



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**CARACTERIZAÇÃO DOS POLIMORFISMOS *CYP2C19* MAIS
RELEVANTES PARA A VARIABILIDADE INTERINDIVIDUAL
NA RESPOSTA À TERAPÊUTICA COM INIBIDORES DA BOMBA
DE PROTÕES – APLICAÇÃO DA FARMACOGENÉTICA NA
FARMÁCIA COMUNITÁRIA PORTUGUESA**

Trabalho submetido por
Adriana Miriam Lopes Ferraz
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

novembro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**CARACTERIZAÇÃO DOS POLIMORFISMOS *CYP2C19* MAIS
RELEVANTES PARA A VARIABILIDADE INTERINDIVIDUAL
NA RESPOSTA À TERAPÊUTICA COM INIBIDORES DA BOMBA
DE PROTÕES – APLICAÇÃO DA FARMACOGENÉTICA NA
FARMÁCIA COMUNITÁRIA PORTUGUESA**

Trabalho submetido por
Adriana Miriam Lopes Ferraz
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Ana Clara Ribeiro

novembro de 2020

Dedicatória

Após muito esforço e dedicação, ocorre o fim de mais uma etapa do meu percurso acadêmico, no ensino superior!

Dedico a presente dissertação aos meus pais, Anabela Ferraz e Antero Ferraz com um enorme carinho e gratidão, por serem a minha inspiração todos os dias, por terem sempre acreditado em mim e por terem investido em todo o meu percurso acadêmico, para que nunca desistisse dos objetivos que ainda pretendo alcançar, no futuro. Um simples agradecimento é insuficiente, face tudo aquilo que fizeram e continuam a fazer por mim todos os dias, através dos vossos sacrifícios diários. Sem dúvida, os melhores pais do mundo e o maior privilégio da minha vida.

E como não poderia deixar de o fazer, ao meu avô José Lopes, a estrela guia de todo o meu percurso acadêmico, pela sua sabedoria, pela sua força interior e pela sua bondade, que me motiva a ser uma pessoa melhor, a cada dia que passa.

“A persistência é o caminho para o sucesso”
Charles Spencer Chaplin

Agradecimentos

Quero agradecer à Prof. Doutora Ana Clara Ribeiro por, mais uma vez, me ter dado o privilégio de realizar um trabalho de investigação no âmbito da Farmacogenética e sob a sua orientação, pela disponibilidade incansável para esclarecer qualquer dúvida, no decorrer da realização do presente trabalho de investigação, pelo seu apoio em qualquer tipo de adversidade e pela relação de amizade que tenho a certeza que irá perdurar ao longo de todo o meu percurso pessoal, profissional ou académico.

Quero também agradecer à coordenadora do Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, a Prof. Doutora Patrícia Cavaco Silva, por todas as indicações e conselhos que me foram solicitados e por toda a dedicação, demonstrada pelos discentes do Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF).

Aos docentes do MICF, devido aos conhecimentos que me transmitiram ao longo deste meu percurso académico, o que contribui, com toda a certeza, para a formação de excelentes profissionais de saúde, de futuros farmacêuticos que vão fazer a diferença e que se vão destacar pela positiva no próspero mercado de trabalho, em qualquer setor/especialidade em que possam ingressar.

Fica aqui também o meu agradecimento à presente instituição de ensino superior, o Instituto Universitário Egas Moniz (IUEM) e a todos os meus amigos e colegas, pela paciência, pelos risos e, acima de tudo, pelo companheirismo.

Resumo

Introdução: A variabilidade interindividual na resposta à terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões (IBP), resulta da variabilidade genotípica e fenotípica associada ao gene do citocromo P450 2C19 (*CYP2C19*).

Objetivos: **i)** caracterizar o genótipo e fenótipo dos doentes a realizar terapêutica com IBP, variantes *CYP2C19*1*, **2*, **3* e **17*; **ii)** avaliar se a terapêutica selecionada e a dose instituída são concordantes com o fenótipo do doente; **iii)** avaliar a implementação do serviço de Farmacogenética na farmácia comunitária portuguesa;

Materiais e métodos: No presente estudo transversal piloto, aplicou-se um questionário de avaliação acerca da terapêutica com IBP e recolheu-se a amostra proveniente das células da mucosa oral de 33 doentes, seguindo-se a extração de ácido desoxirribonucleico (ADN), a reação em cadeia da polimerase ou *Polymerase Chain Reaction* (PCR), a análise dos fragmentos de restrição dos polimorfismos ou *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) e a técnica de sequenciação. Análise estatística através do *software* Estatístico R, baseado no teste do qui-quadrado (χ^2) e com um intervalo de confiança (IC) a 95% (* $p < 0,05$). Os resultados obtidos foram ainda comparados com uma população em equilíbrio Hardy-Weinberg (H-W) ($p > 0,05$).

Resultados: As frequências alélicas do *CYP2C19*1* (-806C, rs12248560) e *CYP2C19*17* (-806T) foram **71,21%** e **28,79%**, respetivamente. As frequências genotípicas do *CYP2C19*1/*1* (-806C/C) e *CYP2C19*1/*17* (-806C/T) foram **42,42%** e **57,58%**, respetivamente, e 19 doentes foram referenciados por carta de opinião farmacêutica. Na distribuição genotípica do *CYP2C19*3* (c.636G>A, rs4986893) foi apenas encontrado o genótipo *wild type CYP2C19*1/*1* (636G/G) e está em equilíbrio H-W ($p > 0,05$), na distribuição alélica registam-se alterações significativas entre o sexo (* $p < 0,05$). Na prescrição de IBP, o omeprazol representa 39,4%, a renovação da terapêutica 72,7% e a Doença de Refluxo Gastro Esofágico (DRGE) 66,7%.

Conclusão: A implementação da Farmacogenética na prática clínica é uma necessidade imperiosa para o sucesso da terapêutica com IBP, ao considerar a variabilidade do *CYP2C19*, na amostra em estudo e o uso crescente, nos últimos anos, de IBP em Portugal.

Palavras-chave: citocromo P450 2C19; variabilidade genotípica; farmacogenética; inibidores da bomba de protões;

Caracterização dos polimorfismos CYP2C19 mais relevantes para a variabilidade interindividual na resposta à terapêutica com inibidores da bomba de prótons – aplicação da Farmacogenética na farmácia comunitária portuguesa

Abstract

Introduction: The interindividual variability in response to therapy with Proton Pump Inhibitors (PPIs), results from the genotypic and phenotypic variability associated with the cytochrome P450 2C19 gene (*CYP2C19*).

Objectives: **i)** characterize the genotype and phenotype of patients that realize therapy with PPIs, *CYP2C19**1, *2, *3 and *17 variants; **ii)** assess whether the selected therapy and the dose instituted are in agreement with the patient's phenotype; **iii)** evaluate the implementation of a Pharmacogenetics (PGx) service in Portuguese community pharmacy;

Materials and methods: In the present pilot cross-sectional study, a questionnaire for the assessment of PPIs therapy was applied and the sample from the oral mucosa cells of 33 patients was collected, followed by the extraction of deoxyribonucleic acid (DNA), polymerase chain reaction (PCR), restriction fragment length polymorphism (RFLP) and sequencing. Statistical analysis with the R Project, based on the chi-square test (χ^2), with a 95% confidence interval (CI) (*p-value<0.05). The results obtained were also compared with a population in Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) (p-value>0.05).

Results: The allele frequencies of *CYP2C19**1 (-806C, rs12248560) and *CYP2C19**17 (-806T) were **71.21%** and **28.79%**, respectively. The genotypic frequencies for *CYP2C19**1/*1 (-806C/C) and *CYP2C19**1/*17 (-806C/T) were **42.42%** and **57.58%**, respectively and 19 patients were referred by a pharmaceutical opinion letter. In the genotypic distribution of *CYP2C19**3 (c.636G>A, rs4986893), only the wild type genotype *CYP2C19**1/*1 (636G/G) was found and is in HWE (p-value>0.05), the allelic distribution had significant changes between sex (*p-value<0.05). In the prescription of PPIs omeprazole represents 39.4%, renewal of therapy 72.7% and Gastro Esophageal Reflux Disease (GERD) 66.7%.

Conclusion: The implementation of PGx, in clinical practice is an imperative need for success of PPIs therapy, considering the variability of *CYP2C19*, in the study sample and the increasing use, in recent years, of PPIs in Portugal.

Keywords: cytochrome P450 2C19; genotypic variability; pharmacogenetics; proton pump inhibitors;

Caracterização dos polimorfismos CYP2C19 mais relevantes para a variabilidade interindividual na resposta à terapêutica com inibidores da bomba de prótons – aplicação da Farmacogenética na farmácia comunitária portuguesa

Índice Geral

Página

- Resumo	1
- Abstract	3
- Índice de Figuras	7
- Índice de Tabelas	9
- Lista de Abreviaturas	11
1. Introdução	13
1.1. A Farmacogenética e a Farmacogenómica - medicina personalizada	13
1.2. Citocromo P450 2C19 na prática clínica dos Inibidores da Bomba de Protões	14
1.2.1. Relevância do Citocromo P450 2C19 na supressão de acidez gástrica	18
1.3. Recomendações para a terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões e variabilidade interindividual	20
1.4. Utilização de Inibidores da Bomba de Protões em Portugal	23
1.5. Terapêutica com Inibidores da Bomba de protões a longo prazo e efeitos adversos.....	25
1.6. Implementação da Farmacogenética na farmácia comunitária portuguesa – barreiras e desafios	27
1.6.1. Responsabilidade do farmacêutico	29
2. Objetivos	33
3. Materiais e métodos	35
3.1. Tipo de estudo	35
3.1.1. Seleção e caracterização demográfica da amostra em estudo	35
3.1.2. Recolha de dados - questionário de avaliação	36
3.1.3. Ética e confidencialidade de dados	36
3.2. Recolha das amostras e material biológico	37
3.3. Extração de DNA	37
3.4. Genotipagem e análise dos polimorfismos	39
3.4.1. Sequências de oligonucleótidos introdutórios de <i>primers</i>	40
3.4.2. Reação em cadeia da polimerase – PCR	41

4.4.3. Análise dos fragmentos de restrição dos polimorfismos - RLFP	43
3.4.4. Sequenciação	45
3.5. Análise estatística	45
4. Apresentação e discussão dos resultados	47
4.1. Genotipagem e análise dos polimorfismos – frequências alélicas e genótípicas	47
4.2. Questionário de avaliação da terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões	58
4.3. Avaliação da implementação de um serviço de Farmacogenética na farmácia comunitária portuguesa.....	66
5. Conclusão	69
6. Bibliografia	71
- Anexos	

Índice de Figuras

	<i>Página</i>
Figura 1.1. Os princípios subjacentes à Farmacogenómica.....	13
Figura 1.2. Estrutura do gene <i>CYP2C19</i> com 9 exões.....	16
Figura 1.4. Recomendações para a terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões... 21	21
Figura 1.5. Processo de descontinuação gradual da terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões, descrito em 6 etapas.....	22
Figura 1.6. Utilização de Inibidores da Bomba de Protões em Portugal, em 2016.....	24
Figura 1.7. Efeitos adversos associados à terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões a longo prazo e a evidência científica da relação de causalidade.....	27
Figura 1.8. Procedimento adotado para implementar um serviço de Farmacogenética na farmácia comunitária portuguesa.....	31
Figura 3.1. Procedimento de extração de DNA através do kit <i>QIAamp® DNA Investigator Isolation</i>	39
Figura 3.2. Genotipagem e análise dos polimorfismos <i>CYP2C19*2</i> , <i>CYP2C19*3</i> e <i>CYP2C19*17</i>	40
Figura 3.3. Perfil eletroforético dos marcadores de peso molecular.....	43
Figura 4.1. Reação em cadeia da polimerase <i>CYP2C19*2</i> , <i>CYP2C19*3</i> e <i>CYP2C19*17</i> na amostra em estudo.....	47
Figura 4.2. Genotipagem e análise dos polimorfismos <i>CYP2C19*3</i> e <i>CYP2C19*17</i> na amostra em estudo.....	48
Figura 4.3. Cromatogramas de sequenciação de DNA.....	49
Figura 4.4. Frequências alélicas e genotípicas do <i>CYP2C19</i> obtidas através da base de dados <i>Ensembl Project</i> e <i>1000 genomes Project</i>	54
Figura 4.5. Frequência dos fenótipos de metabolização associados ao gene <i>CYP2C19</i> , por região geográfica.....	57
Figura 4.6. Utilização e prescrição de Inibidores da Bomba de Protões na amostra em estudo.....	58
Figura 4.7. Indicação para a terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões na amostra em estudo.....	59
Figura 4.8. Indicação para a terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões e dose diária, na amostra em estudo.....	61

Figura 4.9. Influência do polimorfismo *CYP2C19*17* na variabilidade da resposta à terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões na amostra em estudo..... 63

Figura 4.10. Terapêutica concomitante entre os IBP e outras classes farmacoterapêuticas na amostra em estudo..... 64

Índice de Tabelas

Página

Tabela 1.1. Variantes alélicas *1, *2, *3 e *17 associadas ao gene <i>CYP2C19</i> e o efeito na atividade enzimática.....	17
Tabela 1.2. Aplicação de testes farmacogenéticos.....	28
Tabela 3.1. Sequências de oligonucleótidos introdutórios de <i>primers</i>	40
Tabela 3.2. Genotipagem e análise do polimorfismo <i>CYP2C19</i> *2.....	41
Tabela 3.3. Genotipagem e análise do polimorfismo <i>CYP2C19</i> *3.....	42
Tabela 3.4. Genotipagem e análise do polimorfismo <i>CYP2C19</i> *17.....	42
Tabela 3.5. Local de restrição das enzimas de restrição <i>Bam</i> HI e <i>Sfa</i> NI.....	44
Tabela 4.1. Distribuição das frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo <i>CYP2C19</i> *17 (c.-806C/T rs12248560) obtidas na amostra em estudo (N=33 doentes).....	50
Tabela 4.2. Distribuição das frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos <i>CYP2C19</i> *3 (c.636G/A, rs4986893) e <i>CYP2C19</i> *17 (c.-806C/T, rs12248560) obtidas na amostra em estudo (N=33 doentes) entre o sexo feminino e masculino.....	51
Tabela 4.3. Distribuição das frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos <i>CYP2C19</i> *3 (c.636G/A, rs4986893) e <i>CYP2C19</i> *17 (c.-806C/T, rs12248560) obtidas na amostra em estudo (N=33 doentes) entre a etnia.....	52
Tabela 4.4. Comparação entre as frequências genotípicas <i>CYP2C19</i> obtidas na amostra em estudo e outras populações.....	55
Tabela 4.5. Comparação entre as frequências alélicas do <i>CYP2C19</i> obtidas na amostra em estudo e outras populações.....	55
Tabela 4.6. Comparação entre as frequências genotípicas e fenótipos de metabolização <i>CYP2C19</i> nas diferentes populações étnicas.....	56
Tabela 4.7. Efeito da variabilidade do <i>CYP2C19</i> na terapêutica com Inibidores da Bomba de Prótons para a Doença do Refluxo Gastro Esofágico.....	63
Tabela 4.8. Avaliação da implementação da Farmacogenética na farmácia comunitária.....	67

Caracterização dos polimorfismos CYP2C19 mais relevantes para a variabilidade interindividual na resposta à terapêutica com inibidores da bomba de prótons – aplicação da Farmacogenética na farmácia comunitária portuguesa

Lista de Abreviaturas

- AINEs** – Anti-Inflamatórios Não Esteroides
- ARH2** – Antagonista dos Recetores **H2**
- ARSLVT** – Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo
- ASHP** – *American Society of Health-system Pharmacists*
- CgA** – Cromogranina
- CDS** – *Clinical Decision Support*
- CPIC** – *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium*
- CYP** – Citocromo
- CYP450** – Citocromo P450
- CYP450 2C19** – Citocromo P450 família 2, subfamília C e polipéptido 19
- DDD** – Dose Diária Definida
- DGS** – Direção-Geral da Saúde
- DNA** – Ácido desoxirribonucleico (do inglês: *deoxyribonucleic acid*)
- DRC** – Doença Renal Crónica
- DRGE** – Doença do Refluxo Gastro Esofágico
- dNTPs** – Desoxirribonucleótidos
- ESZ** – Esomeprazol
- FDA** – *Food and Drug Administration*
- FNM** – Formulário Nacional de Medicamentos
- Fwd** – *Forward*
- HWE** – Equilíbrio de Hardy-Weinberg (do inglês: *Hardy-Weinberg Equilibrium*)
- H-W** – Hardy-Weinberg
- IBP** – Inibidor da Bomba de Protões
- IC** – Intervalo de Confiança
- INR** – Razão normalizada internacional (do inglês: *International Normalized Ratio*)
- ISRS** – Inibidor Seletivo da Recaptação de Serotonina
- LNZ** – Lansoprazol
- LoF** – Perda de função (em inglês: *Loss-of Function*)
- LRA** – Lesão Renal Aguda
- MI** – Metabolizador Intermédio
- ML** – Metabolizador Lento
- MN** – Metabolizador Normal

MR – **M**etabolizador **R**ápido

MUR – **M**etabolizador **U**ltrarrápido

MNSRM – **M**edicamento **N**ão **S**ujeito a **R**eceita **M**édica

MSRM – **M**edicamento **S**ujeito a **R**eceita **M**édica

MTM – *Medication Therapy Management*

NOCs – **N**ormas de **O**rientação **C**línica

OMZ – Omeprazol

OR – *Odds Ratio*

PAC – **P**neumonia **A**dquirida na **C**omunidade

pb – par de base

PCR – Reação em cadeia da polimerase (do inglês: *Polymerase Chain Reaction*)

RCM – **R**esumo das **C**aracterísticas do **M**edicamento

RNA – Ácido ribonucleico (do inglês: *ribonucleic acid*)

PNZ – Pantoprazol

PVP – **P**reço de **V**enda ao **P**úblico

RBZ – Rabeprazol

Rev – *Reverse*

RFLP – *Restriction Fragment Length Polymorphism*

SNS – **S**erviço **N**acional de **S**aúde

TGI – **T**rato **G**astrointestinal

wt – *wild type*

1. Introdução

1.1. A Farmacogenética e a Farmacogenómica - medicina personalizada

A área da Genética Humana rege-se pela sua complexidade, estando as áreas da Farmacogenética e da Farmacogenómica envolvidas na otimização da terapêutica, a nível da qualidade, segurança e eficácia (Sedda *et al.*, 2019; Giri *et al.*, 2019). Importa salientar que a Farmacogenética e a Farmacogenómica baseiam os seus métodos de estudo na análise das características do perfil genético de cada indivíduo, com a finalidade de individualizar e otimizar a respetiva terapêutica (Giri *et al.*, 2019; Brito, 2015).

A variabilidade genética desempenha um papel fundamental no mecanismo de ação dos fármacos no organismo (Kudzma & Carey, 2009). Os polimorfismos genéticos, por sua vez, influenciam de modo significativo a resposta à terapêutica, com base no fenótipo de metabolização de cada indivíduo, como ilustrado na figura 1.1.

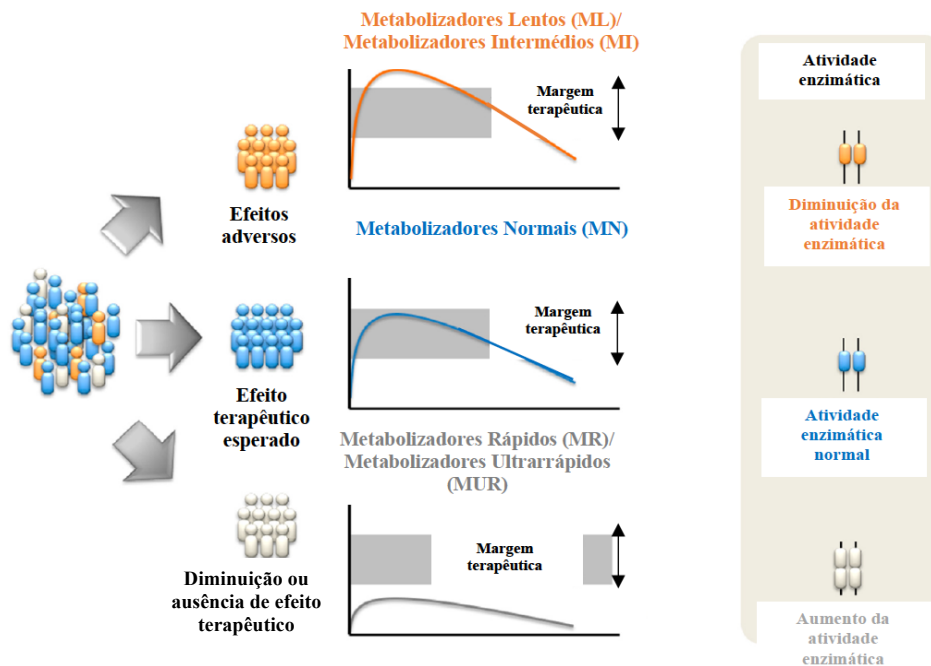


Figura 1.1. Os princípios subjacentes à Farmacogenómica. O fenótipo de metabolizador lento (ML) e metabolizador intermédio (MI), descreve o aumento da concentração plasmática do fármaco, ao longo do tempo, o que pode originar episódios de toxicidade e efeitos adversos, acima da margem ou índice terapêutico, devido a polimorfismos genéticos e outras alterações genéticas, resultando na perda total ou parcial da atividade enzimática. O fenótipo de metabolizador rápido (MR) e ultrarrápido (MUR), deve-se ao aumento da atividade enzimática. Os fármacos podem ainda ser metabolizados tal como o esperado, numa concentração plasmática ideal e/ou durante o período de tempo definido, através do fenótipo de metabolizador normal (MN) (Adaptado de Mckinnon *et al.*, 2007).

A Farmacogenética dedica-se ao estudo da variabilidade à resposta terapêutica num determinado número de genes, por norma reduzido, enquanto que a Farmacogenómica se dedica ao estudo da resposta à terapêutica com base no genoma completo, com múltiplas variantes genéticas (Adams *et al.*, 2018). A Farmacogenómica

permite que indivíduos com o mesmo diagnóstico, possam beneficiar de uma terapêutica individualizada, a nível da dose, posologia e do respetivo fármaco (Giri *et al.*, 2019).

A transição do modelo de medicina clássica para o modelo Farmacogenómico, sinalizou o início da medicina personalizada, contribuindo para o estudo da variabilidade genética associada ao gene do citocromo P450 2C19 (família 2, subfamília C e polipéptido 19, *CYP2C19*) e a variabilidade fenotípica na metabolização de diversos fármacos, tal como os Inibidores da Bomba de Protões (IBP) (Brito, 2015; Sedda *et al.*, 2019; Adams *et al.*, 2018).

1.2. Citocromo P450 2C19 na prática clínica dos Inibidores da Bomba de Protões

O gene *CYP2C19* está localizado no braço longo do cromossoma 10, especificamente na região 2, banda 3 e sub-banda 33 (10q23.33), na sua estrutura apresenta 9 exões e codifica uma proteína composta por 490 aminoácidos (Samer *et al.*, 2013; Pratt *et al.*, 2018; Preissner *et al.*, 2013). O gene *CYP2C19* é altamente polimórfico sendo que, atualmente, são descritas 35 variantes através da nomenclatura da base de dados *Human Cytochrome P450 (CYP450) Allele* (The Human Cytochrome P450 Allele Nomenclature Database, 2020).

