

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE: INFECTOLOGIA E MEDICINA
TROPICAL
ALINE DE OLIVEIRA MAGALHÃES MOURÃO

FATORES GENÉTICOS E NÃO GENÉTICOS RELACIONADOS
ÀS DOSES DE VARFARINA E À QUALIDADE DO CONTROLE DA
ANTICOAGULAÇÃO EM PACIENTES CARDIOPATAS

Belo Horizonte
2017

Aline De Oliveira Magalhães Mourão

**FATORES GENÉTICOS E NÃO GENÉTICOS RELACIONADOS
ÀS DOSES DE VARFARINA E À QUALIDADE DA
ANTICOAGULAÇÃO EM PACIENTES CARDIOPATAS**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do grau de doutorado junto ao referido programa.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Auxiliadora Parreiras Martins

Coorientador: Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha.

**Belo Horizonte
2017**

M929f Mourão, Aline de Oliveira Magalhães.
Fatores genéticos e não genéticos relacionados às doses de varfarina e à qualidade da anticoagulação em pacientes cardiopatas [manuscrito]. / Aline de Oliveira Magalhães Mourão. - - Belo Horizonte: 2017. 102f.
Orientador: Maria Auxiliadora Parreiras Martins.
Coorientador: Manoel Otávio da Costa Rocha.
Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.
1. Anticoagulantes/administração & dosagem . 2. Varfarina/administração & dosagem. 3. Polimorfismo Genético. 4. Testes Farmacogenômicos. 5. Estudos de Coortes. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Martins, Maria Auxiliadora Parreiras. II. Rocha, Manoel Otávio da Costa. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: QV 193

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE: INFECTOLOGIA E MEDICINA
TROPICAL

Reitor: **Prof. Jaime Arturo Ramírez**

Vice-Reitora: **Profa. Sandra Regina Goulart Almeida**

Pró-Reitora de Pós-Graduação: **Profa. Denise Maria Trombert de Oliveira**

Pró-Reitor de Pesquisa: **Prof. Ado Jório de Vasconcelos**

Diretor da Faculdade de Medicina: **Prof. Tarcizo Afonso Nunes**

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina: **Prof. Humberto José Alves**

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: **Prof. Luiz Armando Cunha de Marco**

Sub-coordenador do Centro de Pós-Graduação: **Prof. Selmo Geber**

Chefe do Departamento de Clínica Médica: **Profa. Valéria Maria Augusto**

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina

Tropical: **Prof. Eduardo Antônio Ferraz Coelho**

Sub-coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e

Medicina Tropical: **Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro**

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina

Tropical:

Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Prof. Daniel Vitor de Vasconcelos Santos

Profa. Denise Utsch Gonçalves

Prof. Eduardo Antônio Ferraz Coelho

Prof. Unai Tupinambás

Prof. Vandack Alencar Nobre Jr

Beatriz Cristina Silveira Salles – Representante Discente

AGRADECIMENTOS

Aos Mestres Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha, Profa. Maria Auxiliadora Parreiras Martins e Profa. Karina Braga Gomes Borges pelo tempo que vocês dedicaram ao meu crescimento. Vocês têm tantos alunos, vários afazeres profissionais e pessoais e, ainda assim, me orientaram nessa longa caminhada. Obrigada por transmitirem conhecimentos valiosos e pela oportunidade de realizar o doutorado.

Ao Programa de Pós-Graduação Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical e especialmente à Jussara Magalhães, secretária do Programa que sempre me atendeu com imensa solicitude.

Ao Prof. Renan Pedra de Souza por contribuir com a análise estatística dos dados e por tornar esse momento leve e descontraído. Vejo a Estatística com outros olhos após nosso convívio.

Aos farmacêuticos, médicos, funcionários do Ambulatório Borges da Costa do Hospital das Clínicas da UFMG que semanalmente cuidam dos pacientes com tanta dedicação. Obrigada também a todos os estudantes de Farmácia pelo auxílio na coleta de dados, principalmente à Isabela Pacheco, Paula Leite e ao Emílio Campos.

E um agradecimento especial para minhas mães Cândida e Jovita e meu pai Wilson, além de todos os meus familiares, que me acolhem e enchem minha vida de amor e carinho.

"Education is not the filling of a pail, but the lighting of a fire"

William Butler Yeats

RESUMO

A varfarina é amplamente utilizada na prevenção de eventos tromboembólicos. A Razão Normalizada Internacional (RNI) constitui o parâmetro de escolha para monitorar a resposta à varfarina e o tempo em que o RNI permanece na faixa terapêutica (TTR) é utilizado na avaliação da qualidade da anticoagulação. O objetivo desse estudo foi (1) avaliar a associação dos polimorfismos *CYP2C9**2 (rs1799853), *CYP2C9**3 (rs1075910) e *VKORC1*-G1639A (rs9923231) e fatores não genéticos com doses de varfarina e TTR e (2) criar algoritmos de predição de doses de varfarina e TTR. Estudo de coorte retrospectivo que incluiu 312 pacientes em uso crônico de varfarina recrutados em clínica de anticoagulação (CA) de hospital universitário brasileiro. A indicação da anticoagulação oral incluiu fibrilação atrial (FA), prótese mecânica de válvula cardíaca ou histórico de acidente vascular encefálico isquêmico. Os genótipos foram determinados utilizando Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em tempo real e o TTR foi calculado pelo método de Rosendaal. Foi investigada a associação de dados sociodemográficos, clínicos, comportamentais, farmacoterapêuticos e genéticos com doses de varfarina e RNI registrados entre 2009-2015. Para análise dos dados, foi feita regressão multivariada e construção da Curva Característica de Operação do Receptor (ROC). A idade média dos pacientes foi 60,4 (\pm 13,5) anos, sendo 59,9% do sexo feminino. Poucos pacientes (12,8%) utilizaram doses semanais $<$ 17,5mg de varfarina. No modelo de regressão multivariada, as variáveis associadas com doses de varfarina $<$ 17,5 mg/semana foram RNI alvo 2,00-3,00 [razão de chance (RC) 3,66, intervalo de confiança (IC) 1,40-11,24; $p=0,013$], genótipo *VKORC1* AA (RC 32,34, IC 11,39-102,91; $p<0,001$) e genótipo *CYP2C9* 2/2, 2/3 ou 3/3 (RC 15,34, IC 2,99-82,78; $p<0,001$). A curva ROC apresentou área de 82,8% (75,4-90,3%) e ponto de corte de 0,18 com sensibilidade e especificidade de 67,5% e 87,5%, respectivamente. O TTR médio foi igual a 63,4%, sendo que 122 (60,9%) pacientes apresentaram boa qualidade da terapia anticoagulante (TTR $>$ 60%) e 64 (20,5%) ótima qualidade da terapia anticoagulante (TTR \geq 75%). Em análise multivariada, o aumento do número de relatos de não administração à varfarina (RC 1,60, IC 1,11-2,35; $p=0,013$), o aumento do número de absenteísmo nas consultas de controle do RNI (RC 1,66, IC 1,22-2,30; $p=0,002$) e o aumento do número de ajustes de dose da varfarina (RC 2,32, IC 1,87-2,96; $p<0,001$) elevaram a chance do paciente apresentar TTR \leq 60%. Enquanto, o aumento na duração do acompanhamento (RC 1,001, IC 1,001-1,002; $p<0,001$) e RNI alvo entre 2,00-3,00 (RC 6,097, IC 2,358-17,844; $p<0,001$) elevaram a chance do paciente apresentar TTR \geq 75%; o aumento do número de consultas para controle do RNI (RC 0,742, IC 0,568-0,965; $p=0,026$), o aumento do número de absenteísmo nas consultas de controle do RNI (RC 0,480, IC 0,285-0,776; $p=0,004$) e o aumento do número de ajuste de dose da varfarina (RC 0,319, IC 0,197-0,489; $p<0,001$) foram negativamente associados com TTR \geq 75%. Os resultados sugerem que fatores sociodemográficos, clínicos e genéticos influenciam a variabilidade de dose da varfarina, enquanto fatores sociodemográficos, clínicos, comportamentais e genéticos modificam a qualidade da terapia anticoagulante.

Palavras-chave: Anticoagulantes. Varfarina. Sensibilidade à Varfarina. Polimorfismo Genético. Farmacogenética. *CYP2C9*. *VKORC1*.

ABSTRACT

Warfarin is widely used in the prevention of thromboembolic events. The International Normalized Ratio (INR) is the parameter of choice for monitoring the response to warfarin and Time in Therapeutic Range (TTR) is used to assess the quality of anticoagulation. The aim of this study was to (1) evaluate the association of *CYP2C9**2 (rs1799853), *CYP2C9**3 (rs1075910) and *VKORC1*-G1639A (rs9923231) and non-genetic factors with low doses of warfarin (<17.5 mg/week) and TTR and (2) to create algorithms for predicting warfarin doses and TTR. A retrospective cohort study that included 312 patients on chronic warfarin use recruited at an anticoagulation clinic (AC) of a Brazilian university hospital. The indications for oral anticoagulation included atrial fibrillation (AF), mechanical heart valve prosthesis or a history of ischemic stroke. Genotypes were determined using real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) and TTR was calculated by the Rosendaal method. The association of sociodemographic, clinical, behavioral and pharmacotherapeutic and genetic data with warfarin doses and RNI recorded between 2009-2015 was investigated. For data analysis, multivariate regression and the Construction of the Receiver Operator Characteristic Curve (ROC) were performed. The mean age of the patients was 60.4 (\pm 13.5) years, 59.9% of them were female sex. Few patients (12.8%) used warfarin weekly doses <17.5mg. In the multivariate regression model, the variables associated with warfarin doses <17.5mg/week were target INR 2.00-3.00 [odds ratio (OR) 3.66, confidence interval (CI) 1.40-11.24; $p=0.013$], genotype *VKORC1* AA (OR 32.34, CI 11.39-102.91, $p<0.001$) and genotype *CYP2C9* 2/2, 2/3 or 3/3 (OR 15.34, IC 2, 99-82.78, $p<0.001$). The ROC curve presented an area of 82.8% (75.4-90.3%) and cutoff point of 0.18 with sensitivity and specificity of 67.5% and 87.5%, respectively. The mean TTR was 63.4%, and 122 (60.9%) patients had good quality of anticoagulation (TTR > 60%) and 64 (20.5%) had an excellent quality of anticoagulation (TTR \geq 75%). In multivariate analysis, the increase in the number of reports of non-adherence to warfarin (OR 1.60, CI 1.11-2.35, $p=0.013$), the increase in absenteeism in the INR control visits (OR 1.66, CI 1.22-2.30, $p=0.002$) and the increase in the number of warfarin dose adjustments (OR 2.32, CI 1.87-2.96, $p<0.001$) increased the chance of patient presented TTR \leq 60%. The increase in the duration of follow-up (OR 1.001, CI 1.001-1.002, $p<0.001$) and target INR between 2.00 and 3.00 (OR 6.097, CI 2.358-17.844, $p<0.001$) increased the patient's chance of presenting TTR \geq 75%; the increase in the number of visits to control the INR (RC 0.742, CI 0.568-0.965, $p=0.026$), the increase in the number of absenteeism in the INR control visits (OR 0.480, IC 0.285-0.776, $p=0.004$) and the increase in the number of warfarin dose adjustments (RC 0.319; CI 0.197-0.489; $p<0.001$) were negatively associated with TTR \geq 75%. These results suggest that sociodemographic, clinical and genetic factors influence the dose variability of warfarin, while sociodemographic, clinical, behavioral and genetic factors modify the quality of anticoagulant therapy.

Key-words: anticoagulants, warfarin, warfarin sensitivity, genetic polymorphism, pharmacogenetics, *CYP2C9*, *VKORC1*.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Relação entre fenótipos e genótipos <i>CYP2C9*2</i> , <i>CYP2C9*3</i> e <i>VKORC1</i> -G1639A	20
Quadro 2	Escore SAME-TT2R2	25
Quadro 3	Protocolo da PCR utilizado na determinação dos genótipos <i>CYP2C9*2</i> , <i>CYP2C9*3</i> e <i>VKORC1</i> -G1639A	
Quadro 4	Programa utilizado na amplificação para discriminação alélica dos polimorfismos <i>CYP2C9*2</i> , <i>CYP2C9*3</i> e <i>VKORC1</i> -G1639A	34
Quadro 5	Técnicas estatísticas utilizadas na análise dos dados	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Síntese dos fatores da coagulação vitamina K dependentes e mecanismo de ação da varfarina	16
Figura 2	Fluxograma de seleção dos participantes	37
Figura 3	Distribuição das variáveis relativas ao tratamento com varfarina por ano de acompanhamento	44
Figura 4	Distribuição e correlação do TTR calculado por diferentes métodos, ao longo do tempo	45
Figura 5	Relação entre valores observados e estimados para a dose de varfarina	49
Figura 6	Análise de sensibilidade e especificidade do modelo de regressão logística para dose média de varfarina <17,5 mg/semana	51
Figura 7	Relação entre valores observados e estimados para o TTR Rosendaal	53
Figura 8	Análise de sensibilidade e especificidade do modelo de regressão logística para TTR $\leq 60\%$	55
Figura 9	Análise de sensibilidade e especificidade do modelo de regressão logística para TTR $\geq 75\%$	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e farmacoterapêuticas da população do estudo e comparação com a dose média semanal de varfarina e TTR	38
Tabela 2	Características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e farmacoterapêuticas da população do estudo em pacientes de acordo com a dose média semanal de varfarina	40
Tabela 3	Características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e farmacoterapêuticas da população do estudo de acordo com TTR $\leq 60\%$ ou TTR $> 60\%$	41
Tabela 4	Características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e farmacoterapêuticas da população do estudo em pacientes com TTR $\geq 75\%$ ou TTR $< 75\%$	43
Tabela 5	Frequência dos genótipos <i>CYP2C9</i> e <i>VKORC1</i> em relação ao TTR e à dose média semanal de varfarina	46
Tabela 6	Análise da relação entre os genótipos <i>CYP2C9</i> e <i>VKORC1</i> com TTR e dose média semanal de varfarina	47
Tabela 7	Variáveis que compõem o modelo de regressão gama para a dose média semanal de varfarina	48
Tabela 8	Variáveis que compõem o modelo de regressão logística para dose média de varfarina $< 17,5$ mg/semana	50
Tabela 9	Variáveis que compõem o modelo de regressão gama para TTR	52
Tabela 10	Estatísticas do modelo de regressão logística para TTR $\leq 60\%$	54
Tabela 11	Estatísticas do modelo de regressão logística para TTR $\geq 75\%$	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIT	Ataque isquêmico transitório
AVC	Acidente vascular cerebral
<i>CYP2C9</i>	Citocromo P450-2C9
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	<i>Ethylediaminetetraceticacid</i>
FA	Fibrilação atrial
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IC	Intervalo de confiança
ISI	Índice de sensibilidade internacional
IMC	Índice de massa corporal
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RC	Razão de chance
RFG	Ritmo de filtração glomerular
RNI	Razão normalizada internacional
ROC	<i>Receiveroperatorcharacteristic curve</i>
SNP	<i>Single nucleotidepolymorphisms</i>
TEP	Tromboembolismo pulmonar
TVP	Trombose venosa profunda
TP	Tempo de protrombina
TTR	<i>Time in therapeutic range</i>
TVP	Trombose venosa profunda
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VKOR	Vitamina K epóxido redutase
<i>VKORC1</i>	Complexo da vitamina K epóxido redutase, subunidade 1

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1	Prevenção de eventos tromboembólicos	15
2.2	Fatores relacionados à dose de varfarina	17
2.2.1	Polimorfismos <i>CYP2C9*2</i> , <i>CYP2C9*3</i> e <i>VKORC1 -G1639A</i>	19
2.2.2	Algoritmos de predição de doses da varfarina	21
2.3	Qualidade da terapia anticoagulante com o uso de varfarina	23
2.3.1	Fatores relacionados ao TTR	25
3	OBJETIVOS	28
3.1	Objetivo geral	28
3.2	Objetivos específicos	28
4	MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1	Revisão da literatura	29
4.2	Aspectos éticos	29
4.3	Desenho e local do estudo	30
4.4	Participantes	30
4.4.1	Seleção dos pacientes	30
4.4.2	Critérios de inclusão e exclusão	30
4.5	Coleta de dados	31
4.5.1	Variáveis	31
4.5.1.1	Variáveis dependentes	31
4.5.1.2	Variáveis independentes	32
4.5.1.2.1	Genotipagem	33
4.6	Análise estatística	34
5	RESULTADOS	37
5.1	Características da população estudada	37
5.2	Comparação das séries históricas de variáveis relativas ao tratamento com varfarina por ano de acompanhamento	44
5.3	Correlações das séries históricas dos diferentes métodos de cálculo do TTR por ano de acompanhamento do TTR ao longo do tempo e sua correlação	45
5.4	Características genéticas da população estudada	45
5.5	Relação entre dose média semanal de varfarina e fatores genéticos e não genéticos	47
5.6	Relação entre dose média de varfarina <17,5mg/semana e fatores genéticos e não genéticos	49
5.7	Relação entre TTR e fatores genéticos e não genéticos	51

5.8	Relação entre TTR $\leq 60\%$ e fatores genéticos e não genéticos	53
5.9	Relação entre TTR $\geq 75\%$ e fatores genéticos e não genéticos	55
6	DISCUSSÃO	58
6.1	Dose de varfarina	58
6.2	TTR	60
6.3	Limitações	64
6.4	Artigos a serem publicados	64
7	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAS	66
	ANEXO	80
	APÊNDICES	82

1 INTRODUÇÃO

O tratamento farmacológico de muitos pacientes com fibrilação atrial (FA) e prótese mecânica de válvula cardíaca inclui o uso crônico de anticoagulantes orais para prevenção de acidente vascular cerebral (AVC) isquêmico, uma das principais causas de incapacidade e morte em países ocidentais (LIP; WHITLOCK *et al.*, 2012; DE CATERINA *et al.*, 2013; FREEDMAN, POTPARA, LIP, 2016). A varfarina é um fármaco amplamente utilizado na prevenção primária e secundária de eventos tromboembólicos e seu efeito terapêutico é avaliado indiretamente pela determinação do tempo de protrombina, padronizado pela razão normalizada internacional (RNI).

O RNI constitui o parâmetro de escolha para monitorar a resposta à varfarina e o tempo em que o RNI permanece na faixa terapêutica (TTR, do inglês, *Time in Therapeutic Range*) é utilizado na avaliação da qualidade da anticoagulação (AGENO *et al.*, 2012; APOSTOLAKIS *et al.*, 2013). Os resultados do TTR podem variar entre 0 e 100%. Pesquisa realizada em 100 clínicas de anticoagulação dos Estados Unidos encontrou TTR médio de 58%, variando de 38% a 69% entre os serviços (ROSE *et al.*, 2011). O TTR $\leq 60\%$ tem sido associado com resultados adversos, tais como AVC, hemorragia e mortalidade, sendo que diferentes fatores, intrínsecos e extrínsecos ao paciente, têm sido relacionados ao controle do TTR (WAN *et al.*, 2008; HYLEK, 2013).

O alcance do RNI ideal é limitado pela faixa terapêutica estreita da varfarina e pela grande variabilidade de doses requeridas para efeito antitrombótico. As doses de manutenção chegam a variar entre 10 e 20 vezes entre pacientes (AGENO *et al.*, 2012). A relação entre a dose de varfarina e a resposta observada é determinada por fatores genéticos, sociodemográficos, clínicos e farmacoterapêuticos (UFER, 2005; BOTTON *et al.*, 2011; WEN, LEE, 2013). Em algumas populações, cerca de 50% da variação da dose semanal da varfarina pode ser explicada por fatores genéticos e não genéticos, como: idade, peso, indicação terapêutica da varfarina e uso concomitante de amiodarona e sinvastatina (PERINI *et al.*, 2008).

Diferentes fatores mostram impacto no TTR. Em análises multivariadas de estudos observacionais, a presença de comorbidades e o uso de amiodarona estão relacionados ao controle inadequado do RNI, enquanto indivíduos do sexo masculino apresentam TTR maior (BAKER *et al.*, 2009; MELAMED *et al.*, 2011; COSTA *et al.*, 2012; APOSTOLAKIS *et al.*,

2013; SKOV *et al.*, 2013; MEARNS *et al.*, 2014; CIURUS, CICHOCKA-RADWAN, LELONEK, 2015; NELSON *et al.*, 2015; DALLALZADEH *et al.*, 2016). No Brasil, algumas investigações foram realizadas para identificar características com influência potencial sobre a efetividade e segurança da varfarina (LIMA *et al.*, 2008; PERINI *et al.*, 2008; ALMEIDA *et al.*, 2011; SOARES *et al.*, 2012), contudo, existe pouca evidência sobre os fatores genéticos e não genéticos relacionados ao TTR na população brasileira (COSTA *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2015).

Sendo assim, esta pesquisa se justifica por ainda haver lacunas no conhecimento sobre os fatores relacionados à variabilidade interindividual de resposta terapêutica à varfarina e também porque existe a possibilidade de se acrescentar algo ao que se conhece sobre o assunto. Esse conhecimento pode auxiliar na identificação de pacientes com baixa resposta à terapia anticoagulante e no direcionamento de ações voltadas para o aumento da efetividade e segurança da varfarina nesses pacientes. A hipótese estudada foi a de que fatores presentes no início e durante o tratamento com a varfarina influenciariam a dose requerida e o TTR. O objetivo desse estudo foi investigar se fatores sociodemográficos, clínicos, farmacoterapêuticos, comportamentais e genéticos poderiam influenciar a resposta à varfarina em pacientes com fibrilação/flutter atrial, prótese mecânica de válvula cardíaca ou história de AVC.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Prevenção de eventos tromboembólicos

Segundo o Ministério da Saúde, as patologias que afetam o aparelho circulatório, incluindo as doenças cerebrovasculares, as doenças isquêmicas do coração e as arritmias cardíacas, são as principais causas de óbito da população brasileira, totalizando 27,7% de todas as causas em 2014 (BRASIL, 2016). A FA é a principal disfunção do ritmo cardíaco, está presente em 7% dos indivíduos com mais de 65 anos, sendo fator de risco independente para insuficiência cardíaca congestiva e mortalidade e morbidade por AVC (LIP, TSE, LANE, 2012; VOUKALIS, LIP, SHANTSILA, 2016). Pacientes que possuem prótese mecânica de válvula cardíaca, independentemente de sua posição (mitral ou aórtica) e do ritmo cardíaco, também têm alto risco para eventos tromboembólicos, sendo o risco maior para próteses em posição mitral (DE CATERINA *et al.*, 2013). Todos esses pacientes têm predisposição à formação de trombos e podem se beneficiar com o uso de medicamentos anticoagulantes, temporariamente ou por tempo indeterminado (BJÖRCK *et al.*, 2016; TERESHCHENKO *et al.*, 2016).

Os primeiros anticoagulantes orais comercializados foram os inibidores do efeito da vitamina K (varfarina, acenocumarol e femprocumona), sendo a varfarina o fármaco mais utilizado (LE HEUZEY *et al.*, 2014; MEARNS *et al.*, 2014; HUISMAN *et al.*, 2015; IOANNOU *et al.*, 2016).

O efeito antitrombótico da varfarina é atribuído à sua ação anticoagulante resultante da interferência na síntese de quatro fatores da coagulação dependentes da vitamina K. Os fatores II, VII, IX e X requerem a carboxilação de resíduos de glutamato, via vitamina K reduzida, para exercerem sua atividade pró-coagulante. Durante a carboxilação, a vitamina K é oxidada ao 2,3-epóxido inativo e a enzima vitamina K epóxido redutase (VKOR) converte a vitamina K inativa em sua forma reduzida novamente. Assim, a vitamina K ativa é regenerada e ocorre síntese contínua dos fatores da coagulação II, VII, IX e X funcionais (Figura 1). A varfarina atua sobre a via de carboxilação indiretamente, ao inibir a VKOR (AGENO *et al.*, 2012; HIRSH *et al.*, 2003; ANSEL *et al.*, 2008). Há redução de 10% a 40% da atividade biológica da VKOR em indivíduos que utilizam a varfarina. Considerando que as meias-vidas de eliminação dos fatores da coagulação variam entre seis e 60 horas, o efeito *in vivo* é uma redução sequencial na atividade dos fatores VII, IX, X e II. O efeito anticoagulante se

manifesta em 24h após a administração da varfarina; entretanto, em razão da longa meia-vida da protrombina (fator II), a efetividade da terapia anticoagulante geralmente é alcançada cinco dias após início da farmacoterapia (NUTESCU *et al.*, 2016).

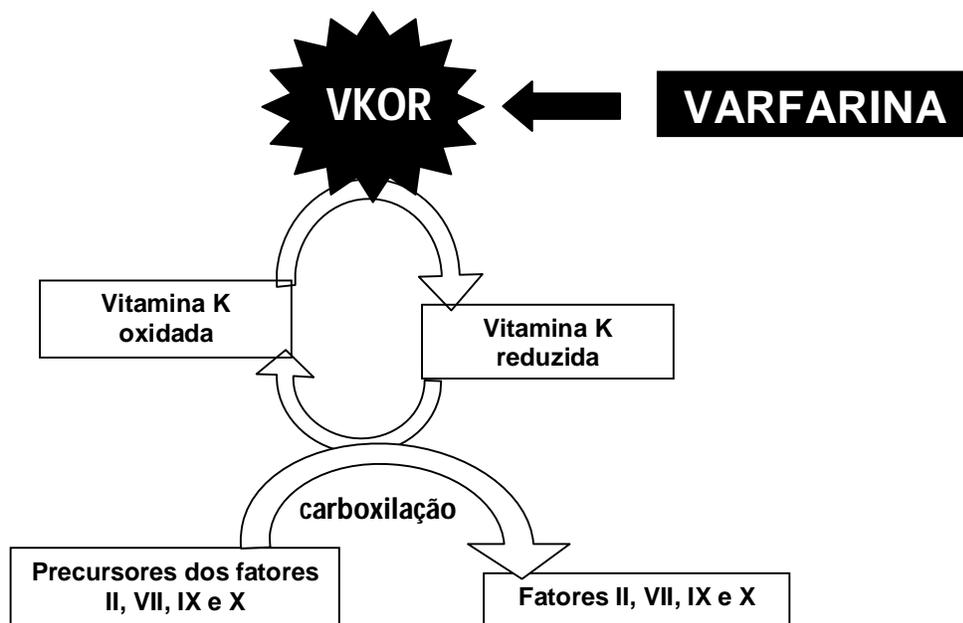


Figura 1 – Síntese dos fatores da coagulação vitamina K dependentes e mecanismo de ação da varfarina. VKOR - vitamina K epóxido redutase. Elaborado pela autora.

A avaliação da efetividade da varfarina é realizada a partir do cálculo do RNI, obtido por meio da determinação do tempo de protrombina (TP). A varfarina inibe a formação dos fatores II, VII, IX e X da coagulação, dependentes da vitamina K, e o TP é o exame laboratorial de escolha para monitoramento da intensidade da anticoagulação, pois reflete a deficiência nos fatores II, V, VII e X. O TP mede o tempo de formação do coágulo em plasma citratado pobre em plaquetas, após recalcificação e adição de fator tissular (tromboplastina). Como as tromboplastinas comercializadas apresentam diferentes graus de sensibilidade à redução dos fatores da coagulação avaliados, cada lote de tromboplastina tem um índice de sensibilidade internacional (ISI), que compara a atividade da tromboplastina utilizada em relação à tromboplastina referência. Assim, o RNI é calculado dividindo o valor do TP do paciente pelo valor do TP do controle, elevado ao ISI (CARVALHO, SILVA, 1998). Na prática clínica, recomendam-se doses que mantenham o RNI entre 2,00-3,00 em pacientes com FA e 2,00-3,00 ou 2,50-3,50 em pacientes com prótese mecânica de válvula cardíaca, de acordo com a posição da válvula e condição clínica do paciente (AGENO *et al.*, 2012).

A varfarina é eficaz na prevenção de eventos tromboembólicos, mas devido à grande variabilidade de doses para manter o RNI com valores dentro da faixa terapêutica, os pacientes necessitam de monitorizaçãofrequente, o que dificulta o emprego desse fármaco. Recentemente a indústria farmacêutica lançou anticoagulantes orais com novos mecanismos de ação – dabigatrana (inibidor da trombina), rivaroxabana, apixabana e edoxabana (inibidores do fator Xa) – e que não requerem monitoramento do RNI. Mas apesar da eficácia desses fármacos na prevenção de AVC, trombose venosa profunda (TVP) e tromboembolismo pulmonar (TEP) (CONNOLLY *et al.*, 2008; GRANGER *et al.*, 2011; PATEL *et al.*, 2011; ALAMNEH, CHALMERS, BEREZNICKI, 2016), a varfarina é o único anticoagulante oral aprovado para prevenção de tromboembolismo em pacientes com prótese mecânica de válvula cardíaca (EIKELBOOM *et al.*, 2013; ANGARAN *et al.*, 2016; GÓMEZ-OUTES *et al.*, 2016; VOUKALIS, LIP, SHANTSILA, 2016) e é o único amplamente distribuída pelo Sistema Único de Saúde (RENAME, 2014).

2.2 Fatores relacionados à dose de varfarina

Características clínicas e demográficas, principalmente: idade, sexo, peso, altura, etnia e interações medicamentosas explicam 20% da variabilidade de dosesda varfarina (GAGE *et al.*, 2008; KLEIN *et al.*, 2009; ANDERSON *et al.*, 2012; BOURGEOIS *et al.*, 2016), enquanto as variantes alélicas nos genes CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1 -G1639A representam aproximadamente 40% dessa variação (CALDWELL *et al.*, 2007; TAKEUCHI *et al.*, 2009; WADELIUS *et al.*, 2009; JOHNSON *et al.*, 2011; ANDERSON *et al.*, 2012; ALMEIDA *et al.*, 2014). A combinação de fatores clínicos e genéticos prediz em média 60% da variabilidade de dose da varfarina (GAGE *et al.*, 2004; SCONCE *et al.*, 2005; KLEIN *et al.*, 2009; WADELIUS *et al.*, 2009; YANG *et al.*, 2010; ANDERSON *et al.*, 2012; VERHOEF *et al.*, 2013; BAZAN *et al.*, 2014; CHO *et al.*, 2016).

