizando a tecnologia de microarrays, o Painel de Mutações CGC permite detectar, simultaneamente, 12 mutações descritas nas trombofilias hereditárias e 3 mutações para a componente genética da resposta individual a uma terapêutica anticoagulante com dicumarínicos (varfarina).

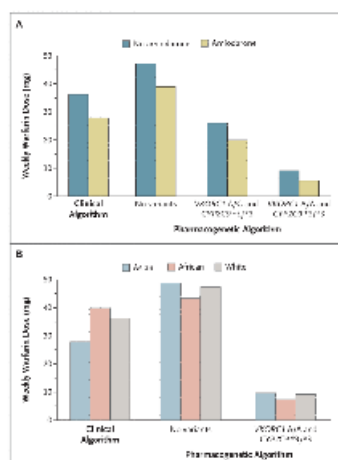
TROMBOFILIA								
Factor V Leiden	Factor II	MTHFR	PAI	ACE	Fibrinogénio	Factor XIII	APOE	EPCR
Arg506Gln	G20210A	C677T A1298C	4G/5G -844A>G	ins/del	-455G>A	Val34Leu	Cys112Arg Arg158Cys	4678G/C
RESPOSTA INDIVIDUAL A TERAPEUTICA ANTICOAGULANTE COM DICUMARÍNICOS								

## Estimation of the Warfarin Dose with Clinical and Pharmacogenetic Data The International Warfarin Pharmacogenetics Consortium\*

- N Engl J Med. **2009** February 19; 360(8): 753–764. doi:10.1056/NEJMoa0809329.

### Abstract

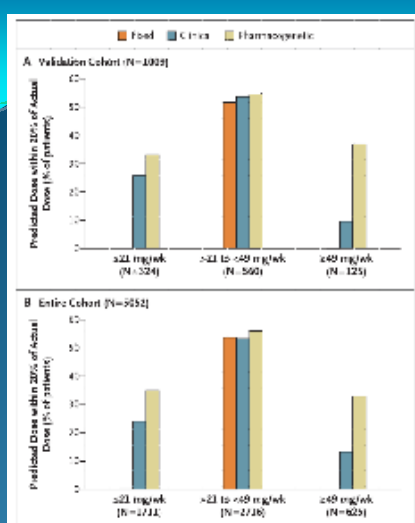
- **BACKGROUND**—Genetic variability among patients plays an important role in determining the dose of warfarin that should be used when oral anticoagulation is initiated, ...
- We developed and used an algorithm for estimating the appropriate warfarin dose that is based on both clinical and genetic data ...
- **METHODS**—Clinical and genetic data from 4043 patients were used to create a dose algorithm that was based on clinical variables only and an algorithm in which genetic information was added to the clinical variables....
- **RESULTS**—In the validation cohort, the pharmacogenetic algorithm accurately identified larger proportions of patients who required **21 mg of warfarin or less per week and of those who required 49 mg or more per week** to achieve the target international normalized ratio than did the clinical algorithm (49.4% vs. 33.3%,  $P < 0.001$ , among patients requiring  $\leq 21$  mg per week; and 24.8% vs. 7.2%,  $P < 0.001$ , among those requiring  $\geq 49$  mg per week).
- **CONCLUSIONS**—**The use of a pharmacogenetic algorithm for estimating the appropriate initial dose of warfarin produces recommendations that are significantly closer to the required stable therapeutic dose than those derived from a clinical algorithm or a fixed-dose approach.** The greatest benefits were observed in the 46.2% of the population that required 21 mg or less of warfarin per week or 49 mg or more per week for therapeutic anticoagulation.



O Conhecimento do genótipo pode reduzir a dose inicial de Varfarina para  $\frac{1}{4}$  da dose habitual

**Figure 1. Comparisons of Warfarin Doses Predicted According to the Clinical Algorithm and the Pharmacogenetic Algorithm**

Panel A shows the comparisons based on genotype and on use or nonuse of amiodarone. This example of a 50-year-old non-Asian, nonblack patient who is 1.75 m tall and weighs 80 kg shows that genotype can markedly change the recommended dose from more than 45 mg per week to less than 10 mg per week when all other factors are the same. Panel B shows the comparison based on race and genotype. This example of a 50-year-old patient who is 1.75 m tall and weighs 80 kg shows that racial differences in the estimated dose become insignificant when genetic information is added to the model and that the clinical algorithm, as compared with the pharmacogenetic algorithm, often produces an average value that may substantially overestimate or underestimate the dose.