O gene *CYP2C19* codifica a isoenzima CYP2C19, uma monooxigenase e enzima de metabolização de fase I através de reações de oxidação, redução e hidrólise e que, por sua vez, é responsável pela metabolização de cerca de 10% das classes farmacoterapêuticas mais comumente utilizadas na prática clínica (Chen, Lian, Zeng, & Luo, 2013). Tais como, antidepressivos tricíclicos (amitriptilina e nortriptilina), inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRS) (sertralina e citalopram), benzodiazepinas (diazepam), anticonvulsionantes (fenitoína, fenobarbital e mefenitoína), IBP (omeprazol, esomeprazol, lansoprazol e pantoprazol) e o pró-fármaco antiplaquetário clopidogrel (Shalia *et al.*, 2013; Brockmöller *et al.*, 2008; Zhou *et al.*, 2008; Zanger *et al.*, 2008; Sim *et al.*, 2006).

A variação genotípica associada ao *CYP2C19* é o fator farmacogenético que predominantemente afeta a resposta terapêutica com IBP, embora muitos fatores não genéticos possam influenciar a metabolização destes fármacos (Scott *et al.*, 2012). A variabilidade associada ao gene *CYP2C19* é responsável pela variabilidade farmacocinética dos IBP (Baldwin *et al.*, 2008). Gawrońska *et al.* (2012) demonstrou que 57% da variabilidade associada à resposta terapêutica com o pantoprazol (PNZ), em indivíduos adultos, foi atribuída ao genótipo do *CYP2C19*. A expressão hepática variável

contribui ainda para a variabilidade fenotípica interindividual no metabolismo do substrato da CYP2C19, nomeadamente as variantes *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17* (Klotz, Schwab, & Treiber, 2004).

A variante *CYP2C19*2* (c.681G>A, rs4244285, fragmento de 168 par de bases, pb) está associada à perda de função ou *Loss-of-Function* (LoF), através da substituição de uma guanina (G) por uma adenina (A), na posição nucleotídica 681, no exão 5 e que introduz um defeito no *splicing*, originando a codificação de uma proteína não funcional (Chen, Lian, Zeng, & Luo, 2013; Rouby *et al.*, 2018; Zanger *et al.*, 2008). Deste modo, os indivíduos portadores deste alelo, quer sejam homocigóticos (*CYP2C19*2/*2*) ou heterocigóticos (*CYP2C19*1/*2* ou *CYP2C19*2/*17*), estão associados à diminuição da atividade enzimática (Brockmöller *et al.*, 2008; Human Genome Variation Society, 2020; Ensembl Project, 2020).

A variação alélica *CYP2C19*3* (c.636G>A, rs4986893, fragmento com 119 pb), resulta da substituição de uma guanina (G) por uma adenina (A), na posição nucleotídica 636, registada no exão 4, o que origina um codão terminal prematuro na posição do aminoácido 212 e resulta na codificação de uma proteína não funcional (Pratt *et al.*, 2018; León-Cachón, Ascacio-Martínez, & Barrera-Saldaña, 2012; Human Genome Variation Society, 2020; Ensembl Project, 2020).

O polimorfismo *CYP2C19*17* (c.-806C>T, rs12248560, fragmento de 471pb), resulta na substituição de uma citosina (C) por uma timina (T) na posição nucleotídica -806 da região promotora 5' do gene *CYP2C19* (Deshpande *et al.*, 2016; Human Genome Variation Society, 2020; Ensembl Project, 2020).

As variantes *CYP2C19* que apresentam frequências alélicas inferiores a 1%, a nível mundial, e que estão associadas à atividade enzimática ausente ou reduzida referem-se ao *CYP2C19*4* (rs28399504), *CYP2C19*5* (rs56337013), *CYP2C19*6* (rs72552267), *CYP2C19*7* (rs72558186) e ao *CYP2C19*8* (rs41291556), sendo que o seu efeito em termos laboratoriais ainda não foi totalmente documentado (Baldwin *et al.*, 2008; Scott *et al.*, 2011; Human Genome Variation Society, 2020; Ensembl Project, 2020).

As variantes *CYP2C19*2* e *CYP2C19*3* caracterizam-se como alelos LOF, associados à diminuição da atividade enzimática e da metabolização de IBP, assim como ao aumento da concentração plasmática e à experiência de efeitos adversos (Rouby *et al.*, 2018). A variante *CYP2C19*17* está associada ao aumento da atividade enzimática e da metabolização de IBP, deste modo a monitorização da terapêutica deve ser considerada, a nível do risco de falha terapêutica (Lima *et al.*, 2020).

A figura 1.2, ilustra a estrutura do gene *CYP2C19* com 9 exões e a localização de cada variante, nomeadamente as variantes *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17*.

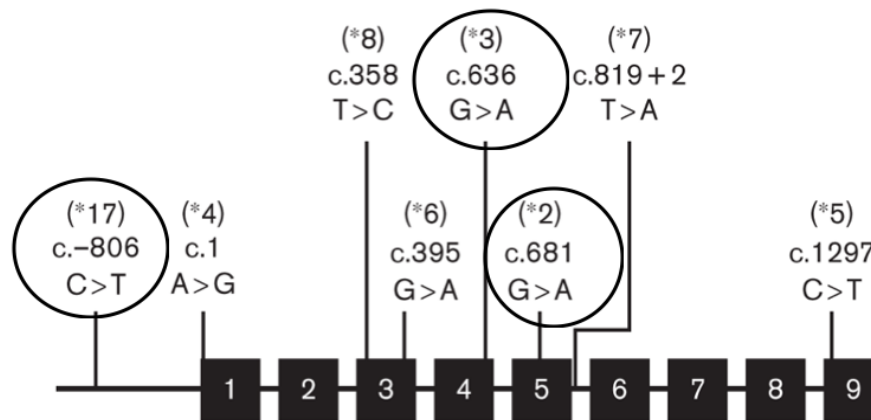


Figura 1.2. Estrutura do gene *CYP2C19* com 9 exões. Destaca-se a localização dos alelos associados à perda de função ou *Loss-of-Function* (LoF) (*2–*8), nomeadamente, o *CYP2C19*2* e *CYP2C19*3* e ao ganho de função, tal como o *CYP2C19*17*, devidamente selecionados; Cada exão é representado por caixas a preto numeradas; Importa salientar que a ilustração não se encontra à escala (Adaptado de Scott *et al.*, 2012).

Os polimorfismos associados ao gene *CYP2C19* permitem classificar o fenótipo de cada indivíduo, em Metabolizador Normal (MN), portador de dois alelos *wild type* (*wt*) (*CYP2C19*1/*1*) e com uma função enzimática normal e em Metabolizador Intermédio (MI), portador de um alelo *wt* e um alelo LoF (*CYP2C19*1/*2*; *CYP2C19*1/*3*) ou portador de um alelo LoF e um alelo associado ao ganho de função e ao aumento da atividade enzimática (*CYP2C19*2/*17*) (Human Genome Variation Society, 2020). Permite ainda classificar o fenótipo de cada indivíduo em Metabolizador Lento (ML), quando apresenta dois alelos LoF (*CYP2C19*2/*2*; *CYP2C19*2/*3*; *CYP2C19*3/*3*), em Metabolizador Rápido (MR) quando possui um alelo *wt* e um alelo associado ao ganho de função (*CYP2C19*1/*17*) e em Metabolizador Ultrarrápido (MUR), quando apresenta dois alelos associados ao aumento da atividade enzimática (*CYP2C19*17/*17*) (Rouby *et al.*, 2018; Ensembl Project, 2020; Human Genome Variation Society, 2020).

O mecanismo subjacente à variabilidade é multifatorial e inclui fatores genéticos e não genéticos, na resposta à terapêutica com IBP (Shin & Sachs, 2008). Os fatores não genéticos incluem a terapêutica concomitante com outros fármacos ou agentes antiulcerosos, incluindo os Antagonistas dos Recetores H2 (ARH2), que podem afetar a absorção e metabolização dos IBP (Shin & Sachs, 2008; Katz, Scheiman & Barkun, 2006).

Os IBP são predominantemente metabolizados pela CYP2C19 (cerca de 80%) e em menor extensão pela CYP3A4, à exceção do rabeprazol (RBZ) (Chen, Lian, Zeng, & Luo, 2013; Rouby *et al.*, 2018).

Os indivíduos portadores dos genótipos *CYP2C19*1/*2*, *CYP2C19*2/*2*, *CYP2C19*1/*3*, *CYP2C19*3/*3* e *CYP2C19*2/*3* são caracterizados pela ausência ou diminuição da atividade enzimática e beneficiam da diminuição da dose diária, para evitar o aumento da concentração plasmática do IBP e efeitos adversos, a longo prazo (Rouby *et al.*, 2018; Lima *et al.*, 2020).

Os indivíduos portadores do genótipo *CYP2C19*1/*17* e *CYP2C19*17/*17*, podem ter uma atividade enzimática acrescida, sugerindo-se um IBP que não seja metabolizado maioritariamente pela CYP2C19, tal como o RBZ, ou uma terapêutica alternativa (Deshpande *et al.*, 2016). A tabela 1.1, indica que a atividade enzimática depende do genótipo e do fenótipo específico e detetado, para cada indivíduo (Rouby *et al.*, 2018).

Tabela 1.1. Variantes alélicas *1, *2, *3 e *17 associadas ao gene CYP2C19 e o efeito na atividade enzimática. Variante *CYP2C19*, alteração nucleotídica e efeito na atividade enzimática. *CYP2C19*1*, denota-se como alelo *wild-type* (*wt*) e com uma atividade enzimática normal. A identificação numérica associada a cada alteração nucleotídica é indexada a uma sequência de referência obtida através da base de dados *Ensembl Project* e da nomenclatura implícita na base de dados *Human Genome Variation Society* (HGVS) (Human Genome Variation Society, 2020; Ensembl Project, 2020; Rouby *et al.*, 2018; Lima *et al.*, 2020).

Variante <i>CYP2C19</i>	Alteração nucleotídica e referência da alteração genética <i>Ensembl Project</i>	Efeito na atividade enzimática
*1	Alelo <i>wt</i>	Normal
*2	c.681G>A, rs4244285	Diminuição da atividade
*3	c.636G>A, rs4986893	Diminuição da atividade
*17	c.-806C>T, rs12248560	Aumento da atividade

A afinidade do omeprazol (OMZ) e do esomeprazol (ESZ) pela CYP2C19 é superior, logo a maior parte deste fármaco é metabolizada pela CYP2C19 e a restante fração pela CYP3A4 e, desta forma o impacto clínico do fenótipo interindividual depende da afinidade que o IBP apresenta pela CYP2C19 (Brockmöller *et al.*, 2008).

O RBZ e o PNZ apresentam uma menor afinidade pela CYP2C19, apresentando uma resposta terapêutica promissora (Rouby *et al.*, 2018). Deste modo, a relevância da variabilidade do *CYP2C19* é fundamental para compreender a resposta à terapêutica com IBP, considerando o respetivo genótipo e fenótipo (Deshpande *et al.*, 2016).

1.2.1. Relevância do Citocromo P450 2C19 na supressão da acidez gástrica

Os IBP são comumente prescritos para a Doença do Refluxo Gastro Esofágico (DRGE), úlcera gástrica e duodenal, erradicação da infeção por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), prevenção de efeitos adversos associados à terapêutica com Anti-Inflamatórios Não Esteroides (AINEs) e em doentes com risco acrescido de hemorragia no trato gastrointestinal (TGI) superior não varicoso ou dispepsia não ulcerosa (Lima *et al.*, 2020; DGS, 2011; Infarmed, 2017; DGS, 2017).

A erradicação da infeção por *H. pylori* com OMZ, lansoprazol (LNZ) e PNZ foi documentada como sendo mais eficaz entre os fenótipos MI e ML do *CYP2C19* em comparação com o fenótipo MN (Kuo *et al.*, 2014; Kurzawski *et al.*, 2006). Além disso, o sucesso da terapêutica é influenciado pelo genótipo *CYP2C19*, pois os fenótipos de MI e ML respondem melhor à terapêutica com IBP do que o fenótipo MN no tratamento da úlcera gástrica e na DRGE, devido à diminuição da atividade enzimática e ao aumento da concentração plasmática do IBP (Zhou, Ingelman-Sundberg, & Lauschke, 2017). O fenótipo de MUR, ou seja, o genótipo *CYP2C19*17/*17* afeta a farmacocinética do OMZ, resultando num aumento da taxa de metabolização e numa exposição subterapêutica (Ram *et al.*, 2019; Saito *et al.*, 2015).

Segundo Rouby *et al.* (2018), o fenótipo de MN está associado à recidiva na DRGE, numa amostra de 124 doentes japoneses, quando comparado com os fenótipos de ML e MI.

A variabilidade fenotípica do *CYP2C19* condiciona o sucesso da terapêutica tripla com IBP associada a antibioterapia para a erradicação do *H. pylori* em doentes com dispepsia não ulcerativa ou com úlcera gástrica, dado que foi encontrada uma frequência fenotípica de 11,2%, 62,5% e 26,3% para os fenótipos de MR, MI e ML, respetivamente, em doentes com teste *H. pylori* positivo (Ravishankar *et al.*, 2019).

Furuta *et al.*, (2007), demonstrou que a terapêutica com IBP baseada no genótipo do *CYP2C19* originou cerca de 96% de sucesso da terapêutica tripla na erradicação do *H. pilory* e apenas 70% dos doentes beneficiaram do tratamento com a dose padrão, ou seja, sem considerar o respetivo perfil genético. O custo de ambos os tratamentos foram semelhantes, indicando que a eficácia da terapêutica baseada na variabilidade do *CYP2C19* pode ser atingida sem custos adicionais (Furuta *et al.*, 2007).

A variabilidade do *CYP2C19* tem influência na otimização da terapêutica com IBP, na erradicação do *H. pylori* e deste modo a variabilidade genotípica deve ser

considerada na seleção da dose e do IBP, para a erradicação do *H. pylori* (Kuo *et al.*, 2014; Kurzawski *et al.*, 2006).

A eficácia e a segurança dos IBP conduziram à sua utilização amplamente difundida, mas um subconjunto de doentes pode não obter eficácia terapêutica ou pode desenvolver efeitos adversos, pois o grau de supressão de acidez gástrica está intimamente relacionado à variação nos parâmetros farmacocinéticos dos IBP (Sachs, Shin & Howden, 2006; Hagymási *et al.*, 2011).

De acordo com Yang *et al.* (2004), numa amostra de 142 voluntários da Malásia e com uma faixa etária compreendida entre os 18-29 anos a realizar terapêutica com OMZ, a frequência do fenótipo de ML foi de 5,6% em malaios, 19,1% na população chinesa e 10,0% na população indiana. A população chinesa respondeu melhor à terapêutica com OMZ para o tratamento da úlcera gástrica e duodenal, devendo-se monitorizar a terapêutica com IBP através da variabilidade fenotípica encontrada nas diferentes populações étnicas.

Baldwin *et al.* (2008) numa amostra de 17 voluntários caucasianos com o genótipo *CYP2C19*17/*17* ou *CYP2C19*1/*1* a realizar terapêutica com o OMZ e com uma dose diária de 40 mg, demonstrou que os indivíduos com o genótipo *CYP2C19*17/*17* apresentam uma exposição sistémica significativamente reduzida ao OMZ, em comparação com os indivíduos com o genótipo *CYP2C19*1/*1*, existindo o risco de falha da terapêutica, a predominância de sintomatologia associada à DRGE e a recidiva da doença.

Deshpande *et al.* (2016), demonstrou uma frequência alélica de 19,7% (*CYP2C19*17*), nos doentes que não respondiam à terapêutica com OMZ (40 mg/dia) ou ESZ (40 mg/dia), durante 5 dias, evidenciando um aumento da atividade enzimática e o risco de falha da terapêutica com IBP.

O fenótipo de ML apresenta uma concentração plasmática cerca de 3-5 vezes superior, quando comparado com o fenótipo de MN, contudo este facto não apresenta quaisquer implicações na posologia do OMZ, à exceção da sua utilização a longo prazo (Rouby *et al.*, 2018). Neste sentido, no ato da prescrição da terapêutica com IBP deve-se considerar não apenas as Normas de Orientação Clínica (NOCs) disponíveis, mas também as recomendações terapêuticas, com base na Farmacogenética clínica e a genotipagem do *CYP2C19* pode auxiliar na otimização da terapêutica com IBP.

1.3. Recomendações para a terapêutica com Inibidores da Bomba de Prótons e variabilidade interindividual

Segundo a Direção-Geral da Saúde (DGS), as principais causas de sintomas dispépticos, nas quais se justifica a terapêutica com IBP, referem-se à DRGE, úlcera péptica e dispepsia funcional sem úlcera (DGS, 2011). A terapêutica limitada no tempo (no máximo 4-8 semanas ou até 12 semanas, se RBZ na úlcera gástrica), refere-se ao tratamento da úlcera duodenal e úlcera gástrica, esofagite de refluxo, DRGE sintomática e erradicação do *H. pylori* associada a antibioterapia (10-14 dias), quando relacionado a doença ulcerosa péptica (DGS, 2011; DGS; 2017).

A longo prazo (duração da terapêutica superior a 12 semanas), aconselha-se a terapêutica com IBP em estadios graves da DRGE (tal como esofagite erosiva, esófago de Barrett), na DRGE com ou sem esofagite e com sintomas persistentes, na úlcera péptica com episódios recorrentes e na síndrome de Zollinger-Ellison (Anexo I) (DGS, 2011; DGS; 2017; Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, 2016; Infarmed, 2017; Lima *et al.*, 2020).

Antes do início da terapêutica com IBP o doente com sintomas dispépticos deve ser informado acerca da adoção de medidas não farmacológicas, tais como os alimentos que deve evitar, nomeadamente bebidas alcoólicas, mentol, chocolate, café, citrinos, bebidas carbonadas, alimentos condimentados, cebola, tomate, fritos e outras gorduras. Assim como a modificação de comportamentos, tais como o tabagismo, a ingestão de álcool, o vestuário apertado ao redor do abdómen, refeições abundantes, a cabeceira da cama demasiado baixa e a terapêutica concomitante com outros fármacos, tal como o ácido acetilsalicílico, AINEs, anticolinérgicos, corticosteroides, dopaminérgicos, bisfosfonatos orais e bloqueadores dos canais de cálcio (DGS, 2011; Infarmed, 2017; Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, 2016).

Deve igualmente ser excluída a possibilidade de infeção por *H. pylori*, cancro gástrico, estenose e a presença de ulceração grave (Informed, 2017). Nos doentes com mais de 55 anos e com sinais de alarme, tal como disfagia, hematemesa, anemia, vômito recorrente, enfartamento e perda inexplicável de peso, a endoscopia deve ser realizada de imediato (DGS, 2011).

Na DRGE, a terapêutica com IBP deve ser a terapêutica de primeira linha (DGS, 2017). A redução da dose instituída deve ser gradual com consequente suspensão da terapêutica com IBP em doentes com DRGE sem a presença de esofagite e

sintomatologia, após a terapêutica com IBP durante 4 semanas (Infarmed, 2017; Osakidetza, 2016). O controlo da sintomatologia ocasional pode ser realizado com recurso a outros modificadores da secreção gástrica, tal como os ARH2 (NICE, 2020; Infarmed, 2017; Katz *et al.*, 2013; DGS, 2011).

No caso de ser necessário tratamento adicional na DRGE (com esofagite), deve-se utilizar a dose elevada de IBP (4-8 semanas), reduzindo gradualmente a dose diária instituída para a dose mínima efetiva ou utilizar o IBP a longo prazo, numa dose de manutenção em doentes com esofagite erosiva (Infarmed, 2017; NICE, 2020; DGS, 2017; Osakidetza, 2016).

A profilaxia para a terapêutica com IBP é recomendada nos doentes a realizar tratamento com AINEs e que apresentam um risco acrescido para hemorragia e/ ou risco acrescido para úlcera de *stress*, como ilustrado na figura 1.4.

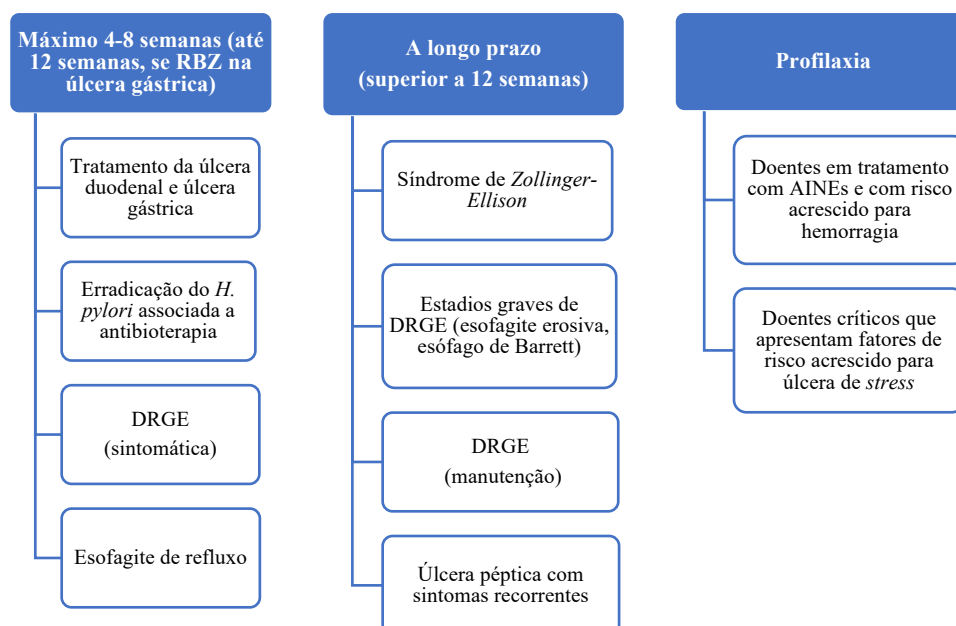


Figura 1.4. Recomendações para a terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões. Duração da terapêutica com IBP durante 4-8 semanas (ou até 12 semanas se RBZ na úlcera gástrica), no tratamento da úlcera duodenal e úlcera gástrica, na erradicação do *H. pylori* associada a antibioterapia, na DRGE sintomática e no tratamento da esofagite de refluxo. A longo prazo, os critérios clínicos referem-se à síndrome de *Zollinger-Ellison*, estádios graves de DRGE, na DRGE com sintomatologia persistente (manutenção) e no tratamento da úlcera péptica com sintomas recorrentes. O regime profilático é recomendado para doentes a realizar terapêutica com AINEs, com risco acrescido para hemorragia e doentes críticos que apresentam fatores de risco acrescido para desenvolver úlcera de *stress* (Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, 2016; DGS, 2011; Infarmed, 2017; Lima *et al.*, 2020).

Não existe evidência científica acerca da melhor estratégia para suspender a terapêutica com IBP, pelo que se deve reduzir a dose diária em 50%, durante 1 ou 2 semanas e suspender o IBP após uma semana com a dose mínima efetiva ou aumentar o intervalo entre cada toma, a cada 2 ou 3 dias, isto é, adotar um esquema intermitente (DGS, 2011; Infarmed, 2017; DGS, 2017).

A terapêutica com IBP deve ser suspensa, em doentes com úlcera péptica, que não demonstrem sintomatologia após 4-8 semanas de terapêutica com IBP (Infarmed, 2017; DGS, 2011). Nos doentes que apresentaram uma resposta adequada aos IBP é benéfico reduzir a dose, através da abordagem de descontinuação gradual (*step down*), como ilustrado na figura 1.5.