Em modelos de regressão linear múltipla, sexo feminino e idade se relacionam negativamente com a dosede varfarina, assim comotratamento com amiodarona, uma ou duas variantes alélicas para os genótipos CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1 -G1639A e doença renal crônica. Entretanto, pacientes com maior peso, altura ou índice de massa corporal (IMC), tabagistas e praticantes de atividade física regular podem requerer doses maiores de varfarina, bem como quando há ingestão de alimentos contendo vitamina K (TAKEUCHI *et al.*, 2009;

NATHISUWAN *et al.*, 2011; MAZZACCARA *et al.*, 2013; KRISHNA *et al.*, 2014; LIMDI *et al.*, 2015; ROULEAU-MAILLOUX *et al.*, 2016).

O aumento de dez anos na idade reduz a necessidade semanal de varfarina em 7% (GAGE *et al.*, 2008). Mulheres requerem menores doses de varfarina do que homens. Em qualquer idade, elas usam 4,5 mg/semana menos varfarina do que os homens (GARCIA *et al.*, 2005). Indivíduos com ritmo de filtração glomerular (RFG) entre 30 e 59 mL/min/1,73m² têm redução de 9,5%, e RFG <30 mL/min/1,73m² apresentam redução de 19% da dose de varfarina (LIMDI *et al.*, 2010). Pacientes obesos podem ter aumento de até 30% na dose inicial de varfarina e a cada aumento de um ponto no IMC (entre 13,4 e 63,1 kg/m²) a dose de varfarina cresce 0,69 mg/semana (WALLACE *et al.*, 2013; MUELLER *et al.*, 2014; SELF *et al.*, 2015). Tabagistas requerem 2,26 mg/semana ou 10% a mais de varfarina do que não tabagistas (GAGE *et al.*, 2008; NATHISUWAN *et al.*, 2011).

Em relação às interações medicamentosas, a literatura cita inúmeros fármacos capazes de interagir com a varfarina e as interações potencialmente graves são frequentemente identificadas em usuários de varfarina, todavia, parece haver pouca concordância na literatura a respeito dessas interações (MALONE *et al.*, 2004; JUURLINK, 2007). Martins e colaboradores (2011) encontraram baixa concordância ao comparar cinco fontes de informação que relatavam interações da varfarina com outros fármacos e ressaltaram que a ausência de padronização da terminologia utilizada e das recomendações, quando presentes, para a mesma interação, pode gerar consequências clínicas graves. Em outro estudo, os autores observaram heterogeneidade significativa no potencial de detecção de interações graves da varfarina entre cardiopatas chagásicos e não chagásicos, a partir de diferentes fontes de informação (MARTINS *et al.*, 2013).

Os principais mecanismos relacionados à interação da varfarina com outros fármacos são a inibição e indução de enzimas que participam do seu metabolismo. Enquanto a amiodarona inibe o metabolismo da varfarina e reduz, em média, 7,3mg nas doses semanais de varfarina (GARCIA *et al.*, 2005; LIMDI *et al.*, 2010), a carbamazepina aumenta o metabolismo gerando elevação de 49% nas doses utilizadas durante o tratamento (MANNHEIMER *et al.*, 2016). Santos e colaboradores (2015) encontraram que amiodarona, carbamazepina e fenitoína estavam relacionados independentemente com a dose de varfarina. Perini e

colaboradores (2008) observaram que pacientes em uso de amiodarona ou de sinvastatina utilizaram doses menores de varfarina.

2.2.1 Polimorfismos CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1 -G1639A

O genoma humano possui cerca de 25.000 genes, organizados em sequências complexas de nucleotídeos. Variações nessas sequências, em regiões do DNA envolvidas na resposta farmacológica, podem alterar a farmacocinética e a farmacodinâmica dos fármacos, modificar a resposta esperada e expor o paciente à inefetividade e insegurança da farmacoterapia (METZGER, 2006). As variantes no DNA que ocorrem com frequência igual ou superior a 1%, em determinada população, são denominadas polimorfismos genéticos. A forma mais comum dos polimorfismos é a substituição de uma base nucleotídea (SNP, do inglês, *Single Nucleotide Polymorphisms*) (PIRMOHAMED, 2011; SHAH; SHAH, 2012). Considerando os relatos de SNP que podem modificar a resposta à varfarina, os princípios da farmacogenética têm sido aplicados na prática clínica com o objetivo de prever a resposta de cada indivíduo aos fármacos (WADELIUS; PIRMOHAMED, 2007; STORELLI *et al.*, 2016).

Alguns polimorfismos genéticos podem contribuir para a variabilidade dose-resposta da varfarina (PIRMOHAMED, 2011; GOUDILING *et al.*, 2015). Evidências mostram que o número de variantes alélicas CYP2C9*2 (rs1799853, C430T), CYP2C9*3 (rs1057910, A1075C) e VKORC1 -G1639A (rs9923231) são os principais preditores da dose de varfarina em adultos. Indivíduos com polimorfismos nesses genes requerem doses menores que as usuais para alcançar o efeito terapêutico desejado (HIGASHI *et al.*, 2002; D'ANDREA *et al.*, 2005; TAKEUCHI *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2013; BAKER, JOHNSON *et al.*, 2016).

A CYP2C9, codificada pelo gene citocromo *P450-2C9* (CYP2C9, do inglês, *cytochrome P450-2C9*), localizado no cromossoma 10q23.33, é a principal enzima envolvida no metabolismo da varfarina. Mais de 30 variantes alélicas desse gene são conhecidas (HUMAN CYTOCHROME P450 ALLELE NOMENCLATURE DATABASE, 2016), sendo o CYP2C9*1 sua variante alélica mais comum, considerada como o alelo selvagem ou metabolizador normal. Os alelos CYP2C9*2, substituição de uma cisteína por uma arginina na posição 144 do exon 3, e CYP2C9*3, substituição de uma leucina por uma isoleucina na posição 359 do exon 7, metabolizam a varfarina mais lentamente, pois codificam enzimas com

atividade reduzida em 30% e 80%, respectivamente (LEE; GOLDSTEIN; PIEPER, 2002) (Quadro 1).

Quadro 1 – Relação entre fenótipos e genótipos CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1 -G1639A.

Fenótipo CYP2C9	Genótipo CYP2C9
Atividade enzimática normal	*1/*1
Atividade enzimática intermediária	*1/*2 ou *1/*3
Atividade enzimática reduzida	*2/*2 ou *2/*3 ou *3/*3
Fenótipo VKORC1	Genótipo VKORC1
Atividade enzimática normal	GG
Atividade enzimática intermediária	GA
Atividade enzimática reduzida	AA

Comparando com os alelos selvagens em homozigose, os genótipos CYP2C9*1/*2, CYP2C9*1/*3, CYP2C9*2/*2, CYP2C9*2/*3 requerem doses 20%; 34%; 36% e 58% menores, respectivamente; já a homozigose para o alelo CYP2C9*3 associou-se à redução de 78% na dose utilizada (LINDH *et al.*, 2009). Os alelos CYP2C9*2 e CYP2C9*3 explicam 12% da variação da dose de varfarina (WADELIUS *et al.*, 2009). No Brasil, a frequência dos genótipos CYP2C9*1/*1, CYP2C9*1/*2 e CYP2C9*1/*3 foram 65%, 23% e 9%, respectivamente, em um estudo realizado com 279 usuários de varfarina descendentes de caucasianos atendidos em um hospital geral de Porto Alegre (BOTTON *et al.*, 2011). Santos e colaboradores (2015) genotiparam 832 indivíduos, atendidos no Hospital do Coração, em São Paulo, e encontraram 74% deles com o alelo selvagem em homozigose, 22% com os alelos *2 ou *3 em heterozigose e 4% para as combinações dos alelos *2 e *3. Almeida e colaboradores (2014) estudaram 116 pacientes atendidos em clínica especializada no controle da anticoagulação, em Belo Horizonte, e encontraram frequências semelhantes para os genótipos CYP2C9*1/*1 e CYP2C9*1/*2 + CYP2C9*1/*3, sendo 69% e 21%, respectivamente.

O alvo terapêutico da varfarina, a enzima VKOR, é codificada pelo gene complexo da vitamina K epóxido redutase, subunidade 1 (*VKORC1*, do inglês, *vitamin K epoxide reductase complex, subunit 1*), localizado no cromossoma 16p11.2 (LI *et al.*, 2004; ROST *et al.*, 2004). Polimorfismos nesse gene podem aumentar a sensibilidade à varfarina ou, em casos raros, a resistência farmacodinâmica (LOEBSTEIN *et al.*, 2007; YANG *et al.*, 2010). O polimorfismo -G1639A em VKORC1 explica 27% da variação da dose de varfarina (WADELIUS *et al.*, 2009) e os portadores do alelo A variante necessitam de doses menores de varfarina do que aqueles que possuem o alelo G (GAGE *et al.*, 2008). O alelo A altera o sítio de ligação do fator de transcrição do VKORC1 e promove menor transcrição do gene do que o alelo

selvagem G, o que reduz a sua expressão gênica e atividade enzimática (YUAN *et al.*, 2005) (Quadro 1).

Yang e colaboradores (2010) revelaram que, em caucasianos, carreadores de um ou dois alelos variantes requerem doses 25% e 50% menores, respectivamente. Estudo realizado em 72 cidades de cinco regiões do Brasil, envolvendo 1038 indivíduos da população em geral, mostrou 33% dos participantes com alelo A em homozigose (SOARES *et al.*, 2012). Especificamente, entre pacientes acompanhados em um hospital universitário da Universidade de São Paulo que utilizavam varfarina (n=206), observou-se frequência de 13% para duas cópias do alelo A (SANTOS *et al.*, 2013). A frequência dos genótipos GG, GA e AA foram 40%, 46% e 14%, respectivamente, em pacientes da região sul (BOTTON *et al.*, 2011) e 47%, 40% e 12% em indivíduos da região sudeste do Brasil (SANTOS *et al.*, 2015). Há evidências de que a incorporação de outros polimorfismos ou haplótipos do gene *VKORC1*, em modelos de predição clínica, não melhora a predição das doses iniciais de varfarina (GAGE *et al.*, 2008; KLEIN *et al.*, 2009).

A maioria dos modelos de predição de dose da varfarina considera os genótipos *CYP2C9**2, *CYP2C9**3 e *VKORC1* -G1639A, já que as variantes nesses genes estão fortemente associadas à redução das doses utilizadas (RIEDER *et al.*, 2005; GAGE *et al.*, 2008; LINDI; VEENSTRA, 2008; JORGENSEN *et al.*, 2009; ALMEIDA *et al.*, 2014). Porém, há cerca de 30 genes potencialmente envolvidos com a variação na resposta à varfarina, dentre os quais se destacam: *CYP4F2* e *MDR1*. O impacto clínico desses genes sobre as doses de varfarina ainda não está bem esclarecido (WADELIUS; PIRMOHAMED, 2007), mas há evidências que o polimorfismo do gene *CYP4F2* (rs2108622) promove redução da necessidade de doses da varfarina (DANESE *et al.*, 2012) e que indivíduos com o genótipo 3435TT do gene *MDR1* requerem doses maiores de varfarina (ALMEIDA *et al.*, 2011).

2.2.2 Algoritmos de predição de doses da varfarina

O conhecimento das características genéticas e não genéticas que influenciam a resposta à varfarina é importante para a construção de modelos que auxiliam na escolha da dose em pacientes que vão iniciar o uso desse fármaco (GAGE *et al.*, 2004; KLEIN *et al.*, 2009; PERINI *et al.*, 2008).

Em 2004, foi publicado o primeiro algoritmo abordando a contribuição dos polimorfismos CYP2C9. O modelo farmacogenético com idade, sexo, IMC, etnia, RNI alvo, tratamento com amiodarona ou sinvastatina e genótipo CYP2C9*2/*3 explicou 39% da variação de dose (GAGE *et al.*, 2004). No ano seguinte, Sconce e colaboradores (2005) publicaram algoritmo incorporando os genótipos CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1 -G1639A e encontraram 55% de explicação da dose quando idade, altura e esses genótipos foram incluídos. Inúmeros modelos têm sido publicados desde então a partir de diversas populações em todo o mundo (VERHOEF *et al.*, 2013) e um deles merece destaque. Em 2009, Klein e colaboradores propuseram um algoritmo com grande número de pacientes (n=4043). Eles explicaram 47% da variação de dose a partir de idade, peso, altura, etnia, tratamento com amiodarona, tratamento com carbamazepina, fenitoína ou rifampicina e dos genótipos CYP2C9*2/*3 e VKORC1 -G1639A (KLEIN *et al.*, 2009).

Cinco algoritmos trazem informações sobre a variabilidade de doses da varfarina na população brasileira (PERINI *et al.*, 2008; SUAREZ-KURTZ *et al.*, 2009; BOTTON *et al.*, 2011, SUAREZ-KURTZ *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2015). O primeiro algoritmo foi publicado em 2008, a partir dos dados coletados de 390 indivíduos atendidos em clínica de anticoagulação de um hospital público do Rio de Janeiro. As doses de varfarina variaram entre 5 e 75 mg/semana, com média de 28,9; 32,9 e 35,3 mg/semana ($p < 0,001$) em brancos, pardos e negros, respectivamente. Oito covariáveis foram identificadas e explicaram 51% da variação da dose semanal da varfarina. Idade, amiodarona, sinvastatina e os genótipos CYP2C9*2/*3/*5/*11 e VKORC1 -G1639A estão relacionadas às doses menores de varfarina, enquanto peso, doença tromboembólica e prótese mecânica de válvula cardíaca promovem aumento de dose. O polimorfismo VKORC1 -G1639A foi o principal preditor (PERINI *et al.*, 2008). Logo em seguida, o mesmo grupo de pesquisadores publicou o segundo algoritmo, acrescentando uma covariável relativa à dose prescrita de varfarina ao valor RNI correspondente (RNI/dose semanal), o que gerou aumentado poder preditivo para 61% (SUAREZ-KURTZ *et al.*, 2009).

Em 2011, Botton e colaboradores publicaram o terceiro algoritmo com dados de 302 pacientes com ancestralidade Europeia, selecionados em hospital público de Porto Alegre. Idade, peso, amiodarona, carbamazepina, beta-bloqueadores, diuréticos, anlodipino e os genótipos CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1 -G1639A explicaram 58% da variação de doses semanal da varfarina.

A combinação das coortes do Rio de Janeiro (PERINI *et al.*, 2008) e Porto Alegre (BOTTON *et al.*, 2011) combinadas com a inclusão de outros indivíduos gerou um quarto algoritmo (SUAREZ-KURTZ *et al.*, 2015). Quase 900 pacientes foram incluídos e divididos em grupo algoritmo (n=584) e grupo validação (n=294). As covariáveis com significância estatística foram idade, peso, amiodarona, prótese mecânica de válvula cardíaca e genótipos CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1 -G1639A. Esse modelo explicou 46% da variação de dose da varfarina (SUAREZ-KURTZ *et al.*, 2015).

O quinto algoritmo foi publicado em 2015 por Santos e colaboradores. O modelo de predição de dose foi derivado da coleta de dados de 368 indivíduos com RNI alvo entre 2,00-3,00, atendidos em hospital público de São Paulo. Eles identificaram nove covariáveis: idade, sexo, peso, altura, etnia, amiodarona, uso de indutores enzimáticos (carbamazepina ou fenitoína), genótipos CYP2C9*2 ou CYP2C9*3 e genótipo VKORC1 -G1639A que explicaram 40% da variação de dose da varfarina. As doses foram menores para sexo masculino, idade, uso de amiodarona, uma ou duas variantes alélicas CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1 -G1639A (SANTOS *et al.*, 2015).

Os algoritmos que incluem fatores genéticos e clínicos são mais acurados em estimar a dose da varfarina, quando comparados com o uso de tabela de dose baseada apenas nos genótipos CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1-G1639A, com dose empírica de 35 mg/semana ou com algoritmos que consideram apenas características clínicas (FINKELMAN *et al.*, 2011). Entretanto, a predição de doses ainda é limitada pela baixa acurácia destes algoritmos (JONAS, McLEOND, 2009; ERIKSSON, WADELIUS, 2012).

2.3 Qualidade da terapia anticoagulante com o uso de varfarina

O desafio da terapêutica anticoagulante é o alcance de um regime posológico que minimize o risco de trombose e que, ao mesmo tempo, não exponha o paciente a risco elevado para sangramentos. Usualmente, a dose da varfarina é ajustada empiricamente, a partir da dose média utilizada para a maioria dos indivíduos (2,5-5,0 mg/dia). O objetivo é utilizar uma dose que alcance um estado de anticoagulação com manutenção do RNI entre 2,00-3,00 na maioria dos pacientes com FA e 2,50-3,50 na maioria dos pacientes com prótese mecânica de válvula cardíaca. Esse estado caracteriza um TTR ideal igual a 100% (AGENO *et al.*, 2012; SENOO, LAU, LIP, 2014).

Todavia, esse não é o comportamento observado na prática clínica (SCHEIN *et al.*, 2016). Em metanálise incluindo 95 artigos publicados entre 1993 e 2013, para avaliar pacientes com FA em uso de varfarina, o TTR variou entre 44% e 72% entre os diferentes centros e em média foi igual a 61% (MEARNS *et al.*, 2014). Similarmente, Wan e colaboradores (2008) encontraram variação grande do TTR (29%-75%), com média de 56%, em revisão sistemática que incluiu pacientes com FA. Pesquisa comparando o TTR em 15 países encontrou benefício no uso da varfarina na prevenção de AVC e eventos vasculares totais quando TTR médios estavam acima da mediana de 65%. O modelo populacional obtido nesse estudo sugere um limiar mínimo de 58% para pacientes com FA se beneficiarem da terapia com varfarina (CONNOLLY *et al.*, 2008).

A qualidade do manejo dos inibidores do efeito da vitamina K tem sido avaliada a partir do TTR, utilizando diferentes pontos de corte: $TTR \leq 60\%$, $TTR \leq 65\%$ ou $TTR \leq 70\%$ para baixa qualidade (CARRIER *et al.*, 2014; DE CATERINA *et al.*, 2013; SENOO, LAU, LIP, 2014; SCHEIN *et al.*, 2016; VAZQUEZ *et al.*, 2016) e $TTR \geq 75\%$ para alta qualidade da tromboprolifaxia com varfarina (WHITE *et al.*, 2007). Em estudo que avaliou a anticoagulação em canadenses, cerca de 90% utilizavam varfarina e um em cada três desses tinha $TTR < 60\%$ (ANGARAN *et al.*, 2016). Em pesquisa conduzida na Inglaterra, um em cada quatro pacientes com FA não-valvular e em risco de AVC não estava adequadamente tratado (IOANNOU *et al.*, 2016), enquanto White e colaboradores (2007) encontraram 33% de pacientes com $TTR \geq 75\%$ entre pacientes em uso de varfarina. Em estudo que avaliou o controle da anticoagulação oral em longo prazo, dos 2841 norte-americanos com FA (RNI alvo 2,00-3,00) tratados com varfarina, 40,7% tiveram $TTR \geq 70\%$ (controle adequado) entre quatro e nove meses do início de uso da varfarina e somente 57% desses mantiveram a alta qualidade da terapia anticoagulante por 10 a 15 meses após o início de uso da varfarina (DALLALZADEH *et al.*, 2016).

Muitos pacientes permanecem em estado insuficiente ($RNI < 2,00$) ou elevado ($RNI > 3,00$) de anticoagulação, aumentando o risco de eventos tromboembólicos e sangramentos, respectivamente (REYNOLDS *et al.*, 2004; JOHNSON *et al.*, 2011; MEARNS *et al.*, 2014; BJÖRCK *et al.*, 2016), que podem levar a atendimentos de emergência, hospitalização, prolongamento do tempo de internação e morte (WHITE *et al.*, 2007; SCHULMAN *et al.*, 2008; BUDNITZ *et al.*, 2011; GUTHRIE *et al.*, 2011). Taxas de tromboembolismo e hemorragia estão negativamente correlacionadas com o TTR (WAN *et al.*, 2008). White e

colaboradores (2007) estratificaram os pacientes de acordo com o controle do RNI em controle adequado (TTR>75%), controle moderado (TTR 60-75%) e controle inadequado (TTR<60%). Eles observaram que pacientes com TTR<60% tiveram taxas maiores de mortalidade anual (4,20%) e sangramento maior (3,85%) em comparação com aqueles que atingiram um controle moderado (1,84% e 1,96%, respectivamente) e ou controle adequado do RNI (1,69% e 1,58%, respectivamente) (p<0,001).

2.3.1 Fatores relacionados ao TTR

A qualidade da anticoagulação oral pode ser predita aplicando o escore SAME-TT₂R₂, que é de fácil aplicação, pois engloba apenas fatores clínicos e demográficos, acessíveis aos profissionais de saúde. Esse escore prediz a probabilidade de controle inadequado do RNI em pacientes com FA antes de iniciar terapia com varfarina, a partir das seguintes características: sexo feminino, idade <60 anos, mais de duas comorbidades, não caucasiano, tabagismo e uso de amiodarona. Pacientes com zero ou um ponto no escore SAME-TT₂R₂ indica potencial controle da anticoagulação e dois ou mais pontos, controle subótimo da anticoagulação (APOSTOLAKIS *et al.*, 2013) (Quadro 2). Adicionalmente, o escore SAME-TT₂R₂ é útil para prever AVC, sangramento grave e morte (LIP *et al.*, 2014). Em pacientes com controle inadequado do RNI, o uso de novos anticoagulantes orais pode ser uma alternativa aos inibidores do efeito da vitamina K (SENOO, LAU, LIP, 2014; VOUKALIS *et al.*, 2016).

Quadro 2 – Escore SAME-TT₂R₂.

Acrônimo	Definição	Pontos
S	Sexo feminino	1
A	Idade<60 anos	1
M	História médica ¹	1
e		
T	Tratamento com amiodarona	1
T	Tabagismo (nos últimos 2 anos)	2
R	Etnia não branca	2
Máximo de pontos		8

¹Mais de duas comorbidades: hipertensão, diabetes, doença da arterial coronariana/infarto do miocárdio, doença arterial periférica, insuficiência cardíaca congestiva, acidente vascular encefálico prévio, doença pulmonar, doença hepática ou renal.

Análises multivariadas encontraram outras características influenciando o TTR em pacientes tratados com varfarina. Marcatto e colaboradores (2016) avaliaram retrospectivamente 443 pacientes tratados com varfarina por pelo menos 12 meses, em hospital de referência em Cardiologia em São Paulo, e a idade foi o único fator estudado que influenciou o TTR, entre sexo masculino, etnia autodeclarada, IMC, uso de amiodarona e genótipos CYP2C9 e

VKORC1 -G1639A. Pacientes idosos apresentaram TTR maior do que aqueles com idade <65 anos (67% vs. 60%, $p=0,004$).

Em estudo retrospectivo que avaliou os dados de 23425 pacientes com FA não valvular e em uso de varfarina por pelo menos um ano, o controle inadequado do RNI, definido como $TTR < 55\%$, foi associado com insuficiência cardíaca (razão de chance [RC] 1,41; intervalo de confiança [IC] 95% 1,28–1,56), diabetes (RC 1,28; IC 95% 1,19–1,38) e AVC prévio (RC 1,15; IC 95% 1,04–1,27) (NELSON *et al.*, 2013). Insuficiência cardíaca (RC 0,79; IC 95% 0,59–1,09) e $RFG \leq 45$ mL/min / $1,73m^2$ (RC 0,74; IC 95% 0,50–1,11) foram os únicos preditores de baixo controle em estudo que buscou identificar preditores de $TTR \geq 70\%$ (DALLALZADEH *et al.*, 2016). Em uma coorte de 906 indivíduos com FA e tratados com varfarina por pelo menos seis meses, cerca de 30% desses apresentaram controle inadequado da anticoagulação ($TTR < 60\%$) e insuficiência cardíaca foi um preditor independente desse desfecho (RC 1,63; IC 95% 1,20–2,22) (MELAMED *et al.*, 2011). Pacientes com FA e/ou tromboembolismo venoso apresentaram controle inadequado da anticoagulação ($TTR < 80\%$) quando houve hipertensão arterial (RC 2,74; IC 95% 1,06–7,10), obesidade (RC 1,11; IC 95% 1,02–1,21) e uso de amiodarona (RC 4,22; IC 95% 1,30–13,70) (CIURUS, CICHOCKA-RADWAN, LELONEK, 2015).

Outros fatores apontam possibilidades para o controle adequado da anticoagulação. Costa e colaboradores (2012) acompanharam prospectivamente 134 pacientes atendidos em clínica de anticoagulação por 272 dias em média. O TTR médio foi igual a 64,7% e pacientes com controle adequado da anticoagulação ($TTR \geq 66\%$) foram analisados separadamente daqueles com TTR inferior a 66%. Nesse estudo, consumo regular de vitamina K (RC 0,79; IC 95% 0,64–0,98), sexo masculino (RC 2,41; IC 95% 1,06–5,49), uso de varfarina por mais de dois meses (RC 3,23; IC 95% 1,25–8,36) e presença de suporte familiar (RC 3,32; IC 95% 1,16–9,48) foram associados ao controle adequado do RNI. Pacientes europeus/ingleses têm TTR (diferença média 9,7; IC 95% 6,0–13,4) maior em comparação a norte-americanos (MEARNS *et al.*, 2014). Meta-regressão incluindo oito estudos sugeriu que americanos com FA atendidos em clínicas de anticoagulação têm TTR 11% maior (IC 95% 2–20) do que aqueles tratados na atenção primária à saúde (BAKER *et al.*, 2009). Outra meta-regressão encontrou redução de 7,2% (IC 95% 6,0–13,4) do TTR quando pacientes não são atendidos em clínicas de anticoagulação (MEARNS *et al.*, 2014). Dallalzadeh e colaboradores (2016) identificaram 987 indivíduos com FA e $TTR \geq 70\%$ no início do estudo e avaliaram a qualidade da

anticoagulações seis meses depois. Somente 57% persistiram com TTR $\geq 70\%$ e TTR inicial $\geq 90\%$ foi o único preditor de alta qualidade da terapia anticoagulante (TTR $\geq 70\%$).

Há poucas evidências sobre a influência de características genéticas no TTR. Indivíduos com um (n=36) ou dois alelos *3 (n=6) no gene *CYP2C9* mostraram tendência não significativa para apresentar TTR inferior ao de pacientes sem o alelo *3 variante (n=246) (69,8% vs. 74,7%, p=0,09), mas os pacientes com dois alelos variantes de *CYP2C9* *2/*3 + *3/*3 apresentaram TTR significativamente menor (60,5% vs. 74,3%, p=0,012) que aqueles *1/*1 + *1/*2 (SKOV *et al.*, 2013). Entretanto, alguns trabalhos não identificaram variação significativa do TTR entre os subgrupos com e sem alelos variantes para *CYP2C9* e *VKORC1* -G1639A (BURMESTER *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2015; MARCATTO *et al.*, 2016).

Outros estudos abordam a relação do TTR com genótipos *CYP2C9* e *VKORC1* -G1639A, em modelos de predição de dose de varfarina (BELLEY-COTE *et al.*, 2015). Anderson e colaboradores (2012) conduziram um ensaio clínico controlado aleatorizado que demonstrou superioridade do uso de algoritmo com informações genéticas (*CYP2C9* e *VKORC1* -G1639A) como guia para estimar a dose inicial da varfarina. O TTR do grupo com dose guiada (n=477) foi superior, após um e três meses de acompanhamento, ao do grupo controle (n=1866). Similarmente, ensaio clínico controlado aleatorizado, multicêntrico, mostrou aumento de 7% do TTR, três meses após o início do uso da varfarina guiada por genótipo, quando comparado com o uso de doses padrão (67,4% vs. 60,3%, p<0,001) (PIRMOHAMED *et al.*, 2013). Contudo, a prescrição da varfarina guiada por genótipo, comparada com a prescrição de doses padrão, não melhorou o TTR nas primeiras quatro semanas (DAHAL *et al.*, 2015). Comparada com a prescrição de doses guiadas apenas por fatores clínicos, a prescrição de varfarina guiada por genótipo e fatores clínicos não melhorou TTR no primeiro mês (KIMMEL *et al.*, 2013) ou no terceiro mês de uso da varfarina (JONAS *et al.*, 2013). Wen e colaboradores (2017) não observaram diferença no TTR (primeiros 90 dias de tratamento), anticoagulação excessiva (RNI ≥ 4) ou eventos adversos no grupo com dose guiada por genótipo.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a relação entre fatores genéticos e não genéticos e a resposta terapêutica à varfarina em indivíduos cardiopatas atendidos em ambulatório de referência em anticoagulação oral.

3.2 Objetivos específicos

- caracterizar os pacientes atendidos no ambulatório de anticoagulação;
- investigar a relação entre a dose média semanal de varfarina e características sociodemográficas, clínicas, comportamentais, farmacoterapêuticas e genótípicas (polimorfismos CYP2C9 e VKORC1);
- investigar a relação entre TTR e características sociodemográficas, clínicas, comportamentais, farmacoterapêuticas e genótípicas (polimorfismos CYP2C9 e VKORC1);
- elaborar modelo para predição de dose inicial de varfarina e sensibilidade ao fármaco;
- elaborar modelo para predição de TTR e qualidade da terapia anticoagulante.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Revisão da literatura

A partir da base de dados PubMed, foi feita uma pesquisa para selecionar estudos envolvendo a investigação de fatores relacionados à resposta da varfarina. As estratégias de busca incluíram termos indexados no *Medical Subject Headings* (MeSH) e termos não indexados:

- Estratégia 1: (MH:D03.383.663.283.446.520.914 OR Varfarina OR Warfarin OR Warfarina OR MH:D27.505.954.502.119 OR Anticoagulant* OR "anticoagulante oral" OR "oral anticoagulant" OR "razão normalizada internacional" OR "RNI") AND ("time in therapeutic range" OR "TTR" OR "time in the therapeutic range");
- Estratégia 2: (MH D03.383.663.283.446.520.914 OR Varfarina OR Warfarin OR Warfarina OR MH D27.505.954.502.119 OR Anticoagulant* OR "anticoagulante oral" OR "oral anticoagulant" OR "razão normalizada internacional" OR "RNI") AND (predictor* OR factor*) AND (dosing OR dose) AND NOT (pediatric OR children).

Também foi feita busca de trabalhos a partir da lista de referência dos artigos selecionados pela estratégia de busca. Estudos publicados entre 2000 e 2016, em inglês ou português, foram incluídos.

