

## Avaliação de polimorfismo da enzima citocromo P450 em pacientes com síndrome antifosfolípide e seu impacto no controle da anticoagulação

### *Evaluation of polymorphism of the cytochrome P450 enzyme in patients with antiphospholipid syndrome and its impact on anticoagulation control*

Carlos Ewerton Maia Rodrigues<sup>1</sup>, Jozélio Freire de Carvalho<sup>2\*</sup>, Roberto Paulo Correia de Araujo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Serviço de Reumatologia do Hospital Geral de Fortaleza/Ceará. Professor da Pós-graduação em Ciências Médicas da Universidade de Fortaleza (UNIFOR) e da Universidade Federal do Ceará; <sup>2</sup>Médico pela Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP), Doutor em Ciências pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), Pesquisador, Programa de Pós-graduação Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas da Universidade Federal da Bahia (UFBA); <sup>3</sup>Professor Titular de Bioquímica, Programa de Pós-graduação Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas da UFBA

#### Resumo

**Introdução:** a Síndrome Antifosfolípide é caracterizada por eventos trombóticos e perdas gestacionais de repetição e é considerada a trombofilia adquirida mais comum. Quando não está associada a alguma doença do tecido conectivo é dita primária e seu tratamento é baseado em anticoagulação por longo período com warfarin. Isso requer controle rigoroso do tempo de protrombina realizada pela monitoração dos valores de INR para que se evite em um extremo o risco de sangramento e em outro o risco de trombose. **Objetivo:** realizar uma revisão da literatura sobre polimorfismos genéticos da citocromo P450 na síndrome antifosfolípide. **Metodologia:** revisão narrativa da literatura. **Resultados:** embora investigações tenham identificado a influência de vários genes na resposta ao warfarin, a maioria das evidências sugere um papel mais importante para o polimorfismo de dois genes: o gene do citocromo P450(CYP)2C9 (CYP2C9) e o gene do complexo redutase epóxido vitamina K 1 (VKORC1). De fato, o warfarin é administrado como uma mistura racêmica de S – e R-warfarin e estes enantiômeros são extensivamente metabolizados no fígado por diferentes enzimas do citocromo P450(CYP), com a CYP2C9 servindo como a principal enzima no metabolismo da S-warfarin. Nesse sentido, a farmacogenética da terapia com warfarin é relevante para melhorar a segurança e a efetividade dessa terapia. Polimorfismos estruturais no gene CYP2C9 criam variantes alélicas que codificam enzimas com diferentes atividades catalíticas. As frequências alélicas destes variantes diferem entre diferentes grupos étnicos, sem estudos no Brasil em pacientes com SAF. **Conclusão:** o conhecimento da presença de polimorfismos genéticos da citocromo P450 em usuários de warfarin é de fundamental importância. Desde que sangramentos ou alvos subterapêuticos podem advir da presença dessas alterações genéticas.

**Palavras-chave:** Polimorfismo. Anticoagulação. Warfarin. Síndrome antifosfolípide.

#### Abstract

**Introduction:** antiphospholipid Syndrome is characterized by thrombotic events and repeated pregnancy losses and is considered the most common acquired thrombophilia. When it is not associated with any connective tissue disease, it is said to be primary and its treatment is based on long-term anticoagulation with warfarin. This requires strict control of the prothrombin time performed by monitoring the INR values to avoid the risk of bleeding at one extreme and the risk of thrombosis at the other. **Objective:** To perform a review of the literature on genetic polymorphisms of cytochrome P450 in antiphospholipid syndrome. **Methods:** narrative literature review **Results:** although investigations have identified the influence of several genes on the response to warfarin, most evidence suggests a more important role for the polymorphism of two genes: the cytochrome P450 (CYP) 2C9 (CYP2C9) gene and the reductase complex gene vitamin K 1 epoxide (VKORC1). In fact, warfarin is administered as a racemic mixture of S – and R-warfarin and these enantiomers are extensively metabolized in the liver by different enzymes of cytochrome P450 (CYP), with CYP2C9 serving as the main enzyme in the metabolism of S-warfarin. In this sense, the pharmacogenetics of warfarin therapy is relevant to improve the safety and effectiveness of this therapy. Structural polymorphisms in the CYP2C9 gene create allelic variants that encode enzymes with different catalytic activities. The allele frequencies of these variants differ between different ethnic groups, with no studies in Brazil in patients with APS. **Conclusion:** knowledge of the presence of genetic polymorphisms of cytochrome P450 in users of warfarin is of fundamental importance. Since bleeding or subtherapeutic targets may result from the presence of these genetic changes.