Figura 1.5. Processo de descontinuação gradual da terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões, descrito em 6 etapas. A primeira etapa consiste em reavaliar o tratamento com IBP, periodicamente, a manutenção da necessidade e os resultados clínicos, de efetividade e segurança da terapêutica com IBP. Na segunda etapa, deve-se preparar os doentes para a cessação do IBP, educar o doente a nível de todos os alimentos, fármacos e comportamentos que deve evitar e que são precipitantes de dispepsia. A terceira etapa consiste na redução a dose diária do IBP até atingir a dose mínima efetiva, ou prescrever a dose diária em dias alternados. A quarta etapa refere-se à utilização do IBP em esquema intermitente com base na sintomatologia, por exemplo, utilizar 10 mg de IBP apenas nos dias em que ocorrer a sintomatologia. Na quinta etapa ocorre a interrupção do IBP, devendo esta decisão ser precedida pela interrupção da sintomatologia. Na sexta etapa avalia-se clinicamente a descontinuação gradual do IBP, baseando-se o sucesso da intervenção na ausência de sintomatologia (DGS, 2011; Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, 2016; Infarmed, 2017).

Em sintomas dispépticos esporádicos, a terapêutica com ARH2 e antiácidos em regime de SOS, é mais apropriada (DGS, 2011). Os antiácidos aliviam os sintomas em apenas cerca de 5-20 minutos e os ARH2 em cerca de 1 hora ou menos (30-60 minutos), dado que os IBP inibem de modo irreversível as bombas de protões ativas nas células parietais, mas são necessários cerca de 5 dias de tratamento para ocorrer a máxima supressão da acidez gástrica (Infarmed, 2017; DGS, 2011).

Para além das NOCs existentes é fundamental considerar as recomendações do Consórcio de Implementação de Farmacogenética Clínica ou *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC) (Anexo II), assim como a variabilidade fenotípica do gene CYP2C19, nos doentes que realizam a terapêutica com IBP (Lima *et al.*, 2020). O fenótipo de MN tem um risco acrescido para a falha da terapêutica com IBP, em comparação com os fenótipos de MI e ML, por isso recomenda-se iniciar a terapêutica com a dose inicial recomendada e aumentar a dose diária instituída em 50-100% para a erradicação do *H. pylori* e esofagite erosiva, assim como monitorizar a eficácia da terapêutica (Lima *et al.*, 2020).

O fenótipo de ML demonstra um aumento da concentração plasmática do IBP, um aumento da eficácia da terapêutica e uma potencial toxicidade, sendo que se aconselha a redução de 50% da dose diária instituída, numa terapêutica a longo prazo (superior a 12

semanas) e a monitorização da eficácia da terapêutica (Pratt *et al.*, 2018; Lima *et al.*, 2020).

No fenótipo de MI verifica-se o aumento da concentração plasmática do IBP, em comparação com o fenótipo de MN, o aumento da eficácia da terapêutica e uma potencial toxicidade, deste modo aconselha-se iniciar a terapêutica com a dose inicial recomendada e, à semelhança do fenótipo de ML, reduzir em 50% a dose diária instituída, numa terapêutica a longo prazo, assim como proceder à sua monitorização para alcançar a eficácia da terapêutica (Pratt *et al.*, 2018; Lima *et al.*, 2020).

Segundo Lima *et al.* (2020), no fenótipo de MR recomenda-se iniciar a terapêutica com a dose inicial recomendada e aumentar a dose inicial em 50-100% para a erradicação do *H. pylori* e para a esofagite erosiva, assim como monitorizar a eficácia da terapêutica, considerando a diminuição da concentração plasmática do IBP e o risco de falha da terapêutica, em comparação com o fenótipo de MN. No fenótipo de MUR recomenda-se um aumento da dose instituída em 100%, assim como a monitorização da terapêutica, para evitar a falha da terapêutica, face a diminuição da concentração plasmática do IBP (Pratt *et al.*, 2018; Lima *et al.*, 2020; Rouby *et al.*, 2018).

1.4. Utilização de Inibidores da Bomba de Protões em Portugal

A política de financiamento de IBP tem vindo a sofrer algumas alterações o que, por sua vez, proporcionou uma inversão na tendência de crescimento dos encargos do Serviço Nacional de Saúde (SNS), nomeadamente a redução do preço de medicamentos genéricos do OMZ em 35%, comparativamente ao Preço de Venda ao Público (PVP) máximo do medicamento de referência (Portaria n.º 312-A/2010 de 11 de Junho, 2010), assim como a alteração da fórmula de cálculo do preço de referência (Decreto-lei n.º 48-A/2010 de 13 de Maio, 2010).

Segundo Silva & Oliveira (2016), a utilização de IBP aumentou no período compreendido entre o ano 2000-2016, com um ligeiro decréscimo entre 2010 e 2012.

Em Portugal, no ano de 2016, os encargos a nível do SNS, foram cerca de 19,8 milhões de euros e os encargos para os utentes foram cerca de 37,9 milhões de euros, em relação à terapêutica com IBP (Silva & Oliveira, 2016). Em 2016, a distribuição da utilização realça que o OMZ foi o IBP mais utilizado (43,6%), seguindo-se o PNZ (24,1%), ESZ (19,0%), LNZ (11,2%) e o RBZ (2,1%). Importa referir que o ESZ, apresenta uma tendência de utilização semelhante ao OMZ e ao PNZ, desde 2011 (Silva & Oliveira, 2016).

Os encargos para o SNS têm vindo a apresentar uma tendência de crescimento desde 2010, sendo que o ESZ, desde 2013, que apresenta os encargos mais elevados para o SNS (7,7 milhões de euros, em 2016, quando comparado com 4,8 milhões de euros, no mesmo ano, com o OMZ), como ilustrado na figura 1.6 (Silva & Oliveira, 2016).

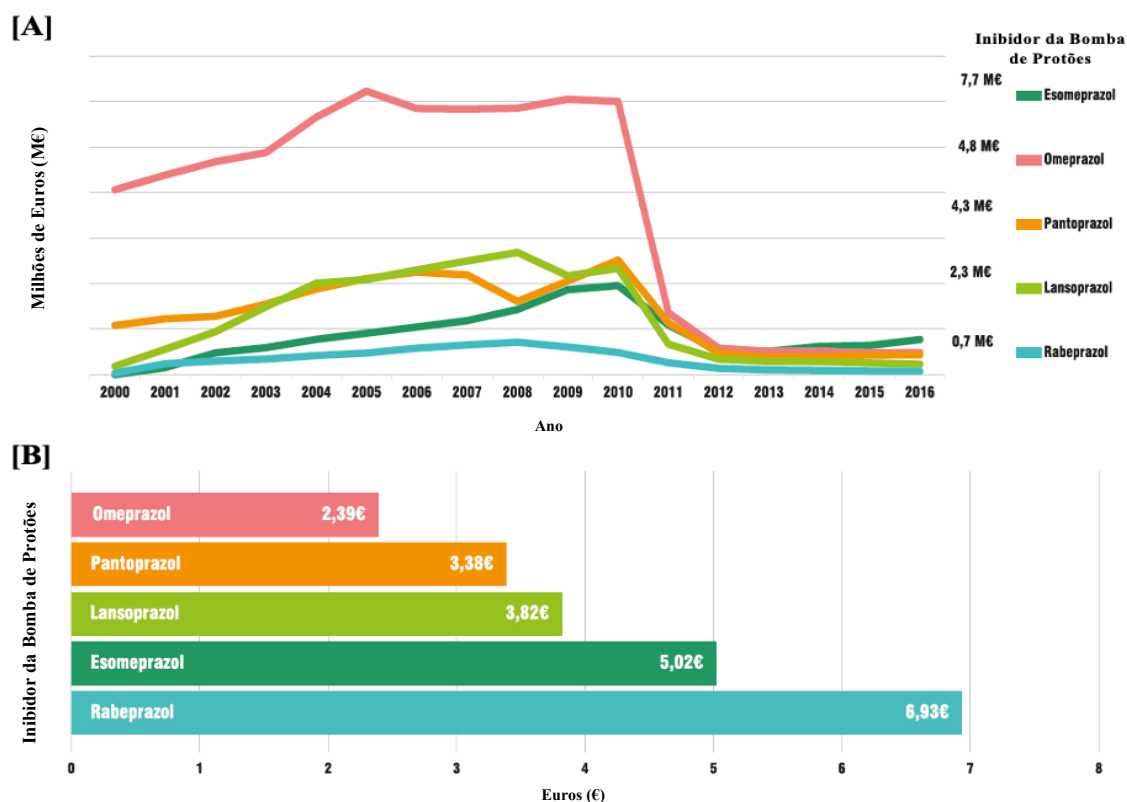


Figura 1.6. Utilização de Inibidores da Bomba de Protões em Portugal, em 2016. [A] Encargo do SNS com cada IBP, utilizado em Portugal continental; [B] Encargo para o utente, durante um mês de tratamento com IBP; Indicador de utilização – os dados são expressos em Doses Diárias Definidas (DDD) por 1000 habitantes, por dia (DHD); A DHD corresponde à dose diária definida por 1000 habitantes por dia e indica a proporção da população que diariamente recebe o tratamento com determinado IBP numa determinada dose média, através do número total de habitantes em Portugal continental; o custo médio de tratamento mensal corresponde ao encargo do doente por DDD utilizada, num período de 30 dias; Indicador de despesa - Preço de Venda ao Público (PVP); despesa pública (encargos do SNS); despesa privada (encargos dos utentes); estes resultados consideram o centro de conferência de faturas de farmácias comunitárias em Portugal continental, assim como os medicamentos dispensados em ambulatório a utentes do SNS, não foram incluídos os medicamentos relativos ao internamento hospitalar e IBP com o estatuto de dispensa de Medicamento Não Sujeito a Receita Médica (MNSRM) (Adaptado de Silva & Oliveira, 2016).

As duas substâncias ativas mais utilizadas em Portugal continental, no ano se 2016, ou seja, o OMZ e o PNZ, dizem respeito às substâncias ativas com o custo mensal de tratamento mais reduzido para o utente, o RBZ apresenta o custo mais elevado e, por sua vez, foi o IBP menos utilizado em Portugal, em 2016 (Silva & Oliveira, 2016). Deste modo, a maioria da prescrição de IBP cumpre o critério definido para a seleção do IBP, dado que o critério que deve prevalecer na seleção de um IBP é o seu custo (DGS, 2011).

Importa realçar que, embora os IBP sejam comumente prescritos e utilizados em Portugal, não dizem respeito a fármacos inócuos e não são desprovidos de efeitos adversos, nomeadamente na terapêutica a longo prazo (Infarmed, 2017; Casciaro *et al.*, 2019).

1.5. Terapêutica com Inibidores da Bomba de prótons a longo prazo e efeitos adversos

A terapêutica com IBP a longo prazo e/ou em doses elevadas, pode originar problemas de segurança graves, tais como hipomagnesémia, hipocalcemia, fraturas ósseas, infeção por *Clostridium difficile*, pneumonia e dispepsia associada à suspensão do IBP (Jaynes & Kumar, 2018; DGS, 2011; Infarmed, 2017; Jo *et al.*, 2015).

A utilização a longo prazo de IBP tem vindo a ser associada a osteoporose, sendo que a terapêutica com IBP aumenta significativamente o risco de fratura óssea relacionada à osteoporose (Eusebi *et al.*, 2017). A terapêutica com IBP influencia a biodisponibilidade de cálcio, magnésio e ferro, estando associada à acloridria e/ou hipocloridria (Yang *et al.*, 2006; Malfertheiner *et al.*, 2017). Um estudo de caso-controlo avaliou a correlação entre a terapêutica com IBP e a fratura do quadril, sendo que numa duração da terapêutica de 1 ano demonstrou um *odds ratio* (OR) de 1,44 e numa terapêutica com a duração de 4 anos um OR igual a 1,59 (Yang *et al.*, 2006).

A hipomagnesémia tem sido associada a doentes a realizar terapêutica com IBP com uma duração da terapêutica superior a três meses (Park *et al.*, 2014; Eyal *et al.*, 2014). O risco de hipomagnesémia é superior no sexo masculino e na população idosa, podendo coexistir a condição de hipocalcemia e hipocaliémia e, deste modo o IBP deve ser utilizado na dose mínima efetiva e durante o menor período de tempo possível (Atkinson, Reynolds & Travis, 2015).

A deficiência em vitamina B₁₂ (cianocobalamina) tem sido associada à terapêutica com IBP, devido à redução da sua absorção, devendo ser considerada em indivíduos com fatores de risco para uma reduzida absorção de vitamina B₁₂, tal como a má absorção gastrointestinal e a anemia perniciosa, como resultado da terapêutica a longo prazo com IBP (Lam *et al.*, 2012; UpToDate, 2020).

A pneumonia associada à terapêutica com IBP, está relacionada com as alterações do pH gástrico, potenciando a colonização por parte de microrganismos, com consequente invasão pulmonar por microaspiração (Eusebi *et al.*, 2017). Sugere-se a associação entre a terapêutica com IBP e a ocorrência de pneumonia adquirida em

ambiente hospitalar ou Pneumonia Adquirida na Comunidade (PAC) (Arguelles *et al.*, 2016; Filion *et al.*, 2014).

Existe uma associação significativa entre o desenvolvimento de PAC e a utilização de IBP, por períodos inferiores a trinta dias (Arguelles *et al.*, 2016). Importa salientar que, o risco é superior no início da terapêutica com IBP e/ou em doses elevadas (Arguelles *et al.*, 2016; Eusebi *et al.*, 2017; UpToDate, 2020; Eom *et al.*, 2011).

A infeção por *Clostridium difficile*, resulta da acloridria e/ ou hipocloridria associada à terapêutica com IBP a longo prazo e ao aumento de infeções entéricas, tal como a diarreia causada por *Clostridium difficile*, existindo um risco acrescido nos doentes hospitalizados (Arguelles *et al.*, 2016; Ogielska *et al.*, 2015).

A dispepsia tem sido associada à suspensão da terapêutica com IBP, isto é, à hipersecreção ácida por efeito *rebound*, após duas semanas da suspensão da terapêutica com IBP (Eusebi *et al.*, 2017; Islam *et al.*, 2018)

A nefrite intersticial aguda refere-se a um efeito adverso raro na terapêutica com IBP, a longo prazo, devendo o mesmo ser suspenso em caso de suspeita e o doente ser referenciado para um nefrologista (Praga, Sevillano, Aunon, & Gonzalez, 2015). Num estudo de corte de base populacional, os doentes que iniciaram o tratamento com IBP apresentaram um risco duas vezes superior de desenvolver nefrite intersticial aguda (Antoniou *et al.*, 2015). A terapêutica com PNZ, a longo prazo, tem vindo a ser associada ao desenvolvimento de nefrite intersticial aguda (Klassen *et al.*, 2013).

A interferência com testes laboratoriais para a pesquisa de tumores neuroendócrinos também tem sido documentada, dado que a terapêutica com IBP a longo prazo aumenta os níveis de Cromogranina A (CgA), resultando em diagnósticos falsos positivos (Kourse *et al.*, 2011; Nehra *et al.*, 2018).

Choudhry *et al.* (1998) e Islam *et al.* (2013), demonstraram que pólipos benignos no estômago ocorrem com mais frequência em doentes a realizar terapêutica com IBP, em comparação com a população em geral e histologicamente os pólipos apresentam uma histologia de hiperplasia e inflamatória, indistinguíveis dos pólipos de ocorrência esporádica e sem evidências de displasia.

A literatura realça ainda a possibilidade de reação anafilática, sendo os testes cutâneos *prick* o método preciso para identificar o IBP em causa e, caso não exista um IBP alternativo, a terapêutica com ARH2, deverá ser prescrita ou um protocolo de dessensibilização deverá ser aplicado (Garcia *et al.*, 2018). O PNZ foi o IBP mais

frequentemente envolvido em reações de hipersensibilidade (42%), nomeadamente em reações de urticária e angioedema (33%) (Casciaro *et al.*, 2019).

Apesar dos efeitos adversos documentados na literatura para a terapêutica com IBP, a longo prazo, na figura 1.7 é possível observar a evidência científica que demonstra uma relação de causalidade.

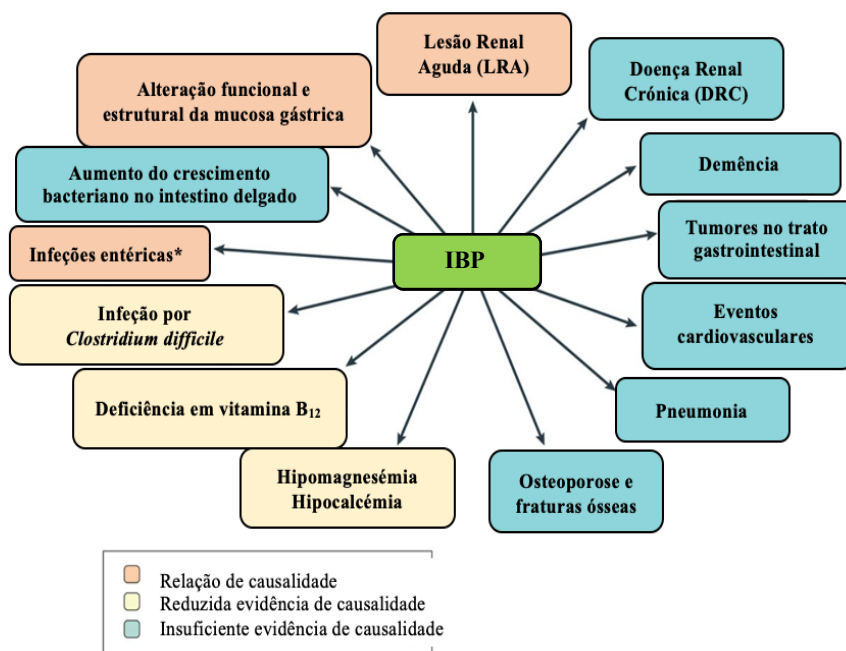


Figura 1.7. Efeitos adversos associados à terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões a longo prazo e a evidência científica da relação de causalidade. A alteração funcional e estrutural da mucosa gástrica, a ocorrência de infeções entéricas e a Lesão Renal Aguda (LRA), apresentam uma relação de causalidade, de acordo com a evidência científica disponível, os restantes efeitos adversos documentados na literatura apresentam uma reduzida ou insuficiente evidência de causalidade, não existindo necessariamente um nexos de causalidade entre a ocorrência adversa e a terapêutica com IBP. *Infeções entéricas com *Salmonella typhimurium* e *Campylobacter jejuni* (Adaptado de Malfertheiner *et al.*, 2017).

A terapêutica com IBP tem sido associada a disbiose a longo prazo, pois o efeito de supressão de acidez gástrica modifica o hospedeiro microbiota em cada segmento do TGI e a suplementação com probióticos poderá ser uma abordagem útil na prevenção de disbiose (Arguelles *et al.*, 2016; Bruno *et al.*, 2019). A existência de uma intervenção terapêutica focada e orientada para a variabilidade da população poderá ser eficaz na redução da prescrição de IBP, dos efeitos adversos a longo prazo e na redução do uso inadequado de IBP (Boster *et al.*, 2020; Johnson *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2017).

1.6. Implementação da Farmacogenética na farmácia comunitária portuguesa – barreiras e desafios

A implementação da Farmacogenética na prática clínica, origina a individualização da terapêutica com IBP para cada doente, contudo existem diversas

barreiras e desafios para a sua implementação na prática clínica, nomeadamente a falta de evidência científica que demonstre a importância clínica dos resultados em saúde, com base na informação genética (Dong & Wiltshire, 2017).

A abordagem terapêutica para a maioria das patologias não se baseia na medicina personalizada, mas sim na medicina clássica que, por sua vez, adota uma metodologia baseada na avaliação dos sintomas descritos pelo doente, assim como na determinação de um diagnóstico e na seleção da terapêutica mais adequada, consoante as *guidelines* disponíveis (Khalifa, 2014). Desta forma, a medicina clássica consiste numa das barreiras à implementação da Farmacogenética na prática clínica, nomeadamente na formação dos clínicos, no que diz respeito à prescrição da terapêutica com IBP (Sedda *et al.*, 2019).

Na implementação da Farmacogenética na prática clínica, é fundamental que os resultados dos testes farmacogenéticos, estejam disponíveis previamente à prescrição da terapêutica, designados de testes farmacogenéticos preventivos ou prospetivos, e não somente quando é necessário (*point-of-care*) (Haga, 2016). Na tabela 1.2, observa-se as vantagens e desvantagens da aplicação do teste farmacogenético prospetivo ou preventivo e da aplicação do teste farmacogenético apenas no ato da prescrição (*point-of-care*).

Tabela 1.2. Aplicação de testes farmacogenéticos (Fitzgerald *et al.*, 2019; Mukerjee *et al.*, 2018; Haga, 2016).

Teste farmacogenético	Descrição	Vantagens	Desvantagens
No ato da prescrição da terapêutica (<i>Point-of-care</i>)	O teste farmacogenético é solicitado, cada vez que um novo fármaco é prescrito. Envolve a análise de um ou mais genes, associados à metabolização de um determinado fármaco.	⇒ Fornece informação, acerca da terapêutica que é concordante com o perfil genético do doente;	⇒ Potencial atraso no início da realização da terapêutica; ⇒ Elevado custo; ⇒ Elevado tempo de espera;
Preventivo ou prospetivo	O teste farmacogenético é solicitado, previamente à prescrição da terapêutica. Envolve a análise de um conjunto de genes que apresentam variantes, previamente conhecidas, e envolvidas na metabolização de diversos fármacos.	⇒ Teste disponível de modo antecipado; ⇒ Evita atrasos no início da realização da terapêutica; ⇒ Característica inerente ao doente, no planeamento da terapêutica;	⇒ Os resultados necessitam de ser partilhados com todos os profissionais de saúde, envolvidos na prestação de cuidados, no futuro;

As questões éticas, legais e sociais também estão implícitas na realização dos testes farmacogenéticos, sendo imperativo criar normas de orientação para todos os

aspectos éticos, de modo a respeitar todos os interesses dos doentes sujeitos aos testes farmacogenéticos, através da aplicação do consentimento informado, o acesso à informação genética de cada doente, por parte de um laboratório ou empresa, pode conduzir a uma possível discriminação (Salari & Larijani, 2017).

A avaliação económica também constitui um fator fundamental para a implementação da Farmacogenética na prática clínica (Arwood *et al.*, 2016). As avaliações económicas, no contexto da Farmacogenética, referem-se a avaliações fármaco-económicas nas quais se procede à comparação entre os resultados dos regimes terapêuticos baseados no perfil genético do doente e regimes terapêuticos que adotam uma metodologia de medicina clássica (Verbelen *et al.*, 2017).

No caso, do regime terapêutico baseado no perfil genético do doente ser, em termos económicos, mais favorável ou *cost-saving*, quando comparado com o regime terapêutico que adota uma abordagem de medicina clássica, estabelece-se um argumento válido para a implementação da Farmacogenética na prática clínica (Lyman *et al.*, 2010).

Verbelen *et al.* (2017), pondera a hipótese dos testes farmacogenéticos serem realizados de forma gratuita, pois o custo associado aos testes farmacogenéticos influencia a decisão de considerar esta abordagem como custo-efetiva. Segundo Berm *et al.* (2016), os testes farmacogenéticos são vantajosos em termos económicos, dado que permitem a redução dos custos associados ao modelo de medicina clássica.

O CPIC divulga recomendações terapêuticas, baseadas em evidência científica acerca de diversas variantes relevantes e que devem ser consideradas, após o resultado do teste farmacogenético (Lima *et al.*, 2020). Todavia, a falta de *guidelines* e algoritmos que traduzam os resultados dos testes farmacogenéticos em decisões clínicas, dificulta a implementação da Farmacogenética na prática clínica (Giri *et al.*, 2019).