4.2 Aspectos éticos

O estudo foi conduzido de acordo com os termos da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Todos os participantes foram esclarecidos sobre os aspectos relativos ao estudo e confirmaram desejo de participar por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A). O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) sob o parecer CAAE 23725213.5.0000.5149 (Anexo A) e o banco de amostras biológicas sob o parecer 0216/06.

4.3 Desenho e local do estudo

Trata-se de estudo observacional, desenvolvido no ambulatório especializado para controle da anticoagulação oral do serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG que foi implantado em 2009 para acompanhar, semanalmente, pacientes em uso de anticoagulantes orais. A equipe é composta por médicos, farmacêuticos e enfermeiros, de acordo com suas necessidades individuais. A maioria dos pacientes realizou a coleta de sangue e os exames laboratoriais na Unidade Funcional de Patologia e Medicina Laboratorial do Hospital das Clínicas da UFMG. Todos os genótipos foram determinados no laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Farmácia da UFMG.

4.4 Participantes

4.4.1 Seleção dos pacientes

Trata-se de amostra não probabilística em que todos os indivíduos assistidos no ambulatório de anticoagulação que obedeciam aos critérios para inclusão no estudo foram recrutados e entrevistados no estudo. Posteriormente, realizou-se a coleta de sangue e de informações a partir do prontuário do paciente. Os participantes foram selecionados de forma consecutiva, no dia da consulta agendada para controle de RNI.

4.4.2 Critérios de inclusão e exclusão

Incluíram-se no estudo pacientes com idade ≥ 18 anos, ambos os sexos, com pelo menos uma das seguintes indicações para uso de varfarina: fibrilação/flutter atrial, prótese mecânica de válvula cardíaca ou histórico de AVC ou acidente isquêmico transitório (AIT), usuários de varfarina em acompanhamento na clínica de anticoagulação por no mínimo dois meses no período 2009-2015. Os pacientes que não compareceram para coleta de sangue foram excluídos do estudo.

4.5 Coleta de dados

Todas as informações foram coletadas em entrevistas aos pacientes realizadas entre fevereiro e dezembro de 2015 e por meio de consulta aos prontuários dos mesmos e ao banco de dados do ambulatório de anticoagulação, utilizando os protocolos apresentados nos Apêndices B e C. A frequência dos problemas de saúde, utilizados como critérios de inclusão, e das comorbidades foi verificada a partir dos prontuários dos pacientes. O Hospital das Clínicas dispõe de protocolos clínicos baseados em diretrizes internacionais para identificação e tratamento de doenças.

4.5.1 Variáveis

4.5.1.1 Variáveis dependentes

Como variáveis resposta foram consideradas a dose média semanal de varfarina e o TTR, obtidos a partir dos dados dos pacientes registrados durante as consultas na clínica de anticoagulação, entre agosto de 2009 e dezembro de 2015.

A dose semanal de varfarina foi coletada no banco de dados da clínica de anticoagulação, sendo utilizada para calcular a dose semanal média utilizada pelo paciente durante o seu período máximo de seguimento. A dose semanal média foi analisada como variável contínua e dicotômica. Os pacientes foram divididos em dois grupos de acordo com a dose: $<17,5$ mg/semana e $\geq 17,5$ mg/semana de varfarina. Esse ponto de corte foi escolhido a partir da definição de dose baixa proposta por REDMAN *et al.*, 2008.

O TTR foi calculado a partir dos valores de RNI, utilizando o número máximo de resultados RNI disponíveis, para cada paciente. Determinou-se o TP a partir de amostra obtida por punção venosa e adição de anticoagulante citrato, em coagulômetro automatizado utilizando trombolastina comercial, seguindo rigorosamente as recomendações dos fabricantes. O TTR foi calculado por três métodos: Rosendaal, Rosendaal ajustado e percentagem de RNI na faixa terapêutica, conforme descrito a seguir:

- Rosendaal: $TTR = \text{número de dias com RNI consecutivos dentro da faixa terapêutica} / \text{número de dias total do seguimento}$. Esse método assume que há uma relação linear entre dois resultados consecutivos de RNI (ROSENDAAL *et al.*, 1993);

- Rosendaalajustado: $TTR = \frac{\text{número de dias com RNI dentro da faixa terapêutica}}{\text{número de dias do seguimento no mesmo período}}$. Em seguida, foi calculada a média desses resultados, obtendo o TTR Rosendaal ajustado. Esse cálculo foi realizado assumindo que uma interpolação linear em tempo superior a 56 dias não apresenta plausibilidade biológica (AZAR *et al.*, 1996);
- Percentagem de RNI na faixa terapêutica: $TTR = \frac{\text{número de resultados RNI na faixa terapêutica}}{\text{número total de resultados RNI}}$.

O TTR calculado pelo método de Rosendaal foi analisado como variável contínua e dicotômica. $TTR > 60\%$ indicou boa qualidade da terapia anticoagulante e $TTR \geq 75\%$ indicou ótima qualidade da terapia anticoagulante (WHITE *et al.*, 2007; CONNOLLY *et al.*, 2008).

4.5.1.2 Variáveis independentes

Diferentes variáveis explicativas foram estudadas, conforme segue:

- sociodemográficas: idade, idade > 60 anos (idosos), sexo, educação, renda mensal familiar por pessoa (em dólar americano) e coabitação;
- comportamentais: necessidade de auxílio para administração da varfarina, absenteísmo nas consultas para controle do RNI, relato de não administração à varfarina e uso excessivo de bebidas alcoólicas (definido como consumo diário de 60g de etanol, equivalente a quatro doses, nos últimos seis meses. Cada dose de etanol corresponde a aproximadamente 350mL cerveja, 43 mL de destilados com 40% etanol, 83mL de destilados com 18% etanol ou 142mL de destilados com 11% etanol) (SKINNER *et al.*, 1984);
- clínicas: indicação da varfarina, comorbidades, ocorrência de eventos tromboembólicos e hemorrágicos;
- farmacoterapêuticas: dose média da varfarina, duração da terapia com varfarina, número de medicamentos em uso crônico (igual ou superior a 30 dias contínuos), uso de amiodarona, sinvastatina, carbamazepina, fenitoína, polifarmácia (cinco ou mais medicamentos), faixa terapêutica do RNI, tempo de acompanhamento na clínica de anticoagulação, número de consultas para controle de RNI e número de ajustes de dose da varfarina;
- genótípicas: genótipos CYP2C9 (*1, *2 ou *3) e VKORC1 -G1639A (GG, GA ou AA).

As complicações hemorrágicas foram incluídas como dados descritivos e diferenciadas de acordo com a gravidade (SCHULMAN *et al.*, 2009; MEHRAN *et al.*, 2011; PATEL *et al.*, 2011; HASS *et al.*, 2012):

- hemorragia grave: sangramento clinicamente evidente associado a qualquer um dos seguintes: óbito; envolvimento de sítio anatômico crítico (intracraniano, medular, pericárdico, articular, retroperitoneal, ou intramuscular com síndrome do compartimento), queda de $>2\text{g/dL}$ na concentração de hemoglobina, transfusão de >2 unidades de sangue total ou concentrado de hemácias, ou invalidez permanente;
- hemorragia não grave clinicamente relevante: sangramento evidente que não atenda ao critério para sangramentos graves, mas que requeresse intervenção médica, interrupção temporária do tratamento, dor ou que interferisse negativamente nas atividades diárias;
- hemorragia não grave: sangramentos que não atendem aos critérios de hemorragia grave e não grave clinicamente relevante.

4.5.1.2.1 Genotipagem

Para a genotipagem, foram coletados 10 mL de sangue total em EDTA. O DNA genômico foi extraído por método de precipitação alcoólica, utilizando o kit Biopur[®] (Biometrix) e seguindo as instruções do fabricante.

Os polimorfismos CYP2C9*2 (C_25625805-10) e CYP2C9*3 (C_2710489-10) no gene *CYP2C9* e -G1639A no gene *VKORC1* (C_30403261-20) foram determinados pelo método de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, do inglês, *Polymerase Chain Reaction*) em tempo real, utilizando termociclador StepOne[®] (Applied Biosystems) e sonda para discriminação alélica TaqMan[®] (Applied Biosystems), conforme protocolos descritos nos Quadros 3 e 4, padronizados em trabalho prévio (ALMEIDA, 2014). Os resultados foram interpretados no *software* Step One[®] (Applied Biosystems).

Em todos os ensaios, utilizou-se um branco da reação (tubo sem DNA) e dois controles com alelos pré-determinados CYP2C9*1, CYP2C9*2 ou CYP2C9*3 e VKORC1 -G1639G, -G1639A ou -A1639A. As análises foram repetidas com 10% das amostras e a reprodutibilidade foi de 100%.

Quadro 3 – Protocolo da PCR utilizado na determinação dos genótipos CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1 –G1639A.

Reagentes	μL
<i>Genotyping Master Mix</i> (2x)	5,0
Água deionizada	2,5
TaqMan SNP <i>Genotyping assay</i>	0,5
DNA genômico (5 a 132 ng/ μL)	1,0

Quadro 4 – Programa utilizado na amplificação para discriminação alélica dos polimorfismos CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1 –G1639A.

Etapa	Temperatura	Tempo	Ciclagem
1	60°C	30 segundos	1 ciclo
2	95°C	10 minutos	1 ciclo
3	95°C	10 segundos	60 ciclos
	60°C	1 minuto	
4	60°C	30 segundos	1 ciclo

Para avaliar se os polimorfismos estudados estão em equilíbrio genético na população investigada, o desvio de Hardy-Weinberg foi testado usando um teste exato disponível em http://genepop.curtin.edu.au/genepop_op1.html (nov 2016). O princípio de Hardy-Weinberg prediz que numa população em equilíbrio, as frequências alélicas e genotípicas mendelianas permanecerão constantes ao longo das gerações se fatores como mutação, seleção, migração, desvio meiótico e deriva genética não estiverem atuando sobre essa população (STRACHAN; READ, 2013).

4.6 Análise estatística

O banco de dados foi validado por dupla digitação no *software* EpiData (versão 3.1, EpiData Assoc., Dinamarca). Em seguida, os dados foram transferidos para planilha única no Excel e a análise de todas as variáveis, incluindo construção da curva ROC, foi realizada no ambiente de programação R versão 3.2.5. A descrição das variáveis categóricas foi feita com frequências (absoluta e relativa) e, das variáveis quantitativas, através de medidas de tendência central (média) e de variabilidade (desvio-padrão).

As análises univariadas e multivariadas utilizando cada variável dependente contínua (TTR e dose média semanal de varfarina) e categórica dicotômica ($TTR \leq 60\%$ ou $>60\%$, $TTR \geq 75\%$ ou $<75\%$, dose média de varfarina $<17,5\text{mg/sem}$ ou $\geq 17,5\text{mg/sem}$) foram realizadas de acordo com o Quadro 5. Valor $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

A dose média semanal de varfarina e o TTR correspondente aos valores médios dos seis anos de acompanhamento (2009-2015) foram analisados como variáveis dependentes nos diferentes modelos de regressão.

Quadro 5 – Técnicas estatísticas utilizadas na análise dos dados.

Variável dependente	Variável independente	Testes utilizados para análise univariada	Modelos utilizados para análise multivariada
Contínua	Categórica dicotômica ($k = 2$)	Teste t para duas médias	Modelo de regressão linear ou gama (função identidade)
	Categórica politômica ($3 < k < 8$)	Análise de variância, seguida de teste <i>post hoc</i> de Dunnet	
	Contínua	Teste t para coeficiente de correlação de Pearson	
Categórica dicotômica	Categórica dicotômica ($k = 2$)	Teste qui-quadrado de Pearson com valor p obtido por simulação de Monte Carlo	Modelo de regressão logística
	Categórica politômica ($3 < k < 8$)		
	Contínua	Teste t para duas médias	

Variáveis independentes contínuas incluídas nas análises univariadas: idade (anos), escolaridade (anos), renda mensal familiar por pessoa (dólar americano), tempo de acompanhamento na clínica anticoagulação (dias), consultas para controle da RNI (n), dose média de varfarina (mg/sem), duração da terapia com varfarina (dias), ajustes de dose da varfarina (n) e medicamentos em uso crônico (n).

Variáveis independentes dicotômicas incluídas nas análises univariadas: idade >60 anos (sim/não), sexo (masculino/feminino), coabitação (sim/não), consumo excessivo de bebidas alcoólicas (sim/não), hipertensão arterial sistêmica (sim/não), dislipidemia (sim/não), insuficiência cardíaca (sim/não), diabetes mellitus (sim/não), neoplasia ativa (sim/não), disfunção hepática grave (sim/não), hemorragia grave (sim/não), hemorragia não grave

cl clinicamente relevante (sim/não), hemorragia não grave (sim/não), evento tromboembólico (sim/não), RNI alvo (2,00-3,00 ou 2,50-3,50), polifarmácia (sim/não), uso concomitante de medicamentos descritos em algoritmos de predição de dose (sinvastatina, amiodarona, carbamazepina e fenitoína) (PERINI *et al.*, 2008; KLEIN *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2015) (sim/não), auxílio para administração da varfarina (sim/não), genótipos CYP2C9 (*1, *2 ou *3; *1/*1 ou não *1/*1; *1/*2 ou não *1/*2; *1/*3 ou não *1/*3; *2/*2 ou não *2/*2; *3/*3 ou não *3/*3) e VKORC1 -G1639A (GG, GA ou AA; AA ou [GG + GA]; GG ou [AA + GA]).

Variáveis independentes politômicas incluídas nas análises univariadas: indicação da terapia anticoagulante (fibrilação/flutter atrial, prótese mecânica de válvula cardíaca ou prevenção secundária de AVC/AIT), tempo de acompanhamento na clínica anticoagulação (anos), relato de não administração da varfarina (n), absenteísmo (n), genótipos CYP2C9 (*1, *2 ou *3; *1/*1 ou [*1/*2 +*1/*3] ou [*2/*2 ou *2/*3 ou *3/*3]) e VKORC (GG ou GA ou AA).

As variáveis independentes cujo teste de hipótese atingiu $p < 0,20$ foram incorporadas inicialmente para a modelagem das variáveis dependentes. Análise diagnóstica foi realizada para cada modelo considerando a adequação de suas respectivas suposições. Os modelos de regressão apresentados possuem somente variáveis independentes cujos coeficientes apresentaram diferença de zero estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Nos modelos de regressão logística, a medida da RC foi utilizada para quantificar a direção da relação encontrada, tendo sido expressa com seu respectivo IC a 95%. Posteriormente, a Curva Característica de Operação do Receptor (ROC, do inglês, *Receiver Operator Characteristic Curve*) foi gerada para cada modelo e os valores de corte foram escolhidos a fim de maximizar a soma da sensibilidade e especificidade.

5 RESULTADOS

A Figura 2 mostra o processo de seleção dos participantes do estudo. Aproximadamente 4% foram excluídos devido a causas não relacionadas ao uso da varfarina.

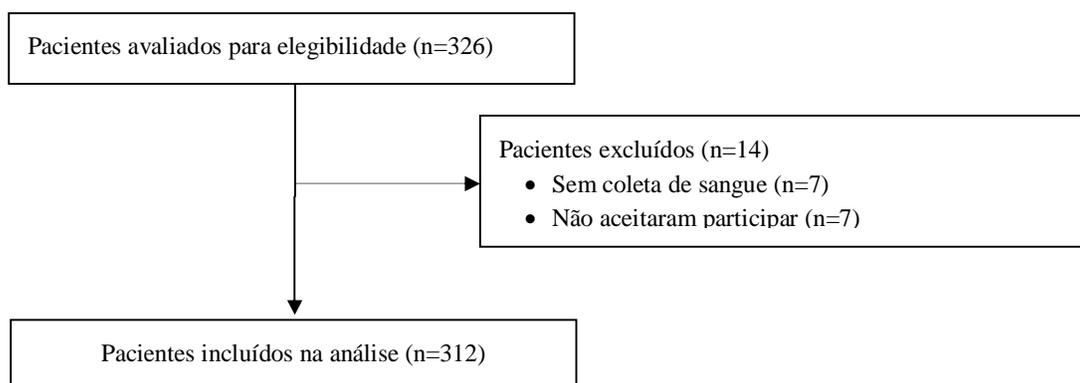


Figura 2 – Fluxograma de seleção dos participantes.

5.1 Características da população estudada

Do total de 312 pacientes, a idade média foi igual a 60,4 ($\pm 13,5$) anos. Houve predomínio de mulheres ($n=187; 59,9\%$) e maiores de 60 anos ($n=170; 54,5\%$), com 4,9 anos de escolaridade e renda mensal por pessoa igual a US\$269, em média. Os pacientes foram acompanhados, em média, por 1.269 ± 599 dias, variando entre 73 e 2263 dias e apenas 1,3% ($n=4$) frequentaram o ambulatório por menos de 12 meses. A varfarina foi utilizada, em média, por 5,1 anos, principalmente ($n=232; 74,4\%$) para tratamento de FA (Tabela 1).

A dose média semanal variou entre 8 e 119 mg e 75% ($n=234$) dos indivíduos utilizaram até 35 mg/semana de varfarina. A dose média de varfarina foi menor entre maiores de 60 anos (28,4 mg/semana vs. 33,8 mg/semana; $p=0,002$) e entre os pacientes que apresentaram IAM (23,1 mg/semana vs. 31,5mg/semana, $p<0,001$). A dose terapêutica da varfarina também foi diferente de acordo com indicação da terapia anticoagulante. Indivíduos com prótese mecânica de valva cardíaca utilizaram doses mais elevadas de varfarina em relação àqueles sem prótese (35,1 mg/semana vs. 28,3 mg/semana; $p<0,001$). Pacientes com RNI alvo entre 2,50-3,50 utilizaram, em média, 36,5 mg de varfarina semanalmente e aqueles com RNI alvo entre 2,00-3,00 usaram, em média, 28,3 mg de varfarina a cada semana ($p<0,001$) (Tabela 1).

O TTR variou entre 6% e 99%, com 61% dos pacientes apresentando boa qualidade da terapia anticoagulante (TTR>60%) e somente 20% com ótima qualidade (TTR≥75%). O TTR dos homens foi superior ao das mulheres (66,3% vs. 61,3%; p=0,002). De acordo com o RNI alvo a ser alcançado, houve diferença no TTR: pacientes com RNI alvo entre 2,50-3,50 apresentaram TTR menor do que aqueles com RNI alvo entre 2,00-3,00 (60,0% x 64,8%; p=0,004) (Tabela 1). Indivíduos em polifarmácia (n=229; 73,4%) apresentaram tendência a apresentar um TTR menor do que aqueles que utilizavam até quatro medicamentos por dia (62,5% vs. 65,6%; p=0,05). Observou-se aumento do TTR de acordo com o aumento do tempo de seguimento (p<0,001). As faltas nas consultas para controle de RNI foram frequentes, 81% (n=253) dos pacientes faltaram a pelo menos uma consulta e quanto maior o absenteísmo menor o TTR observado (p<0,001). Aproximadamente 55% (n=173) dos indivíduos relataram não utilizar a varfarina pelo menos uma vez ao longo do estudo e houve redução gradativa do TTR com o aumento do número de relatos de não administração da varfarina (p<0,001). Não houve diferença entre o TTR médio observado entre os pacientes que sofreram ou não IAM (61,2% vs. 63,5%, p=0,549) (Tabela 1).

Tabela 1 – Características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e farmacoterapêuticas da população do estudo e comparação com a dose média semanal de varfarina e o TTR.

Características	Total (n=312)	Dose varfarina (mg/semana)		TTR (%)	
		Média (DP)	Valor p	Média (DP)	Valor p
Idade, média (DP)	60,4 (13,5)	-	0,000	-	0,212
Idade >60 anos, n (%)	170 (54,5)	28,4 (15,4)	0,002	64,7 (12,4)	0,068
Sexo, n (%)					
Feminino	187 (59,9)	31,1 (15,8)	0,685	61,3 (14,1)	0,002
Masculino	125 (40,1)	30,4 (15,3)		66,3 (13,6)	
Escolaridade – anos, média (DP)	4,9 (3,3)	-	0,035	-	0,952
Renda mensal familiar por pessoa – US dólares, média (DP)	269,0 (178,5)	-	0,465	-	0,022
Coabitação, n (%)	280 (89,7)	30,9 (15,1)	0,903	63,3 (14,2)	0,974
Consumo excessivo bebidas alcoólicas, n (%)	5 (1,6)	27,6 (9,5)	0,486	58,6 (9,2)	0,316
Indicação da terapia anticoagulante, n (%) ¹					
Fibrilação/Flutter atrial	232 (74,4)	29,2 (14,1)	0,004	63,4 (14,4)	0,895
Prótese mecânica de valva cardíaca	118 (37,8)	35,1 (17,2)	<0,001	62,1 (12,9)	0,221
Prevenção AVC/AIT secundário	45 (14,4)	32,3 (20,9)	0,597	62,2 (15,8)	0,596
RNI alvo, n (%)					
2,00-3,00	215 (68,9)	28,3 (13,9)	<0,001	64,8 (14,4)	0,004
2,50-3,50	97 (31,1)	36,5 (17,6)		60,0 (12,8)	
Duração da terapia anticoagulante – anos, média (DP)	5,1 (3,9)	-	0,481	-	0,013
Duração da terapia anticoagulante – dias, média (DP)	2022,2 (1424,6)	-	0,463	-	0,017
Tempo de acompanhamento – dias, média (DP)	1269,1 (598,8)	-	0,987	-	<0,001

Tabela 1 – Características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e farmacoterapêuticas da população do estudo e comparação com a dose média semanal de varfarina e o TTR (continuação).

Características	Total (n=312)	Dose varfarina (mg/semana)		TTR (%)	
		Média (DP)	Valor p	Média (DP)	Valor p
Tempo de acompanhamento– anos, n (%)					
0	4 (1,3)	20,1 (7,6)		50,7 (37,8)	
1	18 (5,8)	33,1 (17,1)		54,7 (20,7)	
2	85 (27,2)	30,8 (16,6)	0,836	60,6 (12,6)	<0,001
3	69 (22,1)	31,1 (14,8)		63,1 (13,6)	
4	34 (10,9)	29,9(15,1)		65,7 (10,8)	
5	44 (14,1)	34,8 (19,2)		65,1 (14,6)	
6	58 (18,6)	28,2 (11,4)		68,3 (11,0)	
Comorbidades, n (%)					
Hipertensão arterial sistêmica	190 (60,9)	32,0 (17,4)	0,091	63,6 (14,1)	0,647
Dislipidemia	114 (36,5)	32,5 (16,7)	0,180	62,3 (15,7)	0,357
Insuficiência cardíaca	100 (32,0)	30,9 (15,0)	0,992	62,1 (15,6)	0,339
Diabetes mellitus	41 (13,1)	35,5 (18,3)	0,082	65,3 (16,6)	0,413
Neoplasia ativa	4 (1,3)	37,2 (11,0)	0,324	59,7 (6,2)	0,331
Disfunção hepática grave	1 (0,3)	25,2	-	50,6	-
Medicamentos uso crônico, média (DP)	5,9 (2,0)	-	0,382	-	0,056
Medicamentos, n (%)					
Polifarmácia	229 (73,4)	31,1 (15,9)	0,576	62,5 (15,1)	0,050
Sinvastatina	139 (44,5)	30,1 (13,5)	0,418	63,2 (15,1)	0,918
Amiodarona	33 (10,6)	30,9 (13,8)	0,978	65,9 (15,1)	0,311
Carbamazepina	4 (1,3)	26,0 (3,5)	0,056	53,7 (10,8)	0,167
Fenitoína	4 (1,3)	33,1 (19,6)	0,832	52,8 (13,3)	0,207
Consultas anuais controle de RNI, média (DP)	10,7 (2,4)	-	0,991	-	<0,001
Absenteeísmo, n (%)					
0	59 (18,9)	29,6 (15,3)	0,216	69,1 (13,5)	<0,001
1	137 (43,9)	30,5 (15,1)		64,3 (12,1)	
2	78 (25,0)	30,6 (14,5)		61,3 (16,4)	
3	34 (10,9)	35,9 (20,3)		54,1 (11,8)	
4	3 (1,0)	21,1 (4,3)		70,6 (12,2)	
5	1 (0,3)	36,7 (*)		48,4 (*)	
Relato de não administração da varfarina, n (%)					
0	139(44,5)	28,7 (11,5)	0,216	68,4 (12,7)	<0,001
1	129(41,4)	33,0 (18,7)		61,0 (14,2)	
2	33(10,6)	33,1 (17,7)		55,3 (12,0)	
3	10(3,2)	25,5 (11,2)		49,1 (8,4)	
4	1(0,3)	34,7 (*)		68,8 (*)	
Ajustes anuais dose da varfarina, média (DP)	3,3 (1,8)	-	0,212	-	<0,001
Auxílio para administração da varfarina, n (%)					
Auxílio para administração da varfarina, n (%)	36 (11,5)	31,5 (15,7)	0,807	60,9 (13,5)	0,253
Dose de varfarina, n (%)					
< 17,5 mg/semana	312 (100)	30,9 (15,6)	-	-	<0,001
≥ 17,5 mg/semana	40 (12,8)	13,7 (2,6)	-	65,6 (15,0)	0,314
≥ 70 mg/semana	9 (2,9)	90,8 (14,4)	-	60,2 (11,4)	0,433
TTR, n (%)					
TTR, n (%)	312 (100)	-	0,049	63,3 (14,1)	-
≤ 60%	122 (39,1)	32,8 (18,3)	0,105	49,6 (9,9)	-
≥ 75%	64 (20,5)	27,4 (13,0)	0,024	81,3 (5,2)	-
Hemorragia, n (%)					
Grave	2 (0,6)	24,0 (10,0)	0,512	50,0 (17,4)	0,472
Grave clinicamente relevante	0	-	-	-	-
Não grave	91 (29,2)	60,67 (12,8)	0,549	31,3 (15,9)	0,847
Eventos tromboembólicos, n (%) ²					
Eventos tromboembólicos, n (%) ²	64 (20,5)	28,5 (18,0)	0,233	62,9 (17,3)	0,837
IAM	25 (8,0)	23,1 (8,4)	<0,001	61,2 (18,2)	0,549
AVC/AIT	41 (13,1)	32,2 (20,9)	0,640	62,3 (16,4)	0,667
TVP	2 (0,6)	24,1 (3,5)	0,188	64,8 (18,7)	0,929
TEP	3(1,0)	31,9 (20,0)	0,938	68,2 (28,1)	0,791

DP, desvio padrão. AVC, acidente vascular encefálico. AIT, ataque isquêmico transitório. RNI, razão normalizada internacional. TTR, *time in therapeutic range*. IAM, infarto agudo do miocárdio. TVP, trombose venosa profunda. TEP, tromboembolismo pulmonar. 1 US dólar = 2,5 reais. ¹Pacientes podiam apresentar uma ou mais indicações para uso da varfarina. ²Pacientes podiam apresentar um ou mais eventos tromboembólicos.

As Tabelas 2, 3 e 4 mostram todas as variáveis independentes de acordo com dose média de varfarina < 17,5 mg/semana ou ≥ 17,5 mg/semana, TTR≤60% ou TTR>60% e TTR≥75% ou TTR<75%, respectivamente.

A Tabela 2 mostra que a idade média dos indivíduos que utilizaram dose média de varfarina <17,5 mg/semana foi maior em relação àqueles que utilizaram doses \geq 17,5 mg/semana (64,1 vs. 59,8 mg/semana, $p=0,024$). RNI alvo entre 2,00-3,00 ($n=215$, 69%) ou 2,50 a 3,50 ($n=97$, 31%) e ocorrência de IAM ($n=25$, 8%) também estão associados com dose semanal de varfarina dicotomizada, $p=0,024$ e $p=0,029$, respectivamente.

Tabela 2 – Características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e farmacoterapêuticas da população do estudo em pacientes de acordo com dose média semanal de varfarina.

Características	Total (n=312)	Dose média varfarina		Valor p
		<17,5mg/semana (n=40)	\geq 17,5mg/semana (n=272)	
Idade, média (DP)	60,4 (13,5)	64,1 (10,5)	59,8 (13,8)	0,024
Idade > 60 anos, n (%)	170 (54,5)	23 (7,4)	147 (47,1)	0,744
Sexo, n (%)				
Feminino	187 (59,9)	22 (7,0)	165 (52,9)	0,606
Masculino	125 (40,1)	18 (5,8)	107 (34,3)	
Escolaridade – anos, média (DP)	4,9 (3,3)	4,9 (2,9)	4,9 (3,3)	0,947
Renda mensal familiar por pessoa – US dólares, média (DP)	269,0 (178,5)	251,4 (145,6)	271,6 (182,9)	0,434
Coabitação, n (%)	280 (89,7)	33 (10,6)	247 (79,2)	0,170
Consumo excessivo de bebidas alcoólicas, n (%)	5 (1,6)	1 (0,3)	4 (1,3)	1,000
Indicação da terapia anticoagulante, n (%) ¹				
Fibrilação/Flutter atrial	232 (74,4)	33 (10,6)	199 (63,8)	0,226
Prótese mecânica de valva cardíaca	118 (37,8)	10 (3,2)	108 (34,6)	0,088
Prevenção AVC/AIT secundário	45 (14,4)	7 (2,2)	38 (12,2)	0,621
RNI alvo, n (%)				
2,00-3,00	215 (68,9)	34 (10,9)	181 (58,0)	0,029
2,50-3,50	97 (31,1)	6 (1,9)	91 (29,2)	
Duração da terapia anticoagulante – anos, média (DP)	5,1 (3,9)	1942,1 (1370,1)	2034,0 (1434,5)	0,695
Duração da terapia anticoagulante – dias, média (DP)	2022,2 (1424,6)	4,9 (3,7)	5,11 (3,9)	0,714
Tempo de acompanhamento – dias, média (DP)	1269,1 (598,8)	1177,1 (630,7)	1282,6 (594,0)	0,325
Tempo de acompanhamento – anos, n (%)				
0	4 (1,3)	1 (0,3)	3 (1,0)	0,279
1	18 (5,8)	2 (0,6)	16 (5,1)	
2	85 (27,2)	16 (5,1)	69 (22,1)	
3	69 (22,1)	7 (2,2)	62 (19,9)	
4	34 (10,9)	3 (1,0)	31 (9,9)	
5	44 (14,1)	2 (0,6)	42 (13,5)	
6	58 (18,6)	9 (2,9)	49 (15,7)	
Comorbidades, n (%)				
Hipertensão arterial sistêmica	190 (60,9)	24(7,7)	166 (53,2)	1,000
Dislipidemia	114 (36,5)	14 (4,5)	100 (32,0)	0,865
Insuficiência cardíaca	100 (32,0)	11(3,5)	89 (28,5)	0,603
Diabetes mellitus	41 (13,1)	4 (1,3)	37 (11,9)	0,617
Neoplasia ativa	4 (1,3)	-	4 (1,3)	0,667
Disfunção hepática grave	1 (0,3)	-	1 (0,3)	1,000
Medicamentosos crônicos, média (DP)	5,9 (2,0)	5,7 (2,33)	5,9 (2,01)	0,680
Medicamentos, n (%)				
Polifarmácia	229 (73,4)	27 (8,6)	202 (64,7)	0,438
Sinvastatina	139 (44,5)	17 (5,4)	122 (39,1)	0,867
Amiodarona	33 (10,6)	3 (1,0)	30 (9,6)	0,580
Carbamazepina	4 (1,3)	-	4(1,3)	0,661
Fenitoína	4 (1,3)	1 (0,3)	3 (1,0)	1,000
Consultas anuais controle de RNI, média (DP)	10,7 (2,4)	10,7 (2,8)	10,7 (2,3)	0,908
Absenteísmo, n (%)	253 (81,1)	31 (9,9)	222 (71,1)	0,908
Relato de não administração da varfarina, n (%)	173 (55,5)	21(6,7)	152 (48,7)	0,433
Ajustes anuais de dose da varfarina, média (DP)	3,3 (1,8)	2,9 (1,9)	3,4 (1,8)	0,208

Tabela 2 – Características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e farmacoterapêuticas da população do estudo em pacientes de acordo com dose média semanal de varfarina (continuação).