Algoritmo farmacogenético prevê a dose correcta melhor que o algoritmo clínico

**Figure 2. Percentage of Patients with Dose Estimates within 20% of the Actual Dose, as Derived with the Use of a Pharmacogenetic Algorithm, a Clinical Algorithm, and a Fixed-Dose Approach** The dose estimates are shown according to three actual-dose groups: low-dose ( $\leq 21$  mg per week), intermediate-dose ( $>21$  to  $<49$  mg per week), and high-dose ( $\geq 49$  mg per week). The fixed dose was 35 mg per week. With the fixed-dose approach, none of the estimates for the patients in the low-dose and high-dose groups were within 20% of the actual dose. Panel A shows data for the validation cohort (1009 patients), and Panel B for the derivation-plus-validation cohorts (5052 patients).

## Farmacogenética não dispensa acompanhamento clínico

- As interferências das variações no aporte de vitamina K da alimentação, bem como os fármacos necessitam educação do doente e da família e monitorização do INR
- A Farmacogenética reduz riscos

## Doses recomendadas, baseadas nos genótipos CYP2C9 e VKORC1

**Table 1 Recommended daily warfarin doses (mg/day) to achieve a therapeutic INR based on CYP2C9 and VKORC1 genotype using the warfarin product insert approved by the US Food and Drug Administration**

VKORC1: -1639G>A	CYP2C9*1/*1	CYP2C9*1/*2	CYP2C9*1/*3	CYP2C9*2/*2	CYP2C9*2/*3	CYP2C9*3/*3
GG	5-7	5-7	3-4	3-4	3-4	0.5-2
GA	5-7	3-4	3-4	3-4	0.5-2	0.5-2
AA	3-4	3-4	0.5-2	0.5-2	0.5-2	0.5-2

Reproduced from updated warfarin (Coumadin) product label.

Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for CYP2C9 and VKORC1 Genotypes and Warfarin Dosing

CLINICAL PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS | VOLUME 90 NUMBER 4 | OCTOBER 2011

## Mecanismo de acção da Varfarina

- Warfarin pharmacology and pharmacokinetics:
- Warfarin inhibits vitamin K–epoxide reductase complex and is administered as a racemic mixture, with S-warfarin being more potent than R-warfarin

## GENES CYP2C9 with higher activity -1

- CYP2C9 AND WARFARIN CYP2C9 is a hepatic drug-metabolizing enzyme in the CYP450 superfamily and is the primary metabolizing enzyme of S-warfarin
- The CYP2C9 gene has more than 30 known variant alleles
- Individuals homozygous for the reference CYP2C9 allele (CYP2C9\*1) have the “normal metabolizer” phenotype.
- Each named CYP2C9 star (\*) allele is defined by a genotype at one or more specific single-nucleotide polymorphisms (SNPs) and is associated with enzyme activity.

## GENES CYP2C9 with higher activity -2

- The two most common variants with reduced enzyme activity among individuals of European ancestry are CYP2C9\*2 (rs1799853) and CYP2C9\*3 (rs1057910).
- The frequencies of the CYP2C9 variant alleles differ between racial/ethnic groups.
- In vitro and ex vivo studies suggest that CYP2C9\*2 and \*3 impair metabolism of S-warfarin by ~30–40% and ~80–90%, respectively.
- As compared with patients who are homozygous for CYP2C9\*1, individuals who inherit one or two copies of CYP2C9\*2 or \*3 are at greater risk of bleeding during warfarin therapy,<sup>5,10,11</sup> require lower doses to achieve similar levels of anticoagulation, and require more time to achieve a stable INR.<sup>10,1</sup>

## GENES CYP2C9 with reduced activity

- Additional CYP2C9 variant alleles with reduced activity (CYP2C9\*5, \*6, \*8, and \*11) contribute to dose variability among African Americans.
- Including these additional CYP2C9 variants in dosing algorithms for warfarin may improve predictability for African Americans.

## VKORC1 AND WARFARIN -1

- VKORC1 encodes the vitamin K–epoxide reductase protein, the target enzyme of warfarin.
- VKORC1 catalyzes the conversion of vitamin K–epoxide to vitamin K, which is the rate-limiting step in vitamin K recycling.
- A common noncoding variant (–1639G>A, rs9923231) is significantly associated with warfarin sensitivity and reduced dose requirements, as –1639A carriers require lower initial warfarin doses than –1639G carriers
- The –1639G>A polymorphism alters a VKORC1 transcription factor binding site, leading to lower protein expression.