Neste sentido, o farmacêutico deve estar envolvido na implementação da Farmacogenética na prática clínica, nomeadamente no ato de dispensa da terapêutica, sendo tal envolvimento dificultado quando a terapêutica é dispensada em diferentes farmácias comunitárias (Smith *et al.*, 2017).

1.6.1. Responsabilidade do farmacêutico

Segundo a *American Society of Health-system Pharmacists* (ASHP), o farmacêutico deve-se especializar na área da Farmacogenética para responder aos desafios e ultrapassar as barreiras na implementação da Farmacogenética na prática clínica, assim como realizar de forma sistemática revisões da literatura existente

(American Society of Health-system Pharmacists, 2015). As suas responsabilidades incluem a promoção do uso adequado dos testes farmacogenéticos, a interpretação dos resultados e a educação de outros profissionais de saúde, no âmbito da Farmacogenética (American Society of Health-system Pharmacists, 2015).

Entre as barreiras para o processo de implementação da Farmacogenética na prática clínica, reside a falta de ferramentas no sistema de apoio à decisão clínica e, desta forma o farmacêutico deve participar no sistema *Clinical Decision Support* (CDS) (Sutton *et al.*, 2020; Khalifa, 2014).

Neste sentido, o programa informático FARMAPRICE[®] foi o primeiro CDS desenvolvido em Itália com a finalidade de auxiliar a decisão clínica no momento de prescrição de fármacos com implicações farmacogenómicas e para os quais já existam *guidelines* farmacogenómicas disponíveis (Roncato *et al.*, 2019). O FARMAPRICE[®] é um protótipo que foi concebido para a integração da informação genética dos doentes, no processo de prescrição clínica, emitindo alertas após a instituição de uma determinada terapêutica, quando ainda se desconhece os resultados do teste farmacogenético e após o resultado do genótipo estar registado no programa informático (Roncato *et al.*, 2019).

Antes da implementação de um serviço de Farmacogenética na farmácia comunitária, é fundamental determinar quantos doentes serão abrangidos, definindo os recursos necessários para uma implementação eficaz, tal como a formação contínua dos recursos humanos existentes, a implementação de novas infraestruturas, material e instrumentos (Snyder *et al.*, 2018). Deve-se ponderar acerca da contratação de serviços por parte de um laboratório externo para a realização dos testes farmacogenéticos, podendo-se optar por adquirir o material necessário para realizar o teste nas próprias instalações, dado que a contratação de um laboratório externo pode condicionar o tempo de espera na obtenção dos resultados (Bacci *et al.*, 2019).

Existem diversas técnicas de genotipagem para caracterizar a variabilidade do gene *CYP2C19*, nomeadamente duas técnicas de genotipagem aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA). O teste farmacogenético *AmpliChip CYP450* (Roche Molecular Systems, Inc., Califórnia, EUA), a nível das variantes *CYP2C19*2* e *CYP2C19*3* e o teste farmacogenético *Infiniti CYP2C19* (AutoGenomics, Inc., Califórnia, EUA), a nível das variantes *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17* (Leon *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2011).

É necessário validar a relevância clínica das variantes selecionadas, dado que diversos genes são suscetíveis de influenciar a resposta à terapêutica, o que torna complexo e demorado a identificação de variantes genéticas (Bacci *et al.*, 2019). Poderá ser pertinente reunir o número de embalagens dispensadas dos fármacos implicados na Farmacogenética, procedendo-se à seleção daqueles que apresentam um maior número de embalagens dispensadas (Arwood *et al.*, 2016; Carpenter *et al.*, 2016).

É imperativo estabelecer o modo como será realizada a incorporação da Farmacogenética como um novo serviço farmacêutico, nas farmácias comunitárias portuguesas. Para tal, deve-se considerar a sua inclusão no serviço de *Medication Therapy Management* (MTM), que tem como objetivo promover o conhecimento do doente acerca da sua terapêutica (Snyder *et al.*, 2018).

Desta forma, o farmacêutico tem autonomia para realizar o teste farmacogenético necessário para identificar o genótipo do doente, de modo a sugerir a otimização da terapêutica e obter o melhor resultado terapêutico, como se observa na figura 1.8.

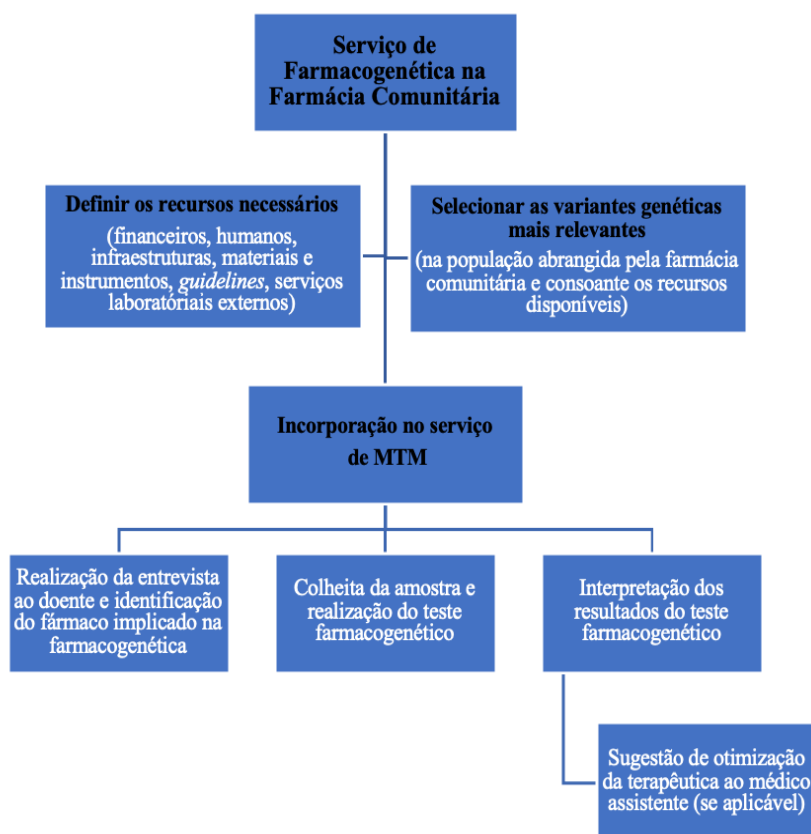


Figura 1.8. Procedimento adotado para implementar um serviço de Farmacogenética na farmácia comunitária portuguesa. Deve ser incorporado no serviço MTM para que a implementação da Farmacogenética na prática clínica seja consolidada e ocorra da forma mais célere possível.

O serviço MTM é realizado junto do próprio doente, com a realização de uma entrevista, na qual se procede à recolha de informação pertinente para identificar

potenciais problemas relacionados com a terapêutica, seguindo-se a colheita da amostra para o teste farmacogenético, devendo o farmacêutico dispor de uma formação adequada para a recolha da amostra, assim como para a interpretação dos resultados e na otimização da terapêutica através da redação da carta de opinião farmacêutica (se aplicável) (Adeoye *et al.*, 2019). A falta de conhecimento, por parte dos doentes, acerca da informação obtida com o teste farmacogenético é documentada como uma barreira à implementação da Farmacogenética na prática clínica (Sedda *et al.*, 2019; Giri *et al.*, 2019).

No serviço de MTM, o farmacêutico pode identificar os fármacos que possam estar implicados na Farmacogenética e, por sua vez, ser alvo de alterações no seu efeito terapêutico, devido à existência de polimorfismos (Arwood *et al.*, 2016). O serviço de MTM, refere-se a um serviço farmacêutico direcionado para a garantia de uma terapêutica com a maior eficácia e com o menor risco de efeitos adversos, representando os objetivos da implementação da Farmacogenética na prática clínica (Ferreri *et al.*, 2020).

O futuro da Farmacogenética na prática clínica, poderá estar na origem da sua implementação no âmbito da farmácia comunitária, possibilitando o desenvolvimento de uma estratégia focada e orientada para a variabilidade da população portuguesa.

Neste sentido, o presente estudo pretende caracterizar o genótipo e fenótipo dos doentes, após a dispensa da terapêutica com IBP na farmácia comunitária, no que diz respeito às variantes mais relevantes do gene *CYP2C19*.

2. Objetivos

O presente trabalho de investigação realça como objetivo geral, caracterizar o genótipo e fenótipo dos doentes a realizar terapêutica com IBP, no que diz respeito às variantes *CYP2C19**1, *2, *3 e *17 e tem como base os resultados preliminares obtidos através da base de dados *Ensembl Projet* e as recomendações terapêuticas do Consórcio de Implementação de Farmacogenética Clínica ou *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC).

No qual se exploram os seguintes objetivos específicos:

- ⇒ Avaliar a adequação da terapêutica selecionada e da dose instituída, nomeadamente se é concordante com o respetivo fenótipo do doente, através da aplicação de um questionário de avaliação da terapêutica com IBP e da genotipagem do *CYP2C19*;
- ⇒ Avaliar a implementação de um serviço de Farmacogenética na farmácia comunitária portuguesa, através do qual o farmacêutico comunitário, em carta de opinião farmacêutica, poderá sugerir a otimização da terapêutica ao médico assistente (se aplicável);

3. Materiais e métodos

3.1. Tipo de estudo

O respetivo trabalho de investigação refere-se a um estudo transversal, permitindo descrever as características da amostra em estudo e estabelecer associações entre as diferentes variáveis em estudo. Este estudo transversal será um estudo piloto, de um outro estudo mais abrangente, a ser realizado posteriormente, que envolverá as farmácias comunitárias de Portugal continental e através do qual todos os doentes identificados como beneficiando da intervenção farmacêutica (alteração da terapêutica e/ou da dose instituída), serão envolvidos.

Deste modo, foi possível aferir a capacidade de recrutamento da farmácia comunitária envolvida no estudo, ou seja, da farmácia comunitária Nobre Guerreiro, localizada no concelho de Seixal, para numa fase posterior se avaliar a implementação desta intervenção farmacêutica noutras farmácias comunitárias portuguesas, segundo as conclusões do presente estudo. Importa salientar, que apenas a farmácia comunitária Nobre Guerreiro emitiu previamente uma declaração para a sua adesão ao presente estudo, no âmbito da realização do estágio curricular em farmácia comunitária, sendo que o atual contexto de Pandemia SARS-Cov-2 condicionou o número total de amostras recolhidas e de farmácias comunitárias participantes.

3.1.1. Seleção e caracterização demográfica da amostra em estudo

A amostra analisada corresponde a um total de 33 doentes a realizar terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões (IBP), dos quais 21 doentes se referem ao sexo feminino e 12 doentes ao sexo masculino, a nível da etnia, 17 doentes são de etnia caucasiana e 16 doentes são de etnia negroide. Importa referir que, 10 doentes são do sexo feminino e etnia negroide, 11 doentes são do sexo feminino e etnia caucasiana, 6 doentes são do sexo masculino e etnia negroide e 6 doentes são do sexo masculino e etnia caucasiana. A idade média dos participantes foi de 53,4 anos e a mediana de 53 anos, com uma faixa etária compreendida entre os 21 e os 89 anos.

Os participantes do estudo respeitam determinados critérios de inclusão, tais como realizarem terapêutica com IBP prescrita em Portugal com a classificação quanto à dispensa de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM), no âmbito da farmácia comunitária portuguesa (qualquer IBP é elegível, assim como a primeira prescrição e a renovação da terapêutica, mas são diferenciadas) e determinados critérios de exclusão,

tais como, indivíduos com idade inferior a 18 anos, com deficit cognitivo ou barreiras linguísticas que impeçam a respetiva recolha de informação.

A informação acerca da terapêutica com IBP foi obtida através da aplicação de um questionário de avaliação (Anexo V) e recolhida para todos os participantes, no momento de recrutamento, presencialmente (t_0), assim como através dos resultados da técnica de genotipagem, em ambiente de laboratório (t_1), sendo posteriormente redigida a carta de opinião farmacêutica para a otimização da terapêutica com IBP (se aplicável).

3.1.2. Recolha de dados - questionário de avaliação

Os dados a recolher no questionário de avaliação (Anexo V) incluem:

- ⇒ Caracterização da prescrição da terapêutica com IBP (primeira prescrição ou renovação da terapêutica);
- ⇒ Caracterização da terapêutica com IBP (substância ativa, dose, posologia, duração da terapêutica, indicação terapêutica e experiência de efeitos adversos);
- ⇒ Terapêutica concomitante (avaliação de possíveis interações medicamentosas);
- ⇒ Resultado da genotipagem dos polimorfismos;

Procedeu-se ainda à recolha de informação, para avaliar a implementação de um modelo de intervenção farmacêutica, no âmbito da Farmacogenética, na farmácia comunitária portuguesa, nomeadamente, contabilizou-se:

- ⇒ Tempo despendido no convite à participação, na explicação do estudo e na recolha do consentimento informado;
- ⇒ Tempo despendido para a recolha da amostra;
- ⇒ Tempo despendido para a recolha de dados, através do questionário de avaliação;
- ⇒ Tempo despendido para a realização do teste farmacogenético;
- ⇒ Tempo despendido no estudo das alternativas terapêuticas para otimização da terapêutica com IBP (se aplicável);
- ⇒ Tempo despendido a redigir a carta de opinião farmacêutica (se aplicável);

3.1.3. Ética e confidencialidade de dados

De forma a obter a amostra em estudo, obtiveram-se os respetivos consentimentos informados de cada um dos participantes, que foram previamente informados acerca dos objetivos e metodologia do estudo, inclusive as suas obrigações, responsabilidades e

direitos, devendo formalizar a sua adesão ao estudo sob a forma de um consentimento informado (Anexo IV).

A informação de cada um dos participantes foi recolhida de forma anónima e confidencial, durante o tratamento de resultados, e devidamente codificada com recurso a uma chave numérica e ao programa de folha de cálculo Microsoft Excel 2019® (Microsoft®Office 365). A identificação dos participantes foi apenas possível durante o desenvolvimento do estudo, ao farmacêutico responsável, no âmbito da habitual prestação de cuidados de saúde, e ao Investigador Principal (IP). A chave que permite correlacionar a identidade ao respetivo código foi apenas titulada pelo IP e destruída imediatamente após a conclusão do presente estudo. A proposta de trabalho científico, assim como toda a documentação solicitada para o efeito, foi submetida e aprovada pela comissão de ética Egas Moniz (Cooperativa de Ensino Superior, CRL, Egas Moniz), tal como consta no Anexo VI.

3.2. Recolha das amostras e material biológico

Após a aplicação do questionário de avaliação, procedeu-se à recolha das amostras através da técnica de zaragatoa bucal e raspagem na mucosa oral, com recurso a uma zaragatoa estéril *OmniSwab*® (QIAGEN), de seguida as amostras foram armazenadas num tubo *ependorf* e conservadas a -20°C, para posterior extração de ácido desoxirribonucleico (ADN) ou *deoxyribonucleic acid* (DNA).

3.3. Extração de DNA

Para a extração de DNA, foi selecionado o total de 33 amostras de doentes a realizar terapêutica com IBP. A extração de DNA foi realizada de acordo com o protocolo do fabricante do kit comercial *QIAamp*® *DNA Investigator – Isolation of total DNA from Surface and Buccal Swabs*, com algumas modificações (QIAGEN, 2020).

Para iniciar a extração de DNA, adicionaram-se 20 µL de proteínase K e 600 µL do tampão ATL, a cada amostra previamente descongelada e, de seguida incubou-se a 56°C num bloco de aquecimento (LabNet International AccuBlock™ Digital Dry Baths, Inc.), durante 1 hora. Durante este período de incubação, recorreu-se a agitação com o auxílio de um vórtex (BioBlocks, Inc., Science Agitateur Top-Mix 11118), a cada 10 segundos, para ocorrer a lise celular. Segue-se uma breve centrifugação à velocidade máxima (Eppendorf 5417C Centrifuge) para remover possíveis gotículas retidas na tampa do tubo *ependorf*. Posteriormente, adicionou-se 600 µL do tampão AL e agitação no

vórtex durante 15 segundos, para a obtenção de uma solução homogénea e incubou-se a solução a 70°C, no bloco de aquecimento, com agitação a cada 10 segundos nas condições suprarreferidas (QIAGEN, 2020).

Após ocorrer a lise celular, adicionou-se 300 µL de etanol absoluto (Honeywell, NC, EUA) e, de seguida misturou-se no vórtex durante 15 segundos, centrifugando-se à velocidade máxima durante 1 minuto (QIAGEN, 2020).

Foram transferidos 700 µL do lisado obtido anteriormente de cada uma das amostras para uma coluna *QIAmp MinElute* (QIAGEN) colocada num tubo coletor, seguindo-se uma nova centrifugação a 8000 rpm durante 1 minuto. Após se rejeitar o sobrenadante do tubo coletor foi adicionado o volume restante de cada uma das amostras, sujeito novamente a uma centrifugação nas condições suprarreferidas. O sobrenadante obtido foi descartado e procedeu-se à lavagem com 500 µL do tampão AW1, centrifugando-se novamente a 8000 rpm durante 1 minuto (QIAGEN, 2020).

De seguida, os tubos coletores foram descartados e as colunas *QIAmp MinElute* foram colocadas em novos tubos coletores, seguindo-se a centrifugação a 8000 rpm durante 1 minuto. O sobrenadante foi novamente descartado e procedeu-se a uma segunda lavagem das colunas *QIAmp MinElute* através da adição de 700 µL do tampão AW2 e centrifugou-se a 8000 rpm, durante 1 minuto (QIAGEN, 2020).

Adicionou-se 700 µL de etanol absoluto e centrifugou-se a 8000 rpm, durante 1 minuto, seguindo-se a centrifugação a 14,000 rpm durante 3 minutos, de modo a promover a secagem da membrana da coluna *QIAmp MinElute*, os tubos coletores foram descartados e cada coluna foi colocada num tubo *ependorf* (QIAGEN, 2020).

Para maximizar o rendimento da extração e a eluição do DNA na membrana da coluna *QIAmp MinElute*, incubou-se a 37°C durante 10 minutos (Memmert BE500), foram ainda adicionados 15 µL do tampão ATE, no centro da membrana da coluna *QIAmp MinElute*, e centrifugou-se à velocidade máxima durante 1 minuto. Posteriormente, repetiu-se todo o processo supracitado (QIAGEN, 2020).

Por fim, descartou-se a coluna *QIAmp MinElute* e armazenou-se o tubo *ependorf* contendo o DNA extraído, para cada uma das amostras a -20°C, até posterior utilização. Na figura 3.1, é possível observar as diferentes etapas envolvidas no procedimento de extração de DNA.

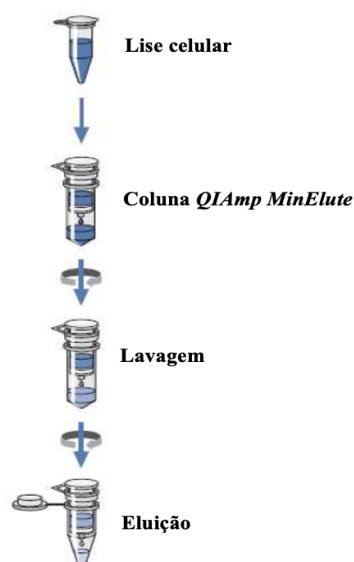


Figura 3.1. Procedimento de extração de DNA através do kit *QIAamp*[®] *DNA Investigator*. Isolation of total DNA from Surface and Buccal Swabs. Processo de lise celular, ligação do DNA à membrana da coluna *QIAamp MinElute*, processo de lavagem e eluição do DNA, para posterior utilização (Adaptado de QIAGEN, 2020).

A quantificação da concentração total de DNA, assim como a pureza foram determinadas através de análise espectrofotométrica no NanoVue Plus[®] (Thermo Fisher Scientific Inc.). A concentração de DNA total foi estimada, considerando que a medida de absorvância a 260 nm ($A_{260\text{nm}}$) corresponde à concentração de 50 ng/ μL de DNA de cadeia dupla. A contaminação de DNA com proteínas e com ácido ribonucleico (ARN) ou *ribonucleic acid* (RNA), foi avaliada através da razão $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$, na qual valores inferiores a 1,75 demonstram a contaminação por proteínas e valores superiores a 2,00 indicam a contaminação com RNA. A contaminação por compostos orgânicos foi avaliada através da análise da razão $A_{230\text{nm}}/A_{260\text{nm}}$, na qual valores inferiores a 1,75 demonstram a contaminação através de compostos orgânicos. Para a quantificação da concentração de DNA total foi considerada a média das duas medições efetuadas para cada amostra e como branco utilizou-se água.

3.4. Genotipagem e análise dos polimorfismos

Após a extração de DNA, procedeu-se à reação em cadeia da polimerase ou *Polymerase Chain Reaction* (PCR) para os polimorfismos *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17*. Posteriormente, procedeu-se somente à genotipagem dos polimorfismos *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17*, através da análise dos fragmentos de restrição obtidos ou *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), seguindo-se a respetiva técnica de sequenciação, como ilustrado na figura 3.2. Importa salientar que não se realizou a genotipagem do polimorfismo *CYP2C19*2*, devido à necessidade de gestão de tempo na

realização do respetivo trabalho de investigação, face o contexto de Pandemia SARS-Cov-2.

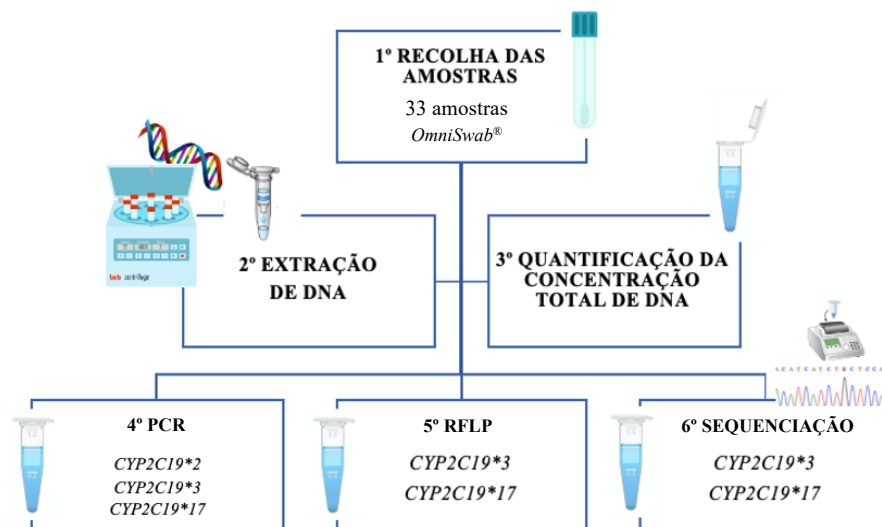


Figura 3.2. Genotipagem e análise dos polimorfismos *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17*. Após a recolha das 33 amostras em estudo, com recurso a zaragatoas *OmniSwab*[®], realizou-se a extração e a quantificação da concentração total de DNA. De seguida, a reação de PCR para os polimorfismos *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17*, assim como a a técnica de RFLP e de sequenciação para os polimorfismos *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17*.

3.4.1. Sequências de oligonucleótidos introdutores de *primers*

Após a receção dos *primers* (STABvida, Lda, FCT/UNL, Caparica) procedeu-se à reconstituição de cada *primer* na solução tampão Tris-HCl 10 mM a pH= 8,0 (PanReac AppliChem) e à diluição num fator de diluição 1:100, obtendo-se uma concentração final de 1 µM. Na tabela 3.1 observam-se as sequências de oligonucleótidos introdutores de *primers* utilizados no presente trabalho de investigação.