**Keywords:** Polymorphism. Anticoagulation. Warfarin. Antiphospholipid syndrome

#### INTRODUÇÃO

A síndrome antifosfolípide (SAF) é uma doença

auto-imune, caracterizada por eventos trombóticos de repetição, perdas gestacionais e trombocitopenia associada a anticorpos antifosfolípidos (anticardiolipina, anticoagulante lúpico e anti beta2-glicoproteína I)<sup>1</sup>. SAF primária é definida como a presença de antifosfolípidos em pacientes com trombose idiopática, mas nenhuma

**Correspondente/Corresponding:** \*Jozélio Freire de Carvalho – Rua das Violetas, 42, ap. 502, Pituba Salvador, Bahia, Brazil CEP: 41810-080 – Tel: 55 (71) 99187-1169 – E-mail: jotafc@gmail.com

evidência de doença auto-imune ou outros fatores desencadeantes como infecção, malignidade, hemodiálise ou antifosfolípidos induzidos por drogas<sup>2</sup>.

Em indivíduos aparentemente saudáveis, a prevalência de anticorpos antifosfolípidos varia de 1 a 5%, aumentando com a idade, especialmente em indivíduos mais velhos com doenças crônicas<sup>3</sup>. A idade média de início das manifestações clínicas da doença ocorre aos 31 anos<sup>4</sup>. Cervera *et al.*<sup>4</sup> observou que as formas mais comuns de apresentação são trombose venosa profunda (31,7%), trombocitopenia (21,9%), acidente vascular cerebral (13,1%), tromboflebite superficial (9,1%), embolia pulmonar (9,0%), perda fetal (8,3%), ataque isquêmico transitório (7,0%) e anemia hemolítica (6,6%).

A SAF deve ser considerada no diagnóstico diferencial entre trombozes arteriais e venosas recorrentes, em perdas fetais de repetição e pré-eclâmpsia. É classificada de forma específica e definitiva quando apresenta pelo menos um critério clínico e um laboratorial. Os critérios clínicos incluem trombose (arterial, venosa ou de pequenos vasos) ou perdas gestacionais e morbidade por insuficiência placentária na presença do anticoagulante lúpico ou títulos moderados a altos de anticardiolipina ou anti- $\beta$ 2-glicoproteína 1 subtipo IgG ou IgM (confirmado por duas vezes no intervalo de doze semanas)<sup>5</sup>.

#### Tratamento da SAF

A maioria dos pacientes com SAF necessita de anticoagulação por período prolongado com warfarin como terapia de eleição para que se evite em um extremo o risco de sangramento e em outro o risco de trombose. Isso requer controle rigoroso do tempo de protrombina realizado pela monitoração dos valores de INR (razão de normalização internacional) estimado pelo tempo de protrombina). Além disso, os pacientes com SAF comumente apresentam outros fatores de risco para eventos trombóticos como hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemia, hiperglicemia e obesidade. O controle da ação do warfarin baseado na INR é difícil devido às flutuações nos níveis de anticoagulação, causadas por fatores intrínsecos como a carga genética relacionada ao metabolismo da droga, idade e capacidade de absorção da vitamina K e de fatores extrínsecos como a dieta alimentar, interação medicamentosa, estilo de vida e presença de co-morbidades<sup>6,7</sup>.

Os fatores responsáveis pela redução da resposta do INR ao cumarínico são edema, resistência hereditária à cumarina, hiperlipemia, hipotireoidismo e síndrome nefrótica<sup>8</sup>.

#### Anticoagulação e citocromo P450

Pacientes com disfunção hepática são mais susceptíveis aos cumarínicos por terem produção deficiente de fatores da coagulação, assim como estados hipermetabólicos que ampliam a ação do warfarin, doenças consumptivas, insuficiência renal e aumento da ingestão

de álcool<sup>9-11</sup>. Em idosos há um aumento da disponibilidade da droga pela redução da concentração de albumina sérica e redução do metabolismo hepático<sup>11,12</sup>, facilitando sua ação. Por outro lado, embora investigações tenham identificado a influência de vários genes na resposta ao warfarin<sup>12</sup>, a maioria das evidências sugere um papel mais importante para o polimorfismo de dois genes: o gene do citocromo P450(CYP)2C9, (CYP2C9) e o gene do complexo redutase epóxido vitamina K 1 (VKORC1)<sup>13</sup>. De fato, o warfarin é administrado como uma mistura racêmica de S – e R-warfarin e estes enantiômeros são extensivamente metabolizados no fígado por diferentes enzimas do citocromo P450(CYP), com a CYP2C9 servindo como a principal enzima no metabolismo do S-warfarin<sup>13</sup>.