Características	Total (n=312)	Dose média varfarina		Valor p
		<17,5mg/semana (n=40)	≥17,5mg/semana (n=272)	
Auxílio para administração da varfarina, n (%)	36 (11,5)	4 (1,3)	32(10,3)	0,783
Dose de varfarina, n (%)	312 (100)	13,7 (2,6)	33,4 (15,1)	-
< 17,5 mg/semana	40 (12,8)	40 (12,8)	-	-
≥ 70 mg/semana	9 (2,9)	-	9 (2,9)	-
TTR, n (%)	312 (100)	65,6 (15,0)	63,0 (14,0)	0,314
≤ 60%	122 (39,1)	14 (4,5)	108 (34,6)	0,607
≥ 75%	64 (20,5)	11 (3,5)	53 (17,0)	0,278
Hemorragia, n (%)				
Grave	2 (0,6)	1(0,3)	1(0,3)	1,000
Não grave clinicamente relevante	0	-	-	-
Não grave	91 (29,2)	8 (8,8)	83 (91,2)	0,194
Eventos tromboembólicos, n (%) ²				
IAM	25 (8,0)	8 (2,6)	17 (5,4)	0,010
AVC/AIT	41 (13,1)	6 (1,9)	35 (11,2)	0,788
TVP	2 (0,6)	0	2 (0,6)	1,000
TEP	3 (1,0)	1 (0,3)	2 (0,6)	0,354

DP, desvio padrão. AVC, acidente vascular encefálico. AIT, ataque isquêmico transitório. RNI, razão normalizada internacional. TTR, *time in therapeutic range*. IAM, infarto agudo do miocárdio. TVP, trombose venosa profunda. TEP, tromboembolismo pulmonar. 1 US dólar = 2,5 reais.¹Pacientes podiam apresentar uma ou mais indicações para uso da varfarina.²Pacientes podiam apresentar um ou mais eventos tromboembólicos.

Na comparação entre pacientes com TTR≤60% ou TTR>60%, observou-se que sexo, idade >60 anos, RNI alvo, tempo de acompanhamento, número de consultas anuais para controle de RNI, absenteísmo nas consultas para controle de RNI, número de ajustes de dose da varfarina, número de relatos de não administração da varfarina e ocorrência de hemorragia não grave estão associados com TTR dicotomizado. Enquanto que a média de medicamentos em uso crônico foi maior nos pacientes com TTR≤60% (Tabela 3).

Tabela 3 – Características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e farmacoterapêuticas da população do estudo de acordo com TTR ≤60% ou TTR >60%.

Características	Total (n=312)	TTR ≤ 60% (n=122)	TTR > 60% (n=190)	Valor p
Idade, média (DP)	60,4 (13,5)	58,8 (13,6)	61,4 (13,3)	0,095
Idade >60 anos, n (%)				
Sim	170(54,5)	57 (18,3)	113(36,2)	0,034
Não	142(45,5)	65 (20,8)	77 (24,7)	
Sexo, n (%)				
Feminino	187 (59,9)	86 (27,6)	101 (32,4)	0,003
Masculino	125 (40,1)	36 (11,5)	89 (28,5)	
Escolaridade –anos, média (DP)	4,9 (3,3)	5,0 (3,3)	4,9 (3,3)	0,843
Renda mensal familiar por pessoa – US dólares, média (DP)	269,0 (178,5)	250,3 (183,7)	281,0 (174,5)	0,144
Coabitação, n (%)				
Sim	280 (89,7)	106 (34,0)	174 (55,8)	0,256
Não	32 (10,2)	16 (5,1)	16 (5,1)	
Consumo excessivo de bebidas alcoólicas, n (%)				
Sim	5 (1,6)	106 (34,0)	174 (55,8)	1,000
Não	307 (98,4)	16 (5,1)	16 (5,1)	
Indicação da terapia anticoagulante, n (%) ¹				
Fibrilação/Flutter atrial	232 (74,4)	90 (28,85)	142 (45,5)	0,899
Prótese mecânica de valva cardíaca	118 (37,8)	50 (16,0)	68 (21,8)	0,394
Prevenção AVC/AIT secundário	45 (14,4)	19 (6,1)	26 (8,3)	0,745
RNI alvo, n (%)				
2,00-3,00	215 (68,9)	73 (23,4)	142 (45,5)	0,003
2,50-3,50	97 (31,1)	49 (15,7)	48 (15,4)	

Tabela 3 – Características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e farmacoterapêuticas da população do estudo de acordo com TTR ≤ 60% ou TTR > 60% (continuação).

Características	Total (n=312)	TTR ≤ 60% (n=122)	TTR > 60% (n=190)	Valor p
Duração da terapia anticoagulante– anos, média (DP)	5,1 (3,9)	4,6 (3,8)	5,4 (4,0)	0,092
Duração da terapia anticoagulante– dias, média (DP)	2022,2 (1424,6)	1856,9 (1379,8)	2128,3 (1446,2)	0,097
Tempo de acompanhamento– dias, média (DP)	1269,1 (598,8)	1145,3 (585,7)	1348,6 (595,2)	0,003
Tempo de acompanhamento– anos, n (%)				
0	4 (1,3)	2 (0,6)	2 (0,6)	0,112
1	18 (5,8)	11 (3,5)	7 (2,2)	
2	85 (27,2)	38 (12,2)	47 (15,1)	
3	69 (22,1)	27 (8,6)	42 (13,5)	
4	34 (10,9)	13 (4,2)	21 (6,7)	
5	44 (14,1)	17 (5,4)	27 (8,6)	
6	58 (18,6)	14 (4,5)	44 (14,1)	
Comorbidades, n (%)				
Hipertensão arterial sistêmica	190 (60,9)	74 (23,7)	116 (37,2)	1,000
Dislipidemia	114 (36,5)	49 (15,7)	65 (20,8)	0,342
Insuficiência cardíaca	100 (32,0)	45 (14,4)	55 (17,6)	0,170
Diabetes mellitus	41 (13,1)	16 (5,1)	25 (8,0)	1,000
Neoplasia ativa	4 (1,3)	3 (1,0)	1 (0,3)	0,303
Disfunção hepática grave	1 (0,3)	1 (0,3)	-	0,376
Medicamentosos uso crônico, média (DP)	5,9 (2,0)	6,2 (2,1)	5,6 (2,0)	0,012
Medicamentos, n (%)				
Polifarmácia	229 (73,4)	96 (30,7)	133 (42,6)	0,119
Sinvastatina	139 (44,5)	53 (16,9)	86 (27,6)	0,823
Amiodarona	33 (10,6)	9 (2,8)	24 (7,6)	0,192
Carbamazepina	4 (1,3)	2 (0,6)	2 (0,6)	1,000
Fenitoína	4 (1,3)	2 (0,6)	2 (0,6)	1,000
Consultas anuais controle de RNI, média (DP)	10,7 (2,4)	11,4 (2,7)	10,2 (2,0)	<0,001
Absenteísmo, n (%)	253 (81,1)	108 (34,6)	145 (46,5)	<0,001
Relato de não administração da varfarina, n (%)	173 (55,5)	86 (27,6)	87 (27,9)	<0,001
Ajustes anuais de dose da varfarina, média (DP)	3,3 (1,8)	4,5 (1,7)	2,5 (1,5)	<0,001
Auxílio para administração da varfarina, n (%)	36 (11,5)	18 (5,8)	18 (5,8)	0,199
Dose de varfarina, n (%)	312 (100)	32,8 (18,3)	29,6 (13,5)	0,105
< 17,5 mg/semana	40 (12,8)	14 (4,5)	26 (8,3)	0,597
≥ 70 mg/semana	9 (2,9)	5 (1,6)	4 (1,3)	0,490
TTR, n (%)	312 (100)	49,6 (9,9)	72,1 (8,1)	<0,001
≤ 60%	122 (39,1)	122 (39,1)	-	-
≥ 75%	64 (20,5)	-	64 (20,5)	-
Hemorragia, n (%)				
Grave	2 (0,6)	1 (0,3)	1 (0,3)	1,000
Não grave clinicamente relevante	0	-	-	-
Não grave	91 (29,2)	44 (48,4)	47 (51,6)	0,044
Eventos tromboembólicos, n (%) ²				
IAM	25 (8,0)	10 (3,2)	15 (4,8)	1,000
AVC/AIT	41 (13,1)	17 (5,4)	24 (7,7)	0,849
TVP	2 (0,6)	1 (0,3)	1 (0,3)	1,000
TEP	3 (1,0)	1 (0,3)	2 (0,6)	1,000

DP, desvio padrão. AVC, acidente vascular encefálico. AIT, ataque isquêmico transitório. RNI, razão normalizada internacional. TTR, *time in therapeutic range*. IAM, infarto agudo do miocárdio. TVP, trombose venosa profunda. TEP, tromboembolismo pulmonar. 1 US dólar = 2,5 reais.¹Pacientes podiam apresentar uma ou mais indicações para uso da varfarina.²Pacientes podiam apresentar um ou mais eventos tromboembólicos.

Na comparação entre pacientes com TTR ≥ 75% ou TTR < 75%, observou-se que sexo, prótese mecânica de válvula cardíaca, RNI alvo, tempo de acompanhamento, número de consultas anuais para controle de RNI, absenteísmo nas consultas para controle de RNI, número de ajustes de dose da varfarina e número de relatos de não administração da varfarina estão associados com TTR dicotomizado. Enquanto que a dose média semanal de varfarina foi maior nos pacientes com TTR < 75% (Tabela 4).

Tabela 4 – Características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e farmacoterapêuticas da população do estudo em pacientes com TTR \geq 75%ou TTR<75%.

Características	Total (n=312)	TTR \geq 75% (n=64)	TTR < 75% (n=248)	Valor p
Idade, média (DP)	60,4 (13,5)	59,8 (14,4)	60,5 (13,3)	0,743
Idade >60 anos, n (%)	170(54,5)	36(11,5)	134(42,9)	0,785
Sexo, n (%)				
Feminino	187 (59,9)	31(9,9)	156(50,0)	0,047
Masculino	125 (40,1)	33(10,6)	92(29,5)	
Escolaridade – anos, média (DP)	4,9 (3,3)	5,3 (3,4)	4,8 (3,2)	0,277
Renda mensal familiar por pessoa – US dólares, média (DP)	269,0 (178,5)	266,7(161,9)	269,5(182,8)	0,904
Coabitação, n (%)	280 (89,7)	59(18,9)	221(70,8)	0,493
Consumo excessivo de bebidas alcoólicas, n (%)	5 (1,6)	-	5(1,6)	0,378
Indicação da terapia anticoagulante, n (%) ¹				
Fibrilação/Flutter atrial	232 (74,4)	50(16,0)	182(58,3)	0,540
Prótese mecânica de valva cardíaca	118 (37,8)	16(5,1)	102(32,7)	0,023
Prevenção AVC/AIT secundário	45 (14,4)	8(2,6)	37(11,9)	0,696
RNI alvo, n (%)				
2,00-3,00	215 (68,9)	56(17,9)	159 (51,0)	<0,001
2,50-3,50	97 (31,1)	8(2,6)	89(28,5)	
Duração da terapia anticoagulante– anos, média (DP)	5,1 (3,9)	5,9 (4,7)	0-28(3;5;8)	0,119
Duração da terapia anticoagulante– dias, média (DP)	2022,2 (1424,6)	1457,7 (599,3)	1220,4 (590,2)	0,151
Tempo de acompanhamento– dias,média (DP)	1269,1 (598,8)	2292,0 (1748,6)	1952,6 (1323,5)	0,006
Tempo de acompanhamento– anos, n (%)				
0	4 (1,3)	1 (0,3)	3 (1,0)	0,115
1	18 (5,8)	3 (1,0)	15 (4,8)	
2	85 (27,2)	9 (2,9)	76 (24,4)	
3	69 (22,1)	14 (4,5)	55 (17,6)	
4	34 (10,9)	8 (2,6)	26 (8,3)	
5	44 (14,1)	11 (3,5)	33 (10,6)	
6	58 (18,6)	18 (5,8)	40 (12,8)	
Comorbidades, n (%)				
Hipertensão arterial sistêmica	190 (60,9)	40(12,8)	150(48,1)	0,770
Dislipidemia	114 (36,5)	23(7,4)	91 (29,2)	1,000
Insuficiência cardíaca	100 (32,0)	21(6,7)	79(25,3)	1,000
Diabetes mellitus	41 (13,1)	12(3,8)	29(9,3)	0,145
Neoplasia ativa	4 (1,3)	-	4(1,3)	0,603
Disfunção hepática grave	1 (0,3)	-	1(0,3)	1,000
Medicamentosos uso crônico, média (DP)	5,9 (2,0)	5,9 (2,13)	5,8 (2,03)	0,614
Medicamentos, n (%)				
Polifarmácia	229 (73,4)	48(15,4)	181(58,0)	0,757
Sinvastatina	139 (44,5)	28 (9,0)	111(35,6)	0,906
Amiodarona	33 (10,6)	9(2,9)	24(7,7)	0,358
Carbamazepina	4 (1,3)	-	4(1,3)	0,575
Fenitoína	4 (1,3)	-	4(1,3)	0,573
Consultas anuais controle de RNI, média (DP)	10,7 (2,4)	9,3 (1,6)	11,1 (2,4)	<0,001
Absenteísmo, n (%)	253 (81,1)	39 (12,5)	214 (68,6)	0,000
Relato de não administração da varfarina, n (%)	173 (55,5)	18 (5,7)	155 (49,7)	0,000
Ajustes anuais de dose da varfarina, média (DP)	3,3 (1,8)	1,6 (0,9)	3,7 (1,7)	<0,001
Auxílio para administração da varfarina, n (%)	36 (11,5)	4 (1,3)	32 (10,3)	0,178
Dose de varfarina (mg/semana)	312 (100)	27,4 (13,0)	31,8 (16,1)	0,024
< 17,5 mg/semana, n (%)	40 (12,8)	11 (3,5)	29 (9,3)	0,293
\geq 70 mg/semana, n (%)	9 (2,9)	1 (0,3)	8 (2,6)	0,693
TTR, n (%)	312 (100)	81,3 (5,2)	58,7(11,7)	<0,001
\leq 60%	122 (39,1)	-	122 (39,1)	-
\geq 75%	64 (20,5)	64 (20,5)	248 (79,5)	<0,001
Hemorragia, n (%)				
Grave	2 (0,6)	1(0,3)	1(0,3)	1,000
Não grave clinicamente relevante	0	-	-	-
Não grave	91 (29,2)	13 (14,2)	78 (86,8)	0,084
Eventos tromboembólicos, n (%) ²				
IAM	25 (8,0)	7 (2,2)	18 (5,8)	0,431
AVC/AIT	41 (13,1)	8 (2,6)	33 (10,6)	1,000
TVP	2 (0,6)	1(0,3)	1(0,3)	0,349
TEP	3(1,0)	1(0,3)	2 (0,6)	1,000

DP, desvio padrão. AVC, acidente vascular encefálico. AIT, ataque isquêmico transitório. RNI, razão normalizada internacional. TTR, *time in therapeutic range*. IAM, infarto agudo do miocárdio. TVP, trombose venosa profunda. TEP, tromboembolismo pulmonar. 1 US dólar = 2,5 reais.¹Pacientes podiam apresentar uma ou mais indicações para uso da varfarina.²Pacientes podiam apresentar um ou mais eventostromboembólicos.

5.2 Comparações das séries históricas de variáveis relativas ao tratamento com varfarina por ano de acompanhamento.

Todas as variáveis foram analisadas quanto a sua distribuição ao longo do acompanhamento da coorte e apresentaram um comportamento similar, com exceção do primeiro ano em que poucos indivíduos foram assistidos (n=15). Nota-se assimetria à direita na distribuição de grande parte das variáveis, em todos os anos de acompanhamento (Figura 3).

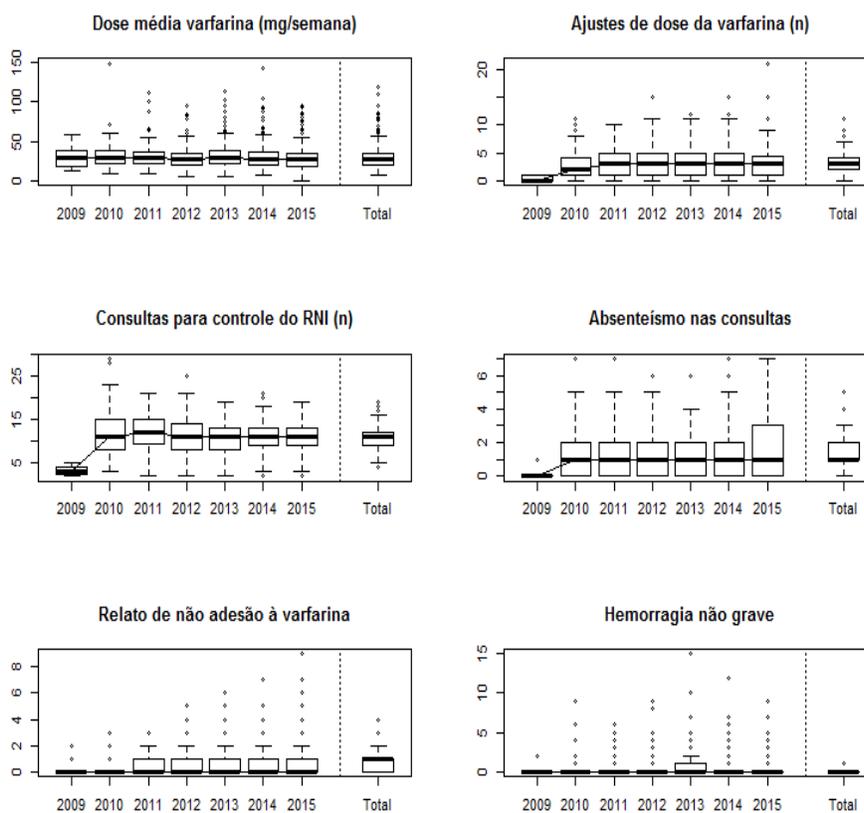


Figura 3 – Distribuição das variáveis relativas ao tratamento com varfarina por ano de acompanhamento.

5.3 Correlações das séries históricas dos diferentes métodos de cálculo do TTR por ano de acompanhamento ao longo do tempo e sua correlação

Os valores do TTR mostraram comportamento homogêneo ao longo do tempo e estão altamente correlacionados em todos os anos avaliados ($p < 0,01$) (Figura 4).

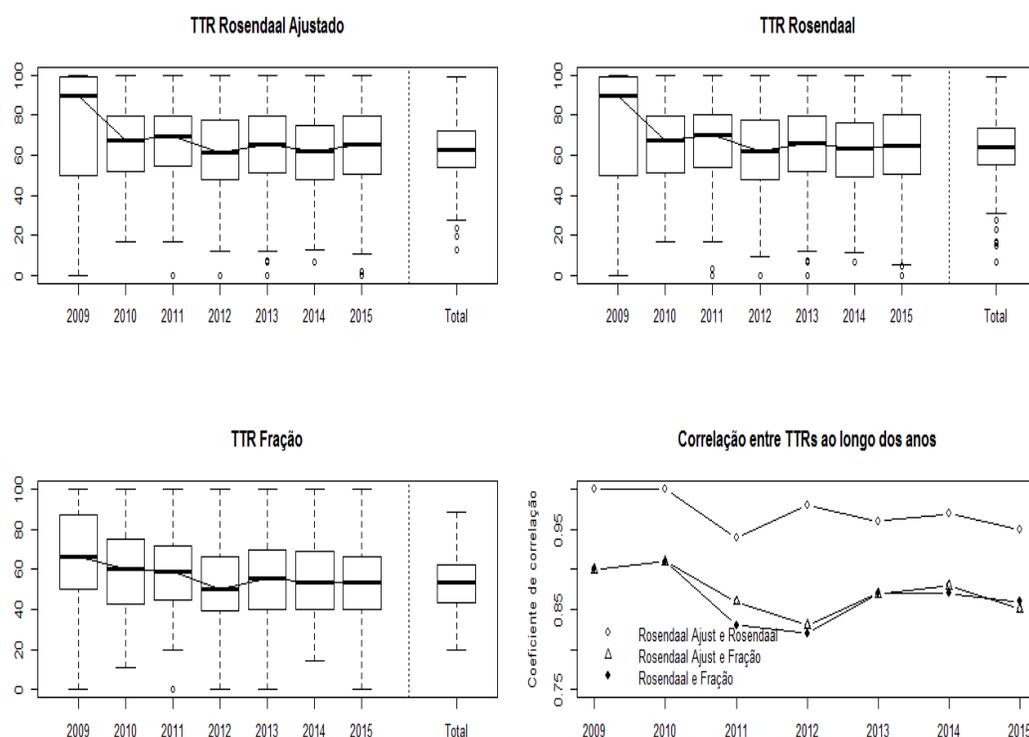


Figura 4 – Distribuição e correlação do TTR calculado por diferentes métodos, ao longo do tempo.

5.4 Características genéticas da população estudada

Todos os polimorfismos estavam sob o equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,025$). A avaliação da relação entre os genótipos estudados, a dose média semanal de varfarina e o TTR mostrou relações significativas e não significativas.

Os polimorfismos do gene *CYP2C9* não mostraram relação com o TTR ($p = 0,547$), porém com a dose média de varfarina observou-se que metabolizadores extensivos (*CYP2C9* *1/*1) necessitaram de doses maiores de varfarina do que indivíduos metabolizadores intermediários

(CYP2C9 *1/*2 ou *1/*3) e fracos (CYP2C9 *2/*2 ou *3/*3 ou *2/*3) ($p < 0,001$). A análise da relação entre os genótipos CYP2C9*2 e CYP2C9*3, a dose média semanal de varfarina e o TTR se encontra nas Tabelas 5 e 6.

Para o polimorfismo -G1639A VKORC1, quando o modelo de herança recessiva [AA x (GA + GG)] foi analisado, pacientes com genótipo AA utilizaram doses menores de varfarina (19,0mg/semana vs. 32,2mg/semana, $p < 0,001$) e apresentaram TTR maior (68,2% vs. 62,8%, $p = 0,017$). Considerando o modelo de herança dominante [GG vs. (GA + AA)], também observamos que aqueles pacientes com um ou dois alelos A necessitam de doses menores de varfarina (25,3mg/semana vs. 36,9mg/semana, $p < 0,001$). A dose média semanal de varfarina variou consideravelmente entre os genótipos GG, GA e AA ($p < 0,001$). A análise da relação entre os genótipos -G1639A VKORC1, a dose média semanal de varfarina e o TTR se encontra nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 – Frequência dos genótipos CYP2C9 e VKORC1 em relação ao TTR e à dose média semanal de varfarina.

Genótipos	n (%)	n (%) quando TTR ≤60%	Valor p	n (%) quando TTR ≥75%	Valor p	n (%) quando dose média <17,5 (mg/semana)	Valor p
CYP2C9							
*1/*1	227 (72,8)	88 (28,2)	0,868	45 (14,4)	0,926	22 (7,0)	0,002
*1/*2 + *1/*3	77 (24,7)	30 (9,6)		17 (5,4)		14 (4,9)	
*2/*2 + *2/*3 + *3/*3	8 (2,6)	4 (1,3)		2 (0,6)		4 (1,3)	
*1/*1	227 (72,8)	88 (28,2)	0,899	45 (14,4)	0,626	22 (7,0)	0,007
Não *1/*1	85 (27,2)	34 (10,9)		19 (6,1)		18 (5,8)	
*1/*2	51 (16,3)	106 (34,0)	0,284	13 (4,2)	0,339	8(2,6)	0,647
Não *1/*2	261 (83,6)	16 (5,1)		51 (16,3)		32 (10,3)	
*1/*3	26 (8,3)	14 (4,5)	0,154	4 (1,3)	0,622	6 (1,9)	0,110
Não *1/*3	286 (91,7)	108 (34,6)		60 (19,2)		34 (10,9)	
*2/*2	4 (1,3)	3 (1,0)	0,299	1 (0,3)	1,000	2 (0,6)	0,088
Não *2/*2	308 (98,7)	119 (38,1)		63 (20,2)		38(12,2)	
*2/*3	3 (1,0)	1 (0,3)	1,000	1 (0,3)	1,000	1 (0,3)	0,343
Não *2/*3	309 (99,0)	121 (38,8)		63 (20,2)		39 (12,5)	
*3/*3	1 (0,3)	0	1,000	0	1,000	1 (0,3)	0,135
Não *3/*3	311(99,7)	122 (39,10)		64 (20,5)		39 (12,5)	
*2	62 (9,9)	23 (3,7)	0,536	16 (2,6)	0,479	13 (2,1)	0,002
*3	31 (5,0)	15 (2,4)		5 (0,8)		9 (1,4)	
*1	531 (85,1)	206 (33,0)		107 (17,1)		58 (9,3)	
VKORC1							
GG	149 (47,8)	61 (19,5)	0,415	25 (8,0)	0,089	7 (2,2)	<0,001
GA	131 (42,0)	52 (16,7)		28 (9,0)		15(4,8)	
AA	32 (10,2)	9 (2,9)		11 (3,5)		18 (5,8)	
GG	149(47,8)	61 (19,5)	0,563	25 (8,0)	0,122	7 (2,2)	<0,001
GA + AA	163 (52,2)	61 (19,5)		39 (12,5)		33(10,6)	
AA	32 (10,2)	9 (2,9)	0,167	11 (3,5)	0,064	18 (5,8)	<0,001
GA + GG	280 (89,7)	113 (36,2)		53 (17,0)		22 (7,0)	
G	429 (68,8)	174 (27,9)	0,269	78 (12,5)	0,032	29 (4,6)	<0,001
A	195 (31,3)	70 (11,2)		50 (8,0)		51 (8,2)	

Tabela 6 – Análise da relação entre os genótipos CYP2C9 e VKORC1 com TTR e dose média semanal de varfarina.

Genótipos	TTR % Média (DP)	Valor p	Dose média varfarina (mg/semana)	Valor p
CYP2C9				
*1/*1	63,5 (14,4)	0,547	33,0 (15,0)	< 0,001 ¹
*1/*2 + *1/*3	63,4 (12,6)		25,9 (16,1)	
*2/*2 + *2/*3 + *3/*3	58,1 (19,8)		17,3 (7,5)	
VKORC1				
GG	62,8 (13,4)	0,155	36,9 (18,4)	< 0,001 ²
GA	62,7 (15,3)		26,9 (9,2)	
AA	68,2 (11,4)		19,0 (8,6)	
GG	62,8 (13,4)	0,525	36,9 (18,4)	< 0,001
GA + AA	63,8 (14,7)		25,3 (9,6)	
AA	68,2 (11,4)	0,017	19,0 (8,6)	< 0,001
GA + GG	62,8 (14,3)		32,2 (15,6)	

¹Teste de Dunnet p<0,05 para todos, referência *1/*1, ² Teste de Dunnet p<0,05 para todos, referência GG. DP = desvio padrão.

5.5 Relação entre dose média semanal de varfarina e fatores genéticos e não genéticos

Inicialmente, foi realizada a análise univariada, tendo como variável dependente a dose média semanal de varfarina. As variáveis com valor $p < 0,20$ incluídas no modelo de regressão preliminar foram: idade (anos), educação (anos), hipertensão arterial sistêmica (sim/não), dislipidemia (sim/não), diabetes mellitus (sim/não), uso de carbamazepina (sim/não), fibrilação atrial/flutter (sim/não), prótese mecânica de valva cardíaca (sim/não), RNI alvo (2,00-3,00 ou 2,50-3,50), TTR (%), IAM (sim/não), TVP (sim/não), genótipo CYP2C9 [1/1 vs. (1/2 ou 1/3) vs. (2/2 ou 2/3 ou 3/3) e genótipo VKORC1 (GG vs. GA vs. AA)]. Inicialmente, utilizou-se o modelo de regressão linear múltipla. No entanto, diversas suposições quanto à estrutura dos resíduos não foram respeitadas, o que contra indica a utilização deste modelo. Como a dose semanal de varfarina é uma variável que não assume valores negativos, é contínua e tem distribuição assimétrica, a distribuição gama é uma candidata natural para modelar esta variável. Logo, o modelo de distribuição gama foi testado e utilizado. Pois, além de apresentar coeficientes significativos (diferentes de zero), o modelo apresentou boa qualidade de ajuste e respeito às suposições. O modelo de regressão gama final está apresentado na Tabela 7.

Tabela 7 – Variáveis que compõem o modelo de regressão gama para a dose média semanal de varfarina.