Tabela 3.1. Sequências de oligonucleótidos introdutores de *primers*. *CYP2C19*2* (c.681G>A), *CYP2C19*3* (c.636G>A) e *CYP2C19*17* (c.-806C>T); pb – par de bases; *Fwd* – *forward*; *Rev* – *reverse*; PCR – *Polymerase Chain Reaction* (Adaptado de Dehbozorgi *et al.*, 2018; Ensembl Project, 2020).

Alteração nucleotídica e referência <i>Ensembl Project</i>	<i>Primer</i>	Sequência 5' - 3'	Produto de PCR (pb)
<i>CYP2C19*2</i> c.681G>A rs4244285	<i>CYP2C19*2</i> <i>Fwd</i>	5'- AAT TAC AAC CAG AGC TTGGC -3'	168 pb
	<i>CYP2C19*2</i> <i>Rev</i>	5'- TAT CAC TTT CCA TAA AAG CAAG -3'	
<i>CYP2C19*3</i> c.636G>A rs4986893	<i>CYP2C19*3</i> <i>Fwd</i>	5'- AAC ATC AGG ATT GTA AGC AC -3'	119 pb
	<i>CYP2C19*3</i> <i>Rev</i>	5'- TCA GGG CTT GGT CAA TATAG -3'	
<i>CYP2C19*17</i> c.-806C>T rs12248560	<i>CYP2C19*17</i> <i>Fwd</i>	5'- GCC CTT AGC ACC AAA TTC TC -3'	471 pb
	<i>CYP2C19*17</i> <i>Rev</i>	5'- ATT TAA CCC CCT AAA AAA ACA CG -3'	

3.4.2. Reação em cadeia da polimerase – PCR

Para o prosseguimento do presente trabalho de investigação, foram selecionadas e analisadas as 33 amostras. A metodologia adotada teve como base os materiais e métodos adotados no estudo realizado por Dehbozorgi *et al.*, (2018), com algumas modificações.

A reação de PCR foi realizada de acordo com o protocolo do fabricante do kit comercial *NZYTaq II 2x Green Master Mix*[®] (NZYTech, 2020a). Este kit comercial, diz respeito a uma solução pré-misturada, contendo a enzima DNA polimerase NZYTaq II (0,2 U/ μ L, em glicerol) (NZYTech, 2020a). A mistura reacional para a reação de PCR, contém desoxirribonucleótidos (dNTPs), tampão de reação PCR, cloreto de magnésio (2,5 mM, MgCl₂), assim como aditivos em concentrações ideais que permitem realizar a amplificação de uma ampla gama de modelos de DNA até 6 kb (NZYTech, 2020a).

Neste estudo, utilizaram-se misturas de reação de PCR com um volume final de 50 μ L, contendo aproximadamente 50 ng de DNA molde, durante a preparação da mistura reacional, a mesma foi sempre mantida em gelo.

De modo a perfazer o volume final de reação, adicionou-se água livre de nucleases (NZYTech), 1 μ L de cada primer *forward* e *reverse* e 25 μ L correspondentes à *NZYTaq II 2x Green Master Mix*[®], considerando o número total de amostras analisadas para cada um dos polimorfismos. Posteriormente, adicionou-se 50 μ L da mistura reacional a cada amostra e no final adicionou-se 5 μ L de DNA extraído, para cada amostra. O termociclador Bio-Rad MJ Mini[™] Personal Thermal Cycler (BIORAD), foi programado especificamente para cada reação de PCR. As condições de PCR para a amplificação dos polimorfismos *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17*, podem ser observadas nas tabelas 3.2, 3.3 e 3.4, respetivamente.

Tabela 3.2. Genotipagem e análise do polimorfismo *CYP2C19*2*. Condições de PCR utilizadas para a amplificação das regiões de DNA genómico contendo o polimorfismo *CYP2C19*2* (Adaptado de Dehbozorgi *et al.*, 2018).

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo	Número de ciclos
Desnaturação inicial	95	5 minutos	1
Desnaturação	95	1 minuto	35
<i>Annealing</i>	54	1 minuto	1
Extensão	72	2 minuto	1
Extensão final	72	10 minutos	1
Manter a mistura reacional a uma temperatura de 4°C			

Tabela 3.3. Genotipagem e análise do polimorfismo *CYP2C193.** Condições de PCR utilizadas para a amplificação das regiões de DNA genómico contendo o polimorfismo *CYP2C19**3 (Adaptado de Dehbozorgi *et al.*, 2018).

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo	Número de ciclos
Desnaturação inicial	95	5 minutos	1
Desnaturação	94	1 minuto	35
<i>Annealing</i>	56,3	1 minuto	1
Extensão	72	1 minuto	1
Extensão final	72	10 minutos	1
Manter a mistura reacional a uma temperatura de 4°C			

Tabela 3.4. Genotipagem e análise do polimorfismo *CYP2C1917.** Condições de PCR utilizadas para a amplificação das regiões de DNA genómico contendo o polimorfismo *CYP2C19**17 (Adaptado de Dehbozorgi *et al.*, 2018).

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo	Número de ciclos
Desnaturação inicial	95	5 minutos	1
Desnaturação	94	50 segundos	35
<i>Annealing</i>	54,2	50 segundos	1
Extensão	72	50 segundos	1
Extensão final	72	10 minutos	1
Manter a mistura reacional a uma temperatura de 4°C			

Após a amplificação por PCR, os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 2% (p/v) (Seakem LE Agarose, Lonza), em tampão de eletroforese TAE 1x (Tris 40 mM, acetato de sódio 5 mM, EDTA 1 mM, pH= 8,0) e através da adição de 5 µL de GelRed Nucleic Acid Stain Safe® 10,000x (Biotium), por cada 100 mL de tampão TAE 1x.

A cada poço do gel de agarose adicionou-se 10 µL do produto de PCR previamente obtido, 2 µL de loading dye blue 6x (BioLabs) e 3 µL de água livre de nucleases (NZYTech), correspondendo a um total de 15 µL em cada poço do gel de agarose. Foram ainda adicionados 5 µL de cada marcador de peso molecular.

O controlo negativo foi realizado para cada um dos polimorfismos em análise, através da utilização somente da mistura reacional, sendo o volume de DNA substituído por igual volume de água livre de nucleases (NZYTech). Para cada polimorfismo em análise, utilizaram-se sequências de oligonucleótidos introdutores dos *primers* específicas (STABvida, Lda, FCT/UNL, Caparica), para amplificar os fragmentos de DNA correspondentes às regiões que contêm os polimorfismos *CYP2C19**2, *CYP2C19**3 e *CYP2C19**17.

Foram utilizados os marcadores de peso molecular, NZYDNA Ladder VI (NZYTech), 100 bp DNA Ladder (BioLabs) e PhiX174 DNA-HaeIII Digest (BioLabs), conservados à temperatura de -20°C (NZYTech, 2020b; BioLabs, 2020a). Na figura 3.3 observa-se o perfil eletroforético dos marcadores de peso molecular.

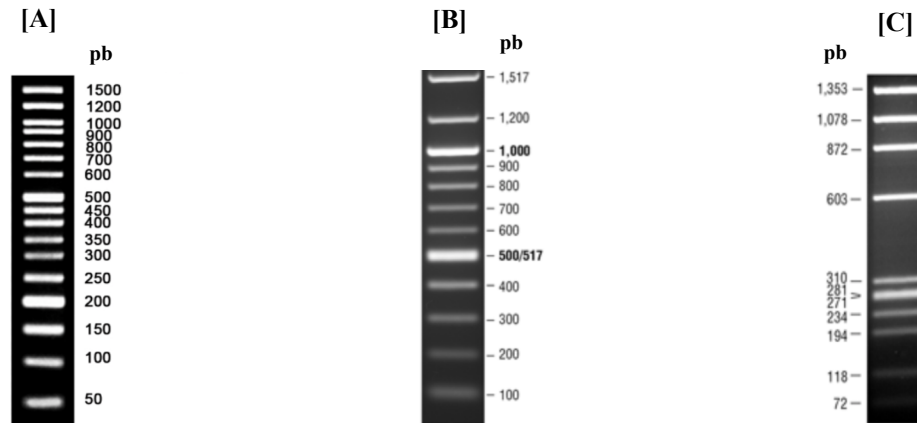


Figura 3.3. Perfil eletroforético dos marcadores de peso molecular. [A] NZYDNA Ladder VI; [B] 100 bp DNA Ladder; [C] PhiX174 DNA-HaeIII Digest; pb - par de bases (NZYTech, 2020b; BioLabs, 2020a).

A eletroforese ocorreu aproximadamente durante 60 minutos a 100 mA (BIORAD, PowerPac 300). Verificou-se que foram amplificados os fragmentos correspondentes a 168 par de bases (pb), 119 pb e 471 pb, relativos aos polimorfismos *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17*, respectivamente, com luz ultravioleta no transiluminador (UltraLum). Os produtos de PCR foram conservados à temperatura de -20°C até à próxima utilização. No entanto, a elevada estabilidade térmica da mistura enzimática permite que a mesma permaneça estável a 4°C ou à temperatura ambiente, durante 7 dias (NZYTech, 2020a).

3.4.3. Análise dos fragmentos de restrição dos polimorfismos – RFLP

Os polimorfismos em estudo, foram analisados recorrendo à técnica de RFLP, permitindo identificar a presença ou ausência do polimorfismo na amostra biológica em estudo, após a amplificação por PCR.

Para a restrição enzimática dos polimorfismos *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17*, utilizaram-se as enzimas de restrição *Bam*HI (20,000 U/mL) (BioLabs) e *Sfa*NI (2,000 U/mL) (BioLabs), respetivamente, assim como o tampão de reação 10x (BioLabs) respetivo, sendo conservadas a uma temperatura de -20°C até à sua utilização.

De modo a preparar a mistura reacional teve-se em consideração o total de amostras analisadas para cada um dos polimorfismos, correspondendo cada reação a um

volume final de 31 µL, a preparação da mistura reacional foi sempre mantida em gelo. De modo a perfazer o volume final de reação, adicionou-se água livre de nucleases (NZYTech), seguindo-se a adição de 10 µL do produto de PCR amplificado previamente, o tampão para restrição enzimática 10x *Bam*HI ou *Sfa*NI, (2 µL) e a respetiva enzima de restrição (1 µL), para cada amostra em estudo.

Segundo Dehbozorgi *et al.*, (2018), para ocorrer a reação de restrição enzimática procedeu-se à incubação das amostras a 37°C, durante 16 horas (Membert), dado ser a temperatura ótima para a respetiva restrição enzimática. A tabela 3.5, ilustra os fragmentos de restrição obtidos.

Tabela 3.5. Local de restrição das enzimas de restrição *Bam*HI e *Sfa*NI. Genotipagem dos polimorfismos *CYP2C19*3* (c.636G>A) e *CYP2C19*17* (c.-806C>T) e análise dos fragmentos de restrição dos polimorfismos; pb – par de bases; *wt* – wild type (Adaptado de Dehbozorgi *et al.*, 2018; BioLabs, 2020b; Ensembl Project, 2020).

Alteração nucleotídica e referência <i>Ensembl Project</i>	Fragmentos de restrição (pb)	Genótipo	Enzima de restrição	Local de restrição
<i>CYP2C19*3</i> c.636G>A rs4986893	93; 26	Homozigótico <i>wt</i> <i>CYP2C19*1/*1</i> , 636G/G	<i>Bam</i> HI	5' G↓G A T C C 3' 3' C C T A G↑G 5'
	119; 93; 26	Heterozigótico <i>CYP2C19*1/*3</i> 636G/A		
	119	Homozigótico mutado <i>CYP2C19*3/*3</i> 636A/A		
<i>TCYP2C19*17</i> c.-806C>T rs12248560	184; 139; 114; 34	Homozigótico <i>wt</i> <i>CYP2C19*1/*1</i> -806C/C	<i>Sfa</i> NI	5' G C A T C N ₅ ↓ 3' 3' C G T A G N ₉ ↑ 5'
	218; 184; 139; 114	Heterozigótico <i>CYP2C19*1/*17</i> -806C/T		
	218; 139; 114	Homozigótico mutado <i>CYP2C19*17/*17</i> -806T/T		

Posteriormente, os produtos de restrição enzimática foram separados por eletroforese, através do gel de agarose *metaphor* a 4% (p/v) (*Lonza*), em tampão de eletroforese TAE 1x (Tris 40 mM, acetato de sódio 5 mM, EDTA 1 mM, pH= 8,0) e através da adição de 5 µL de GelRed Nucleic Acid Stain Safe® 10,000x (Biotium®) por cada 100 mL de tampão TAE 1x. O gel de agarose *metaphor* apresenta uma temperatura de fusão a 75°C e uma elevada capacidade de resolução para a visualização dos fragmentos de restrição, aproximando-se do gel de poliacrilamida.

A cada poço do gel de agarose adicionou-se 12 µL do produto de restrição enzimática previamente obtido, 3 µL de loading dye blue 6x (BioLabs), correspondendo

a um total de 15 μL em cada poço do gel de agarose. Foram ainda adicionados 5 μL de cada marcador de peso molecular. A eletroforese ocorreu aproximadamente durante 110 minutos a 140 mA, no aparelho de eletroforese (BioRad, PowerPac 300) e visualizou-se os fragmentos de restrição com luz ultravioleta no transiluminador (UltraLum).

3.4.4. Sequenciação

Previamente à sequenciação de DNA, realizou-se a purificação dos produtos de PCR, segundo o protocolo do kit comercial NZYGelpure® (NZYTech, 2020c).

Todas as etapas de purificação foram realizadas à temperatura ambiente. O volume total de cada produto de reação de PCR foi transferido para um tubo *ependorf* e de seguida foi adicionado o tampão de ligação e agitou-se o tubo *ependorf*, cuidadosamente, seguindo-se uma breve centrifugação à velocidade máxima (Eppendorf 5417C Centrifuge). A mistura anterior foi adicionada à coluna de rotação NZYTech, com o volume máximo correspondente a 700 μL , seguindo-se a centrifugação durante 30 segundos e o descarte do sobrenadante obtido no tubo coletor (NZYTech, 2020c).

Posteriormente, adicionou-se 600 μL do tampão de lavagem, centrifugou-se durante 30 segundos e descartou-se o sobrenadante do tubo coletor. De seguida, centrifugou-se novamente durante 1 minuto para secar a membrana da coluna de rotação NZYTech, procedeu-se à eluição com 50 μL de tampão de eluição à temperatura ambiente (1 minuto) e centrifugou-se durante 1 minuto (NZYTech, 2020c).

As amostras foram conservadas a -20°C até à realização da técnica de sequenciação com os respetivos primers *forward* e *reverse*, por parte do laboratório STAB VIDA, Lda, para todas as amostras de cada um dos polimorfismos em estudo. Após a obtenção dos resultados de sequenciação, procedeu-se à análise dos resultados através do programa *BioEdit 7.2.5 - Biological Sequence Alignment Editor*.

3.5. Análise estatística

A análise estatística foi realizada através do *software* Estatístico R versão 4.0.3 (*R package based on χ^2 test, Statistical Computing and Graphics, Inc.*), baseado no teste do qui-quadrado (χ^2), com um intervalo de confiança (IC) de 95%. O resultado observado para cada um dos polimorfismos, foi comparado com o resultado que seria esperado, para uma população em equilíbrio de *Hardy-Weinberg* (H-W) ($p > 0,05$), sendo que os valores de $*p < 0,05$ foram considerados significativos para a distribuição alélica e genotípica, entre o sexo e etnia, na amostra em estudo.

4. Apresentação e discussão dos resultados

4.1. Genotipagem e análise dos polimorfismos – frequências alélicas e genotípicas

Na figura 4.1 observa-se o perfil eletroforético dos produtos de amplificação, por reação de PCR, sendo que o *CYP2C19*2* (c.681G>A, rs4244285), *CYP2C19*3* (c.636G>A, rs4986893) e *CYP2C19*17* (c.-806C>T, rs12248560), correspondem a um produto de PCR com 168 par de bases (pb), 119 pb e 471 pb, respetivamente, indicando que a técnica foi realizada com sucesso. Importa referir, que as amostras não apresentaram indícios de contaminação, através da observação do perfil eletroforético de cada controlo negativo. A fraca intensidade das bandas, pode dever-se a uma reduzida concentração de DNA extraído, tal como ilustrado nas amostras 1 e 2 (A1 e A2) do *CYP2C19*2* e *CYP2C19*3*.

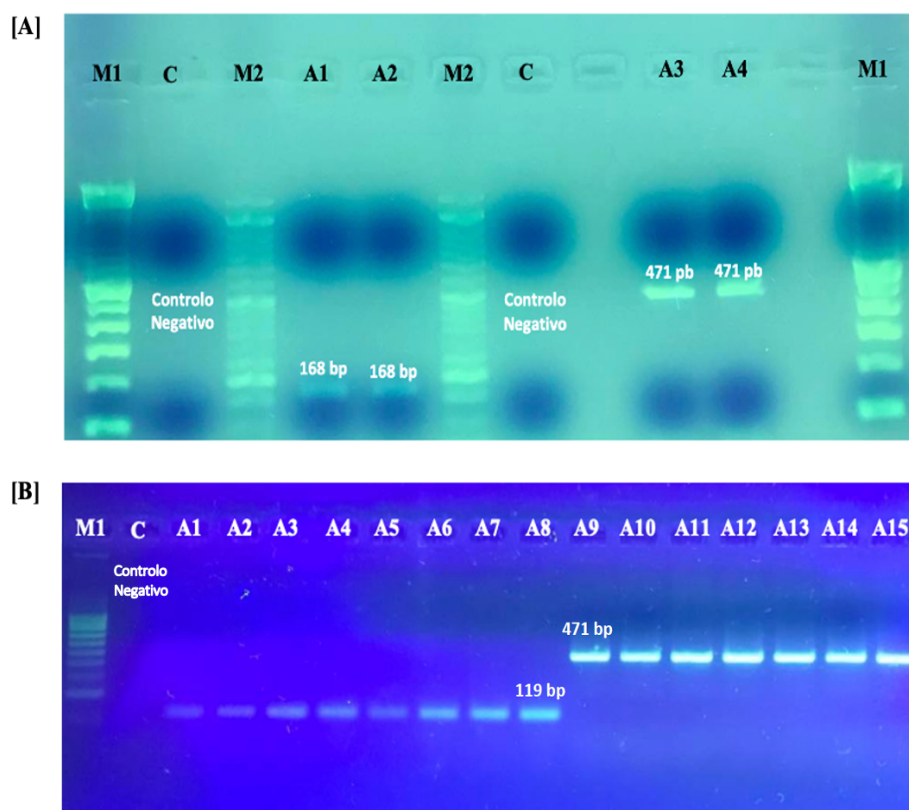


Figura 4.1. Reação em cadeia da polimerase *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17* na amostra em estudo. [A] Observa-se a amplificação de fragmentos com um tamanho de 168 pb e 471 pb para o *CYP2C19*2* (c.681G>A, rs4244285) e *CYP2C19*17* (c.-806C>T, rs12248560), respetivamente, e o controlo negativo (C); [B] Observa-se a amplificação de fragmentos com um tamanho de 119 pb e 471 pb para o *CYP2C19*3* (c.636G>A, rs4986893) e *CYP2C19*17*, respetivamente, e o controlo negativo (C). Marcador de peso molecular 100 bp DNA Ladder (M1) e NzyDNA Ladder VI (M2); pb - par de bases; Figura representativa do número total de amostras em estudo.

Após a reação de PCR, realizou-se somente a genotipagem dos polimorfismos *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17*, tal como mencionado na secção *Materiais e métodos*.

Na genotipagem do polimorfismo *CYP2C19**3 observaram-se somente doentes com o genótipo homozigótico *wild type* (*CYP2C19**1/*1, 636G/G, rs4986893) e o fenótipo de metabolizador normal (MN). No polimorfismo *CYP2C19**17 observaram-se doentes com o genótipo homozigótico *wild type* (*CYP2C19**1/*1, -806C/C, rs12248560), com o fenótipo de MN, assim como o genótipo heterozigótico (*CYP2C19**1/*17, -806C/T, rs12248560) com o fenótipo de metabolizador rápido (MR), como ilustrado na figura 4.2.

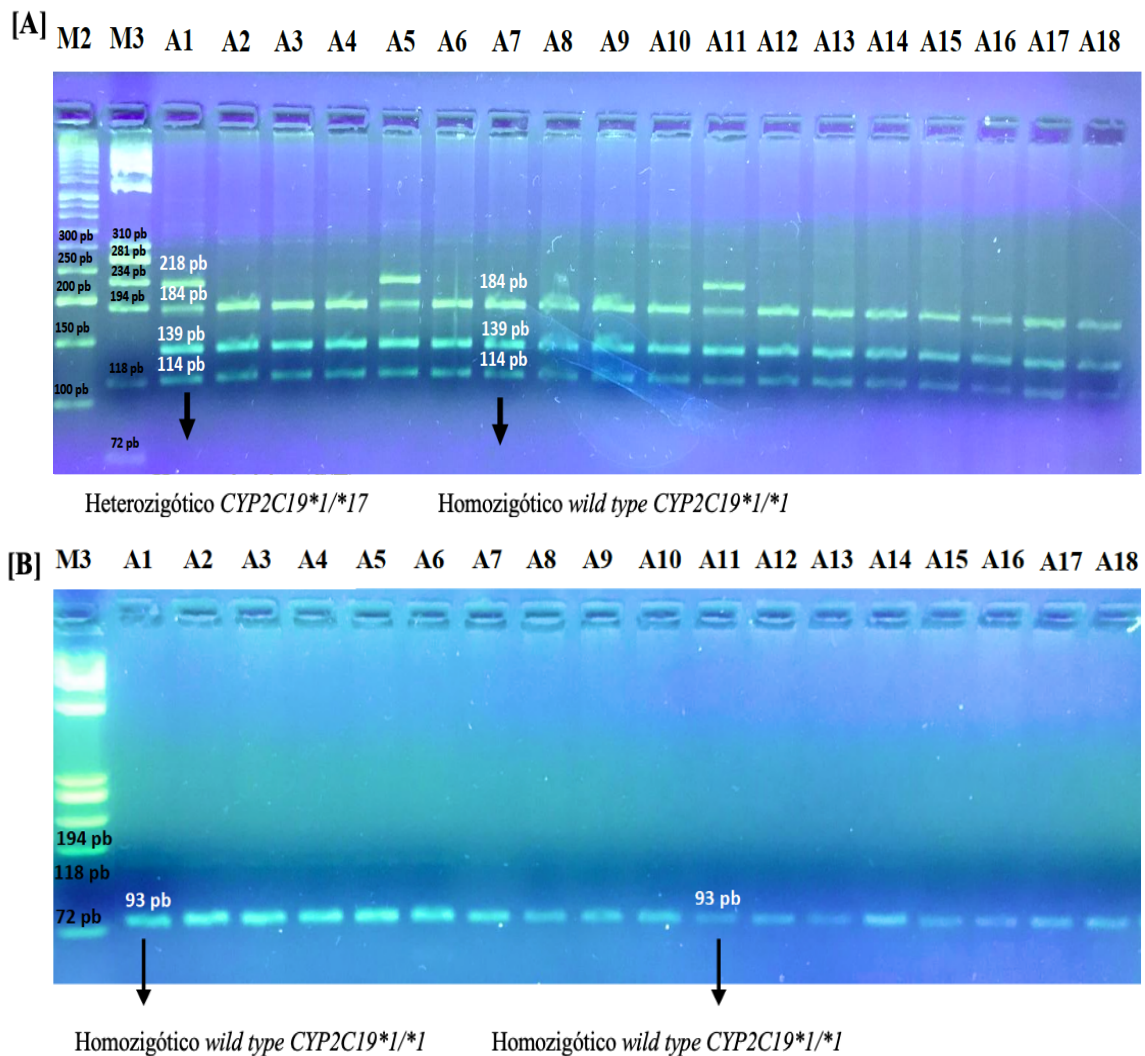


Figura 4.2. Genotipagem e análise dos polimorfismos *CYP2C193 e *CYP2C19**17 na amostra em estudo.** [A] No polimorfismo *CYP2C19**17 observa-se o genótipo homozigótico *wild type CYP2C19**1/*1 (-806C/C, 184 pb, 139 pb e 114 pb) e o genótipo heterozigótico *CYP2C19**1/*17 (-806C/T, 218 pb, 184 pb, 139 pb e 114 pb) e denota-se uma atividade enzimática elevada assim como o fenótipo de metabolizador rápido; [B] No polimorfismo *CYP2C19**3, observa-se somente o genótipo homozigótico *wild type CYP2C19**1/*1 (636G/G, 93 pb e 26 pb) e denota-se uma atividade enzimática normal assim como o fenótipo de metabolizador normal; Os fragmentos que apresentam um tamanho inferior a 50 pb não foram visualizados; Marcador de peso molecular NzyDNA Ladder VI (M2) e PhiX174 DNA-HaeIII Digest (M3); pb - par de bases; Figura representativa do total de amostras em estudo.