#### Anticoagulação e citocromo P450 na SAF

A influência de genótipos CYP2C9 e VKORC1 na dose requerida de warfarin tem sido consistentemente demonstrada em diversos grupos de pacientes em estudos observacionais e em estudos clínicos randomizados. Além disso, variantes genotípicas CYP2C9 têm sido associadas com um risco aumentado de eventos hemorrágicos sérios.<sup>13</sup> Polimorfismos estruturais no gene CYP2C9 criam variantes alélicas que codificam enzimas com diferentes atividades catalíticas<sup>13</sup>. As frequências alélicas destes variantes diferem consideravelmente entre diferentes grupos étnicos. CYP2C9\*1 é designado como tipo padrão (metabolizador normal). O variante CYP2C9\*2 está associado com dose de warfarin mais reduzida comparado com o variante CYP2C9\*3<sup>14</sup>. Dos variantes alélicos CYP2C9; o CYP2C9\*2 e CYP2C9\*3 são os mais comumente associados com atividade catalítica reduzida em pacientes da Europa, Ásia e África<sup>15-20</sup>. Nesse sentido, entre populações de raça branca apenas os variantes CYP2C9\*2 e CYP2C9\*3 são relevantes com frequências alélicas de 0,08 a 0,14% e de 0,04 a 0,16%, respectivamente. Essas diferenças parecem explicar a maioria das diferenças nas dosagens requeridas de warfarin observada pelos clínicos nesses grupos de pacientes. Em contraste, em africanos, americanos e asiáticos, ambos os variantes são pouco frequentes (0,005 a 0,04%), e o CYP2C9\*2 não tem sido detectado em asiáticos<sup>21</sup>. É portanto fundamental definir se na população de SAF do Brasil a distribuição desses variantes será relevante para a abordagem de pacientes com risco aumentado de trombose que necessitam de anticoagulação com warfarin por longo período.

A associação entre o genótipo CYP2C9 e dose requerida de warfarin é robusta, com um número de estudos confirmatórios em populações da Europa e Ásia<sup>16,17,19,22-24</sup>. Nesse sentido, foi definido em que a dosagem média de warfarin para paciente com genótipo CYP2C9 padrão é aproximadamente 6 mg, aqueles com duas cópias do variante \*2 têm uma dose média de 4 mg e aqueles com duas cópias do variante \*3 têm uma dose média de 1,5 mg<sup>25</sup>. Com esses dados, podemos inferir que pacientes homocigotos para o genótipo CYP2C9\*2 e CYP2C9\*3 são

pobres metabolizadores, necessitando de menores doses de warfarin, prevenindo, com isso, eventos hemorrágicos graves.

Confirmando esses achados, Reshetniak, Kondratevc, Patrushevcm Patrishev<sup>26</sup> avaliaram a eficácia e a segurança da terapia com warfarin em sessenta pacientes gregos com SAF. Variações no genótipo CYP2C9 foram avaliadas apenas na metade desses pacientes e 36,7% eram portadores do genótipo CYP2C9\*2 e CYP2C9\*3. Mulheres em idade reprodutiva com esses polimorfismos tinham menor hemorragia com mais frequência do que as portadoras da variante padrão. Pacientes com a variante CYP2C9\*3 tinham também mais hemorragias nasal e gengival ( $p=0,005$ ) e necessitavam de dose de manutenção de warfarin mais baixa comparado com portadores de CYP2C9\*1 e CYP2C9\*2, sugerindo que a determinação do genótipo CYP2C9 em pacientes com SAF antes do tratamento com anticoagulante oral pode ajudar a planejar um tratamento individualizado, reduzindo os riscos de superdosagem de warfarin no começo da terapia.