Termo	Coefficiente estimado	Erro padrão do coeficiente	Valor t	Valor p
Intercepto	50,080	3,035	16,50	< 0,001
Idade (anos)	-0,172	0,049	-3,52	< 0,001
Hipertensão arterial sistêmica	3,369	1,179	2,86	0,005
Diabetesmellitus	4,409	1,958	2,25	0,025
RNI alvo 2,00-3,00	-6,890	1,573	-4,38	< 0,001
VKORC1 GA	-8,211	1,381	-5,95	< 0,001
VKORC1 AA	-16,054	1,608	-9,98	< 0,001
CYP2C9 1/2 ou 1/3	-5,890	1,233	-4,78	< 0,001
CYP2C9 2/2 ou 2/3 ou 3/3	-12,905	2,404	-5,37	< 0,001

RNI, razão normalizada internacional.

A equação derivada do modelo é a seguinte: dose média semanal de varfarina (mg) = 50,08 - 0,172 x (idade em anos) + 3,369 x (1, se o paciente tem hipertensão arterial sistêmica, caso contrário 0) + 4,409 x (1, se o paciente tem diabetes mellitus, caso contrário 0) - 6,890 x (1, se RNI alvo entre 2,00-3,00, caso contrário 0) - 8,211 x (1, se genótipo VKORC1 GA, caso contrário 0) - 16,054 (1, se genótipo VKORC1 AA, outro 0) - 5,890 (1, se genótipo CYP2C9 1/2 ou 1/3, caso contrário 0) - 12,905 (1, se genótipo CYP2C9 2/2 ou 2/3 ou 3/3, caso contrário 0).

Observa-se na Tabela 7 que para cada aumento de dez anos na idade, a dose de varfarina reduz 1,72 mg. A presença de um ou dois alelos para o polimorfismo VKORC1 -1639G>A reduz a dose de varfarina semanal em 8,2 e 16,1 mg, respectivamente, o que corresponde a uma redução de 16,4% e 32,1% da dose utilizada por pacientes com alelos selvagens em homozigose. Comportamento semelhante é observado em indivíduos metabolizadores intermediários (CYP2C9 *1/*2 ou *1/*3) e fracos (CYP2C9 *2/*2 ou *3/*3 ou *2/*3), que utilizam doses menores 5,9 e 12,9 mg menores, respectivamente, o que corresponde a uma redução de 11,8% e 25,8% da dose utilizada por pacientes com alelos selvagens em homozigose. Pacientes com meta terapêutica do RNI entre 2,00-3,00 utilizam 6,9 mg menos de varfarina do que aqueles com alvo entre 2,50-3,50. Contudo, pacientes com hipertensão arterial sistêmica e diabetes mellitus têm aumento da dose semanal necessária de varfarina em cerca de 3,4 e 4,4 mg, respectivamente.

O poder preditivo do modelo foi baixo para sua utilização na predição de doses iniciais de varfarina (pseudo $R^2=0,44$), indicado pela Figura 5, que apresenta a relação entre os valores reais de dose e aqueles estimados pelo modelo. Esperava-se que a maioria dos pontos estivesse sobre a reta indicando uma boa qualidade do ajuste, mas o que se nota é uma grande dispersão em torno da reta.

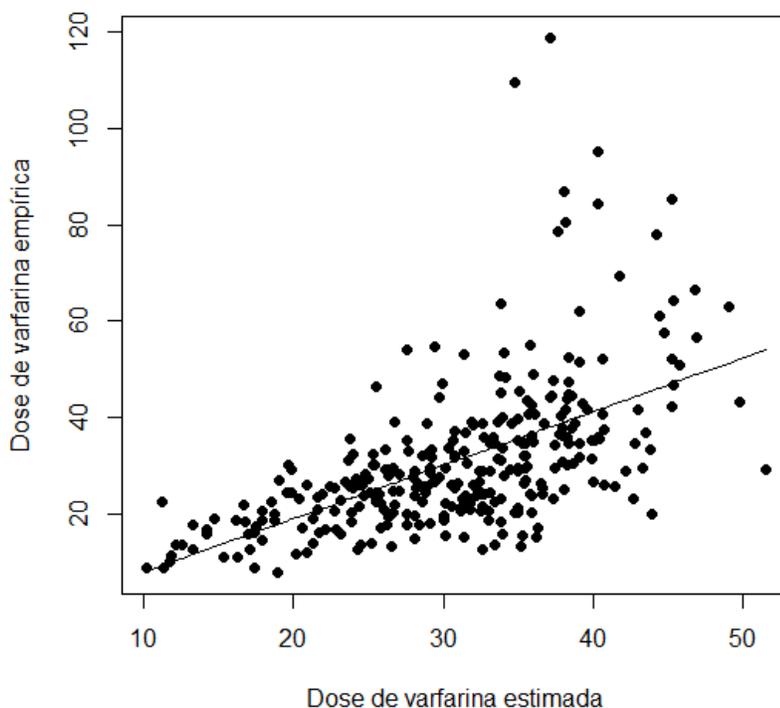


Figura 5 – Relação entre valores observados e estimados para a dose de varfarina.

5.6 Relação entre dose média de varfarina < 17,5 mg/semana e fatores genéticos e não genéticos

Tomando a dose média de varfarina <17,5 mg/semana como variável dependente, as seguintes variáveis com valor $p < 0,20$ na análise univariada foram incluídas no modelo de regressão inicial: idade (anos), coabitação (sim/não), prótese mecânica de valva cardíaca (sim/não), eventos hemorrágicos não graves (n), tromboembolismo (sim/não), infarto agudo do miocárdio (sim/não), genótipo da *VKORC1* (GG vs. GA vs. AA) e genótipo *CYP2C9* [1/1 vs.(1/2 ou 1/3)vs.(2/2 ou 2/3 ou 3/3)]. O modelo de regressão logística final que incluiu somente variáveis com coeficientes diferentes de zero está apresentado na Tabela 8.

Tabela 8 – Variáveis que compõem o modelo de regressão logística para dose média de varfarina <17,5 mg/semana.

Termo	Coefficiente estimado	Erro padrão do coeficiente	Valor z	Valor p	Razão de chances (95% IC)
Intercepto	-4,312	0,616	-7,00	< 0,001*	-
RNI 2,00 a 3,00	1,297	0,524	2,47	0,013*	3,66 (1,40-11,24)
VKORC1 GA	0,887	0,493	1,80	0,072	2,43 (0,95-6,74)
VKORC1 AA	3,476	0,557	6,25	< 0,001*	32,34 (11,39-102,91)
CYP2C9 1/2 + 1/3	0,561	0,439	1,28	0,202	1,75 (0,72-4,10)
CYP2C9 2/2 + 2/3 + 3/3	2,730	0,825	3,31	< 0,001*	15,34 (2,99-82,78)

RNI, razão normalizada internacional. A classe de referência do modelo foi a dose média de varfarina $\geq 17,5$ mg/semana e as razões de chance são de pertencer ao grupo dose média de varfarina <17,5 mg/semana em relação à classe de referência.

A equação derivada do modelo é a seguinte: $\logaritmo\ natural\ (dose\ média\ semanal\ de\ varfarina\ <17,5mg/dose\ média\ semanal\ de\ varfarina\ \geq 17,5mg) = -4,312 + 1,297 \times (1, se\ RNI\ alvo\ entre\ 2,00\ e\ 3,00,\ caso\ contrário\ 0) + 0,887 \times (1, se\ genótipo\ VKORC1\ GA,\ caso\ contrário\ 0) + 3,476 (1, se\ genótipo\ VKORC1\ AA,\ caso\ contrário\ 0) + 0,561 (1, se\ genótipo\ CYP2C9\ 1/2\ ou\ 1/3,\ caso\ contrário\ 0) + 2,730 (1, se\ genótipo\ CYP2C9\ 2/2\ ou\ 2/3\ ou\ 3/3,\ caso\ contrário\ 0)$.

A transformação dos coeficientes da regressão nos informa a RC associada a cada variável. Indivíduos com RNI alvo entre 2,00-3,00 têm chance 2,66 vezes maior de usarem dose média de varfarina <17,5mg/semana do que aqueles com RNI alvo entre 2,50-3,50. A presença dos alelos polimórficos CYP2C9 e VKORC1 aumenta a chance de baixa dose, sendo que há um efeito dependente do número de cópias alélicas. Indivíduos com genótipos que incluem combinações dos alelos 2 e 3 da CYP2C9 têm chance 14,3 vezes maior de usarem dose média de varfarina <17,5mg/semana e aqueles com homozigose de AA do VKORC1 têm chance 31,3 vezes maior de usarem dose média de varfarina <17,5mg/semana (Tabela 8).

A curva ROC do modelo apresentou área sobre a curva de 82,8% (75,4%-90,3%) e o valor de corte escolhido foi de 0,18, com sensibilidade de 67,5% e especificidade de 87,5% (Figura 6).

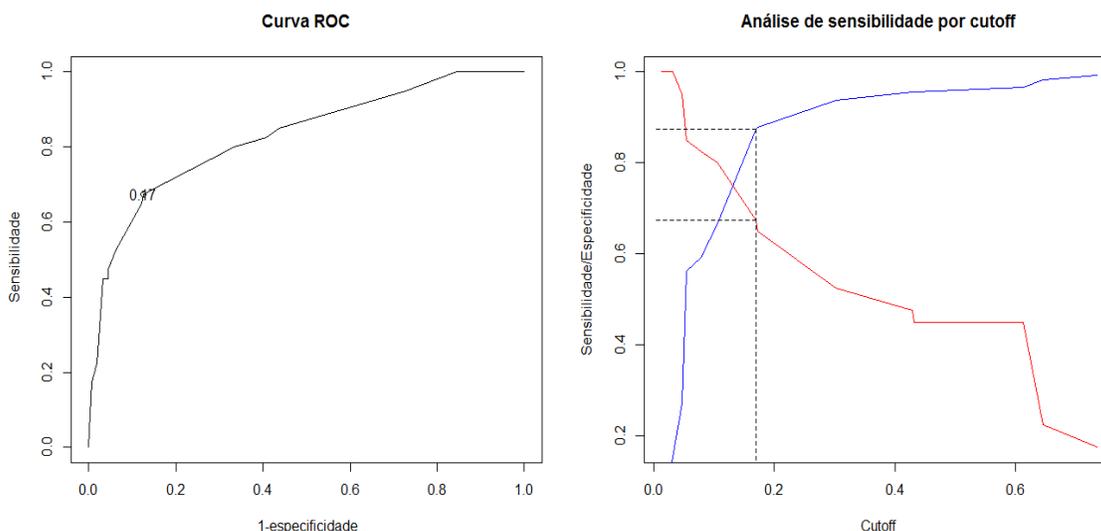


Figura 6 – Análise de sensibilidade e especificidade do modelo de regressão logística para dose média de varfarina <17,5 mg/semana. Linha vermelha representa a sensibilidade e linha azul representa a especificidade.

5.7 Relação entre TTR e fatores genéticos não genéticos

Inicialmente, foi realizada uma análise univariada, tendo como variável dependente o TTR. As variáveis com valor $p < 0,20$ incluídas no modelo de regressão preliminar foram: idade >60 anos (sim/não), sexo (masculino/feminino), renda (US\$), tempo de acompanhamento (dias), polifarmácia (sim/não), medicamentos em uso crônico (n), uso de carbamazepina (sim/não), duração da terapia com varfarina (dias), relato de não administração da varfarina (n), RNI alvo (2,00-3,00 ou 2,50-3,50), consultas para controle do RNI (n), absenteísmo (n), ajustes de dose da varfarina (n), dose média de varfarina (mg/semana), hemorragia não grave (n) e genótipo VKORC1 (GG vs. GA vs. AA) e genótipo CYP2C9 [1/3 vs. (1/1 + 1/2 + 2/2 + 2/3 + 3/3)]. Inicialmente, utilizou-se o modelo de regressão linear múltipla. No entanto, diversas suposições quanto à estrutura dos resíduos não foram respeitadas, o que contra indica a utilização deste modelo. Como o TTR é uma variável que não assume valores negativos, é contínua e tem distribuição assimétrica, a distribuição gama é uma candidata natural para modelar esta variável. Logo, o modelo de distribuição gama foi testado e utilizado. Pois, além de apresentar coeficientes significativos, o modelo apresentou boa qualidade de ajuste e respeito às suposições. O modelo de regressão gama final está apresentado na Tabela 9.

Tabela 9 – Variáveis que compõem o modelo de regressão gama para TTR.

Termo	Coefficiente estimado	Erro padrão do coeficiente	Valor t	Valor p
Renda (US\$)	0,004	0,002	2,379	0,018
Tempo de acompanhamento (dias)	0,005	0,001	4,116	< 0,001
Relato de não administração da varfarina (n)	-2,942	0,826	-3,561	< 0,001
Ajustes da dose de varfarina (n)	-2,930	0,339	-8,641	< 0,001
RNI alvo entre 2,00-3,00	67,774	2,384	28,427	< 0,001
RNI alvo entre 2,50-3,50	63,643	2,865	22,217	< 0,001

RNI, razão normalizada internacional.

A equação derivada do modelo é a seguinte: $TTR (\%) = 0,004 \times (\text{renda em US\$}) + 0,005 \times (\text{tempo de acompanhamento do paciente em dias}) - 2,942 \times (\text{número de relatos de não administração da varfarina}) - 2,930 \times (\text{número de ajustes de dose da varfarina}) + 67,774 \times (1, \text{ se RNI alvo entre } 2,00-3,00, \text{ caso contrário } 0) + 63,643 \times (1, \text{ se RNI alvo entre } 2,50-3,50, \text{ caso contrário } 0)$.

A Tabela 9 mostra que para cada relato de não administração da varfarina e para cada ajuste de dose da varfarina realizado pelos profissionais de saúde, o TTR reduz em aproximadamente três unidades ou 3%, enquanto que um aumento do TTR é esperado quando há aumento da renda familiar por pessoa ou aumento do tempo de acompanhamento do paciente no ambulatório. Para cada ano de seguimento do indivíduo no ambulatório o TTR aumenta em 1,8 unidades ou 1,8%. Em relação à meta do RNI, observou-se que pacientes com meta entre 2,00-3,00 apresentam TTR 4,1 unidades maior em relação àqueles com RNI entre 2,50-3,50.

O poder preditivo do modelo foi baixo (pseudo $R^2 = 0,30$), o que é indicado pela Figura 7 que apresenta a relação entre os valores reais de TTR e aqueles estimados pelo modelo. Esperava-se que a maioria dos pontos estivesse sobre a reta indicando uma boa qualidade do ajuste, mas o que se nota é uma grande dispersão em torno da reta.

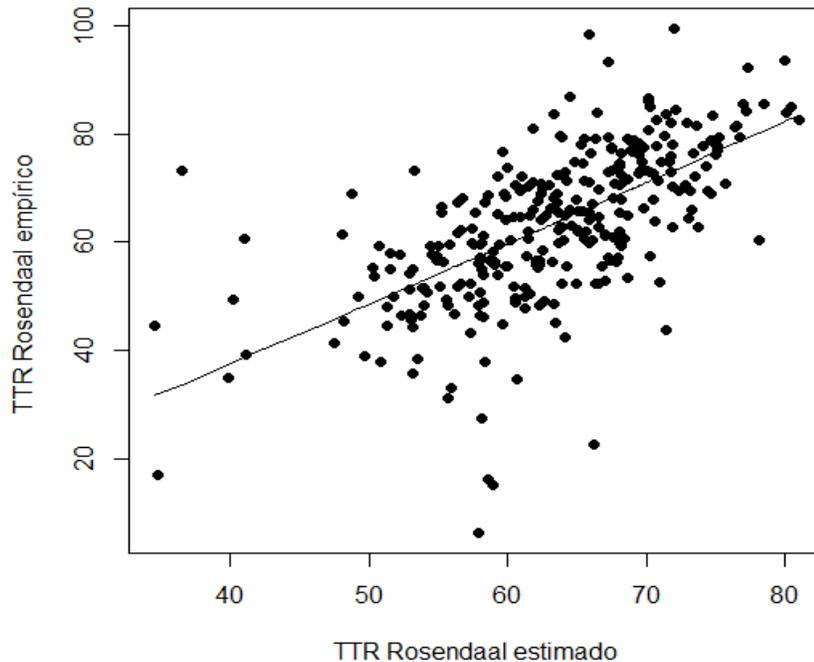


Figura 7 – Relação entre valores observados e estimados para o TTR Rosendaal.

5.8 Relação entre $TTR \leq 60\%$ e fatores genéticos e não genéticos

Tomando o $TTR \leq 60\%$ como variável dependente, as seguintes variáveis com valor $p < 0,20$ na análise univariada foram incluídas no modelo de regressão inicial: idade > 60 anos (sim/não), sexo, renda (US\$), insuficiência cardíaca (sim/não), tempo de acompanhamento (dias), polifarmácia (sim/não), medicamentos em uso (n), uso de amiodarona (sim/não), duração da terapia com varfarina (dias), auxílio de terceiros para administração de varfarina (sim/não), relato de não administração da varfarina (n), RNI alvo (2,00-3,00 ou 2,50-3,50), número de consultas para controle do RNI (n), absentéismo (n), ajustes de dose da varfarina (n), dose média de varfarina (mg/semana), eventos hemorrágicos não graves (n), genótipo VKORC1 [AA vs. (GA + GG)]. O modelo de regressão logística que incluiu somente variáveis com coeficientes diferentes de zero está apresentado na Tabela 10.

Tabela 10 – Estatísticas do modelo de regressão logística para $TTR \leq 60\%$.

Termo	Coefficiente estimado	Erro padrão do coeficiente	Valor z	Valor p	Razão de chances (95% IC)
Intercepto	-4,392	0,507	-8,66	< 0,001	-
Relato de não administração da varfarina (n)	0,471	0,190	2,48	0,013	1,60 (1,11 - 2,35)
Ajustes de dose da varfarina (n)	0,842	0,116	7,24	< 0,001	2,32 (1,87 - 2,96)
Absenteísmo (n)	0,507	0,162	3,14	0,002	1,66 (1,22 - 2,30)

A classe de referência do modelo foi o $TTR > 60\%$ e as razões de chance são de pertencer ao grupo $TTR \leq 60\%$ em relação à classe de referência.

A equação derivada do modelo é a seguinte: $\ln(TTR \leq 60\% / TTR > 60\%) = -4,392 + 0,471 \times (\text{número de relatos de não administração da varfarina}) + 0,842 \times (\text{número de ajustes de dose da varfarina}) + 0,507 \times (\text{número de faltas nas consultas para controle do RNI})$.

A cada novo relato de não administração da varfarina a chance do indivíduo ter o $TTR \leq 60\%$, em relação à chance de ser $TTR > 60\%$, aumenta, aproximadamente, uma vez. Aumento similar é visto a cada consulta que o paciente deixa de comparecer no ambulatório de anticoagulação. A cada novo ajuste de dose de varfarina realizada a chance de se tornar do grupo $TTR \leq 60\%$ é 1,3 vezes maior (Tabela 10).

A curva ROC do modelo apresentou área sobre a curva de 86,6%, com intervalo de confiança de 95% entre 82,4%-90,7% e o valor de corte escolhido foi de 0,37 que gera sensibilidade de 87,7% e especificidade de 76,8% (Figura 8).

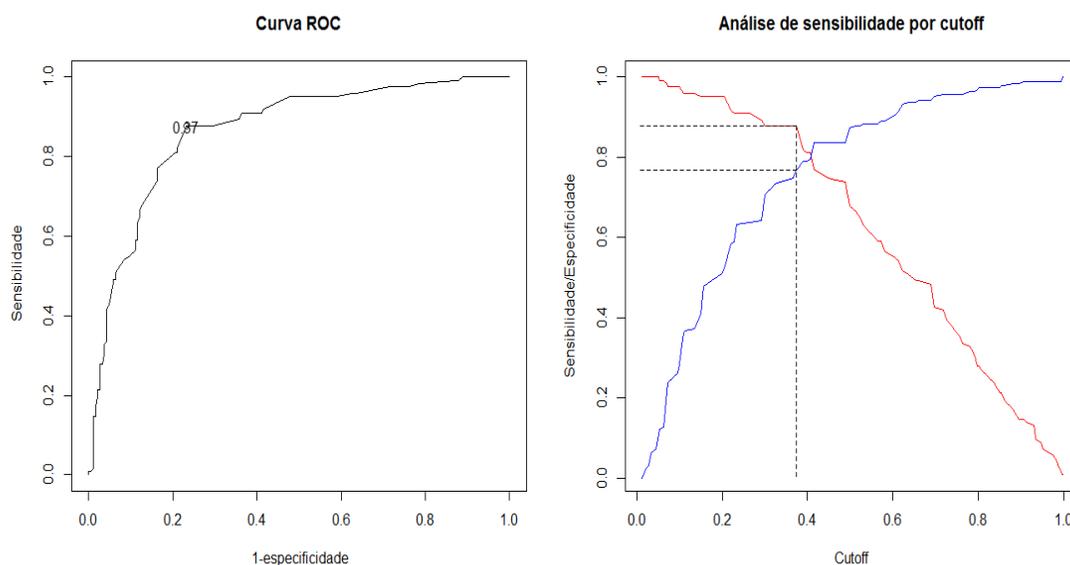


Figura 8 – Análise de sensibilidade e especificidade do modelo de regressão logística para $TTR \leq 60\%$. Linha vermelha representa a sensibilidade e linha azul representa a especificidade.

5.9 Relação entre $TTR \geq 75\%$ e fatores genéticos e não genéticos

Tomando o $TTR \geq 75\%$ como variável dependente, as seguintes variáveis com valor $p < 0,20$ na análise univariada foram incluídas no modelo de regressão inicial: sexo, diabetes mellitus (sim/não), tempo de acompanhamento (dias), duração da terapia com varfarina (dias), auxílio de terceiros para a administração de varfarina (sim/não), relato de não administração da varfarina (n), prótese mecânica de valva cardíaca (sim/não), RNI (2,00-3,00 ou 2,50-3,50), consultas para o controle da RNI (n), absenteísmo (n), ajustes de dose da varfarina (n), dose média de varfarina (mg/semana), genótipos do VKORC1 (AA vs. GA vs. GG) e presença do alelo CYP2C912 (sim/não). O modelo de regressão logística que incluiu somente variáveis com coeficientes diferentes de zero está apresentado na Tabela 11.

Tabela 11 – Estatísticas do modelo de regressão logística para TTR $\geq 75\%$.

Termo	Coefficiente estimado	Erro padrão do coeficiente	Valor z	Valor p	Razão de chances (95% IC)
Intercepto	1,876	1,122	1,67	0,095	-
Tempo de acompanhamento (dias)	0,001	0,000	3,51	< 0,001	1,001 (1,001 - 1,002)
RNI alvo entre 2,00-3,00	1,808	0,512	3,53	< 0,001	6,097 (2,358 - 17,844)
Consultas controle do RNI (n)	-0,298	0,134	-2,22	0,026	0,742 (0,568 - 0,965)
Absenteísmo (n)	-0,735	0,254	-2,89	0,004	0,480 (0,285 - 0,776)
Ajustes da dose de varfarina (n)	-1,142	0,230	-4,97	< 0,001	0,319 (0,197 - 0,489)

RNI, razão normalizada internacional. A classe de referência do modelo foi o TTR <75% e as razões de chance são de pertencer ao grupo TTR $\geq 75\%$ em relação à classe de referência.

A equação derivada do modelo é a seguinte: $\ln(TTR \geq 75\% / TTR < 75\%) = + 1,876 + 0,001 \times (\text{tempo de acompanhamento do paciente em dias}) + 1,808 \times (1, \text{ se RNI alvo entre } 2,00\text{-}3,00, \text{ caso contrário } 0) - 0,298 \times (\text{número de consultas para controle do RNI}) - 0,735 \times (\text{número de faltas nas consultas para controle do RNI}) - 1,142 \times (\text{número de ajustes de dose da varfarina})$.

Nota-se que o aumento de 30 dias na duração do acompanhamento aumenta 0,03 vezes a chance do indivíduo apresentar TTR $\geq 75\%$ e que indivíduos com RNI alvo entre 2,00-3,00 têm aproximadamente chance cinco vezes maior de terem um TTR $\geq 75\%$ do que aqueles com RNI alvo entre 2,50-3,50. O aumento de uma unidade no número de consultas para o controle do RNI, no número de absenteísmos e no número de ajustes de dose da varfarina diminui a chance do um indivíduo ter TTR $\geq 75\%$ em 0,35, 1,08 e 2,12 vezes, respectivamente (Tabela 11).

A curva ROC do modelo apresentou área sobre a curva de 91,8% (88,7%-95,0%) e o valor de corte escolhido foi de 0,22 que gera sensibilidade de 89,1% e especificidade de 82,6% (Figura 9).

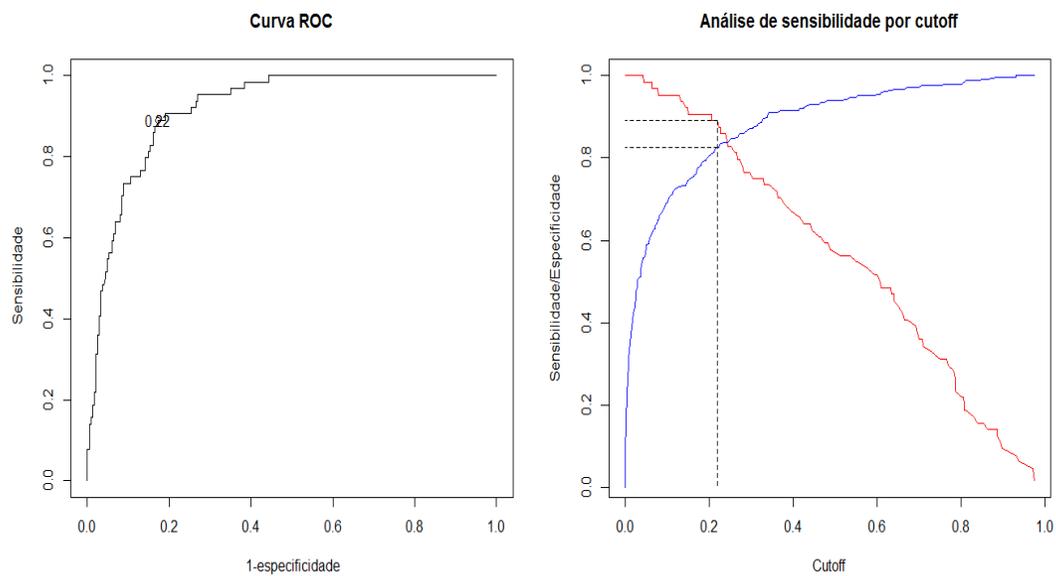


Figura 9 – Análise de sensibilidade e especificidade do modelo de regressão logística para $TTR \geq 75\%$. Linha vermelha representa a sensibilidade e linha azul representa a especificidade.

6 DISCUSSÃO

O estudo foi realizado em clínica especializada no controle da anticoagulação para identificação de características relacionadas à dose de varfarina e à qualidade da terapia anticoagulante, avaliada pelo TTR. Fatores sociodemográficos, clínicos e polimorfismos dos genes *CYP2C9* e *VKORC1* foram associados à variação de dose de varfarina e ao TTR. Adicionalmente, identificamos dois fatores comportamentais modificando o TTR relato de não administração da varfarina e absenteísmo nas consultas para controle do RNI.

Os resultados do acompanhamento de pacientes com FA ou prótese mecânica de válvula cardíaca, em ambiente de prática clínica real, mostraram que 13% dos indivíduos utilizaram menos de 17,5 mg/semana de varfarina, 61% apresentaram controle do RNI (TTR \geq 60%) e somente 20% ótima qualidade da terapia anticoagulante (TTR \geq 75%).

6.1 Dose de varfarina

A investigação da relação dos polimorfismos nos genes *CYP2C9* e *VKORC1* e fatores não genéticos com o uso de doses de varfarina <17,5mg/semana mostrou que RNI alvo e os polimorfismos *CYP2C9**2 e *CYP2C9**3 do gene *CYP2C9* e -G1639A do gene *VKORC1* foram associados à dose requerida. O ponto forte desse estudo foi a identificação de fatores preditores de dose semanal de varfarina <17,5mg e a obtenção de uma equação matemática, por meio de um modelo de regressão logística, que permitiu prever a dose requerida de varfarina e, posteriormente, com aplicação desses resultados em uma curva ROC e determinação de um cut-off, permitiu estratificar os pacientes em risco de sensibilidade à varfarina (doses <17,5mg/semana).

A influência dos polimorfismos *CYP2C9**2 e *CYP2C9**3 do gene *CYP2C9* e -G1639A do gene *VKORC1* na dose da varfarina já foi observada em várias populações. Carreadores de alelos polimórficos para esses genes requerem doses menores da varfarina (LINDH *et al.*, 2009; YANG *et al.*, 2010). Na amostra estudada, observou-se redução de 11,8% e 25,8% da dose utilizada por pacientes com alelos polimórficos do gene *CYP2C9* em heterozigose e homozigose, respectivamente. A enzima *CYP2C9* participa do metabolismo da varfarina e o alelo *CYP2C9**1 selvagem apresenta maior frequência nas populações e é o responsável pela metabolização normal desse fármaco (BOTTON *et al.*, 2011, SANTOS *et al.*, 2015). Os

alelos CYP2C9*2 e CYP2C9*3 codificam enzimas com atividade reduzida em 30% e 80%, respectivamente, e metabolizam a varfarina mais lentamente. Juntos eles explicam 12% da variação da dose de varfarina (TAKEUCHI *et al.*, 2009; ANDERSON *et al.*, 2012).

No presente estudo, os carreadores -G1639A e -A1639A do gene *VKORC1* utilizaram dose 16,4% e 32,1% menores do que a dose utilizada por pacientes com alelos selvagens em homozigose -G1639G, respectivamente. O polimorfismo *VKORC1* -G1639A explica 27% da variação da dose de varfarina (WADELIUS *et al.*, 2009) e os carreadores do alelo A variante necessitam de doses menores de varfarina do que aqueles que possuem o alelo G (GAGE *et al.*, 2008). O alelo A altera o sítio de ligação do fator de transcrição do *VKORC1* e promove menor transcrição do gene quando comparado ao alelo G selvagem, o que reduz a sua expressão gênica (YUAN *et al.*, 2005). Yang e colaboradores (2010) revelaram que, em caucasianos, carreadores de um ou dois alelos variantes requerem doses 25% e 50% menores, respectivamente.