Após a técnica de genotipagem realizou-se a respetiva sequenciação para confirmar o resultado obtido após genotipagem, tal como ilustrado na figura 4.3.

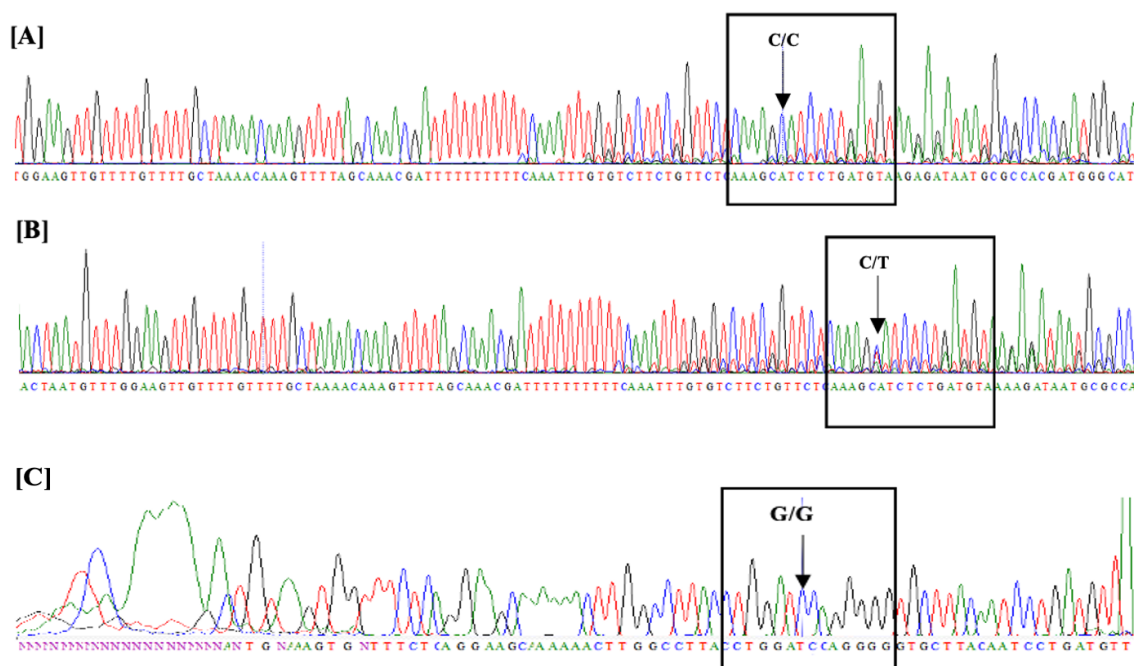


Figura 4.3. Cromatogramas de sequenciação de DNA. [A] *CYP2C19*17* homozigótico *wild type* (-806C/C, *CYP2C19*1/*1*); [B] *CYP2C19*17* heterozigótico (-806C/T, *CYP2C19*1/*17*); [C] *CYP2C19*3* homozigótico *wild type* (636G/G, *CYP2C19*1/*1*), com os respetivos primers *forward* e *reverse*.

O equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W) é um princípio que afirma que a variação genética, numa determinada população, permanecerá constante ao longo de gerações, na ausência de fatores evolutivos, prevê ainda que as frequências genotípicas e alélicas permanecem constantes e em equilíbrio (Salanti *et al.*, 2005).

Após a realização da análise estatística, observou-se que a amostra em estudo está em H-W ($p > 0,05$) para o polimorfismo *CYP2C19*3* (c.636G>A, rs4986893), tal pode dever-se ao facto de não existir um fator evolutivo, tais como mutações, seleção natural ou migração, que atuem na amostra em estudo, sendo que as frequências alélicas podem permanecer constantes ao longo de gerações para o polimorfismo *CYP2C19*3* (Salanti *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2017).

Importa salientar que os doentes, na amostra em estudo, apresentaram uma frequência genotípica de 100%, com um Intervalo de Confiança (IC) a 95% (87,02; 100), para o genótipo *CYP2C19*1/*1* (636G/G, rs4986893) e uma frequência alélica de 100%, com um IC a 95% (93,15; 100), para o alelo *CYP2C19*1* (636G), assim como o fenótipo de metabolizador normal (MN).

Na tabela 4.1 observam-se as frequências genotípicas para o polimorfismo *CYP2C19*17* (c.-806C>T, rs12248560) que, por sua vez, não se encontra em equilíbrio

de H-W ($p < 0.05$), podendo existir algum fator evolutivo ao longo de gerações que atue na amostra em estudo, assim como a seleção de alelos mais favoráveis, sem considerar as vantagens de cada genótipo e originando o desequilíbrio (Chen *et al.*, 2017). O presente estudo refere-se a um estudo piloto com uma amostra total de 33 doentes, sendo que o respetivo tamanho da amostra também pode influenciar o facto da amostra em estudo não se encontrar em equilíbrio de H-W para o polimorfismo *CYP2C19*17*.

Tabela 4.1. Distribuição das frequências genótípicas e alélicas do polimorfismo *CYP2C19*17* (c.-806C>T, rs12248560) obtidas na amostra em estudo (N=33 doentes). As respetivas frequências alélicas foram obtidas considerando o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W), com um Intervalo de Confiança (IC) a 95% e com base no teste do qui-quadrado (χ^2), o resultado obtido foi comparado com o resultado que seria esperado, para uma população em equilíbrio de H-W ($p > 0,05$); n: número de doentes; *wt* – *wild type*; N/A: Não Aplicável (Ensembl Project, 2020).

Alteração nucleotídica e referência <i>Ensembl Project</i>	Genótipo/ Alelo	n	Frequência (%)	IC a 95%	P-value
c.-806C>T rs12248560 <i>CYP2C19*17</i>	Homozigótico <i>wt</i> <i>CYP2C19*1/*1</i> (-806C/C)	14	42,42	(25,95; 60,61)	0,02
	Heterozigótico <i>CYP2C19*1/*17</i> (-806C/T)	19	57,58	(39,39; 74,05)	
	Homozigótico mutado <i>CYP2C19*17/*17</i> (-806T/T)	0	N/A	(0; 12,98)	
	<i>CYP2C19*1</i> (-806C)	47	71,21	(58,57; 81,36)	
	<i>CYP2C19*17</i> (-806T)	19	28,79	(18,64; 41,43)	

Na tabela 4.1 verifica-se que os genótipos *CYP2C19*1/*1* (-806C/C) e *CYP2C19*1/*17* (-806C/T), apresentam uma frequência genotípica de 42,42% e 57,58%, respetivamente, sendo que o genótipo *CYP2C19*17/*17* (-806C/C) está ausente na amostra em estudo. Importa realçar que 14 doentes apresentam o genótipo *CYP2C19*1/*1* (-806C/C) e o fenótipo de MN e 19 doentes apresentam o genótipo *CYP2C19*1/*17* (-806C/T) e o fenótipo de MR. Os alelos *CYP2C19*1* (-806C) e *CYP2C19*17* (-806T) apresentam uma frequência alélica de 71,21% e 28,79%, respetivamente.

Na tabela 4.2, observa-se a distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos *CYP2C19*17* e *CYP2C19*3*, na amostra em estudo, entre o sexo feminino e masculino.

Tabela 4.2. Distribuição das frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos *CYP2C19*3* (c.636G>A, rs4986893) e *CYP2C19*17* (c.-806C>T, rs12248560) obtidas na amostra em estudo (N=33 doentes) entre o sexo feminino e masculino. Os valores de *p<0,05 foram considerados significativos para a distribuição genotípica e alélica, entre o sexo masculino e feminino; n: número de doentes; *wt* – *wild type*; N/A: Não Aplicável na amostra em estudo (Ensembl Project, 2020).

Alteração nucleotídica e referência <i>Ensembl Project</i>	Genótipo/ Alelo	Masculino (n)	Frequência (%)	Feminino (n)	Frequência (%)	p-value
c.-806C>T rs12248560 <i>CYP2C19*17</i>	Homozigótico <i>wt</i> <i>CYP2C19*1/*1</i> (-806C/C)	4	12,12	10	30,30	0,67
	Heterozigótico <i>CYP2C19*1/*17</i> (-806C/T)	8	24,24	11	33,33	
	Homozigótico mutado <i>CYP2C19*17/*17</i> (-806T/T)	0	N/A	0	N/A	
	<i>CYP2C19*1</i> (-806C)	16	24,24	31	46,97	0,57
	<i>CYP2C19*17</i> (-806T)	8	12,12	11	16,67	
c.636G>A rs4986893 <i>CYP2C19*3</i>	Homozigótico <i>wt</i> <i>CYP2C19*1/*1</i> (636G/G)	12	36,36	21	63,64	0,12
	Heterozigótico <i>CYP2C19*1/*3</i> (636G/A)	0	N/A	0	N/A	
	Homozigótico mutado <i>CYP2C19*3/*3</i> (636A/A)	0	N/A	0	N/A	
	<i>CYP2C19*1</i> (636G)	24	36,36	42	63,64	0,027
	<i>CYP2C19*3</i> (636A)	0	N/A	0	N/A	

Através da tabela 4.2, pode-se realçar que não existem diferenças significativas nas frequências genotípicas entre o sexo feminino e masculino nos polimorfismos *CYP2C19*17* (c.-806C>T, rs12248560) e *CYP2C19*3* (c.636G>A, rs4986893). Importa ainda realçar que existem diferenças significativas nas frequências alélicas do *CYP2C19*3* entre o sexo feminino e masculino (*p<0.05), contudo o mesmo não se verifica para o *CYP2C19*17*.

As diferenças significativas registadas nas frequências alélicas do *CYP2C19*3*, entre o sexo feminino e masculino (*p<0.05), podem dever-se ao reduzido tamanho da amostra em estudo (N= 33 doentes) e ao facto de apenas ter sido encontrado o genótipo homozigótico *wild type* *CYP2C19*1/*1* (636G/G), mais resultados são necessários para determinar a relevância desta variante entre o sexo feminino e masculino.

O sexo feminino apresenta uma frequência genotípica de 30,30% para o genótipo homozigótico *wild type CYP2C19*1/*1* (-806C/C, rs12248560) e 33,33% para o genótipo heterozigótico *CYP2C19*1/*17* (-806C/T), enquanto que o sexo masculino apresenta as frequências genotípicas de 12,12% e 24,24% para os genótipos homozigótico *wild type CYP2C19*1/*1* (-806C/C) e heterozigótico *CYP2C19*1/*17* (-806C/T), respetivamente. Neste sentido, 33,33% dos doentes do sexo feminino e 24,24% dos doentes do sexo masculino apresentam o fenótipo de MR e um aumento da atividade enzimática.

A tabela 4.3 refere-se à distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos *CYP2C19*17* e *CYP2C19*3*, na amostra em estudo, considerando a etnia.

Tabela 4.3. Distribuição das frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos *CYP2C19*3* (c.636G>A, rs4986893) e *CYP2C19*17* (c-806C>T, rs12248560) obtidas na amostra em estudo (N=33 doentes) entre a etnia. Os valores de *p<0,05 foram considerados significativos para a distribuição genotípica e alélica, entre a etnia; n: número de doentes; *wt* – *wild type*; N/A: Não Aplicável na amostra em estudo (Ensembl Project, 2020).

Alteração nucleotídica e referência <i>Ensembl Project</i>	Genótipo/ Alelo	Caucasiano (n)	Frequência (%)	Negroide (n)	Frequência (%)	<i>p-value</i>
c-806C>T rs12248560 <i>CYP2C19*17</i>	Homozigótico <i>wt CYP2C19*1/*1</i> (-806C/C)	10	30,30	7	21,21	0,107
	Heterozigótico <i>CYP2C19*1/*17</i> (-806C/T)	4	12,12	12	36,36	
	Homozigótico mutado <i>CYP2C19*17/*17</i> (-806T/T)	0	N/A	0	N/A	
	<i>CYP2C19*1</i> (-806C)	27	40,91	20	30,30	0,213
	<i>CYP2C19*17</i> (-806T)	7	10,61	12	18,18	
c.636G>A rs4986893 <i>CYP2C19*3</i>	Homozigótico <i>wt CYP2C19*1/*1</i> (636G/G)	17	51,52	16	48,48	0,862
	Heterozigótico <i>CYP2C19*1/*3</i> (636G/A)	0	N/A	0	N/A	
	Homozigótico mutado <i>CYP2C19*3/*3</i> (636A/A)	0	N/A	0	N/A	
	<i>CYP2C19*1</i> (636G)	34	51,52	32	48,48	0,806
	<i>CYP2C19*3</i> (636A)	0	N/A	0	N/A	

Através da tabela 4.3, verifica-se que não existem diferenças significativas nas frequências alélicas e genótípicas entre a etnia, nos polimorfismos *CYP2C19*17* (c.-806C>T, rs12248560) e *CYP2C19*3* (c.636G>A, rs4986893) ($p>0.05$). Os doentes caucasianos apresentam uma frequência genotípica de 30,30% para o genótipo homozigótico *wild type CYP2C19*1/*1* (-806C/C, rs12248560) e 12,12% para o genótipo heterozigótico *CYP2C19*1/*17* (-806C/T), enquanto que os doentes com etnia negroide apresentam as frequências genótípicas de 21,21% e 36,36% para os genótipos homozigótico *wild type CYP2C19*1/*1* (-806C/C, rs12248560) e heterozigótico *CYP2C19*1/*17* (-806C/T, rs12248560), respetivamente. Neste sentido, 12,12% dos doentes caucasianos e 36,36% dos doentes com etnia negroide apresentam o fenótipo de MR e um aumento da atividade enzimática.

Segundo a base de dados *Ensembl Project* e *1000 genomes Project* a variante *CYP2C19*3* (636A, rs4986893) apresenta uma frequência alélica de cerca de 1%, a nível mundial e na Ásia Oriental uma frequência alélica de 6%, não sendo encontrado na população europeia, à semelhança da amostra em estudo. O alelo *CYP2C19*17* (-806T, rs12248560) apresenta uma frequência alélica, a nível mundial, de cerca de 15% e na Europa regista-se uma frequência alélica de 22%, à semelhança da amostra em estudo (28,79%) (International Genome Sample Resource, 2020; Ensembl Project, 2020), como ilustrado na figura 4.4.

O genótipo homozigótico mutado *CYP2C19*17*17* (-806T/T, rs12248560) não foi encontrado na amostra em estudo e está presente na população europeia (4%), podendo dever-se ao tamanho da amostra em estudo, estando associado ao fenótipo de metabolizador ultrarrápido (MUR). Contudo, o genótipo *CYP2C19*1/*17* (-806C/T, rs12248560), foi encontrado na população europeia (36%), assim como na amostra em estudo (57,58%) e o respetivo fenótipo de MR (International Genome Sample Resource, 2020; Ensembl Project, 2020).

A nível da frequência genotípica, obtida através das bases de dados *Ensembl Project* e *1000 genomes Project*, não foram encontrados os genótipos *CYP2C19*1/*3* e *CYP2C19*3/*3* na Europa, à semelhança dos resultados obtidos na amostra em estudo (International Genome Sample Resource, 2020; Ensembl Project, 2020). Por sua vez, a população da Ásia Meridional e Ásia Oriental registam o genótipo *CYP2C19*1/*3*, associado ao fenótipo de metabolizador intermédio (MI) e à diminuição da atividade enzimática, sendo fundamental monitorizar a terapêutica de fármacos metabolizados pela

CYP2C19, na população asiática, tal como os IBP e o clopidogrel (International Genome Sample Resource, 2020; Ensembl Project, 2020; Lima *et al.*, 2020; Rouby *et al.*, 2018).

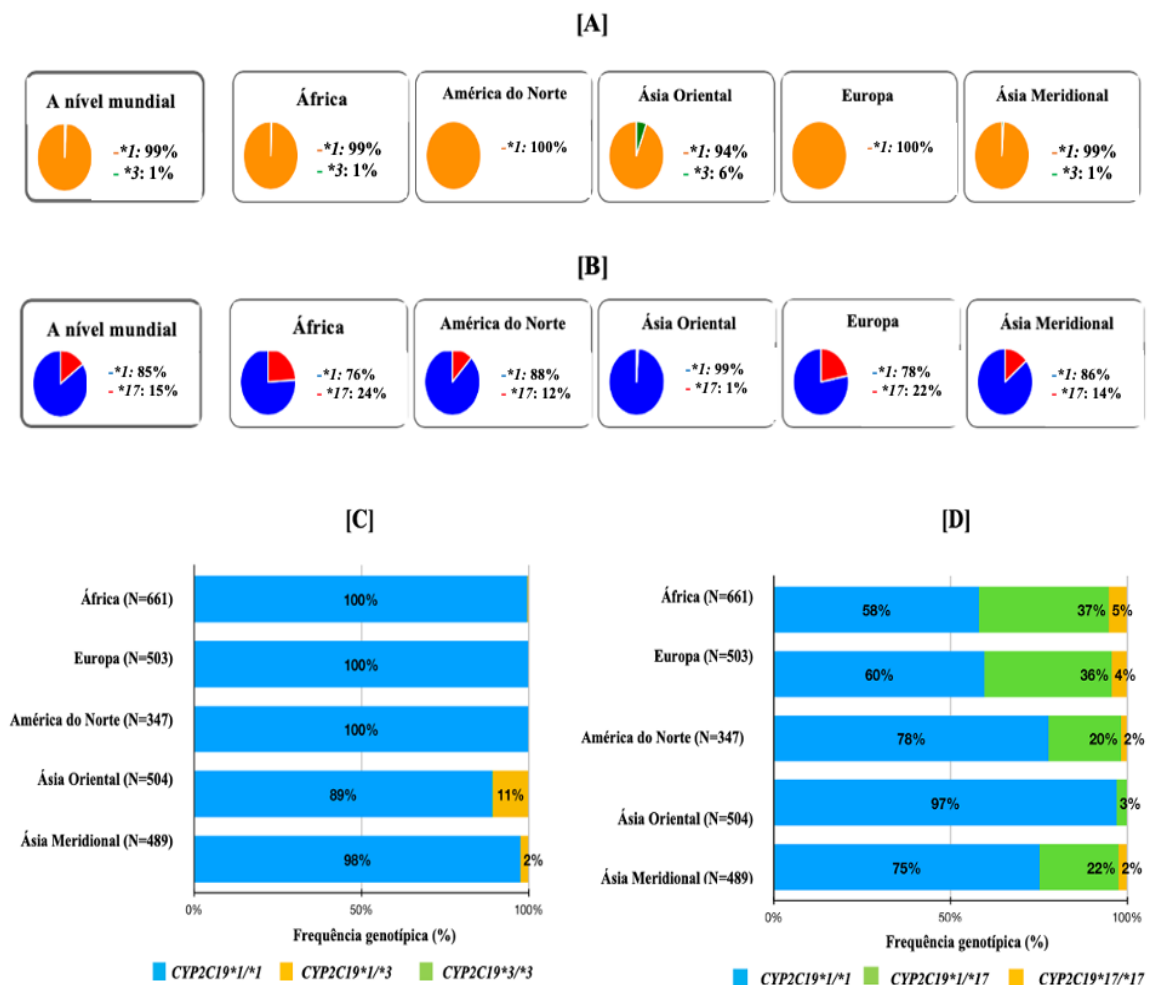


Figura 4.4. Frequências alélicas e genotípicas do *CYP2C19* obtidas através da base de dados *Ensembl Project* e *1000 genomes Project*. [A] Frequências alélicas *CYP2C19*1* (636G, rs4986893) e *CYP2C19*3* (636A); [B] Frequências alélicas *CYP2C19*1* (-806C, rs12248560) e *CYP2C19*17* (-806T); [C] Frequências genotípicas *CYP2C19*1/*1* (636G/G, rs4986893), *CYP2C19*1/*3* (636G/A), e *CYP2C19*3/*3* (636A/A); [D] Frequências genotípicas *CYP2C19*1/*1* (-806C/C, rs12248560), *CYP2C19*1/*17* (-806C/T) e *CYP2C19*17/*17* (-806T/T); América do Norte (México; mexicanos com ancestral em Los Angeles, Califórnia; Porto Rico), África (Quênia e República da Serra Leoa), Europa (residentes em Utah com ancestral no Norte e Leste da Europa; Finlândia; populações ibéricas em Espanha; Itália), Ásia Meridional (Bangladesh; Paquistão; Residentes em Houston e Reino Unido com ancestral na Índia) e Ásia Oriental (China; Japão; Vietname). A frequência do genótipo *CYP2C19*3/*3* foi inferior a 1%, na população supracitada; tamanho da amostra (N) (Adaptado de International Genome Sample Resource, 2020 e Ensembl Project, 2020).

Na tabela 4.4, os genótipos *CYP2C19*1/*3* (636G/A, rs4986893) e *CYP2C19*3/*3* (636A/A) foram encontrados na população da Grécia, Japão, Índia e Coreia do Sul, ao contrário dos resultados obtidos na amostra em estudo (Ragia *et al.*, 2009; Anichavezhi *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2010). Importa salientar, que existem reduzidos estudos documentados na literatura acerca da variabilidade interindividual na

população portuguesa. Todavia, Ruas e Lechter (1997), demonstraram que na população portuguesa o alelo *wild type CYP2C19*1* (636G, rs4986893) apresenta uma frequência alélica de 87% e o alelo *CYP2C19*3* (636A) não foi encontrado na população portuguesa, à semelhança da amostra em estudo.

Tabela 4.4. Comparação entre as frequências genótípicas *CYP2C19* obtidas na amostra em estudo e outras populações. *CYP2C19*1*1*, *CYP2C19*1*17*, *CYP2C19*17*17*, *CYP2C19*1*3* e *CYP2C19*3*3*; tamanho da amostra (N). N/A – Não Aplicável na população considerada.