## VKORC1 AND WARFARIN -2

- Including other common VKORC1 SNPs or haplotypes in dosing algorithms does not further improve warfarin dose prediction.
- The –1639G>A allele frequency varies among different ethnic groups and largely explains the differences in average dose requirements among whites, blacks, and Asians.
- Several rare nonsynonymous VKORC1 variants confer warfarin resistance (high-dose requirements)

## LINKING GENETIC VARIABILITY TO VARIABILITY IN DRUG RELATED PHENOTYPES

- CYP2C9 and VKORC1 polymorphisms account for up to 18 and 30%, respectively, of the variance in stable warfarin dose among patients of European ancestry, but these variants explain less of the dose variability in patients of Asian or African ancestry.
- In 2007, the FDA modified the warfarin label, stating that CYP2C9 and VKORC1 genotypes may be useful in determining the optimal initial dose of warfarin.
- The label was further updated in 2010 to include a table describing recommendations for initial dosing ranges for patients with different combinations of CYP2C9 and VKORC1 genotypes.

## Genetic test interpretation

- Most clinical laboratories report CYP2C9 genotype using the star (\*) allele nomenclature and may provide interpretation of the patient's predicted metabolizer phenotype.
- Alleles other than \*2 and \*3 might not be tested, influencing the accuracy of the genotype-based dose prediction, which is particularly relevant in those of African ancestry who more commonly carry other CYP2C9 variant alleles.
- VKORC1 is typically reported by –1639G>A (or the linked 1173C>T) genotype, with accompanying interpretation of warfarin sensitivity.
- Of note, most commercial genotyping platforms do not detect rare CYP2C9 and VKORC1 variants that may influence warfarin dosing

## Caveats: appropriate use and/or potential misuse of genetic tests

- Many pharmacogenetic dosing algorithms are focused on a target INR of 2–3,
- so their utility outside this range is limited;
- however, some algorithms accommodate the target INR
- **O uso de algoritmos para iniciar a terapêutica, não dispensa o acompanhamento cuidado do doente**

## ○ maior interesse dos testes genéticos situa-se no início da terapêutica

- The greatest potential benefit is early in the course of therapy (before therapy initiation or in the first few days);
- however, there may also be benefit several weeks into therapy.
- It is likely that patients on therapy for many weeks to months, with careful INR monitoring, will derive little benefit from subsequent warfarin pharmacogenetics testing.

- A manutenção dentro dos limites de segurança depende da resposta do doente à terapêutica instituída, a qual por um lado é determinada geneticamente e por outro depende das interferências de factores ambientais.

Nestes factores ambientais têm relevância entre outros o aporte de vitamina K na dieta e a toma simultânea de outros medicamentos. Vários fármacos competem com a Varfarina no metabolismo e transporte dos fármacos, alterando a biodisponibilidade dos mesmos e sendo assim causa de riscos quer de trombose, quer de hemorragia, dependendo do efeito de resistência ou de potenciação no anticoagulante.

- As proteínas do citocromo P450 são monooxygenases que catalizam muitas reacções envolvidas no metabolismo das drogas. O Citocromo P-450-2C9 (*CYP 2C9*) está *primariamente localizado no fígado* .
- *A enzima pertence à subfamília Citocromo 2C. A CYP 2C9 metaboliza drogas comuns como a S-varfarina, o Ibuprofen e o Diclofenac.*
- *A presença do genótipo \*1/\*2 está relacionada com a actividade enzimática intermediária, enquanto que os genótipos \*1/\*3, \*2/\*2, \*2/\*3 e \*3/\*3 estão relacionados com uma actividade enzimática reduzida e consequentemente baixa metabolização do composto activo S-varfarina.*
- *O composto activo S-varfarina é metabolizado pela CYP2C9, portanto a presença de variantes relacionadas com a baixa actividade enzimática confere uma maior sensibilidade à varfarina com necessidade de doses reduzidas em relação ao metabolismo de indivíduos portadores do genótipo \*1/\*1.*

- A enzima vitamina K epóxido redutase (VKORC) converte a vitamina K na sua forma activa (vitamina K hidroquinona), auxiliando a coagulação através dos fatores K dependentes (II, VII, IX e X). A varfarina inibe a ação da VKORC.
- Mutações no gene VKORC1, que codifica a VKORC, estão relacionadas com a baixa atividade da enzima, portanto maior sensibilidade a varfarina.
- Estudos demonstram que os polimorfismos G-1639A e C1173T apresentam forte desequilíbrio de ligação.
- O equilíbrio necessário entre a sensibilidade genética ao fármaco, a acção do mesmo e os factores ambientais modificadores, consegue-se tanto melhor quanto maior for o conhecimento do doente e familiares que dele cuidam, sobre esta matéria.
- Este equilíbrio repercute-se nos valores de INR e significa para o doente a diferença entre a segurança e o risco, quer de trombose (AVC) quer de hemorragias fatais ou altamente incapacitantes.