Estudos recentes estimam que a taxa de complicações hemorrágicas com uso de anticoagulação oral é de 5 a 7,9 % para eventos hemorrágicos sérios (acidente vascular cerebral, hemorragia digestiva) e 14 a 36% para hemorragias menores (sangramento nasal, hematúria microscópica e outras)<sup>27,28</sup>. Eventos hemorrágicos têm maior chance de ocorrer durante os primeiros três meses de tratamento, talvez como uma consequência da coagulação excessiva quando a dose esta sendo individualizada<sup>25,27,29</sup>. Um estudo caso-controle reportou um risco hemorrágico aumentado entre pacientes requerendo baixa dose de warfarin (<1,5 mg/dia)<sup>30</sup>. A associação entre CYP2C9 e risco hemorrágico foi deduzida pela prevalência mais elevada da variante genotípica (CYP2C9\*2, \*3) entre pacientes requerendo baixa dose<sup>30</sup>. Margaglione et al<sup>31</sup> reportaram um risco 2,6 vezes maior de hemorragia entre pacientes com variantes CYP2C9. Ressalta-se ainda que, nos pacientes com SAF e eventos arteriais, o nível de anticoagulação recomendada é em geral superior ao estabelecido em outras condições clínicas que utilizam essa droga<sup>8</sup>, reforçando a relevância de um cuidado maior nesses pacientes.

Outro ponto extremamente importante na abordagem de pacientes em tratamento com anticoagulação oral sugerem que o risco hemorrágico associado com variantes genotípicas CYP2C9 é independente do INR no tempo do evento e persiste mesmo depois da estabilização da anticoagulação<sup>32</sup>. Esse achado sugere que pacientes com esses polimorfismos gênicos podem necessitar de ajustes das doses de warfarin para alcançar o INR desejado de forma mais conservadora do que aqueles com genótipo padrão<sup>32</sup>. Essa definição é ainda mais relevante para pacientes com SAF, considerando que os mesmos possuem recomendação de níveis de anticoagulação mais altos e devem utilizar sem previsão de retirada<sup>8</sup>.

Em virtude do risco de sangramento e seu impacto no controle da anticoagulação em pacientes com SAF, é desejado que futuros estudos identifiquem o polimor-

fismo gênico nesse grupo específico de pacientes. Dessa forma, com esses dados será possível monitorar com mais segurança os regimes terapêuticos dos pacientes, prevenindo eventos adversos indesejados, diminuindo a morbimortalidade dessa doença.

## CONCLUSÃO

O presente estudo de revisão da literatura sugere que a determinação do genótipo CYP2C9 em pacientes com SAF antes do tratamento com anticoagulante oral pode ajudar a planejar um tratamento individualizado, reduzindo os riscos de superdosagem de warfarin no começo da terapia.

## REFERÊNCIAS

- PETRI, M. The antiphospholipid antibody syndrome. In: **Current rheumatology diagnosis & treatment**. 2. ed, United States of America: Lange Medical Books/McGrawHill, 2007.
- PIETTE, J. C. et al. Exclusion criteria for primary antiphospholipid syndrome. **J Rheumatol.**, [s.l.], v.20, p.1802-1804, 1993.
- PETRI, M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. **J Autoimmun.**, London, v.15, n.2, p.145-152, 2000.
- CERVERA, R. et al. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1000 patients. **Arthritis Rheum.**, Atlanta, v.46, p. 1019-1027, 2002.
- LACKNER, J.K.; PEETZ, D.; LANDENBERG, P. Revision of the Sapporo criteria for the antiphospholipid syndrome – coming to grips with evidence and Thomas Bayes? **Thromb. Haemost.**, Stuttgart, v.95, p.917-919; 2006.
- TRIPLETT, D. A. Current recommendation for warfarin therapy – use and monitoring. **Med Clin on North Am.**, [s.l.], v. 82, p. 601-611, 1998.
- TONDATO, F. Interação de fármacos e alimentos com warfarina. **Rev. Soc. Cardiol.**, [s.l.], v.5, p. 770-778, 2004.
- ERKAN, D.; ORTEL, T.L.; LOCKSHIA, M. D. Warfarin in antiphospholipid syndrome – time to explore new horizons. **J. Rheumatol.**, Toronto, v. 32, p.208-212, 2005.
- SHEARER, M.J. Vitamin K. **Lancet**, London, v.345, p.229-334, 1995.
- TRIPLETT, D. A. Current recommendation for warfarin therapy-use and monitoring. **Emerg. Med. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.82, p. 601-611, 1998.
- TONDATO, F. Interação de fármacos e alimentos com warfarina. **Rev. Soc. Cardiol.**, [s.l.], v.5, p. 770-778, 2004.
- WADELIUS, M.; PIRMOHAMED, M. Pharmacogenetics of warfarin. Current status and future challenges. **Pharmacogenomics J.**, [s.l.], v. 7, p. 9-111.
- LIMDI, N. A.; VEENSTRA, D. L. Warfarin pharmacogenetics. **Pharmacotherapy** Carlisle, v. 28, n. 9, p. 1084-1097, 2008.
- LEE, C. R.; GOLDSTEIN, J.A.; PIEPER, J. A. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. **Pharmacogenetics** [s.l.], v.12, p. 251-263, 2002.
- LIMDI, N. A. et al. Influence of CYP2C9 and VKORC1 on warfarin dose, anticoagulation attainment and maintenance among European-Americans and African-Americans. **Pharmacogenomics**, [s.l.], v. 9, p. 511-526, 2008.