O efeito antitrombótico da varfarina está relacionado à redução da síntese dos fatores da coagulação dependentes da vitamina K (II, VII, IX e X) devido à inibição da atividade enzimática da proteína VKOR, que participa da síntese desses fatores (OWEN *et al.*, 2010). Quanto menor o nível de anticoagulação a ser alcançado, menor inibição enzimática da VKOR e menor quantidade de varfarina serão necessárias para alcance da meta terapêutica. Em relação à meta de RNI, já era esperado observar menor necessidade de doses para pacientes com RNI alvo entre 2,00-3,00. O resultado encontrado pode refletir a adequação do protocolo institucional utilizado para manejo da dose da varfarina a partir de diferentes porcentagens de ajustes de acordo com o RNI alvo desejado.

Alguns estudos identificaram o aumento da idade como fator associado ao uso de menores doses de varfarina (PERINI *et al.*, 2008; SUAREZ-KURTZ *et al.*, 2009; BOTTON *et al.*, 2011, VERHOEF *et al.*, 2013; SUAREZ-KURTZ *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2015) ou de sensibilidade (doses ≤ 21 mg/semana) à varfarina (SALEH, 2016). Nesse estudo, a análise univariada mostrou que a idade se relacionou negativamente com a dose de varfarina. Para cada ano adicional na idade, a dose de varfarina reduziu 0,17mg/semana. A varfarina é transformada em metabólitos inativos por enzimas do citocromo P450 hepático e com o envelhecimento pode haver diminuição do seu metabolismo (UFER, 2005; POLASEK *et al.*, 2013). Garcia e colaboradores (2005) observaram que o aumento de um ano na idade reduziu

a necessidade semanal de varfarina em 0,4 mg. Khoury e Sheikh-Taha (2014) também observaram o uso de menores doses da varfarina com o avançar da idade.

Quando se considera a aplicabilidade clínica dos resultados desse estudo, deve-se ponderar alguns aspectos. Embora o modelo de regressão logística não tenha conseguido estratificar corretamente todos os pacientes sensíveis à varfarina, obteve-se um bom valor preditivo, o que reforça a sua utilidade futura na conduta clínica, já que a escolha da dose a ser prescrita a partir do modelo de predição do uso de doses baixas de varfarina poderá levar à redução do risco de sangramento nos pacientes sensíveis. Vale destacar também que os modelos de regressão linear para predição de doses iniciais da varfarina apresentam baixo poder preditivo, com R^2 ajustado variando entre 24% e 69% (FRANCIS *et al.*, 2014), demonstrando que a dose inicial pode ser predita incorretamente para muitos pacientes. Assim, a predição do uso de doses baixas pode ser uma alternativa para melhorar a segurança da terapia anticoagulante com varfarina. Entretanto, deve-se levar em consideração questões técnicas, logísticas e econômicas que podem limitar a realização da genotipagem para determinar a escolha da dose inicial de varfarina em países em desenvolvimento como o Brasil.

Outra observação importante se refere à pequena proporção de pacientes com alelos polimórficos para CYP2C9 (18/85; 21,2%) e para VKORC1 (33/163; 20,2%), em homozigose ou heterozigose, que utilizou doses baixas de varfarina durante o tratamento. Em outras palavras, muitos pacientes com alelos polimórficos não utilizaram doses baixas de varfarina. Esse achado corrobora as evidências que a variabilidade de doses de varfarina é multifatorial (PERINI *et al.*, 2008; SUAREZ-KURTZ *et al.*, 2009; BOTTON *et al.*, 2011, VERHOEF *et al.*, 2013; SUAREZ-KURTZ *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2015), mas mesmo assim a inclusão dos polimorfismos é essencial, pois ditam grande parte da resposta. Os genótipos CYP2C9 e VKORC1 influenciaram o uso de doses baixas em maior magnitude que o RNI alvo.

6.2 TTR

O TTR médio dos pacientes com dois alelos variantes para o gene VKORC1 –G1639A foi maior em relação ao TTR de pacientes com uma ou nenhuma variante alélica, quando o modelo de herança recessiva foi analisado (AA vs. GA + GG). Há poucas evidências sobre a influência de características genéticas no TTR. Skov e colaboradores (2013) mostraram que

seis pacientes com dois alelos variantes de CYP2C9 (*2/*3 ou *3/*3) apresentaram TTR significativamente menor (60,5% vs. 74,3%, $p=0,012$) do que os outros pacientes (*1/*1 + *1/*2). Outros trabalhos não identificaram variação significativa do TTR entre os subgrupos com e sem alelos variantes para VKORC1 -G1639A e CYP2C9 (BURMESTER *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2015; MARCATTO *et al.*; 2016). Entretanto, os resultados desses estudos podem estar relacionados ao número limitado de pacientes com alelos polimórficos, principalmente para o gene CYP2C9.

Além da relação entre TTR e fatores genéticos, nós também identificamos sete fatores associados independentemente com a qualidade da terapia anticoagulante, sendo dois presentes no início do tratamento – renda familiar por pessoa e RNI alvo entre 2,00-3,00 – e cinco observados no decorrer do tratamento – tempo de acompanhamento, relato de não administração da varfarina, ajustes de dose da varfarina, número de consultas para controle de RNI e absenteísmo nas consultas para controle da RNI. Três desses fatores estão relacionados ao controle inadequado da anticoagulação ($TTR \leq 60\%$): relato de não administração de varfarina, ajustes de dose da varfarina e absenteísmo nas consultas para controle do RNI. E dois fatores se relacionam com a ótima qualidade da terapia anticoagulante ($TTR \geq 75\%$): RNI alvo entre 2,00-3,00 e tempo de acompanhamento estão positivamente relacionados, enquanto ajustes de dose da varfarina, absenteísmo nas consultas para controle do RNI e número de consultas para controle de RNI se relacionam negativamente.

No presente estudo, o aumento da renda familiar mensal por pessoa e o aumento do tempo de acompanhamento ambulatorial foram preditores do TTR. Uma hipótese para esses resultados seria que pacientes com maior renda ou com mais tempo de acompanhamento pela equipe multiprofissional, teriam melhor entendimento sobre a terapêutica com a varfarina, maior adesão ao tratamento e, conseqüentemente, maior TTR. Praxedes e colaboradores (2016) identificaram que o nível de conhecimento sobre a terapêutica com a varfarina, avaliada pela versão brasileira do *Oral Anticoagulation Knowledge (OAK) Test*, correlaciona-se positivamente com o TTR. Costa e colaboradores (2012) identificaram que pacientes tratados com varfarina por mais de dois meses têm maior chance de ter $TTR \geq 66\%$, assim como aqueles do sexo masculino ou que têm habilidade funcional e cognitiva para utilizarem medicamentos conforme a prescrição. Porém, em metanálise incluindo 95 artigos publicados entre 1993 e 2013 para avaliar pacientes com FA em uso de varfarina, não houve diferença

significativa no TTR de indivíduos com menos ou mais de um ano de uso da varfarina (MEARNS *et al.*, 2014).

A relação entre RNI alvo e TTR é pouco pesquisada entre os estudos que avaliam fatores preditores do TTR. Nesse trabalho, os pacientes apresentaram TTR 4% maior em pacientes com RNI alvo entre 2,00-3,00 em relação àqueles com RNI alvo entre 2,50-3,50. Considerando que pacientes com RNI alvo entre 2,50-3,50 apresentam mais RNIs fora da meta, pois o TTR é menor para esses pacientes, a melhor qualidade da anticoagulação em pacientes com alvo entre 2,00-3,00 pode ser explicada pelo menor número de ajustes de dose da varfarina, pela equipe de saúde, quando o RNI está fora da faixa terapêutica, mas perto do limite inferior ou superior pré-determinado para o paciente. Uma explicação poderia ser que os profissionais de saúde estariam sendo mais rigorosos nos ajustes de doses em pacientes com RNI alvo entre 2,50-3,50 devido ao risco tromboembólico aumentado para os pacientes com prótese metálica de válvula cardíaca. Skov e colaboradores (2013) também observaram diferença aproximada de 4% no TTR entre esses grupos. Indivíduos com intervalo entre 2,50-3,50 tiveram TTR médio igual a 69,7%, enquanto o TTR dos indivíduos com alvo entre 2,00-3,00 foi 74,0%, porém essa diferença não foi significativa.

A adesão à varfarina é ponto fundamental para o sucesso da terapia anticoagulante. É esperado que pacientes sem adesão à varfarina não alcancem o efeito anticoagulante desejado (OBAMIRO, CHALMERS, BEREZNICKI, 2016). Yao e colaboradores (2016) observaram que apenas 40% dos pacientes utilizam a varfarina em pelo menos 80% dos dias de tratamento. Nesse estudo, a adesão ao tratamento não foi avaliada por meio de questionários padronizados com esse objetivo devido à indisponibilidade desses instrumentos de medida na língua portuguesa. Optou-se por avaliar o número de relatos de não administração da varfarina.

Comportamento semelhante foi observado no número de consultas para controle de RNI e absenteísmo. Observou-se redução do TTR de acordo com o aumento do absenteísmo. Esse resultado mostra que o acompanhamento do paciente pela equipe de saúde é importante para melhorar a qualidade da terapia anticoagulante. Em relação ao número de consultas, os resultados mostram queda do TTR quando há aumento de consultas para controle de RNI. A interpretação é que pacientes com maior número de consultas são aqueles que não estão obtendo controle da RNI, e por isso, precisam retornar para correção de dose da varfarina.

Aumentar o número de consultas pode significar, indiretamente, mais ajustes de dose da varfarina.

Dois estudos avaliaram grandes coortes de pacientes em uso de varfarina e também objetivaram a identificação de preditores demográficos e clínicos do TTR. Nos Estados Unidos, 124 619 pacientes com TTR médio igual a 61% foram avaliados e entre aqueles que utilizavam a varfarina por mais de seis meses (n=104 505), sexo feminino, idade <55 anos e quatro ou mais hospitalizações se relacionaram com a redução do controle da anticoagulação. Várias hospitalizações foi o principal preditor, com redução igual a 9,4% do TTR. Uso de múltiplos medicamentos e presença de diferentes comorbidades também impactaram negativamente no TTR. Os autores também observaram que a distância da residência do paciente até a clínica de anticoagulação não impactou no TTR (ROSE *et al.*, 2010). Em outra coorte, 29 717 pacientes com FA e 19 113 com história de TEV atendidos na atenção primária em saúde da Inglaterra foram investigados nos primeiros 12 meses de uso da varfarina. A partir do modelo de regressão multivariada, observou-se que sexo feminino, idade <45 anos, IMC<18,5kg/m², tabagismo, várias comorbidades e repetidas hospitalizações se associaram com redução do TTR (MACEDO *et al.*, 2015).

O ponto forte desse estudo foi a identificação de fatores comportamentais que podem modificar a qualidade da terapia anticoagulante, por meio da curva ROC. Essa análise possibilitou a seleção de ponto de corte para estratificação dos pacientes entre os grupos, a partir da maximização da soma entre a sensibilidade e especificidade da amostra. O modelo logístico para avaliação da qualidade da terapia anticoagulante gerou uma sensibilidade de 87,7% e especificidade de 76,8%, entre os grupos TTR≤60% ou TTR>60%. Buscando fatores que indicam ótima qualidade da terapia anticoagulante, a sensibilidade foi igual a 89,1% e especificidade igual a 82,6%.

Os principais resultados desse estudo foram a identificação de polimorfismo do gene *VKORC1* e de fatores comportamentais que influenciam o TTR, relato de não administração da varfarina e absenteísmo nas consultas para controle da RNI são características que não podem ser identificadas no início do tratamento com o varfarina. Elas mostram o comportamento do paciente durante o tratamento e são passíveis de modificação pelo paciente com orientação da equipe de saúde. O conhecimento de novas características associadas à variação do TTR é útil no direcionamento de ações para modificação desses fatores, tais como,

o desenvolvimento de programas de incentivo ao uso contínuo da varfarina e ao comparecimento nas consultas para controle da RNI. Os resultados também sugerem que a correção de dose da varfarina, quando a meta terapêutica não é atingida, deve ser ponto de atenção entre os profissionais de saúde e alvo para futuras pesquisas.

6.3 Limitações

Existem algumas limitações nesse estudo. Primeiramente, o número de participantes foi insuficiente para avaliar os desfechos ideais de efetividade e segurança da varfarina, que seriam a ocorrência de eventos tromboembólicos e hemorrágicos. Segundo, algumas covariáveis como altura, peso, IMC, tabagismo, etnia e ingestão de vitamina K, que podem estar associadas à variação de dose da varfarina e ao TTR, não foram avaliadas. Não foi realizada a investigação de ancestralidade, que seria o procedimento indicado considerando o elevado grau de miscigenação da população brasileira. Terceiro, nossos resultados são derivados de um único ambulatório de anticoagulação, sendo assim, os dados devem ser validados em outras populações. Além disso, o tamanho limitado de pacientes com genótipos CYP2C9*2/*2, *2/*3 ou *3/*3 e VKORC1 –A1639A pode ser insuficiente para demonstrar associação significativa com o TTR. Por fim, os dados foram coletados a partir de prontuários, o que pode gerar limitações na recuperação de informações.

6.4 Artigos a serem submetidos

Artigo 1 (Apêndice D): Algoritmo para predição de uso de doses baixas de varfarina a partir de polimorfismos nos genes CYP2C9 e VKORC1 e RNI alvo.

Periódico: British Journal of Clinical Pharmacology

Online ISSN: 1365-2125

Fator de impacto: 3.83

Artigo 2: Fatores preditores de qualidade do controle da terapia anticoagulante oral com varfarina em pacientes cardiopatas

Periódico: Journal of Thrombosis and Haemostasis

Online ISSN: 1538-7836

Fator de impacto: 5.565

7 CONCLUSÃO

Algumas características sociodemográficas, clínicas e genéticas influenciam a variabilidade de dose da varfarina e a qualidade da terapia anticoagulante, avaliada pelo TTR. A dose média semanal de varfarina variou consideravelmente entre os genótipos dos polimorfismos CYP2C9 e VKORC1 e há um efeito dependente do número de cópias alélicas. Indivíduos com homozigose para o alelo mutante utilizam doses menores. Quando o modelo de herança recessiva [AA x (GA + GG)] para o polimorfismo -G1639A VKORC1 foi analisado, pacientes com genótipo AA utilizaram doses menores de varfarina e apresentaram TTR maior. Apenas idade e os polimorfismos CYP2C9*2 e CYP2C9*3 do gene *CYP2C9* e -G1639A do gene *VKORC1* permitem a estratificação dos pacientes em relação ao uso de doses baixas de varfarina. Fatores comportamentais modificam apenas a qualidade da terapia anticoagulante. Relato de não administração da varfarina e absenteísmo nas consultas para controle do RNI influenciam negativamente o TTR e podem ser passíveis de modificação pelo paciente acompanhado pela equipe de saúde. O conhecimento desses fatores é importante na estratificação dos pacientes de acordo com características que significativamente influenciam a resposta anticoagulante para, assim, direcionar ações assistenciais que podem melhorar a efetividade e segurança da varfarina em cenários reais de prática clínica assistencial.

REFERÊNCIAS

Agno W *et al.* Oral anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. **Chest**. 2012;141(2 Suppl):44-88.

Alamneh EA, Chalmers L, Bereznicki LR. Suboptimal Use of Oral Anticoagulants in Atrial Fibrillation: Has the Introduction of Direct Oral Anticoagulants Improved Prescribing Practices. **Am J Cardiovasc Drugs**. 2016;16(3):183-200.

Almeida VCO *et al.* Association of the C3435T polymorphism of the MDR1 gene and therapeutic doses of warfarin in thrombophilic patients. **J Thromb Haemost**. 2011;9(10):2120-2122.

Almeida VCO. 2014. **Avaliação de polimorfismos genéticos e a dose terapêutica da varfarina em pacientes com trombose: um estudo de coorte.** Tese (Doutorado em Genética). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Almeida VCO, Ribeiro DD, Gomes KB, Godard AL. Polymorphisms of CYP2C9, VKORC1, MDR1, APOE and UGT1A1 genes and the therapeutic warfarin dose in Brazilian patients with thrombosis: a prospective cohort study. **Mol Diagn Ther**. 2014;18(6):675-683.

Anderson JL *et al.* A randomized and clinical effectiveness trial comparing two pharmacogenetic algorithms and standard care for individualizing warfarin dosing (CoumaGen-II). **Circulation**. 2012;125(16):1997-2005.

Angaran P *et al.* The Risk Stratification and Stroke Prevention Therapy Care Gap in Canadian Atrial Fibrillation Patients. **Can J Cardiol**. 2016;32(3):336-343.

Ansell J *et al.* American College of Chest Physicians. Pharmacology and management of the vitamin K antagonists: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). **Chest**. 2008;133(6 Suppl):160-198.

Apostolakis S, Sullivan RM, Olshansky B, Lip GY. Factors affecting quality of anticoagulation control among patients with atrial fibrillation on warfarin: the SAME-TT₂R₂ score. **Chest**. 2013;144(5):1555-1563.

Azar AJ *et al.* Optimal intensity of oral anticoagulant therapy after myocardial infarction. **J Am Coll Cardiol**. 1996;27(6):1349-1355.

Baker WL, Cios DA, Sander SD, Coleman CI. Meta-analysis to assess the quality of warfarin control in atrial fibrillation patients in the United States. **J Manag Care Pharm**. 2009;15(3):244-252.

Baker WL, Johnson SG. Pharmacogenetics and oral antithrombotic drugs. **Curr Opin Pharmacol**. 2016;27:38-42.

Bazan NS *et al.* Factors affecting warfarin dose requirements and quality of anticoagulation in adult Egyptian patients: role of gene polymorphism. **Ir J Med Sci**. 2014;183(2):161-72.

Belley-Cote EP *et al.* Genotype-guided versus standard vitamin K antagonist dosing algorithms in patients initiating anticoagulation. A systematic review and meta-analysis. **Thromb Haemost**. 2015;114(4):768-777.

Björck F *et al.* Outcomes in a Warfarin-Treated Population With Atrial Fibrillation. **JAMA Cardiol**. 2016;1(2):172-180.

Botton MR *et al.* Influence of genetic, biological and pharmacological factors on warfarin dose in a Southern Brazilian population of European ancestry. **Br J Clin Pharmacol**. 2011;72(3):442-450.

Bourgeois S *et al.* A multi-factorial analysis of response to warfarin in a UK prospective cohort. **Genome Med**. 2016;8(1):2.

Brasil. Ministério da Saúde. **DATASUS**. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defptohtm.exe?sim/cnv/obt10uf.def>. Acesso em: ago 2016.

Budnitz DS, Lovegrove MC, Shehab N, Richards CL. Emergency hospitalizations for adverse drug events in older Americans. **N Engl J Med.** 2011;365(21):2002-2012.

Burmester JK *et al.* A randomized controlled trial of genotype-based Coumadin initiation. **Genet Med.** 2011;13(6):509-518.

Caldwell MD *et al.* Evaluation of genetic factors for warfarin dose prediction. **Clin Med Res.** 2007;5(1):8-16.

Carrier M *et al.* A simple method to identify patients on long-term warfarin who may derive the most benefit from new oral anticoagulants. **Blood Coagul Fibrinolysis.** 2014;25(8):812-815.

Carvalho, MG; Silva MBS. **Hematologia:** técnicas laboratoriais e interpretação. Belo Horizonte: Imprensa Universitária, 1988. 139p.

Cho SM, Lee KY, Choi JR, Lee KA. Development and Comparison of Warfarin Dosing Algorithms in Stroke Patients. **Yonsei Med J.** 2016;57(3):635-640.

Ciurus T, Cichocka-Radwan A, Lelonek M. Factors affecting the quality of anticoagulation with warfarin: experience of one cardiac centre. **Kardiochir Torako chirurgia Pol.** 2015;12(4):334-340.

Connolly SJ *et al.* Benefit of oral anticoagulant over antiplatelet therapy in atrial fibrillation depends on the quality of international normalized ratio control achieved by centers and countries as measured by time in therapeutic range. **Circulation.** 2008;118(20):2029-2037.

Costa GL *et al.* Identifying potential predictors of high-quality oral anticoagulation assessed by time in therapeutic international normalized ratio range: a prospective, long-term, single-center, observational study. **Clin Ther.** 2012;34(7):1511-1520.

D'Andrea G *et al.* A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. **Blood.** 2005;105(2):645-649.

De Caterina R *et al.* Vitamin K antagonists in heart disease: current status and perspectives (Section III). Position paper of the ESC Working Group on Thrombosis--Task Force on Anticoagulants in Heart Disease. **Thromb Haemost.** 2013;110(6):1087-1107.

Dahal K *et al.* Meta-analysis of Randomized Controlled Trials of Genotype-Guided vs Standard Dosing of Warfarin. **Chest.** 2015;148(3):701-710.

Dallalzadeh *et al.* Stability of High-Quality Warfarin Anticoagulation in a Community-Based Atrial Fibrillation Cohort: The Anticoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. **J Am Heart Assoc.** 2016;5:e003482. doi: 10.1161/JAHA.116.003482.

Danese E *et al.* Impact of the CYP4F2 pV433M polymorphism on coumarin dose requirement: systematic review and meta-analysis. **Clin Pharmacol Ther.** 2012;92(6):746-756.

Eikelboom JW *et al.* Dabigatran versus warfarin in patients with mechanical heart valves. **NEngl J Med.** 2013;369(13):1206-1214.

Eriksson N, Wadelius M. Prediction of warfarin dose: why, when and how? **Pharmacogenomics.** 2012;13(4):429-40.

Finkelman BS *et al.* Genetic Warfarin Dosing: Tables Versus Algorithms. **J Am Coll Cardiol.** 2011;57(5):612-618.

Francis B, Lane S, Pirmohamed M, Jorgensen A. A review of a priori regression models for warfarin maintenance dose prediction. **PLoS One.** 2014;12;9(12):e114896.

Freedman B, Potpara TS, Lip GY. Stroke prevention in atrial fibrillation. **Lancet.** 2016;388(10046):806-817.

Gage BF *et al.* Use of pharmacogenetics and clinical factors to predict the maintenance dose of warfarin. **Thromb Haemost.** 2004;91(1):87-94.

Gage BF *et al.* Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. **Clin Pharmacol Ther.** 2008;84(3):326–331.

Garcia D *et al.* Warfarin maintenance dosing patterns in clinical practice: implications for safer anticoagulation in the elderly population. **Chest.** 2005;127(6):2049-2056.

Gómez-Outes AA *et al.* Direct oral anticoagulants for stroke prevention in patients with atrial fibrillation: meta-analysis by geographic region with a focus on european patients. **Br J Clin Pharmacol.** 2016 May 10. doi: 10.1111/bcp.13005. [Epub ahead of print]

Goulding R *et al.* Genotype-guided drug prescribing: a systematic review and meta-analysis of randomized control trials. **Br J Clin Pharmacol.** 2015;80(4):868-877.

Granger CB *et al.* Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. **N Engl J Med.** 2011;365(11):981-992.

Guthrie B *et al.* High risk prescribing in primary care patients particularly vulnerable to adverse drug events: cross sectional population database analysis in Scottish general practice. **BMJ.** 2011;342.

Hass B *et al.* Treatment of venous thromboembolism - effects of different therapeutic strategies on bleeding and recurrence rates and considerations for future anticoagulant management. **Thromb J,** 2012;10(1):24.

Higashi MK *et al.* Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. **JAMA.** 2002;287(13):1690-1698.

Hirsh J, Fuster V, Ansell J, Halperin JL. American Heart Association; American College of Cardiology Foundation guide to warfarin therapy. **Circulation.** 2003;107(12):1692-1711.

Huisman MV *et al.* Antithrombotic Treatment Patterns in Patients with Newly Diagnosed Nonvalvular Atrial Fibrillation: The GLORIA-AF Registry, Phase II. **Am J Med.** 2015;128(12):1306-1313.

Human Cytochrome P450 Allele Nomenclature Database. Disponível em: <http://www.cypalleles.ki.se/index.htm>. Acesso em: ago 2016.

Hylek EM. Vitamin K antagonists and time in the therapeutic range: implications, challenges, and strategies for improvement, **J Thromb Thrombolysis**. 2013;35(3):333-335.

Ioannou A, Metaxa S, Kassianos G, Missouris CG. Anticoagulation for the prevention of stroke in non-valvular AF in general practice: room for improvement. **Drugs Context**. 2016;27(5):212-295.

Johnson JA *et al*. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for CYP2C9 and VKORC1 Genotypes and Warfarin Dosing. **Clin Pharmacol Ther**. 2011;90(4):625–629.

Jonas DE *et al*. Impact of genotype-guided dosing on anticoagulation visits for adults starting warfarin: a randomized controlled trial. **Pharmacogenomics**. 2013;14(13):1593-1603.

Jonas DE, McLeod HL. Genetic and clinical factors relating to warfarin dosing. **Trends Pharmacol Sci**. 2009;30(7):375-386.

Jorgensen AL *et al*. Genetic and environmental factors determining clinical outcomes and cost of warfarin therapy: a prospective study. **Pharmacogenet Genomics**. 2009;19(10):800-812.

Juurlink DN. Drug interactions with warfarin: what clinicians need to know. **CMAJ**. 2007;177(4):369-371.

Khoury G, Sheikh-Taha M. Effect of age and sex on warfarin dosing. **Clin Pharmacol**. 2014;12(6):103-106.

Kimmel SE *et al*. A pharmacogenetic versus a clinical algorithm for warfarin dosing. **N Engl J Med**. 2013;369(24):2283-2293.

Klein TE *et al.* International Warfarin Pharmacogenetics Consortium. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetics data. **N Engl J Med.** 2009;360(8):753–764.

Khoury G, Sheikh-Taha M. Effect of age and sex on warfarin dosing. **Clin Pharmacol.** 2014;6:103-106.

Krishna Kumar D *et al.* Effect of CYP2C9, VKORC1, CYP4F2 and GGCX genetic variants on warfarin maintenance dose and explicating a new pharmacogenetic algorithm in South Indian population. **Eur J Clin Pharmacol.** 2014;70(1):47-56.

Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. **Pharmacogenetics.** 2002;12(3):251–263.

Le Heuzey JY *et al.* Differences among western European countries in anticoagulation management of atrial fibrillation. Data from the PREFER IN AF registry. **Thromb Haemost.** 2014;111(5):833-841.

Li T *et al.* Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase. **Nature.** 2004;427(6974):541–544.

Limdi NA, Veenstra DL. Warfarin pharmacogenetics. **Pharmacotherapy.** 2008;28(9):1084-1097.

Limdi NA *et al.* Warfarin dosing in patients with impaired kidney function. **Am J Kidney Dis.** 2010;56(5):823-831.

Limdi NA *et al.* Race influences warfarin dose changes associated with genetic factors. **Blood.** 2015 Jul;126(4):539-545.

Lindh JD, Holm L, Andersson ML, Rane A. Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements--a systematic review and meta-analysis. **Eur J Clin Pharmacol.** 2009;65(4):365-75.

Lima MV, Ribeiro GS, Mesquita ET, Victor PR, Vianna-Jorge R. CYP2C9 genotypes and the quality of anticoagulation control with warfarin therapy among Brazilian patients. **Eur J Clin Pharmacol**. 2008;64(1):9-15.

Lip GY, Tse HF, Lane DA. Atrial Fibrillation. **Lancet**. 2012;379(9816):648-661.

Lip GY, Haguenoer K, Saint-Etienne C, Fauchier L. Relationship of the SAME-TT₂R₂ score to poor-quality anticoagulation, stroke, clinically relevant bleeding, and mortality in patients with atrial fibrillation. **Chest**. 2014;146(3):719-726.

Loebstein R *et al*. A coding VKORC1 Asp36Tyr polymorphism predisposes to warfarin resistance. **Blood**. 2007;109(6):2477-2480.

Macedo AF *et al*. Determinants of oral anticoagulation control in new warfarin patients: analysis using data from Clinical Practice Research Datalink. **Thromb Res**. 2015;136(2):250-260.

Malone DC *et al*. Identification of serious drug-drug interactions: results of the partnership to prevent drug-drug interactions. **J Am Pharm Assoc (2003)**. 2004;44(2):142-151.

Mannheimer B, Andersson ML, Järnbert-Pettersson H, Lindh JD. The effect of carbamazepine on warfarin anticoagulation: a register-based nationwide cohort study involving the Swedish population. **J Thromb Haemost**. 2016;14(4):765-771.

Martins MAP *et al*. Warfarin drug interactions: a comparative evaluation of the lists provided by five information sources. **Eur J Clin Pharmacol**. 2011;67(12):1301-1308.

Martins MAP *et al*. Agreement among four drug information sources for the occurrence of warfarin drug interactions in Brazilian heart disease patients with a high prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection. **Eur J Clin Pharmacol**. 2013; 69(4):919-928.

Mazzaccara C *et al*. Warfarin anticoagulant therapy: a Southern Italy pharmacogenetics-based dosing model. **PLoS One**. 2013;8(8):e71505.

Mearns ES *et al.* Quality of vitamin K antagonist control and outcomes in atrial fibrillation patients: a meta-analysis and meta-regression. **Thromb J.** 2014;24:12-14.

Mehran R *et al.* Standardized bleeding definitions for cardiovascular clinical trials: a consensus report from the Bleeding Academic Research Consortium. **Circulation.** 2011; 123(23):2736-2747.

Melamed OC, Horowitz G, Elhayany A, Vinker S. Quality of anticoagulation control among patients with atrial fibrillation. **Am J Manag Care.** 2011;17(3):232-237.

Mueller JA *et al.* Warfarin dosing and body mass index. **Ann Pharmacother.** 2014;48(5):584-588.

Nathisuwan S *et al.* Assessing evidence of interaction between smoking and warfarin: a systematic review and meta-analysis. **Chest.** 2011;139(5):1130-1119.

Nelson WW *et al.* Impact of co-morbidities and patient characteristics on international normalized ratio control over time in patients with nonvalvular atrial fibrillation. **Am J Cardiol.** 2013;112(4):509-512.

Nelson WW *et al.* International normalized ratio stability in warfarin-experienced patients with nonvalvular atrial fibrillation. **Am J Cardiovasc Drugs.** 2015;15(3):205-211.