- Sendo estes **doentes de alto risco**, a descentralização dos mesmos nos cuidados de saúde e a sua pulverização por clínicos não especializados e pouco experientes deve ser acompanhada de medidas tendentes a melhorar a **literacia dos doentes e suas famílias**, quer sobre a predisposição genética individual, quer sobre a forma de reduzir interferências ambientais que aumentem o risco dos doentes.
- Este trabalho dos profissionais de saúde de melhorar a capacitação dos doentes e familiares carece por um lado de ferramentas de comunicação simples, eficazes e interactivas e por outro de disponibilização de informação de acesso fácil e imediato, o que pode ser conseguido por conteúdos disponibilizados online para uma auto aprendizagem e revisão a qualquer momento.

Pretende-se com este projecto:

- **b)**
- **1) A criação de um DVD interactivo, com vídeo, de compreensão fácil para a população idosa e de baixo nível de instrução, com disponibilização do vídeo no youtube para profissionais e doentes.**
- **2) O estudo molecular dos genes VKORC1 e CYP2C9 em 250 doentes hipocoagulados, com determinação dos alelos de que são portadores,**
- **3) Análise da relação dos alelos desses doentes com o seu perfil de resposta à Varfarina**

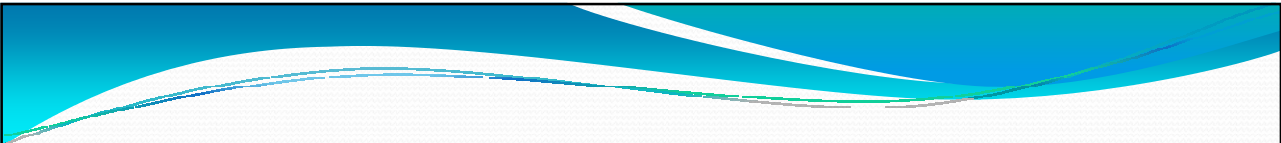
- Será efectuada uma colheita de sangue em tubo com anticoagulante para extracção de DNA.
- Os testes serão feitos com tecnologia LightCycler®, LightMix® Kit human *CYP 2C9\*2 and CYP 2C9\*3* e LightMix® Kit human *VKORC1 C1173T and G-1639A* preferencialmente na Unidade de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças não Transmissíveis (Centro de Saúde Pública Gonçalves Ferreira no Porto), Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, IP ou outro prestador de serviço com a mesma tecnologia.

## Análise de dados

- Os resultados correspondentes aos estudos de polimorfismo serão integrados na história clínica. A informação será tratada por métodos estatísticos.

## Descrição das actividades previstas: Amostragem

- Os **250** doentes a **estudar serão recrutados em consultas de hipocoagulação da zona do Porto em Hospitais e Centros de Saúde**, seleccionando 3 grandes grupos de doentes:
  - 1) **doentes com “resistência” à varfarina** necessitando dosagens altas de anticoagulante para atingir níveis terapêuticos, com risco trombótico,
  - 2) **doentes com dosagens intermédias** de varfarina e sem grandes variações de INR,
  - 3) **doentes com aparente “sensibilidade” à varfarina necessitando doses muito baixas e apresentando valores elevados de INR** para variações pequenas de dosagem, com risco hemorrágico. Os doentes serão seleccionados em colaboração com os médicos assistentes.

- 
- Os doentes darão o seu **consentimento** para a inclusão no estudo.
  - A **colheita de sangue será feita no local habitual** de controlo do INR.
  - Será feito **um questionário sobre patologia prévia, TA, hábitos alimentares, medicação habitual, efeitos secundários da hipocoagulação já ocorridos.**
  - **A determinação dos alelos de que são portadores, associados a metabolização mais lenta ou mais rápida da Varfarina permitirá definir as dosagens necessárias para atingir e manter níveis terapêuticos, bem como prever a intensidade das interferências dos fármacos administrados em simultâneo.**
  - Os resultados obtidos serão fornecidos aos doentes e clínicos assistentes indicados pelos doentes.

## Meios Humanos

- As colheitas serão efectuadas nos locais habituais de controlo do INR por **técnicos de diagnóstico e terapêutica**.
- **Um investigador fará a recolha da informação clínica e o questionário.** No laboratório a equipa contará com um **técnico de diagnóstico e terapêutica e 2 investigadores** para a aliquotagem, extracção de DNA, identificação e armazenamento de amostras, PCR em Real Time, análise de resultados, construção da base de dados e análise estatística.
- Na criação de conteúdos de comunicação, informação e Educação para a Saúde, nomeadamente o DVD interactivo, estará envolvido **um investigador e a equipa de multimédia seleccionada para prestação do serviço**.