População	N	Frequência genotípica <i>CYP2C19</i> (%)					Referência
		<i>*1*1</i>	<i>*1*17</i>	<i>*17*17</i>	<i>*1*3</i>	<i>*3*3</i>	
Portugal	33	42,42	57,58	N/A	N/A	N/A	Amostra em estudo
Grécia	283	44,17	28,6	3,2	17,8	2,1	Ragia <i>et al.</i> (2009)
Japão	165	35,5	1,1	N/A	43,8	18,8	Ragia <i>et al.</i> (2009)
Índia	206	16,1	20,7	1,2	31,0	18,4	Anichavezhi <i>et al.</i> (2017)
Coreia do Sul	150	35,7	1,1	N/A	10,7	1,1	Kim <i>et al.</i> (2010)

Na tabela 4.5, o alelo *CYP2C19*3* (636A, rs4986893) não foi registado na população da Noruega, Espanha, Alemanha, Irão e Suécia, à semelhança da amostra em estudo. Todavia, o Japão, a Índia e a Coreia do Sul, apresentam uma frequência alélica do *CYP2C19*3* correspondente a 12,8%, 6,0% e 10,1%, respetivamente. A nível do alelo *CYP2C19*17* (-806T, rs12248560), a frequência alélica registada na Alemanha (25,5%), Noruega (22,0%), Irão (21,7%) e Suécia (20,0%) é semelhante à frequência alélica encontrada na amostra em estudo (28,79%).

Tabela 4.5. Comparação entre as frequências alélicas do *CYP2C19* obtidas na amostra em estudo e outras populações. *CYP2C19*1*, *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17*. N/A – Não aplicável na população considerada; tamanho da amostra (N).

População	N	Frequência alélica (%)			Referência
		<i>CYP2C19*1</i>	<i>CYP2C19*3</i>	<i>CYP2C19*17</i>	
Portugal	33	71,21	N/A	28,79	Amostra em estudo
Japão	165	57,9	12,8	1,3	Sugimito <i>et al.</i> (2008)
Noruega	309	62,8	N/A	22,0	Pedersen <i>et al.</i> (2010)
Índia	206	42,0	6,0	17,9	Anichavezhi <i>et al.</i> (2017)
Espanha	346	75,0	N/A	10,0	Strom <i>et al.</i> (2012)
Coreia do Sul	150	60,0	10,1	1,5	Ramsjö <i>et al.</i> (2010)
Alemanha	186	59,3	N/A	25,5	Geisler <i>et al.</i> (2008)
Irão	180	65,3	N/A	21,7	Payan <i>et al.</i> (2015)
Suécia	185	64,0	N/A	20,0	Ramsjö <i>et al.</i> (2010)

Deste modo, o efeito do alelo LoF *CYP2C19**3 (636A, rs4986893) e do alelo *CYP2C19**17 (-806T, rs12248560) pode variar dependendo da população étnica. Na tabela 4.6 observa-se a frequência genotípica e fenotípica associada ao gene *CYP2C19*, considerando a respetiva população étnica, sendo que os indivíduos caucasianos e negroides apresentam uma frequência genotípica para o *CYP2C19**1/*17 (-806C/T, rs12248560) de 27% e 24% respetivamente, contudo na amostra em estudo os indivíduos caucasianos e negroides apresentam uma frequência genotípica para o *CYP2C19**1/*17 de 12,12% e 36,36%, respetivamente, assim como o fenótipo de MR.

Tabela 4.6. Comparação entre as frequências genotípicas e fenótipos de metabolização *CYP2C19* nas diferentes populações étnicas (Rouby *et al.*, 2018; PharmGKB, 2020).

<i>CYP2C19</i>		População étnica		
Genótipo	Fenótipo	Caucasianos	Negroides	Asiáticos
*17/*17	Metabolizador Ultrarrápido (MUR)	5%	4%	1%
*1/*17	Metabolizador Rápido (MR)	27%	24%	2-16%
*1/*1	Metabolizador Normal (MN)	42%	39%	23-45%
*1/*2, *1/*3, *2/*17	Metabolizador Intermédio (MI)	27%	32%	46-47%
*2/*2, *2/*3, *3/*3 e outros alelos LOF	Metabolizador Lento (ML)	3%	4%	12-15%

Segundo Shirasaka *et al.* (2015), os indivíduos do sexo masculino e feminino apresentam uma frequência para o genótipo *CYP2C19**1/*17 de 34% e 30%, respetivamente, à semelhança dos resultados obtidos na amostra em estudo, na qual os indivíduos do sexo masculino e feminino, apresentam uma frequência para o genótipo *CYP2C19**1/*17 de 33,33% e 24,24%, respetivamente.

Na figura 4.5, a frequência do fenótipo de MI é semelhante na população de África (29,1%), Médio Oriente (27,8%), Europa (23,0%) e Estados Unidos da América (EUA) (28,5%). No entanto, o fenótipo MI está bastante presente na população da Ásia Oriental (45,5%), assim como o fenótipo ML (12,2%) (Zhou, Ingelman-Sundberg, & Lauschke, 2017; Klein, Williams, Lee, & Stouffer, 2019).

Na Europa, o fenótipo de metabolizador rápido (MR) representa 26,2%, sendo que na amostra em estudo o fenótipo MR representa 57,58%, considerando o tamanho da

amostra em estudo (Zhou, Ingelman-Sundberg, & Lauschke, 2017; Klein, Williams, Lee, & Stouffer, 2019).

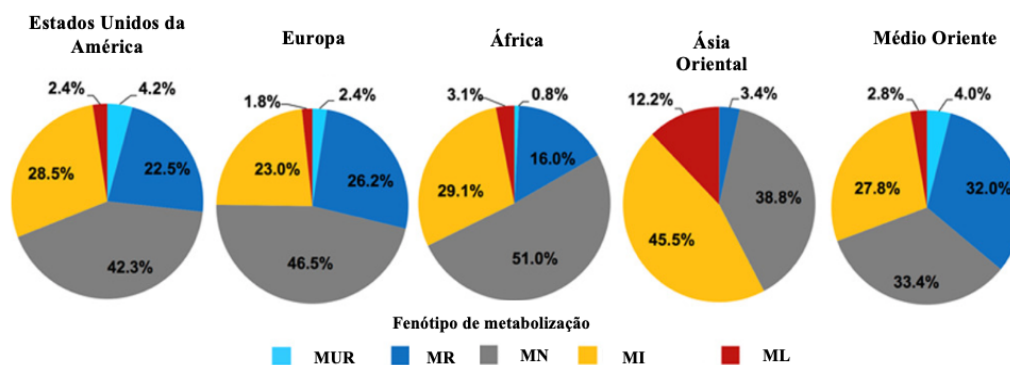


Figura 4.5. Frequência dos fenótipos de metabolização associados ao gene *CYP2C19*, por região geográfica. A amostra é composta por 52, 181 voluntários saudáveis. Considera-se a população dos Estados Unidos da América (EUA), Europa, África, Ásia Oriental e Médio Oriente, a nível do fenótipo de metabolizador ultrarrápido (MUR), metabolizador rápido (MR), metabolizador normal (MN), metabolizador intermédio (MI) e metabolizador lento (ML) (Adaptado de Klein, Williams, Lee, & Stouffer, 2019 e Fricke-Galindo *et al.*, 2016).

Como ilustrado no Anexo II, ao presente trabalho, os 19 doentes que na amostra em estudo apresentam o genótipo *CYP2C19**1/*17 (57,58%) caracterizam-se pelo fenótipo de MR, estando sujeitos à diminuição da concentração plasmática de IBP, em comparação com o fenótipo de MN, assim como ao aumento do risco de falha terapêutica, à persistência da sintomatologia e recidiva da doença (Lima *et al.*, 2020).

Nos doentes que apresentam o fenótipo de MR, deve-se iniciar a dose inicial recomendada do IBP e monitorizar a eficácia da terapêutica, no caso da erradicação do *H. pylori* deve-se aumentar a dose inicial instituída em 50-100% (Lima *et al.*, 2020). A respetiva recomendação terapêutica, por parte do CPIC, classifica-se como sendo moderada, para o OMZ, LNZ, PNZ e opcional para a terapêutica com o dexlansoprazol (Lima *et al.*, 2020). Segundo as recomendações terapêuticas do CPIC, os doentes que apresentam o genótipo *CYP2C19**1/*1 e o fenótipo de MN, apresentam ainda um risco acrescido para a falha da terapêutica com IBP, somente quando comparados com os fenótipos de MI e ML, sendo que 14 doentes na amostra em estudo apresentaram o genótipo *CYP2C19**1/*1 (-806C/C, rs12248560) (42,42%) (Lima *et al.*, 2020).

Os resultados obtidos na amostra em estudo sugerem que a terapêutica com IBP deve ser otimizada, considerando o fenótipo de metabolização associado ao gene *CYP2C19* que, por sua vez, origina o sucesso do regime terapêutico. Os doentes, na amostra em estudo, que apresentam o genótipo *CYP2C19**1/*17 foram referenciados para otimização da terapêutica com IBP, através de carta de opinião farmacêutica dirigida ao

respetivo médico assistente, considerando o respetivo genótipo do doente e a variabilidade na resposta à terapêutica com IBP (Anexo III).

4.2. Questionário de avaliação da terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões

Através da aplicação do questionário de avaliação da terapêutica com IBP, aos 33 doentes que participaram no presente estudo, verifica-se que 14 doentes (42,4%) apresentam uma faixa etária compreendida entre os 60 e os 89 anos e 19 doentes (57,6%) apresentam uma faixa etária compreendida entre os 21 e os 59 anos.

Segundo Silva & Oliveira (2016), os IBP mais utilizados em Portugal continental, no ano de 2016, foram o OMZ e o PNZ e, por sua vez, referem-se às substâncias ativas com o custo mensal de tratamento mais reduzido para o doente, enquanto que o RBZ apresenta o custo mais elevado.

Ao analisar a prescrição com IBP, observa-se que 24 doentes (72,7%) apresentam a renovação da terapêutica e 14 doentes (27,3%) a primeira prescrição com IBP. No que refere à distribuição de utilização, o Omeprazol (OMZ) representa 39,4%, seguindo-se o Esomeprazol (ESZ) (27,3%), Pantoprazol (PNZ) (15,1%), o Lansoprazol (LNZ) (12,1%) e o Rabeprazol (RBZ) (6,1%), como ilustrado na figura 4.6

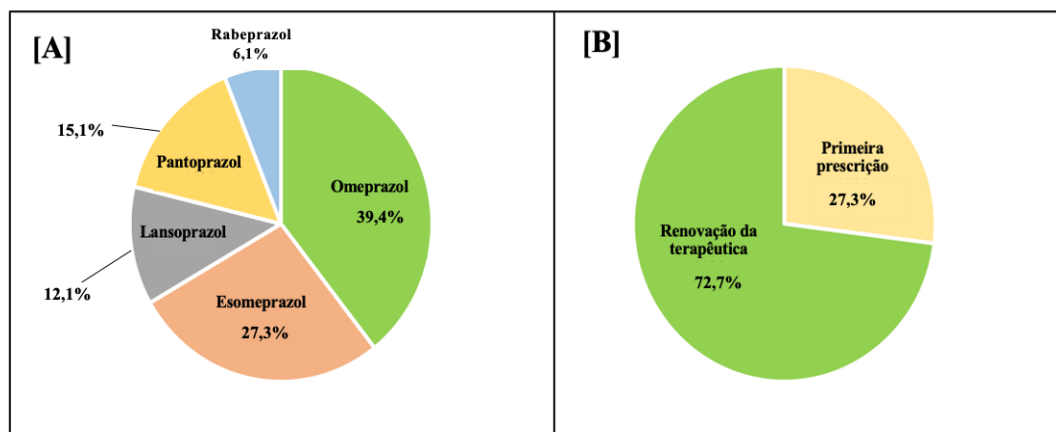


Figura 4.6. Utilização e prescrição de Inibidores da Bomba de Protões na amostra em estudo [A] tipo de IBP prescrito na amostra em estudo. [B] caracterização do tipo de prescrição com IBP em renovação da terapêutica e primeira prescrição.

Deste modo, a maioria da prescrição de IBP, na amostra em estudo, cumpre o critério que deve ser adotado na seleção de um IBP, ou seja, o seu custo, pois não existe evidência clínica de superioridade entre IBP em doses equivalentes e o uso do IBP que acarreta um custo mensal de tratamento mais elevado é uma exceção que deve ser fundamentada no processo clínico (DGS, 2011; Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, 2016).

Assumindo que a prescrição e que a utilização de IBP se mantém constante, caso uma em cada três prescrições fosse alterada para o OMZ existiria um potencial de poupança para o SNS de cerca de 3 milhões de euros (Silva & Oliveira, 2016). Importa salientar que no caso da Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo (ARSLVT), 25% da despesa com IBP corresponde a 10,5 milhões de euros (Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, 2016).

Na amostra em estudo, 24 doentes (72,7%) apresentam uma renovação da terapêutica com IBP, dos quais 23 doentes têm uma duração da terapêutica com IBP superior a 1 ano (95,8%) e somente 1 doente demonstra uma duração da terapêutica inferior ou igual a 1 ano (4,2%) contudo, não foram documentados quaisquer efeitos adversos da terapêutica com IBP a longo prazo, por parte da amostra em estudo.

Os principais fatores que impulsionam o mercado de IBP incluem o aumento da prevalência da Doença de Refluxo Gastro Esofágico (DRGE) e o crescente mercado de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) (National Institute of Health, 2017). O aumento da prevalência da DRGE impulsiona o mercado de produção e venda de IBP, sendo que se registou um aumento da prevalência da DRGE na Ásia Central (33%), América do Norte (27%), Europa (25%) e América do Sul (23%), em 2017 (National Institute of Health, 2017, Mordor Intelligence, 2020).

Deste modo, e considerando a indicação da terapêutica com IBP na amostra em estudo, 22 doentes (66,7%) realizam a terapêutica com indicação para a DRGE e 11 doentes (33,3%) com indicação para a úlcera gástrica, como ilustrado na figura 4.7.

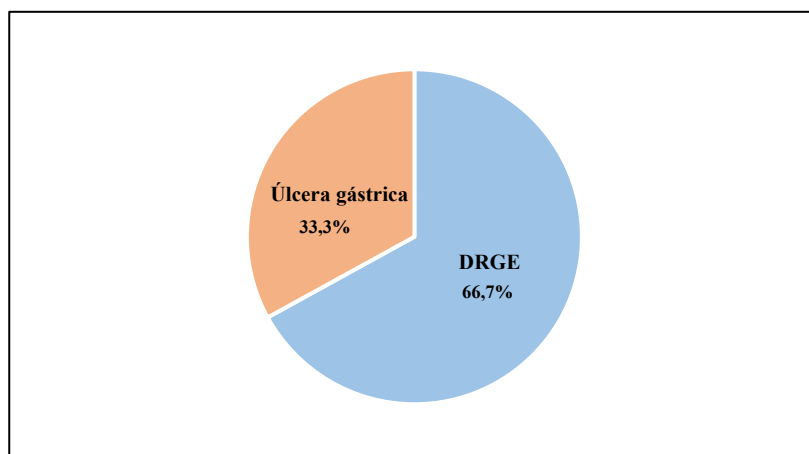


Figura 4.7. Indicação para a terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões na amostra em estudo. Na amostra em estudo foram apenas mencionadas as indicações da terapêutica com IBP para a DRGE e úlcera gástrica.

A DRGE e a úlcera gástrica representam duas indicações com demonstração inequívoca de evidência, autorizadas em Portugal, para a terapêutica com IBP (Anexo I; DGS, 2011; Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, 2016; Infarmed, 2017).

Na amostra em estudo, os doentes com indicação da terapêutica para a DRGE devem ser diferenciados, consoante o estadio de DRGE (esofagite erosiva, esófago de Barrett), a indicação da terapêutica de manutenção ou sintomática ou se a indicação da terapêutica se refere à esofagite de refluxo, sendo uma informação que não foi considerada no momento da recolha de dados. De seguida, deve-se reavaliar a terapêutica com IBP e ponderar acerca da descontinuação gradual, tal como mencionado na secção *Introdução*, considerando que 21 doentes apresentam uma duração da terapêutica superior ou igual a 1 ano (95,5%) e somente 1 doente apresenta uma duração da terapêutica inferior a 1 ano (4,5%) e com indicação terapêutica para a DRGE, na amostra em estudo.

Na DRGE, uma vez finalizado o tratamento inicial de 4-8 semanas a sintomatologia desaparece e deve-se considerar a descontinuação gradual da terapêutica e, porventura, suspender a terapêutica com IBP (DGS, 2011; DGS, 2017). Na recorrência dos sintomas, após a suspensão do IBP, a endoscopia deve ser prescrita nos doentes com idade superior a 50 anos, sem endoscopia prévia, incluindo a ausência de sinais de alarme (disfagia, perda de peso, anemia, dor torácica) devidamente fundamentada no processo clínico (DGS, 2017; Infarmed, 2017). No caso de existirem recorrências precoces e/ ou frequentes, deve-se instituir o esquema posológico de manutenção com a dose mínima eficaz ou um esquema de utilização *on demand* e, excecionalmente, nos doentes com estadios graves de DRGE (esofagite erosiva e esófago de Barrett), poderão ser utilizados esquemas posológicos continuados nas doses mais elevadas (DGS, 2017).

Na indicação da terapêutica com IBP para a úlcera gástrica, a duração da terapêutica deve ser limitada no tempo entre 4-8 semanas, à exceção da terapêutica com RBZ (6-12 semanas), contudo todos os doentes apresentam uma duração da terapêutica superior ou igual a 1 ano, na amostra em estudo. Deste modo, existe a necessidade de reavaliar a terapêutica com IBP nestes doentes e ponderar a realização de uma descontinuação gradual da terapêutica, sendo fundamental esclarecer se estes doentes estão a realizar a terapêutica com IBP em regime profilático e com uma duração indeterminada.

Existe apenas uma relação causal na ocorrência de úlcera gástrica e as suas complicações com AINEs e apenas estes dispõem de indicação autorizada em Resumo das Características do Medicamento (RCM) a gastroproteção com IBP na profilaxia ou toxicidade gastroduodenal induzida por AINEs (Infarmed, 2017; DGS, 2011). Todavia, esta indicação está condicionada aos doentes que realizam terapêutica com AINEs a longo prazo ou em doses elevadas e que apresentam um ou mais fatores de risco adicional para hemorragia (história prévia de úlcera gástrica, hemorragia gastrointestinal por perfuração, idade superior ou igual a 65 anos, uso simultâneo de anticoagulantes orais, corticosteroides ou terapêutica concomitante com AINEs) (Infarmed, 2017).

Embora a DRGE e a úlcera gástrica sejam duas indicações com demonstração inequívoca de evidência para a terapêutica com IBP e, por sua vez, autorizadas em Portugal e encontradas na amostra em estudo, Ribeiro *et al.*, (2014) realizou um estudo transversal prospetivo e observacional no serviço de medicina interna, no Hospital de São Bernardo em Setúbal, Portugal, e numa amostra de 343 doentes, 186 realizam a terapêutica com IBP em regime profilático, dos quais 74 doentes (39,8%) realizaram a terapêutica com IBP sem indicação terapêutica.

Na figura 4.8 é possível observar a dose diária, o IBP e a respetiva posologia, consoante a indicação terapêutica para DRGE ou úlcera gástrica, na amostra em estudo.

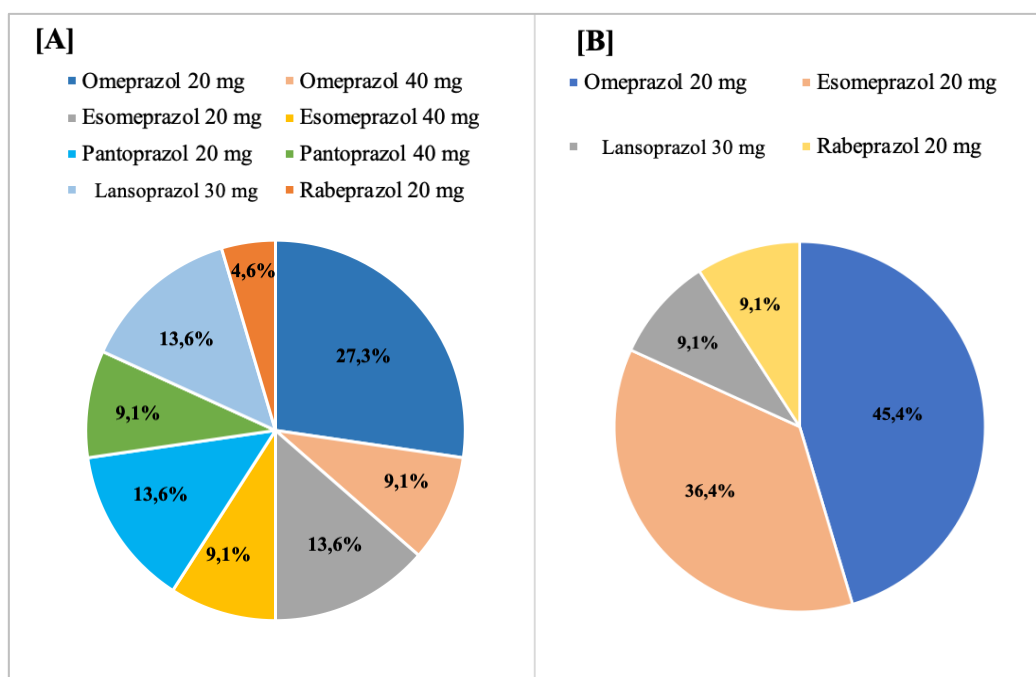


Figura 4.8. Indicação para a terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões e dose diária, na amostra em estudo. [A] Terapêutica com IBP na DRGE e dose diária. [B] Terapêutica com IBP na úlcera gástrica e dose diária. Todos os doentes documentaram o regime posológico de uma única toma diária.

A nível do regime posológico na DRGE (manutenção), considera-se a terapêutica com OMZ (10-40 mg/dia), LNZ (15-30 mg/dia), PNZ (20 mg/dia), ESZ (20 mg/dia) e RBZ (10-20 mg/dia) e uma duração da terapêutica indeterminada (Anexo I; DGS, 2011; Infarmed, 2017). Na terapêutica da DRGE (sintomática), considera-se a terapêutica com OMZ (10-20 mg/dia), LNZ (15-30 mg/dia), PNZ (20 mg/dia), ESZ (20 mg/dia) e RBZ (10 mg/dia) e uma duração da terapêutica igual a 4 semanas (Anexo I; DGS, 2011; DGS, 2017; Infarmed, 2017).

Os resultados obtidos na amostra em estudo, estão conforme os regimes posológicos autorizados em Portugal, para a terapêutica com IBP na DRGE (manutenção) à exceção da terapêutica com ESZ (40 mg/dia) e PNZ (40 mg/dia), assim como para a DRGE (sintomática) à exceção do OMZ (40 mg/dia), PNZ (40 mg/dia) e ESZ (40 mg/dia) (Anexo I, DGS, 2011; Infarmed, 2017). Todavia, é necessário diferenciar a indicação da terapêutica consoante o estadió de DRGE (tal como esofagite erosiva e esófago de Barrett), se diz respeito a uma indicação da terapêutica de manutenção ou sintomática ou ainda se a indicação se refere a esofagite de refluxo, tal como supracitado. O OMZ (20 mg/dia) apresenta uma distribuição de utilização igual a 27,3% para a DRGE, na amostra em estudo.

Relativamente à indicação da terapêutica com IBP para a úlcera gástrica, considera-se a terapêutica com OMZ (20-40 mg/dia), LNZ (30 mg/dia), PNZ (40-80 mg/dia), ESZ (40 mg/dia) e RBZ (20 mg/dia), assim como a duração da terapêutica de 4-8 semanas, à exceção da terapêutica com o RBZ (6-12 semanas) (Anexo I; DGS, 2011). Os resultados obtidos na amostra em estudo estão conforme os regimes posológicos autorizados em Portugal para a úlcera gástrica, à exceção da terapêutica com ESZ (20 mg/dia), sendo necessário esclarecer se o doente está a realizar um regime profilático, tal como suprarreferido (DGS, 2011; Infarmed, 2017). O OMZ (20 mg/dia) apresenta uma distribuição de utilização igual a 45,4% para a úlcera gástrica, na amostra em estudo.