- 16.VEENSTRA, D. L. *et al.* Association of vitamin K epoxide reductase complex 1 (VKORC1) variants with warfarin dose in a Hong Kong Chinese patient population. **Pharmacogenet. Genomics**, Hagerstown, v.15, p.687-691, 2005.
17. YUAN, H.Y. *et al.* A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity. **Hum. Mol. Genet.**, Oxford, v. 14, p.1745-1751, 2005.
- 18.THAM, L. S. *et al.* A warfarin-dosing model in Asians that uses single-nucleotide polymorphisms in vitamin K epoxide reductase complex and cytochrome P450 2C9. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, v.80, p.346-355, 2006.
19. TAKAHASHI, H. *et al.* Different contributions of polymorphisms in VKORC1 and CYP2C9 to intra – and inter-population differences in maintenance dose of warfarin in Japanese, Caucasians and African-Americans. **Pharmacogenet. Genomics**, Hagerstown, v.16, p. 101-110, 2006.
20. GAGE, B. F.; MILLIGAN, P. E. Pharmacology and pharmacogenetics of warfarin and other coumarins when used with supplements. **Thromb. Res.**, Elmsford, v. 117, p. 55-59, 2005.
- 21.SCHWARZ, U. I. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C9 gene. **Eur. J. Clin. Invest.**, Berlin, v.33, p.23-30, 2003.
- 22.HERMAN D, *et al.* The influence of sequence variations in factor VII, gamma-glutamyl carboxylase and vitamin K epoxide reductase complex genes on warfarin dose requirement. **Thromb. Haemost.**, Stuttgart, v.95, p. 205-211, 2006.
23. AQUILANTE, C. L. *et al.* Influence of coagulation factor, vitamin K epoxide reductase complex subunit 1, and cytochrome P450 2C9 gene polymorphisms on warfarin dose requirements. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St Louis, v.79, p.291-302, 2006.
- 24.LOEBSTEIN, R. *et al.* Common genetic variants of microsomal epoxide hydrolase affect warfarin dose requirements beyond the effect of cytochrome P450 2C9. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St Louis, v.77, p. 365-372, 2005.
- 25.HIGASHI, M. K. *et al.* Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. **JAMA**, Rio de Janeiro, v.287, p.1690-1698, 2002.
- 26.RESHETNIAK, T. M. LI. Warfarin in the treatment of antiphospholipid syndrome. **Ter Arkh.**, Terra Nova, v.79, n.5, p.47-54 2007.
- 27.HYLEK, E. M. Complications of oral anticoagulant therapy:bleeding and nonbleeding, rates and risk factors. **Semin. Vasc. Med.**, New York, v. 3, 271-278, 2003.
- 28.HYLEK, E.M. *et al.* Major hemorrhage and tolerability of warfarin in the first year of therapy among elderly patients with atrial fibrillation. **Circulation**, Dallas, v.115, p. 2689-2696, 2007.
29. LEVINE, M. N. *et al.* Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment: the seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy. **Chest**, Park Ridge, v.126, p.S287-310, 2004.
30. AITHAL, G.P. *et al.* Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. **Lancet**, London, v.353, p.717-19, 1999.
31. MARGAGLIONE, M. *et al.* Genetic modulation of oral anticoagulation with warfarin. **Thromb. Haemost.**, Stuttgart, v. 84, p.775-778, 2008.
- 32 .LIMDI, N. *et al.* Influence of CYP2C9 and VKORC1 1173C/T genotype on the risk of hemorrhagic complications in African-American and European-American patients on warfarin. **Mol Ther.**, San Diego, v. 83, p. 312-321, 2008.

---

Submetido em: 09/11/2020

Aceito em: 16/11/2020