Nutescu EA *et al.* Pharmacology of anticoagulants used in the treatment of venous thromboembolism. **J Thromb Thrombolysis.** 2016;41(1):15-31.

Obamiro KO, Chalmers L, Bereznicki LR A Summary of the Literature Evaluating Adherence and Persistence with Oral Anticoagulants in Atrial Fibrillation. **Am J Cardiovasc Drugs.** 2016;16(5):349-363.

Owen RP *et al.* VKORC1 Pharmacogenomics Summary. **Pharmacogenet Genomics.** 2010;20(10): 642–644.

Patel MR *et al.* Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. **N Engl J Med.** 2011;365(10):883-891.

Perini JÁ *et al.* Pharmacogenetics of Warfarin: Development of a Dosing Algorithm for Brazilian Patients. **Clin Pharmacol Ther.** 2008;84(6):722-728.

Pirmohamed M. Pharmacogenetics: past, present and future. **Drug Discov Today.** 2011;16(19-20):852-861.

Pirmohamed M *et al.* A randomized trial of genotype-guided dosing of warfarin. **N Engl J Med.** 2013;369(24):2294–2303.

Polasek TM *et al.* Predicted metabolic drug clearance with increasing adult age. **Br J Clin Pharmacol.** 2013 Apr;75(4):1019-28.

Praxedes MF *et al.* Assessment of psychometric properties of the Brazilian version of the oral anticoagulation knowledge test. **Health Qual Life Outcomes.** 2016;24:14:96.

Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME). Ministério da Saúde. 2014. Disponível em: http://www.saude.rs.gov.br/upload/1426528130_Rename-2014%20MINISTERIO.pdf. Acesso em: 30 mai. 2015.

Reynolds MW *et al.* Warfarin anticoagulation and outcomes in patients with atrial fibrillation: a systematic review and metaanalysis. **Chest.** 2004;126(6):1938-1945.

Rieder MJ *et al.* Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. **N Engl J Med.** 2005;352(22):2285-2293.

Rose AJ *et al.* Risk-adjusted percent time in therapeutic range as a quality indicator for outpatient oral anticoagulation: results of the Veterans Affairs Study to Improve Anticoagulation. **Circ Cardiovasc Qual Outcomes.** 2011;4(1):22-29.

Rose AJ *et al.* Patient characteristics associated with oral anticoagulation control: results of the Veterans Affairs Study to Improve Anticoagulation (VARIA). **J Thromb Haemost.** 2010;8(10):2182-2191.

Rosendaal FR, Cannegieter SC, van der Meer FJ, Briët E. A method to determine the optimal intensity of oral anticoagulant therapy. **Thromb Haemost.** 1993;69:236-239.

Rost Set *al.* Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. **Nature.** 2004;427(6974):537–541.

Rouleau-Mailloux É *et al.* Impact of regular physical activity on weekly warfarin dose requirement. **J Thromb Thrombolysis.** 2016;41(2):328-35.

Saleh MI. Clinical Predictors Associated With Warfarin Sensitivity. **Am J Ther.** 2016;23(6):e1690-e1694.

Santos PC *et al.* CYP2C9 and VKORC1 polymorphisms influence warfarin dose variability in patients on long-term anticoagulation. **Eur J Clin Pharmacol.** 2013;69(4):789-797.

Santos PC *et al.* Development of a pharmacogenetic-based warfarin dosing algorithm and its performance in Brazilian patients: highlighting the importance of population-specific calibration, **Pharmacogenomics**, 2015;16(8):865-876.

Schein JR *et al.* Vitamin K antagonist use: evidence of the difficulty of achieving and maintaining target INR range and subsequent consequences. **Thromb J.** 2016;13(14):14.

Schulman Set *al.* Hemorrhagic complications of anticoagulant and thrombolytic treatment: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). **Chest.** 2008;133(6 Suppl):257S-298S.

Schulman S *et al.* Dabigatran versus warfarin in the treatment of acute venous thromboembolism. **N Engl J Med**, 2009;361(24):2342-2352.

Sconce EA *et al.* The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. **Blood**. 2005;106(7):2329-2333.

Senoo K, Lau YC, Lip GY. Updated NICE guideline: management of atrial fibrillation (2014). **Expert Rev Cardiovasc Ther**. 2014;12(9):1037-1040.

Self TH, Wallace JL, Sakaan S, Sands CW. Effect of Body Weight on Dose of Vitamin K Antagonists. **South Med J**. 2015;108(10):637-643.

Shah RR, Shah DR. Personalized medicine: is it a pharmacogenetic mirage? **Br J Clin Pharmacol**. 2012;74(4):698-721.

Soares RA *et al.* CYP2C9 and VKORC1 Polymorphisms Are Differently Distributed in the Brazilian Population According to Self-Declared Ethnicity or Genetic Ancestry. **Genet Test Mol Biomarkers**. 2012;16(8):957-963.

Skov J1, Bladbjerg EM, Leppin A, Jespersen J. The influence of VKORC1 and CYP2C9 gene sequence variants on the stability of maintenance phase warfarin treatment. **Thromb Res**. 2013;131(2):125-129.

Skinner *et al.* Identification of alcohol abuse using laboratory tests and a history of trauma. **Annals of Internal Medicine**. 1984;101(6):847-851.

Storelli F, Daali Y, Desmeules J, Reny JL, Fontana. Pharmacogenomics of Oral Antithrombotic Drugs. **Curr Pharm Des**. 2016;22(13):1933-1949.

Strachan, T; ReadA. **Genética Molecular Humana**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 808p.

Suarez-Kurtz G, Perini JÁ, Silva-Assunção E, Struchiner CJ. Relative contribution of VKORC1, CYP2C9, and INR response to warfarin stable dose. **Blood**. 2009;113:4125-4126.

Suarez-Kurtz G, Botton MR. Pharmacogenetics of coumarin anticoagulants in Brazilians. **Expert Opin Drug Metab Toxicol.** 2015;11(1):67-79.

Takeuchi F *et al.* A genome-wide association study confirms VKORC1, CYP2C9, and CYP4F2 as principal genetic determinants of warfarin dose. **PLoS Genet.** 2009;5(3):e1000433.

Tereshchenko LG, Henrikson CA, Cigarroa J, Steinberg JS. Comparative Effectiveness of Interventions for Stroke Prevention in Atrial Fibrillation: A Network Meta-Analysis. **J Am Heart Assoc.** 2016;5(5).

Ufer M. Comparative pharmacokinetics of vitamin K antagonists: warfarin, phenprocoumon and acenocoumarol. **Clin Pharmacokinet.** 2005;44(12):1227-1246.

Vazquez FJ *et al.* Risk of major bleeding in patients receiving vitamin K antagonists or low doses of aspirin. A systematic review and meta-analysis. **Thromb Res.** 2016;138:1-6.

Verhoef TI *et al.* Pharmacogenetic-guided dosing of coumarin anticoagulants: algorithms for warfarin, acenocoumarol and phenprocoumon. **BJCP.** 2013 77(4):626-641.

Verhoef TI, Redekop WK, de Boer A, Maitland-van der Zee AH. EU-PACT group. Economic evaluation of a pharmacogenetic dosing algorithm for coumarin anticoagulants in The Netherlands. **Pharmacogenomics.** 2015;16(2):101-114.

Voukalis C, Lip GY, Shantsila E. Emerging Tools for Stroke Prevention in Atrial Fibrillation. **EBioMedicine.** 2016;15(4):26-39.

Wadelius M, Pirmohamed M. Pharmacogenetics of warfarin: current status and future challenges. **Pharmacogenomics J.** 2007;7(2):99-111.

Wadelius M *et al.* The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting. **Blood.** 2009;113(4):784-792.

Wallace J *et al.* Comparison of initial warfarin response in obese patients versus non-obese patients. **JThromb Thrombolysis**. 2013;36(1):96-101.

Wan Y *et al.* Anticoagulation control and prediction of adverse events in patients with atrial fibrillation: a systematic review. **Circ Cardiovasc Qual Outcomes**. 2008;1(2):84-91.

Wen MS, Lee MT. Warfarin Pharmacogenetics: new life for an old drug. **Acta Cardiol Sin**. 2013;29(3):235-242.

Wen M *et al.* Pharmacogenetic dosing of warfarin in the Han-Chinese population: a randomized trial. **Pharmacogenomics**. 2017;18(3):245-253.

White H *et al.* Comparison of outcomes among patients randomized to warfarin therapy according to anticoagulant control: results from SPORTIF III and V. **Arch Intern Med**. 2007;167(3):239-245.

Whitlock RP, Sun JC, Fries SE, Rubens FD, Teoh KH. Antithrombotic and thrombolytic therapy for valvular disease: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. **Chest**. 2012;141(2 Suppl):576-600.

Yang L, Ge W, Yu F, Zhu H. Impact of VKORC1 gene polymorphism on interindividual and interethnic warfarin dosage requirement--a systematic review and meta analysis. **Thromb Res**. 2010;125(4):159-166.

Yao X *et al.* Effect of Adherence to Oral Anticoagulants on Risk of Stroke and Major Bleeding Among Patients With Atrial Fibrillation. **J Am Heart Assoc**. 2016;23;5(2).

Yuan HY *et al.* A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity. **Hum Mol Genet**. 2005;14(13):1745-51.

**ANEXO A – Aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da
UFMG**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 23725213.5.0000.5149

**Interessado(a): Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha
Departamento de Clínica Médica
Faculdade de Medicina - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 07 de janeiro de 2014, o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação de fatores envolvidos na resposta farmacológica à varfarina: um estudo e coorte**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Prof.ª Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO B – Folha de Aprovação da tese pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde – Infectologia e Medicina Tropical

	<p>UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL</p>	<p>UFMG</p>
---	--	--------------------

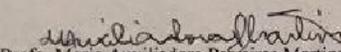
FOLHA DE APROVAÇÃO

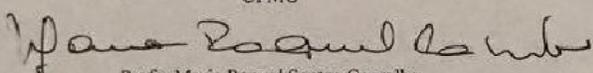
“Fatores genéticos e não genéticos relacionados às doses de Varfarina e à qualidade do controle da anticoagulação em pacientes Cardiopatas”

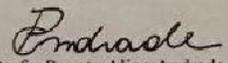
ALINE DE OLIVEIRA MAGALHÃES MOURÃO

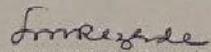
Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde, pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS DA SAÚDE - INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL.

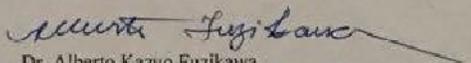
Aprovada em 31 de março de 2017, pela banca constituída pelos membros:


 Profa. Maria Auxiliadora Paíreiras Martins - Orientadora
 UFMG


 Profa. Maria Raquel Santos Carvalho
 UFMG


 Profa. Renata Aline Andrade
 Univ. Fed. dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri


 Profa. Suely Meireles Rezende
 UFMG


 Dr. Alberto Kazuo Fuzikawa
 Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte

Belo Horizonte, 31 de março de 2017.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Projeto de pesquisa: “Fatores genéticos e não genéticos associados à efetividade terapêutica da varfarina em pacientes cardiopatas: estudo de coorte”.

Prezado(a) Senhor(a),

Algumas pessoas com doenças que aumentam a coagulação do sangue precisam tomar varfarina (também chamada de Marevan) para ralar o sangue e evitar trombozes. Mas se o sangue ficar ralo demais, a chance de sangrar aumenta e por isso, o paciente faz o exame do RNI, que ajuda na escolha da dose certa do anticoagulante. Estamos fazendo uma pesquisa para conhecer características que interferem no tratamento com a varfarina e assim poder melhorar o atendimento das pessoas que usam esse remédio. Queremos convidá-lo(a) para participar como voluntário(a). Não haverá custos nem ressarcimento para participar no estudo.

Se você quiser participar, saiba que todas as suas informações serão codificadas por números, que não permitem sua identificação. Nós vamos divulgar os resultados da pesquisa em encontros e revistas científicas, mas seu nome nunca será revelado.

Para participar, um técnico treinado vai coletar 10 mL de sangue, com agulha e tubos descartáveis, para fazer exames de sangue e exames genéticos, quando você vier fazer seu exame de rotina do RNI. A coleta de sangue pode doer um pouco, por causa da picada da agulha, e podem aparecer manchas roxas no local da picada que desaparecerão espontaneamente. Também faremos uma entrevista de cerca de 20 minutos, sobre seu estado de saúde, quando você vier fazer sua consulta de rotina. A pesquisa tem duração de aproximadamente 1 ano e você será informado(a) sobre os resultados de todos os exames. Poderemos solicitar exame para doença de Chagas e caso esse exame dê resultado positivo, vamos encaminhá-lo(a) para acompanhamento médico no CTR-DIP.

Depois que os exames forem feitos, o sangue será descartado segundo normas da Vigilância Sanitária, mas se você permitir, seu DNA ficará congelado em um banco de amostras biológicas (autorizado pelo COEP-UFMG ETIC 0216/06) e poderá ser usado em pesquisas futuras. Toda nova pesquisa que usar suas informações e amostras de DNA será realizada apenas se ela for aprovada novamente por um Comitê de Ética em Pesquisa.

Se você não quiser participar, por favor, marque essa opção:

() Não aceito participar dessa pesquisa.

Se você quiser participar, por favor, escolha uma das seguintes opções:

() Aceito participar dessa pesquisa, mas não concordo com congelamento do DNA.

() Aceito participar dessa pesquisa e concordo com o congelamento do DNA. No futuro, se o DNA for usado em novas pesquisas, quero que entrem em contato comigo para eu escolher se vou concordar ou não com a nova pesquisa.

() Aceito participar dessa pesquisa e concordo com o congelamento do DNA. No futuro, se o DNA for usado em novas pesquisas, os pesquisadores não precisam entrar em contato comigo para eu escolher se vou concordar ou não com a nova pesquisa.

Mesmo aceitando participar, você pode desistir em qualquer momento e por qualquer motivo, sem prejuízo no atendimento recebido pelos profissionais de saúde do ambulatório.

Declaro que recebi uma via desse documento, tive oportunidade de ler esse documento, discutir os procedimentos, escolher minha forma de participação e esclarecer todas as minhas dúvidas.

NOME COMPLETO PACIENTE _____
 TELEFONE _____
 ENDEREÇO _____
 ASSINATURA DO PACIENTE _____
 NOME COMPLETO PESQUISADOR _____

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____.

Se você tiver dúvidas em relação aos procedimentos da pesquisa: entre em contato com os pesquisadores pelos telefones: (31) 8807-2463 Farmacêutica Aline Mourão ou (31) 3409-6937 Profa, Maria Auxiliadora.

Se você tiver dúvidas em relação aos aspectos éticos: entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais, Av, Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais, (31) 3409-4592.

APÊNDICE B – Protocolo para recrutamento dos pacientes

1 - Data	___ / ___ / ___
2 - Número de registro na pesquisa	_____
3 - Número do prontuário	_____
4 - Nome _____	
5 - Sexo	(0) M (1) F
6 - Data de nascimento	___ / ___ / ___
7 - Educação (anos)	_____
8 - Renda mensal por pessoa (reais)	_____
9 – RNI alvo	(0) 2,50 a 3,50 (1) 2,00 a 3,00
10 - Critérios de inclusão	
Uso de varfarina a pelo menos 2 meses	(0) Não (1) Sim
Idade igual ou superior a 18 anos	(0) Não (1) Sim
Fibrilação atrial (qualquer tipo)	(0) Não (1) Sim
Prótese mecânica de válvula cardíaca mitral	(0) Não (1) Sim
Prótese mecânica de válvula cardíaca aórtica	(0) Não (1) Sim
Acidente vascular encefálico prévio	(0) Não (1) Sim
11 - Paciente aceita participar após apresentação do TCLE?	(0) Não (1) Sim
NÃO 13 - Motivo de recusa _____	
14 - Paciente autoriza uso das informações coletadas?	(0) Não (1) Sim
SIM Registrar respostas para as perguntas 15 a 17 no encerramento da pesquisa ou em caso de abandono do estudo	
12 - Paciente completou o período de acompanhamento?	(0) Não (1) Sim
NÃO 16 - Motivo da descontinuação	
Decisão do paciente	(0) Não (1) Sim
Impossibilidade de comparecimento às consultas	(0) Não (1) Sim
Interrupção do tratamento por motivo não relacionado ao uso do anticoagulante	(0) Não (1) Sim
Interrupção do tratamento por motivo relacionado ao uso do anticoagulante	(0) Não (1) Sim
Qual? _____	
Óbito não relacionado ao uso do anticoagulante	(0) Não (1) Sim
Óbito relacionado ao uso do anticoagulante	(0) Não (1) Sim
Qual? _____	
Outra causa de abandono do estudo	(0) Não (1) Sim
Qual? _____	
17 - Paciente autoriza uso das informações coletadas?	(0) Não (1) Sim
SIM Encerrar registro de informações	

APÊNDICE C – Protocolo para coleta de dados

13 - Duração do tratamento com a varfarina (meses)	_____		
14 - Coabitação (paciente reside com uma ou mais pessoas)	(0) Não	(1) Sim	
15 - Necessidade de auxílio para administração da varfarina	(0) Não	(1) Sim	
16 - Número de medicamentos em uso crônico (incluindo a varfarina)	_____		
17 - Medicamentos em uso crônico (igual ou superior a 30 dias contínuos)	(0) Não	(1) Sim	
Amiodarona	(0) Não	(1) Sim	
Sinvastatina	(0) Não	(1) Sim	
Hidroclorotiazida	(0) Não	(1) Sim	
Furosemida	(0) Não	(1) Sim	
Enalapril	(0) Não	(1) Sim	
Captopril	(0) Não	(1) Sim	
Losartana	(0) Não	(1) Sim	
Propranolol	(0) Não	(1) Sim	
Atenolol	(0) Não	(1) Sim	
Carvedilol			
Espironolactona	(0) Não	(1) Sim	
Ácido acetil salicílico 100 mg	(0) Não	(1) Sim	
Levotiroxina	(0) Não	(1) Sim	
Outro _____	(0) Não	(1) Sim	
Outro _____	(0) Não	(1) Sim	
Outro _____	(0) Não	(1) Sim	
Outro _____	(0) Não	(1) Sim	
Outro _____	(0) Não	(1) Sim	
Outro _____	(0) Não	(1) Sim	
18 - Comorbidades	(0) Não	(1) Sim	
Doença de Chagas	(0) Não	(1) Sim	
Infarto agudo do miocárdio (IAM)	(0) Não	(1) Sim	
Acidente vascular encefálico (AVC) ou ataque isquêmico transitório(AIT)	(0) Não	(1) Sim	
Insuficiência cardíaca	(0) Não	(1) Sim	
Hipertensão arterial sistêmica (HAS)	(0) Não	(1) Sim	
Diabetes mellitus(DM)	(0) Não	(1) Sim	
Dislipidemia	(0) Não	(1) Sim	
Neoplasia ativa	(0) Não	(1) Sim	
Disfunção hepática grAVC	(0) Não	(1) Sim	
Doença renal crônica (DRC)	(0) Não	(1) Sim	
Hipotireoidismo	(0) Não	(1) Sim	
Outra _____	(0) Não	(1) Sim	
Outra _____	(0) Não	(1) Sim	
Outra _____	(0) Não	(1) Sim	
Outra _____	(0) Não	(1) Sim	
Outra _____	(0) Não	(1) Sim	
Outra _____	(0) Não	(1) Sim	
19 - Tromboembolismo	(0) Não	(1) Sim	
Tipo de evento _____			
20 - Hemorragia	(0) Não	(1) Sim	
Tipo de evento _____			
21 - Uso de bebidas alcoólicas	(0) Não	(1) Sim	

APÊNDICE D – Artigo sobre dose de varfarina

Algoritmo para predição de uso de doses baixas de varfarina a partir de polimorfismos nos genes CYP2C9 e VKORC1 e RNI alvo

Aline de Oliveira Magalhães Mourão, RPh, ScM¹, Karina Braga Gomes, RPh, PhD², Edna Afonso Reis, BStat, PhD^{2,3}, Renan Pedra de Souza, PhD⁴, Emílio Itamar de Freitas Campos, RPh¹, Daniel Dias Ribeiro, MD, PhD⁵, Manoel Otávio da Costa Rocha, MD, PhD^{1,5}, Maria Auxiliadora Parreiras Martins, RPh, PhD^{1,2,5*}

¹Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Prof. Alfredo Balena, 190, Bairro Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais 30130-100, Brazil.

²Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Pres. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais 31270-901, Brazil.

³Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Pres. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais 31270-901, Brazil.

⁴Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Pres. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais 31270-901, Brazil.

⁵Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Prof. Alfredo Balena, 110, Bairro Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais 30130-100, Brazil.

*Correspondence: Maria Auxiliadora Parreiras Martins, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP 31270-901, Brasil. E-mail: auxiliadorapmartins@hotmail.com

Running head: Preditores de sensibilidade à varfarina em modelo de regressão.

Keywords: warfarin, drug therapy, administration and dosage, genetic polymorphism, warfarin sensitivity.

Word count: excluding the title page, summary, references, tables, and figures.

Number of tables/figures: 4/x

RESUMO

Objetivo Varfarina é amplamente utilizada na prevenção de eventos tromboembólicos. Existe grande variação nas doses interindividuais e intraindividuais durante o tratamento. A dose de manutenção pode variar de 8,1 até 245mg de varfarina por semana. O objetivo desse estudo foi avaliar a associação dos polimorfismos CYP2C9*2 (rs1799853), CYP2C9*3 (rs1075910) e VKORC1 -G1639A (rs9923231) e fatores não genéticos com doses baixas de varfarina (<17,5mg/semana) e criar um algoritmo de predição de sensibilidade ao fármaco.

Métodos Esse é um estudo de coorte retrospectivo que incluiu 312 pacientes em uso crônico de varfarina recrutados em clínica de anticoagulação (CA) de hospital universitário brasileiro. A indicação da anticoagulação oral incluiu fibrilação atrial (FA), prótese mecânica de válvula cardíaca ou histórico de acidente vascular encefálico isquêmico. Foi investigada a associação de dados sociodemográficos, clínicos e de polimorfismos genéticos da varfarina com doses registradas entre 2009-2015. Para análise dos dados, foi feita regressão logística multivariada e construção da Curva Característica de Operação do Receptor (ROC).

Resultados A idade média dos pacientes foi 60,4 (\pm 13,5) anos, sendo 59,9% do sexo feminino. Poucos pacientes (12,8%) utilizaram doses semanais <17,5mg de varfarina. No modelo de regressão multivariada, as variáveis associadas com doses de varfarina <17,5 mg/semana foram Razão Normalizada Internacional (RNI) alvo 2,00-3,00 [razão de chance (RC) 3,66, intervalo de confiança (IC)95% 1,40-11,24; $p=0,013$], genótipo VKORC1 AA (RC 32,34, IC95% 11,39-102,91; $p<0,001$) e genótipo CYP2C9 2/2, 2/3 ou 3/3 (RC 15,34, IC95% 2,99-82,78; $p<0,001$). A curva ROC apresentou área de 82,8% (75,4-90,3%) e cut-off de 0,18 com sensibilidade e especificidade de 67,5% e 87,5%, respectivamente.

Conclusão Os polimorfismos CYP2C9*2 e CYP2C9*3 dos genes CYP2C9, -G1639A do gene VKORC1 e RNI alvo são fatores associados independentemente com sensibilidade à varfarina. Aproximadamente 77% dos pacientes com predisposição ao uso de doses baixas de varfarina podem ser identificados apenas com conhecimento dessas três variáveis.

Palavras-chave: Anticoagulantes. Varfarina. Sensibilidade à Varfarina. Polimorfismo Genético. Farmacogenética. CYP2C9. VKORC1.

O que é conhecido sobre esse assunto:

- Na prática clínica, existe grande variação nas doses terapêuticas de manutenção da varfarina.
- Cerca de 20% da variabilidade de doses está relacionada a fatores clínicos e 40% ligada às variantes genéticas de CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1 -G1639A.
- Polimorfismos CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1 -G1639A contribuem para redução das doses requeridas de varfarina.

O que esse estudo adiciona:

- RNI alvo e os polimorfismos -G1639A do gene VKORC1, CYP2C9*2 e CYP2C9*3 dos genes CYP2C9 permitem identificação de 77% dos pacientes com predisposição ao uso de doses baixas de varfarina (<17,5mg/semana).
- Indivíduos homozigotos VKORC1 AA têm chance 31 vezes maior de usarem dose baixa de varfarina.
- Indivíduos com genótipos que incluem combinações dos alelos 2 e 3 da CYP2C9 têm chance 14 vezes maior de usarem dose baixa de varfarina.

INTRODUÇÃO

O tratamento farmacológico de muitos pacientes com fibrilação atrial (FA) e prótese mecânica de válvula cardíaca inclui o uso crônico de anticoagulantes orais para prevenção de acidente vascular cerebral (AVC), uma das principais causas de incapacidade e morte em países ocidentais (TERESHCHENKO *et al.*, 2016). A varfarina é amplamente utilizada na prevenção primária e secundária de eventos tromboembólicos e seu efeito terapêutico é avaliado indiretamente pela determinação do tempo de protrombina, padronizado pela razão normalizada internacional (RNI). No entanto, o alcance do RNI ideal é dificultado pelo índice terapêutico estreito da varfarina e pela ampla variabilidade de doses requeridas para efeito antitrombótico (AGENO *et al.*, 2012).

A dose média de manutenção da varfarina está em torno de 28mg/semana (KLEIN *et al.*, 2009; ANDERSON *et al.*, 2012). No entanto, esta dose pode variar enormemente, uma vez que se observam indivíduos utilizando de 8,1 até 245mg de varfarina semanalmente (ALMEIDA *et al.*, 2014). Indivíduos que necessitam de doses menores da varfarina e recebem doses usuais, podem estar em risco de anticoagulação excessiva, ao passo que doses insuficientes podem elevar o risco de eventos tromboembólicos (KLEIN *et al.*, 2009).

Essa variação é explicada por características demográficas, clínicas e genéticas. Enquanto idade, sexo, peso, altura, etnia e interações medicamentosas explicam 20% da variabilidade de doses (GAGE *et al.*, 2008; KLEIN *et al.*, 2009; ANDERSON *et al.*, 2012; BOURGEOIS *et al.*, 2016), as variantes alélicas para os genes CYP2C9 e VKORC1 representam aproximadamente 40% dessa variação (CALDWELL *et al.*, 2007; TAKEUCHI *et al.*, 2009; WADELIUS *et al.*, 2009; JOHNSON *et al.*, 2011; ANDERSON *et al.*, 2012; ALMEIDA *et al.*, 2014).

A CYP2C9 é a principal enzima envolvida no metabolismo da varfarina, sendo codificada pelo gene citocromo *P450-2C9* (CYP2C9, do inglês, *cytochrome P450-2C9*), localizado no cromossoma 10q23.33. O CYP2C9*1 é sua variante alélica mais comum, considerada como o alelo selvagem ou metabolizador normal. Os alelos CYP2C9*2, substituição de uma cisteína por uma arginina na posição 144 do exon 3, e CYP2C9*3, substituição de uma leucina por uma isoleucina na posição 359 do exon 7, metabolizam a varfarina mais lentamente, pois codificam enzimas com atividade reduzida em 30% e 80%, respectivamente (LEE;

GOLDSTEIN; PIEPER, 2002). O alvo terapêutico da varfarina, a enzima vitamina K epóxido redutase (VKOR), é codificada pelo gene complexo da vitamina K epóxido redutase, subunidade 1 (VKORC1, do inglês, *vitamin K epoxide reductase complex, subunit 1*), localizado no cromossoma 16p11.2 (LI *et al.*, 2004; ROST *et al.*, 2004). Polimorfismos nesse gene podem aumentar a sensibilidade à varfarina ou, em casos raros, aumentar a resistência farmacodinâmica (LOEBSTEIN *et al.*, 2007; YANG *et al.*, 2010). Ao polimorfismo -G1639A em VKORC1 foram atribuídos 27% da variação da dose (WADELIUS *et al.*, 2009) e os portadores do alelo A variante necessitam de doses menores de varfarina do que aqueles que possuem o alelo G (GAGE *et al.*, 2008). O alelo A altera o sítio de ligação do fator de transcrição do VKORC1 e promove menor transcrição do gene VKORC1 do que o alelo selvagem G, o que reduz a sua expressão gênica e atividade enzimática (YUAN *et al.*, 2005).

O conhecimento de fatores relacionados à sensibilidade à varfarina pode auxiliar na estratificação de risco para o manejo adequado das doses e prevenção de eventos adversos relacionados ao medicamento. O objetivo desse estudo foi avaliar a associação dos polimorfismos CYP2C9*2 (rs1799853), CYP2C9*3 (rs1075910) e VKORC1-G1639A (rs9923231) e fatores não genéticos com doses de manutenção da varfarina <17,5mg/semana e aplicá-los a um modelo de regressão logística, com criação de um algoritmo de predição de sensibilidade ao medicamento.

MÉTODOS

Desenho do estudo e cenário

Trata-se de estudo de coorte retrospectivo, desenvolvido em uma clínica de anticoagulação (CA) de um hospital público de ensino, localizado na região sudeste do Brasil. Esse serviço é multidisciplinar e a equipe é composta por médicos, enfermeiros e farmacêuticos. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Participantes

Considerou-se como critérios de inclusão: idade ≥ 18 anos, ambos os sexos, com pelo menos uma das seguintes indicações para uso de varfarina: fibrilação/flutter atrial, prótese mecânica de válvula cardíaca ou histórico de AVC ou acidente isquêmico transitório (AIT), usuários de

varfarina em acompanhamento na CA por no mínimo dois meses no período 2009-2015. Os participantes foram selecionados de forma consecutiva, no dia da consulta agendada para controle de RNI.

Coleta de Dados

Todas as informações foram coletadas em entrevistas aos pacientes realizadas entre fevereiro e dezembro de 2015. Os dados foram complementados e confirmados por meio de consulta aos prontuários médicos e ao banco de dados da CA. As seguintes informações foram coletadas: idade, sexo, escolaridade (em anos), renda mensal familiar por pessoa (em dólar americano), coabitação, consumo excessivo de bebidas alcoólicas (definido como consumo diário de ≥ 60 g de etanol) (SKINNER *et al.*, 1984), indicação da terapia anticoagulante, RNI alvo, duração da terapia anticoagulante (em anos), tempo de acompanhamento na CA (em anos), comorbidades, medicamentos em uso crônico (≥ 30 dias), uso concomitante de medicamentos descritos em algoritmos de predição de dose (sinvastatina, amiodarona, carbamazepina e fenitoína) (PERINI *et al.*, 2008; KLEIN *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2015).

A dose semanal de varfarina foi coletada no banco de dados da CA sendo utilizada para calcular a dose semanal média utilizada pelo paciente durante o seu período máximo de seguimento na CA. Os pacientes foram divididos em dois grupos de acordo com a dose: $< 17,5$ mg/semana e $\geq 17,5$ mg/semana de varfarina. O ponto de corte da dose foi definido a partir da definição de dose baixa proposta por REDMAN *et al.*, 2008.

Genotipagem

O DNA genômico foi extraído a partir de amostras de sangue total coletadas em anticoagulante do tipo EDTA, utilizando-se o kit Biopur[®] (Biometrix) e seguindo as instruções do fabricante. Os polimorfismos CYP2C9*2 (rs1799853, C_25625805-10) e CYP2C9*3 (rs1057910, C_2710489-10) no gene CYP2C9e -G1639A no gene VKORC1 (rs9923231, C_30403261-20) foram determinados pelo método de PCR Real Time, em termociclador StepOne[®] (Applied Biosystems), utilizando ensaio de discriminação alélica TaqMan[®] (Applied Biosystems). Os resultados foram interpretados no *software* StepOne[®] (Applied Biosystems). Em todos os ensaios, utilizou-se um controle branco da reação (sem DNA) e dois controles com genótipo já conhecido (CYP2C9*1, CYP2C9*2 ou CYP2C9*3 e G1639G, G1639A ou A1639A). As análises foram repetidas com 10% das amostras e a reprodutibilidade foi de 100%.

Análise Estatística

O banco de dados foi validado por dupla digitação no *software* EpiData (versão 3.1, EpiData Assoc., Dinamarca). Em seguida os dados foram transferidos para planilha única no Excel e a análise das variáveis foi realizada no ambiente de programação R versão 3.2.5. A descrição das variáveis foi realizada usando medidas de frequência e tendência central.

Na análise univariada, a dose semanal média de varfarina foi considerada variável dependente dicotômica ($<17,5\text{mg/sem}$ ou $\geq 17,5\text{mg/sem}$) para testar as associações com as variáveis independentes contínuas (idade, escolaridade, renda mensal, duração da terapia anticoagulante, tempo de acompanhamento na CA, medicamentos em uso crônico) e categóricas (sexo, coabitação, uso excessivo de bebidas alcoólicas, indicação da terapia anticoagulante, RNI alvo, comorbidades, uso concomitante de sinvastatina, amiodarona, carbamazepina e fenitoína e os genótipos CYP2C9 e VKORC1). A associação com as variáveis independentes categóricas foi verificada por meio do teste qui-quadrado de Pearson com valor p obtido por simulação de Monte Carlo, enquanto a associação com as variáveis independentes contínuas foi verificada por meio do teste t para duas médias. As variáveis independentes, cujo teste de hipótese atingiu $p < 0,20$ na análise univariada, foram incorporadas inicialmente no modelo de regressão logística. A seleção das variáveis de importância na determinação da dose de varfarina foi baseada em estudos prévios (GAGE *et al.*, 2008; PERINI *et al.*, 2008; KLEIN *et al.*, 2009; BOTTON *et al.*, 2011, ANDERSON *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2015; BOURGEOIS *et al.*, 2016). Análise diagnóstica foi realizada considerando a adequação de suas respectivas suposições. No modelo de regressão logística final foram mantidas apenas as variáveis independentes com coeficientes diferentes de zero ($p < 0,05$). Posteriormente, aplicou-se a fórmula gerada no modelo de regressão em uma Curva Característica de Operação do Receptor (ROC) e o cut-off, que define o valor a partir do qual há sensibilidade à varfarina (doses requeridas $<17,5\text{mg/sem}$), foi estabelecido com base no ponto da curva onde a soma da sensibilidade e especificidade foi maior. Valores $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS

Análise descritiva e univariada

Foram considerados elegíveis 319 pacientes, sendo 312 incluídos no estudo, já que para sete pacientes não foi possível coletar a amostra de sangue. A idade média foi 60,4 ($\pm 13,5$) anos e

predomínio de mulheres (187; 59,9%). Observou-se média de 4,9 ($\pm 3,3$) anos de escolaridade e renda mensal familiar por pessoa igual a US\$269 ($\pm 178,5$). A maioria dos pacientes relatou coabitação (280; 89,7) e que não fazia uso excessivo de bebidas alcoólicas (307; 98,4%). Os pacientes foram acompanhados, em média, por 3,8 ($\pm 1,6$) anos e apenas 4 (1,3%) frequentaram o ambulatório por menos de 1 ano. O tempo médio de uso de varfarina foi 5,1 ($\pm 3,9$) anos, sendo indicada principalmente para tratamento de FA (n=232; 74,4%), com predominância de RNI alvo 2,00-3,00 (215; 68,9%). A principal comorbidade observada foi hipertensão (190; 60,9%), sendo o número médio de medicamentos em uso crônico igual a 5,9 ($\pm 2,0$). A dose média semanal de varfarina foi 30,9 ($\pm 15,6$) mg/semana, variando entre 8 e 119 mg. Para os pacientes que utilizaram doses <17,5 mg/semana de varfarina, a dose média foi 13,7 ($\pm 2,6$) mg/semana, e 33,4 ($\pm 15,1$) mg/semana para os pacientes com doses $\geq 17,5$ mg/semana. Aproximadamente 75% (n=234) dos indivíduos utilizaram até 35mg/semana de varfarina e 12,8% (n=40) usaram doses <17,5 mg/semana. A descrição detalhada das características clínicas dos pacientes está apresentada na **Tabela 1**.

Na análise univariada, as características sociodemográficas e clínicas independentemente relacionadas à dose média de varfarina foram idade e RNI alvo. Os pacientes que utilizaram doses <17,5 mg/semana de varfarina apresentaram idade média maior do aqueles que utilizaram doses $\geq 17,5$ mg/semana (p=0,024). A frequência de pacientes com RNI alvo entre 2,50-3,50 foi menor no grupo de pacientes que requereram doses menores que 17,5 mg/semana (p=0,029).

Tabela 1 – Características comportamentais, clínicas e farmacoterapêuticas dos pacientes de acordo com a dose média semanal de varfarina.

Características	Total (n=312)	Dose média varfarina		Valor p
		<17,5mg/semana (n=40)	≥17,5mg/semana (n=272)	
Idade, média (DP)	60,4 (13,5)	64,1 (10,5)	59,8 (13,8)	0,024
Sexo, n (%)				
Feminino	187 (59,9)	22 (7,0)	165 (52,9)	0,606
Masculino	125 (40,1)	18 (5,8)	107 (34,3)	
Escolaridade – anos, média (DP)	4,9 (3,3)	4,9 (2,9)	4,9 (3,3)	0,947
Renda mensal familiar por pessoa – US dólares, média (DP)	269,0 (178,5)	251,4 (145,6)	271,6 (182,9)	0,434
Coabitação, n (%)				
Sim	280 (89,7)	33 (10,6)	247 (79,2)	0,170
Não	32 (10,2)	7 (2,2)	25 (8,0)	
Consumo excessivo de bebidas alcoólicas, n (%)				
Sim	5 (1,6)	1 (0,3)	4 (1,3)	1,000
Não	307 (98,4)	39 (12,5)	268 (85,9)	
Indicação da terapia anticoagulante, n (%)				
Fibrilação/Flutter atrial	232 (74,4)	33 (10,6)	199 (63,8)	0,226
Prótese mecânica de valva cardíaca	118 (37,8)	10 (3,2)	108 (34,6)	0,088
Prevenção AVC/AIT secundário	45 (14,4)	7 (2,2)	38 (12,2)	0,621
RNI alvo, n (%)				
2,00-3,00	215 (68,9)	34 (10,9)	181 (58,0)	0,029
2,50-3,50	97 (31,1)	6 (1,9)	91 (29,2)	
Duração da terapia anticoagulante– anos, média (DP)	5,1 (3,9)	4,9 (3,7)	5,1 (3,9)	0,714
Tempo de acompanhamento na clínica de anticoagulação – anos, média (DP)	3,8 (1,6)	3,2 (1,7)	3,5 (1,6)	0,325
Comorbidades, n (%)				
Hipertensão arterial sistêmica	190 (60,9)	24 (7,7)	166 (53,2)	1,000
Dislipidemia	114 (36,5)	14 (4,5)	100 (32,0)	0,865
Insuficiência cardíaca	100 (32,0)	11 (3,5)	89 (28,5)	0,603
Diabetes mellitus	41 (13,1)	4 (1,3)	37 (11,9)	0,617
Neoplasia ativa	4 (1,3)	-	4 (1,3)	0,667
Disfunção hepática grave	1 (0,3)	-	1 (0,3)	1,000
Medicamentos de uso crônico, média (DP)	5,9 (2,0)	5,7 (2,3)	5,9 (2,0)	0,680
Medicamentos, n (%)				
Sinvastatina	139 (44,5)	17 (5,4)	122 (39,1)	0,867
Amiodarona	33 (10,6)	3 (1,0)	30 (9,6)	0,580
Carbamazepina	4 (1,3)	-	4(1,3)	0,661
Fenitoína	4 (1,3)	1 (0,3)	3 (1,0)	1,000

DP, desvio padrão. AVC, acidente vascular encefálico; AIT, ataque isquêmico transitório. RNI, razão normalizada internacional. 1 US dólar = 2,5 Reais.

Análise dos fatores genéticos

Polimorfismos dos genes *CYP2C9* e *VKORC1* mostraram relação com a dose de varfarina. Observou-se que metabolizadores extensivos (*CYP2C9* *1/*1) necessitaram de doses maiores de varfarina do que indivíduos metabolizadores intermediários (*CYP2C9* *1/*2 ou *1/*3) e fracos (*CYP2C9* *2/*2 ou *3/*3 ou *2/*3) ($p < 0,001$). Para o polimorfismo *VKORC1*-G1639A, observou-se que o genótipo AA foi relacionado a menores doses de varfarina ($p < 0,001$). Este dado foi corroborado quando o modelo de herança recessiva [AA x (GA + GG)] foi analisado (19,0mg/semana vs. 32,2mg/semana, $p < 0,001$). Considerando o modelo de herança dominante [GG vs. (GA + AA)], também observamos que aqueles pacientes com um ou dois alelos A necessitaram de doses menores de varfarina (25,3mg/semana vs. 36,9mg/semana, $p < 0,001$). A análise da relação entre os genótipos de *CYP2C9* e *VKORC1* e a dose média semanal de varfarina são mostradas na **Tabela 2**.

Tabela 2 – Análise da relação entre os genótipos CYP2C9 e VKORC1 e dose média semanal de varfarina.

Genótipos	n (%)	Dose média varfarina (mg/semana)	Valor p	n (%) quando dose média <17,5 (mg/semana)	Valor p
CYP2C9					
*1/*1	227 (72,8)	33,0 (15,0)		22 (7,0)	
*1/*2 + *1/*3	77 (24,7)	25,9 (16,1)	< 0,001* ¹	14 (4,5)	0,002
*2/*2 + *2/*3 + *3/*3	8 (2,6)	17,3 (7,5)		4 (1,3)	
VKORC1					
GG	149(47,8)	36,9 (18,4)		7 (2,2)	
GA	131 (42,0)	26,9 (9,2)	< 0,001* ²	15(4,8)	<0,001*
AA	32 (10,2)	19,0 (8,6)		18 (5,8)	
GG	149(47,8)	36,9 (18,4)		7 (2,2)	
GA + AA	163 (52,2)	25,3 (9,6)	< 0,001*	33(10,6)	<0,001*
AA	32 (10,2)	19,0 (8,6)		18 (5,8)	
GA + GG	280 (89,7)	32,2 (15,6)	< 0,001*	22 (7,0)	<0,001*

¹Teste de Dunnet p <0,05 para todos, referência *1/*1, ²Teste de Dunnet p <0,05 para todos, referência GG. *p<0,05 foi estatisticamente significativo.

Predição de doses pelo modelo de regressão logística

As variáveis que apresentaram p<0,20 na análise univariada e que foram testadas no modelo de regressão logística multivariada incluíram idade (p=0,024), coabitação (p=0,170), prótese mecânica de prótese cardíaca (p=0,088), uso de sinvastatina (p=0,073), RNI alvo (p=0,029) e genótipos CYP2C9 [1/1 vs. (1/2 + 1/3) vs. (2/2 + 2/3 + 3/3); p<0,001] e VKORC1 (GG vs. GA vs. AA; p<0,001). O modelo de regressão logística final incluiu somente variáveis com coeficientes diferentes de zero e está apresentado na **Tabela 3**.

Tabela 3 – Modelo de regressão logística para dose média de varfarina <17,5 mg/semana.

Termo	Coefficiente estimado	Erro padrão do coeficiente	Valor z	Valor p	Razão de chances (95% IC)
Intercepto	-4,312	0,616	-7,00	< 0,001*	-
RNI 2,00 a 3,00	1,297	0,524	2,47	0,013*	3,66 (1,40-11,24)
VKORC1 GA	0,887	0,493	1,80	0,072	2,43 (0,95-6,74)
VKORC1 AA	3,476	0,557	6,25	< 0,001*	32,34 (11,39-102,91)
CYP2C9 1/2 + 1/3	0,561	0,439	1,28	0,202	1,75 (0,72-4,10)
CYP2C9 2/2 + 2/3 + 3/3	2,730	0,825	3,31	< 0,001*	15,34 (2,99-82,78)

IC, intervalo de confiança. RNI, Razão Normalizada Internacional. A classe de referência do modelo foi a dose média de varfarina $\geq 17,5$ mg/semana e as razões de chance são pertencem ao grupo dose média de varfarina <17,5 mg/semana em relação à classe de referência. *p<0,05 foi estatisticamente significativo.

A equação derivada do modelo é a seguinte: $\logaritmo\ natural\ (dose\ média\ semanal\ de\ varfarina\ <17,5mg/dose\ média\ semanal\ de\ varfarina\ \geq 17,5mg) = -4,312 + 1,297 \times (1, se\ RNI\ alvo\ entre\ 2,00\ e\ 3,00,\ caso\ contrário\ 0) + 0,887 \times (1, se\ genótipo\ VKORC1\ GA,\ caso\ contrário\ 0) + 3,476 \times (1, se\ genótipo\ VKORC1\ AA,\ caso\ contrário\ 0) + 0,561 \times (1, se\ genótipo\ CYP2C9\ 1/2\ ou\ 1/3,\ caso\ contrário\ 0) + 2,730 \times (1, se\ genótipo\ CYP2C9\ 2/2\ ou\ 2/3\ ou\ 3/3,\ caso\ contrário\ 0)$.

A transformação dos coeficientes da regressão nos informa a razão de chances (RC) associada a cada variável. Indivíduos com RNI alvo entre 2,00-3,00 têm chance 2,66 vezes maior de usarem dose média de varfarina <17,5mg/semana do que aqueles com RNI alvo entre 2,50-3,50. A presença dos alelos polimórficos CYP2C9 e VKORC1 aumenta a chance de baixa dose, sendo que há um efeito dependente do número de cópias alélicas. Indivíduos com genótipos que incluem combinações dos alelos 2 e 3 da CYP2C9 têm chance 14,3 vezes maior de usarem dose média de varfarina <17,5mg/semana e aqueles com homozigose de AA do VKORC1 têm chance 31,3 vezes maior de usarem dose média de varfarina <17,5mg/semana.

Quando a fórmula é aplicada a cada paciente, obteve-se um valor que foi utilizado para traçar a curva ROC, novamente considerando como variável desfecho o uso de doses médias de varfarina <17,5mg/semana. A curva ROC do modelo apresentou área de 82,8% (75,4%-90,3%) e o melhor valor do cut-off foi de 0,18 cuja sensibilidade foi 67,5% e especificidade foi 87,5% (**Figura 1**).

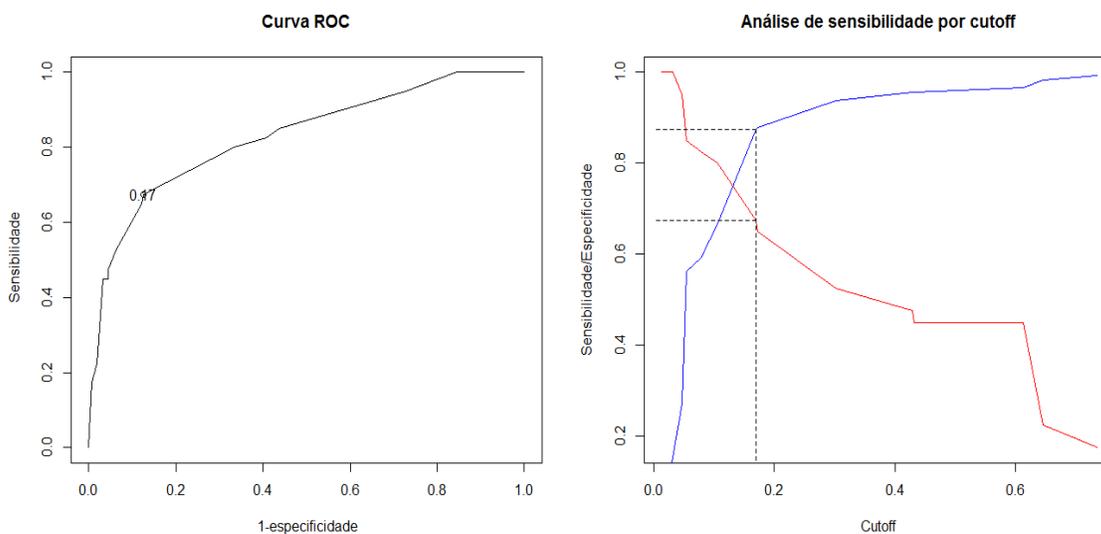


Figura 1 – Análise de sensibilidade e especificidade do modelo de regressão logística para dose média de varfarina <17,5mg/semana. Linha vermelha representa a sensibilidade e linha azul representa a especificidade.

DISCUSSÃO

A investigação da relação dos polimorfismos nos genes *CYP2C9* e *VKORC1* e fatores não genéticos com o uso de doses de varfarina <17,5mg/semana mostrou que o RNI alvo e os polimorfismos *CYP2C9**2 e *CYP2C9**3 do gene *CYP2C9* e -G1639A do gene *VKORC1* foram associados independentemente à dose requerida. O ponto forte desse estudo foi a identificação de fatores preditores de dose semanal de varfarina <17,5mg e a obtenção de uma equação matemática, por meio de um modelo de regressão logística, que permitiu prever a dose requerida de varfarina e, posteriormente, com aplicação desses resultados em uma curva ROC e determinação de um cut-off, permitiu estratificar os pacientes em risco de sensibilidade à varfarina (doses <17,5mg/semana).

A influência dos polimorfismos *CYP2C9**2 e *CYP2C9**3 do gene *CYP2C9* e -G1639A do gene *VKORC1* na dose da varfarina já foi observada em várias populações. Carreadores de alelos polimórficos para esses genes requerem doses menores da varfarina (LINDH *et al.*, 2009; YANG *et al.*, 2010). Na população estudada, observou-se redução de 11,8% e 25,8% da dose utilizada por pacientes com alelos selvagens do gene *CYP2C9* em heterozigose e homozigose, respectivamente. A enzima *CYP2C9* participa do metabolismo da varfarina e o alelo *CYP2C9**1 selvagem apresenta maior frequência nas populações e é o responsável pela metabolização normal desse fármaco (BOTTON *et al.*, 2011, SANTOS *et al.*, 2015). Os alelos *CYP2C9**2 e *CYP2C9**3 codificam enzimas com atividade reduzida em 30% e 80%, respectivamente, e metabolizam a varfarina mais lentamente. Juntos eles explicam 12% da variação da dose de varfarina (TAKEUCHI *et al.*, 2009; ANDERSON *et al.*, 2012).

No presente estudo, os carreadores -G1639A e -A1639A do gene *VKORC1* utilizaram dose 16,4% e 32,1% menores do que a dose utilizada por pacientes com alelos selvagens em homozigose-G1639G, respectivamente. O polimorfismo *VKORC1*-G1639A explica 27% da variação da dose de varfarina (WADELIUS *et al.*, 2009) e os carreadores do alelo A variante necessitam de doses menores de varfarina do que aqueles que possuem o alelo G (GAGE *et al.*, 2008). O alelo A altera o sítio de ligação do fator de transcrição do *VKORC1* e promove menor transcrição do gene quando comparado ao alelo G selvagem, o que reduz a sua expressão gênica (YUAN *et al.*, 2005). Yang e colaboradores (2010) revelaram que, em caucasianos, carreadores de um ou dois alelos variantes requerem doses 25% e 50% menores, respectivamente.

O efeito antitrombótico da varfarina está relacionado à redução da síntese dos fatores da coagulação dependentes da vitamina K (II, VII, IX e X) devido à inibição da atividade enzimática da proteína VKOR, que participa da síntese desses fatores (OWEN *et al.*, 2010). Quanto menor o nível de anticoagulação a ser alcançado, menor inibição enzimática da VKOR e menor quantidade de varfarina serão necessárias para alcance da meta terapêutica. Em relação à meta de RNI, já era esperado observar menor necessidade de doses para pacientes com RNI alvo entre 2,00-3,00. O resultado encontrado pode refletir a adequação do protocolo institucional utilizado para manejo da dose da varfarina a partir de diferentes porcentagens de ajustes de acordo com o RNI alvo desejado.

Alguns estudos identificaram o aumento da idade como fator associado ao uso de menores doses de varfarina (PERINI *et al.*, 2008; SUAREZ-KURTZ *et al.*, 2009; BOTTON *et al.*, 2011, VERHOEF *et al.*, 2013; SUAREZ-KURTZ *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2015) ou de sensibilidade (doses ≤ 21 mg/semana) à varfarina (SALEH, 2016). Nesse estudo, a análise univariada mostrou que a idade se relacionou negativamente com a dose de varfarina. Para cada ano adicional na idade, a dose de varfarina reduziu 0,17mg/semana. Entretanto, a idade não se manteve como variável preditora no modelo de regressão logística. A varfarina é transformada em metabólitos inativos por enzimas do citocromo P450 hepático e com o envelhecimento pode haver diminuição do seu metabolismo (UFER, 2005; POLASEK *et al.*, 2013). Garcia e colaboradores (2005) observaram que o aumento de um ano na idade reduziu a necessidade semanal de varfarina em 0,4 mg. Khoury e Sheikh-Taha (2014) também observaram o uso de menores doses da varfarina com o avançar da idade.

Quando se considera a aplicabilidade clínica dos resultados desse estudo, deve-se ponderar alguns aspectos. Embora o modelo de regressão logística não tenha conseguido estratificar corretamente todos os pacientes sensíveis à varfarina, obteve-se um bom valor preditivo, o que reforça a sua utilidade futura na conduta clínica, já que a escolha da dose a ser prescrita a partir do modelo de predição do uso de doses baixas de varfarina poderá levar à redução do risco de sangramento nos pacientes sensíveis. Vale destacar também que os modelos de regressão linear para predição de doses iniciais da varfarina apresentam baixo poder preditivo, com R^2 ajustado variando entre 24% e 69% (FRANCIS *et al.*, 2014), demonstrando que a dose inicial pode ser predita incorretamente para muitos pacientes. Assim, a predição do uso de doses baixas pode ser uma alternativa para melhorar a segurança da terapia anticoagulante com varfarina.

Outra observação importante se refere à pequena proporção de pacientes com alelos polimórficos para CYP2C9 (18/85; 21,2%) e para VKORC1(33/163; 20,2%), em homozigose ou heterozigose, que utilizou doses baixas de varfarina durante o tratamento. Em outras palavras, muitos pacientes com alelos polimórficos não utilizaram doses baixas de varfarina. Esse achado corrobora as evidências que a variabilidade de doses de varfarina é multifatorial, mas mesmo assim a inclusão dos polimorfismos é essencial, pois ditam grande parte da resposta. Os genótipos CYP2C9 e VKORC1 influenciaram o uso de doses baixas em maior magnitude que o RNI alvo.

Existem algumas limitações nesse estudo. Primeiramente, algumas covariáveis como IMC, tabagismo e ingestão dietética de vitamina K, que podem estar associadas à variação de dose da varfarina, não foram avaliadas. Segundo, nossos resultados são derivados de um único ambulatório de anticoagulação, sendo assim, os dados precisam ser validados em outras populações. E por fim, muitos dados foram coletados a partir de prontuários, o que pode gerar limitações na recuperação de informações.

Em conclusão, RNI alvo juntamente com os polimorfismos CYP2C9*2 e CYP2C9*3 do gene *CYP2C9* e -G1639A do gene *VKORC1* permitiram a estratificação dos pacientes em relação ao uso de doses baixas de varfarina. O conhecimento desses fatores traz grande contribuição para o manejo dos pacientes, já que a identificação prévia de sensibilidade à varfarina é importante para não expor esses indivíduos a doses altas e risco excessivo de anticoagulação.

Financiamento. Esse estudo foi financiado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical da Universidade Federal de Minas Gerais, pela Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais e pela Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) MOC Rocha, RP Souza e KB Gomes são pesquisadores do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

Agno W, Gallus AS, Wittkowsky A, Crowther M, Hylek EM, Palareti G. Oral anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. **Chest**. 2012;141(2 Suppl):44-88.

Almeida VC, Ribeiro DD, Gomes KB, Godard AL. Polymorphisms of CYP2C9, VKORC1, MDR1, APOE and UGT1A1 genes and the therapeutic warfarin dose in Brazilian patients with thrombosis: a prospective cohort study. **Mol Diagn Ther.** 2014;18(6):675-683.

Anderson JL *et al.* A randomized and clinical effectiveness trial comparing two pharmacogenetic algorithms and standard care for individualizing warfarin dosing (CoumaGen-II). **Circulation.** 2012;125(16):1997-2005.

Botton MR *et al.* Influence of genetic, biological and pharmacological factors on warfarin dose in a Southern Brazilian population of European ancestry. **Br J Clin Pharmacol.** 2011;72(3):442-450.

Bourgeois S *et al.* A multi-factorial analysis of response to warfarin in a UK prospective cohort. **Genome Med.** 2016;8(1):2.

Caldwell MD *et al.* Evaluation of genetic factors for warfarin dose prediction. **Clin Med Res.** 2007;5(1):8-16.

Francis B, Lane S, Pirmohamed M, Jorgensen A. A review of a priori regression models for warfarin maintenance dose prediction. **PLoS One.** 2014;12(9):e114896.

Gage BF *et al.* Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. **Clin Pharmacol Ther.** 2008;84(3):326-331.

Garcia D *et al.* Warfarin maintenance dosing patterns in clinical practice: implications for safer anticoagulation in the elderly population. **Chest.** 2005;127(6):2049-2056.

Johnson JA *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for CYP2C9 and VKORC1 Genotypes and Warfarin Dosing. **Clin Pharmacol Ther.** 2011;90(4):625-629.

Khoury G, Sheikh-Taha M. Effect of age and sex on warfarin dosing. **Clin Pharmacol.** 2014;6:103-106.

Klein TE *et al.* International Warfarin Pharmacogenetics Consortium. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetics data. **N Engl J Med.** 2009;360(8):753–764.

Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. **Pharmacogenetics.** 2002;12(3):251–263.

Li T *et al.* Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase. **Nature.** 2004;427(6974):541–544.

Lindh JD, Holm L, Andersson ML, Rane A. Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements--a systematic review and meta-analysis. **Eur J Clin Pharmacol.** 2009;65(4):365-75.

Loebstein R *et al.* A coding VKORC1 Asp36Tyr polymorphism predisposes to warfarin resistance. **Blood.** 2007;109(6):2477-2480.

Perini JÁ *et al.* Pharmacogenetics of Warfarin: Development of a Dosing Algorithm for Brazilian Patients. **Clin Pharmacol Ther.** 2008;84(6):722-728.

Redman AR *et al.* Variant CYP2C9 alleles and warfarin concentrations in patients receiving low-dose versus average-dose warfarin therapy. **Appl Thromb Hemost.** 2008;14(1):29-37.

Rost S *et al.* Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. **Nature.** 2004;427(6974):537–541.

Santos PC *et al.* Development of a pharmacogenetic-based warfarin dosing algorithm and its performance in Brazilian patients: highlighting the importance of population-specific calibration, **Pharmacogenomics,** 2015;16(8):865-876.

Skinner *et al.* Identification of alcohol abuse using laboratory tests and a history of trauma. **Annals of Internal Medicine.** 1984;101(6):847-851.

Suarez-Kurtz G, Perini JA, Silva-Assunção E, Struchiner CJ. Relative contribution of VKORC1, CYP2C9, and INR response to warfarin stable dose. **Blood.** 2009;113:4125-4126.

Suarez-Kurtz G, Botton MR. Pharmacogenetics of coumarin anticoagulants in Brazilians. **Expert Opin Drug Metab Toxicol.** 2015;11(1):67-79.

Takeuchi F *et al.* A genome-wide association study confirms VKORC1, CYP2C9, and CYP4F2 as principal genetic determinants of warfarin dose. **PLoS Genet.** 2009;5(3):e1000433.

Tereshchenko LG, Henrikson CA, Cigarroa J, Steinberg JS. Comparative Effectiveness of Interventions for Stroke Prevention in Atrial Fibrillation: A Network Meta-Analysis. **J Am Heart Assoc.** 2016;5(5).

Verhoef TI *et al.* Pharmacogenetic-guided dosing of coumarin anticoagulants: algorithms for warfarin, acenocoumarol and phenprocoumon. **BJCP.** 2013 77(4):626-641.

Verhoef TI, Redekop WK, de Boer A, Maitland-van der Zee AH. EU-PACT group. Economic evaluation of a pharmacogenetic dosing algorithm for coumarin anticoagulants in The Netherlands. **Pharmacogenomics.** 2015;16(2):101-114.

Wadelius M *et al.* The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting. **Blood.** 2009;113(4):784-792.

Yang L, Ge W, Yu F, Zhu H. Impact of VKORC1 gene polymorphism on interindividual and interethnic warfarin dosage requirement--a systematic review and meta analysis. **Thromb Res.** 2010;125(4):159-166.

Yuan HY *et al.* A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity. **Hum Mol Genet.** 2005;14(13):1745-51.