Embora seja fundamental consultar as NOCs existentes, é imperativo considerar o perfil genético de cada doente, no ato da prescrição da terapêutica com IBP (Lima *et al.*, 2020). Neste sentido, o genótipo *CYP2C19*1/*17* tem vindo a ser associado à recidiva da DRGE, principalmente em doentes que apresentam esofagite (Lima *et al.*, 2020; Rouby *et al.*, 2018), sendo que na amostra em estudo um total de 19 doentes (57,58%) apresentam o genótipo *CYP2C19*1/*17* e o fenótipo de MR.

Na amostra em estudo, 13 doentes (59,1%) com indicação terapêutica para DRGE e 6 doentes (54,5%) com indicação terapêutica para a úlcera gástrica, apresentam o genótipo *CYP2C19**1/*17 e o fenótipo de MR, como ilustrado na figura 4.9

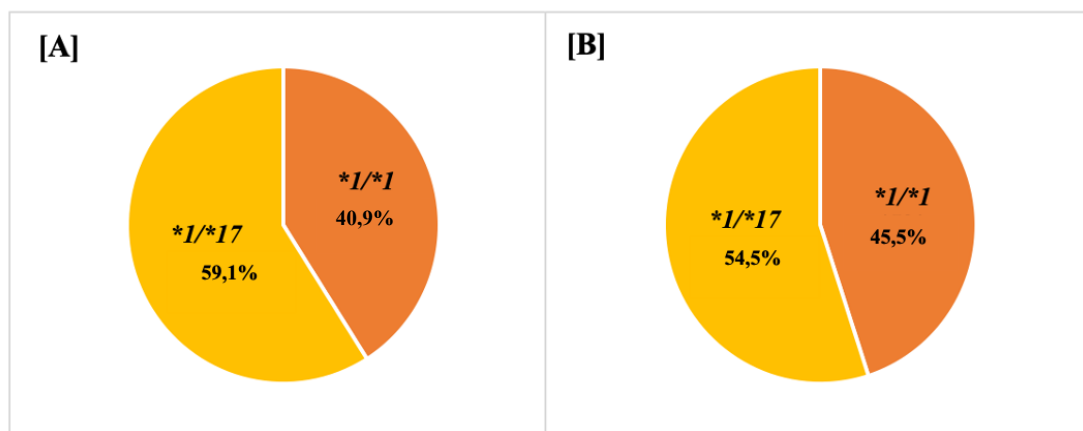


Figura 4.9. Influência do polimorfismo *CYP2C1917 na variabilidade da resposta à terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões na amostra em estudo.** [A] Frequência dos genótipos *CYP2C19**1/*1 e *CYP2C19**1/*17 na indicação terapêutica com IBP para a DRGE; [B] Frequência dos genótipos *CYP2C19**1/*1 e *CYP2C19**1/*17 na indicação terapêutica com IBP para a úlcera gástrica; O alelo *CYP2C19**3 não foi encontrado na amostra em estudo.

Na tabela 4.7, observa-se a variabilidade do *CYP2C19* associada à recidiva da DRGE, sendo que o fenótipo de MR, apresenta uma taxa de recidiva de 38,5%, quando comparado com os fenótipos de MI (10,9%) e ML (5,6%) (Saitoh *et al.*, 2009).

Tabela 4.7. Efeito da variabilidade do *CYP2C19* na terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões para a Doença do Refluxo Gastro Esofágico. Omeprazol: OMZ; Esomeprazol: ESZ; Pantoprazol: PNZ; Lansoprazol - LNZ; Rabeprazol - RBZ; ML - Metabolizador Lento; MR - Metabolizador Rápido; MI: Metabolizador Intermédio; MN - Metabolizador Normal; DRGE - Doença de Refluxo Gastro Esofágico; IBP - Inibidor da Bomba de Protões.

Estudo (Referência)	Amostra/ desenho do estudo; IBP	Efeito do genótipo <i>CYP2C19</i>	Outcomes da terapêutica
Saitoh <i>et al.</i> , 2009	<p>⇒ 99 doentes japoneses diagnosticados com DRGE;</p> <p>⇒ Fenótipo: MR= 26 doentes; MI= 55 doentes; ML= 18 doentes;</p> <p>⇒ Ensaio clínico randomizado e controlado;</p> <p>⇒ RBZ 10 mg; OMZ 20 mg; LNZ 15 mg (dose diária);</p>	<p>⇒ Taxas de recidiva de DRGE no fenótipo MR, MI e ML (38,5%, 10,9%, 5,6%);</p> <p>⇒ Taxas de recidiva de DRGE com OMZ, LNZ e RBZ (25%, 31% e 4%);</p>	<p>⇒ A variabilidade fenotípica associada ao <i>CYP2C19</i> afeta a recidiva da DRGE;</p> <p>⇒ Maior taxa de recidiva associada ao fenótipo MR (38,5%);</p> <p>⇒ A recidiva de DRGE é menos frequente na terapêutica com RBZ, independentemente do fenótipo;</p>

Os doentes com o fenótipo MR, apresentam um agravamento dos sintomas na DRGE, particularmente durante a noite, devido ao ritmo circadiano, e mesmo com um regime posológico de duas tomas diárias, tal não é suficiente para inibir a secreção ácida

gástrica, existindo também o agravamento da sintomatologia, associada à úlcera duodenal e úlcera gástrica (Lima *et al.*, 2020; Rouby *et al.*, 2018; Saitoh *et al.*, 2009; Denisenko *et al.*, 2017).

Na amostra em estudo, foi também possível caracterizar possíveis interações medicamentosas através da aplicação do questionário de avaliação, na amostra em estudo. Neste sentido, os doentes realizam terapêutica concomitante com imunomoduladores (tacrolímus, micofenolato de mofetil, sirolímus), ansiolíticos, sedativos e hipnóticos (diazepam, alprazolam), anti-hipertensores (hidroclorotiazida, amlodipina, valsartan), antivitaminicos K (varfarina), antidepressores (amitriptilina), antiagregantes plaquetários (clopidogrel, ácido acetilsalicílico) (INFOMED, 2020; FNM, 2020). Assim como, derivados do ácido propiónico (ibuprofeno, cetoprofeno, naproxeno), antidiislipidémicos (fenofibrato e atorvastatina), antiarrítmicos que prolongam a fase de repolarização (classe III), tal como a amiodarona, antiepiléticos e anticonvulsionantes (pregabalina e carbamazepina), hormonas da tiroide e antitiroideus (levotiroxina) e digitálicos (digoxina) (INFOMED, 2020; FNM, 2020), tal como ilustrado na figura 4.10.

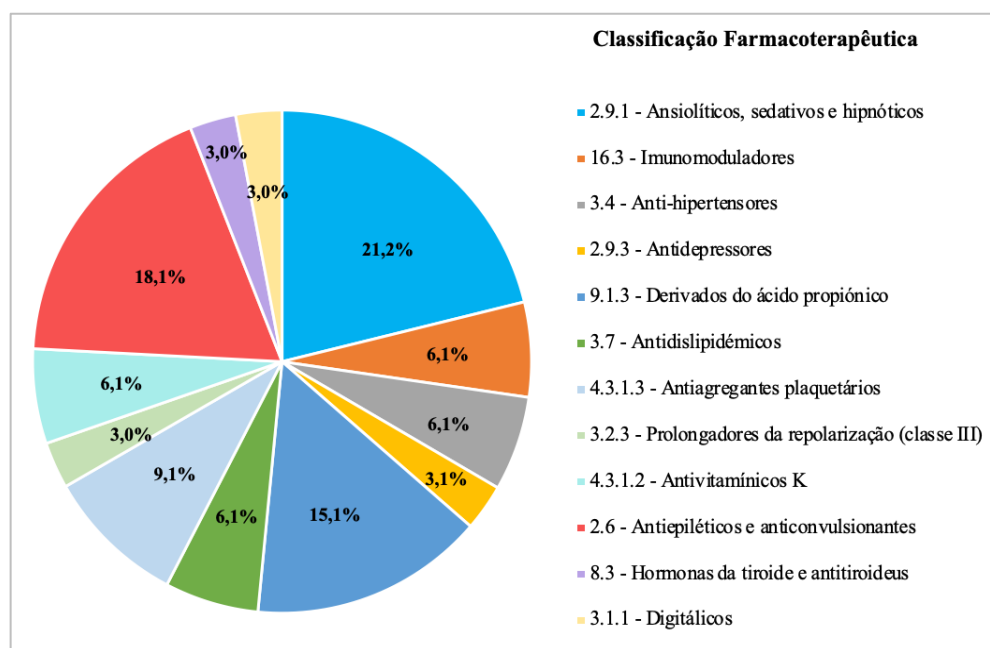


Figura 4.10. Terapêutica concomitante entre os IBP e outras classes farmacoterapêuticas na amostra em estudo. A classificação farmacoterapêutica foi realizada de acordo com a Base de Dados de Medicamentos de Uso Humano (INFOMED) e o Formulário Nacional de Medicamentos (FNM) (INFOMED, 2020; FNM, 2020).

Os principais mecanismos, através dos quais os IBP, geralmente, causam uma interação medicamentosa indesejada referem-se ao aumento do pH gástrico e à inibição do metabolismo de primeira passagem (Wedemeyer *et al.*, 2014; Atkins *et al.*, 2013).

O OMZ diminui o efeito terapêutico da levotiroxina, devido ao aumento do pH gástrico e aumenta a concentração plasmática da digoxina, devendo-se prestar especial atenção a episódios de toxicidade e considerar alternativas terapêuticas, nos doentes da amostra em estudo que realizam este tipo de terapêutica (Medscape, 2020). A terapêutica com OMZ tem sido associada à redução da *clearance* em 20-26% do diazepam, alprazolam e carbamazepina e à redução do efeito antiagregante plaquetário do clopidogrel, assim como à ocorrência de eventos cardiovasculares (Drewelow *et al.*, 2010; Frelinger *et al.*, 2012; Rocha *et al.*, 2010).

A interação com o clopidogrel tem sido bastante documentada, na terapêutica concomitante com os IBP, dado que os IBP inibem a atividade da CYP2C19, reduzindo o efeito antiplaquetário do clopidogrel, um pró-fármaco metabolizado parcialmente pela CYP2C19, antes de se tornar biologicamente ativo na prevenção de eventos aterotrombóticos, estando a variante *CYP2C19*17* associada a episódios trombóticos (Cardoso *et al.*, 2015). Neste sentido, a associação do clopidogrel com o OMZ tem demonstrado taxas de eventos cardiovasculares significativas, sendo o mais prudente limitar a terapêutica concomitante com clopidogrel e OMZ, nos doentes em que seja estritamente necessário (Frelinger *et al.*, 2012).

O LNZ pode diminuir a *clearance* do tacrolímus, contudo é necessário obter um perfil de interação farmacocinético mais detalhado acerca do LNZ (Blume *et al.*, 2006; Wedemeyer *et al.*, 2014; Itagaki *et al.*, 2004).

Wedemeyer *et al.* (2014), demonstrou ainda um aumento do efeito anticoagulante da varfarina, após o uso concomitante de OMZ. A terapêutica concomitante com ESZ e varfarina é associada ao aumento do efeito anticoagulante da varfarina. Portanto, os doentes que realizam terapêutica com o ESZ e OMZ devem ser monitorizados quanto à razão normalizada internacional ou *International Normalized Ratio* (INR) e o tempo de protrombina (Blume *et al.*, 2006; Drewelow *et al.*, 2010; Andersson *et al.*, 2001; Angiolillo *et al.*, 2011).

Os diuréticos tiazídicos representam uma classe farmacoterapêutica suscetível de causar hipomagnesémia, quando concomitante com a terapêutica com IBP, a longo prazo, devendo os níveis de magnésio ser monitorizados antes e durante a instituição da terapêutica com IBP, nos doentes que realizem este tipo de terapêutica, na amostra em estudo (Furlanetto & Faulhaber, 2011).

O PNZ apresenta um potencial de interação reduzido, em comparação com os

restantes IBP, neste sentido é uma alternativa terapêutica a considerar, nos doentes que necessitem de realizar a terapêutica com IBP a longo prazo, e que realizem terapêutica concomitante com outros fármacos, na amostra em estudo (Blume *et al.*, 2006; Wedemeyer *et al.*, 2014; Angiolillo *et al.*, 2011).

Em geral, o LNZ, PNZ e o RBZ apresentam um potencial de interação reduzido, em comparação com o OMZ e o ESZ (Wedemeyer *et al.*, 2014). Contudo, todos os IBP são igualmente eficazes nas doses recomendadas e a tendência de provocar uma interação medicamentosa significativa, deve ser considerada na amostra em estudo (Blume *et al.*, 2006).

4.3. Avaliação da implementação de um serviço de Farmacogenética na farmácia comunitária portuguesa

Segundo Boster *et al.* (2020), os doentes que não apresentam uma indicação terapêutica para IBP ou um regime posológico adequado devem ser submetidos a uma intervenção, que consiste em contactar o respetivo médico assistente, para discutir os riscos e benefícios da terapêutica com IBP a longo prazo, assim como as alternativas terapêuticas. A dose de IBP deve ser diminuída em 50% a cada semana, até atingir a dose mínima efetiva, reavaliando periodicamente a necessidade da terapêutica, e esta abordagem deve ser considerada nos doentes, na amostra em estudo, que não demonstrem um regime posológico adequado ou indicação para a terapêutica com IBP (Boster *et al.*, 2020).

Neste sentido e de acordo com os resultados obtidos na amostra em estudo, definiu-se um procedimento para contribuir para a implementação da Farmacogenética na farmácia comunitária portuguesa, no sentido de caracterizar a variabilidade interindividual da amostra em estudo, na resposta à terapêutica com IBP, evitar interações medicamentosas e efeitos adversos na terapêutica com IBP a longo prazo.

Procedeu-se à avaliação da implementação de um modelo de intervenção farmacêutica, no âmbito da Farmacogenética, e para tal contabilizou-se o tempo despendido nas diversas etapas da realização do presente trabalho de investigação. Após serem definidos os recursos necessários para a realização do presente trabalho de investigação, selecionou-se as variantes genéticas mais relevantes para a amostra em estudo e para caracterizar a variabilidade da resposta à terapêutica com IBP (*CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17*). Posteriormente, procedeu-se à recolha da amostra e à

entrevista ao doente para recolha de dados através do questionário de avaliação e à interpretação do resultado do teste farmacogenético.

A tabela 4.8 realça todas as etapas implícitas na realização do presente trabalho de investigação, assim como o tempo despendido e estimado em cada etapa.

Tabela 4.8. Avaliação da implementação da Farmacogenética na farmácia comunitária. Contabilização do tempo estimado e despendido nas diversas etapas da realização do presente trabalho de investigação. O tempo estimado é apresentado por doente. A farmácia comunitária deve testar somente as variações implícitas na resposta à terapêutica, numa fase inicial onde existem escassos recursos.

Etapa do trabalho de investigação	Tempo despendido estimado	Tempo total despendido estimado
Convite à participação, na explicação do estudo e na recolha do consentimento informado	5 minutos	Aproximadamente 3 dias
Recolha da amostra	5 minutos	
Entrevista ao doente, recolha de dados e aplicação do questionário de avaliação	10 minutos	
Realização do teste farmacogenético	48 horas	
Estudo das alternativas terapêuticas para a otimização da terapêutica com IBP, segundo as orientações pré-definidas (se aplicável)	15 minutos	
Redação da carta de opinião farmacêutica (se aplicável)	15 minutos	

A abordagem adotada no presente estudo, permitiu otimizar os resultados em saúde através da individualização da terapêutica com IBP, consoante o perfil genético de cada doente, uma vez que foi documentado o alelo *CYP2C19*17* e o genótipo *CYP2C19*1/*17* na amostra em estudo, assim como o fenótipo de MR e é imperativo otimizar a terapêutica com IBP nestes doentes, através de carta de opinião farmacêutica (Anexo III).

A carta de opinião farmacêutica redigida considerou o genótipo e fenótipo do doente, assim como a terapêutica atual com IBP para a futura otimização da terapêutica. Importa salientar, que é de elevada relevância a realização de estudos adicionais, no âmbito da variabilidade do gene *CYP2C19* na população portuguesa, adotando a metodologia do presente estudo piloto, no sentido de caracterizar a variabilidade na resposta à terapêutica com IBP na população portuguesa e contribuir para a implementação da Farmacogenética na prática clínica.

5. Conclusão

No presente estudo caracterizou-se o genótipo e fenótipo dos doentes a realizar terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões (IBP), no que diz respeito às variantes *CYP2C19**1, *2, *3 e *17, evidenciando a variabilidade associada ao gene *CYP2C19* na resposta à terapêutica com IBP, na população portuguesa. Contribui para o aumento da adesão por parte do doente à terapêutica com IBP, o uso racional e a redução dos encargos do SNS, considerando o uso crescente de IBP em Portugal, nos últimos anos. Providencia ainda novos resultados acerca da variabilidade interindividual da população portuguesa na resposta à terapêutica com IBP, assim como um potencial contributo para a implementação da Farmacogenética na prática clínica, nomeadamente na farmácia comunitária portuguesa.

Considerando a frequência genotípica para o genótipo heterozigótico *CYP2C19**1/17 (-806C/T, rs12248560) (57,58%) foi fundamental otimizar a terapêutica dos 19 doentes, na amostra em estudo, que apresentaram o respetivo genótipo e o fenótipo de metabolizador rápido (MR), evitando a falha da terapêutica e a recidiva da doença, através de otimização da terapêutica por carta de opinião farmacêutica. Na amostra em estudo, 13 doentes (59,1%) com indicação terapêutica para DRGE e 6 doentes (54,5%) com indicação terapêutica para a úlcera gástrica, apresentam o genótipo *CYP2C19**1/*17 e o fenótipo de MR.

O farmacêutico comunitário tem um envolvimento crucial e uma estreita relação com o doente e, perante os resultados do teste farmacogenético, pode sugerir a otimização da terapêutica ao médico assistente. Assume ainda um papel fundamental na implementação da Farmacogenética na prática clínica, uma vez que é um profissional de saúde com conhecimentos de base importantes para a compreensão desta área, devendo especializar-se e instruir os restantes profissionais de saúde.

A área emergente da Farmacogenética na prática clínica é uma promessa para a melhoria de cuidados de saúde primários, disponibilizando a informação ao médico assistente acerca do IBP certo, na dose certa e ao doente certo, prevenindo os respetivos efeitos adversos associados à terapêutica a longo prazo. Importa salientar, que é necessário a realização de mais estudos acerca da variabilidade interindividual na resposta à terapêutica com IBP, na população portuguesa.

6. Bibliografia

- Adams, M. S., *et al.* (2018). Clinical pharmacogenomics applications in nephrology. *Clin J Am Soc Nephrol*, 13, 1561-1571.
- Adeoye, O. A., *et al.* (2019). Medication therapy management delivery by community pharmacists: insights from a national sample of Medicare Part D beneficiaries. *JACCP*, 2(4), 373–382.
- Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo. (2016). Boletim terapêutico nº 1/2016. Disponível em https://www.arslvt.min-saude.pt/uploads/document/file/2518/Boletim_IBP_Jan2016.pdf. Acedido a 06 de maio de 2020.
- American Society of Health-system Pharmacists. (2015). ASHP statement on the pharmacist's role in clinical pharmacogenomics. *Am J Health-Syst Pharm*, 72, 579-581.
- Andersson T., *et al.* (2001). Drug interaction studies with esomeprazole, the (S)-isomer of omeprazole. *Clin Pharmacokinet*, 40(7), 523–537.
- Angiolillo, D. J., *et al.* (2011). Differential effects of omeprazole and pantoprazole on the pharmacodynamics and pharmacokinetics of clopidogrel in healthy subjects: randomized, placebo-controlled, crossover comparison studies. *Clin Pharmacol Ther*, 89(1), 65-74.
- Anichavezhi, D., *et al.* (2017). Distribution of CYP2C19*17 allele and genotype in an Indian population. *J Clin Pharm Ther*, 37(3), 313-8.
- Antoniou, T., *et al.* (2015). Proton pump inhibitors and the risk of acute kidney injury in older patients: a population-based cohort study. *CMAJ Open*, 3(2), 166–171.
- Arguelles, A. F., *et al.* (2016). Proton-pump inhibitors adverse effects are view of the evidence and position statement by the Sociedad Española de Patología Digestiva. *Rev Esp Enferm Dig*, 108(4), 207–224.
- Arwood, M. J., *et al.* (2016). Implementing pharmacogenomics at your institution: establishment and overcoming implementation challenges. *Clinical and Translational Science*, 9(5), 233–245.
- Atkins, M. A., *et al.* (2013). Proton pump inhibitors: their misuse, overuse, and abuse. *IOSR Journal of Pharmacy*, 3(2), 25-29.
- Atkinson, N. S., Reynolds, D. J., & Travis, S. P. (2015). ‘Lemonade Legs’: why do some patients get profound hypomagnesaemia on proton-pump inhibitors?. *Intestinal Research*, 13(3), 227–232.

- Bacci, J. L., *et al.* (2019). Community pharmacist patient care services: a systematic review of approaches used for implementation and evaluation. *JACCP*, 2(4), 423–432.
- Baldwin, M. R., *et al.* (2008). Increase omeprazole metabolism in carriers of the CYP2C29*17 allele: a pharmacokinetics study in health volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 65(5), 767-774.
- Bern, E. J. J., *et al.* (2016). Economic evaluations of pharmacogenetic and pharmacogenomic screening tests: a systematic review. *PLOS ONE*, 11(1), 1–22.
- BioLabs. (2020a). Ladders and markers. Disponível em <https://www.biobios.io>. Acedido a 10 de janeiro de 2020.
- BioLabs. (2020b). Restriction enzymes catalog. Disponível em <https://www.neb.com/search#q=restriction&t=-%7BBBD3F1B0F-DB56-4EF7-AC3E-FEAA9BDC74A4%7D-0&sort=relevancy>. Acedido a 04 de junho de 2020.
- Blume, F., *et al.* (2006). Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors. *Drug Safety*, 29, 769-780.
- Boster, J., *et al.* (2020). Reducing the inappropriate use of proton pump inhibitors in an internal medicine residency clinic. *The Cureus Journal of Medical Science*, 12(1), 1–6.
- Brito, M. A. (2015). A farmacogenética e a medicina personalizada. *Saúde & Tecnologia*, 14, 5-10.
- Brockmüller, J., & Tzvetkov, M. V. (2008). Pharmacogenetics: data, concepts and tools to improve drug discovery and drug treatment. *Eur J Clin Pharmacol*, 64(2), 133-57.
- Bruno, G., *et al.* (2019). Proton pump inhibitors and dysbiosis: current knowledge and aspects to be clarified. *World Journal of Gastroenterology*, 25(22), 2706-2719.
- Cardoso, N. R., *et al.* (2015). Incidence of cardiovascular events and gastrointestinal bleeding in patients receiving clopidogrel with and without proton pump inhibitors: an updated meta-analysis. *British Cardiovascular Society*, 2(1), 1-12.
- Carpenter, J. S., *et al.* (2016). Pharmacogenomically actionable medications in a safety net health care system. *SAGE Open Medicine*, 4, 1-8.
- Casciaro, M., *et al.* (2019). PPIs adverse drugs reactions: a retrospective study. *Clinical and Molecular Allergy*, 17(1), 1-5.
- Chen, J., Lian, J. J., Zeng, X. Q., & Luo, T. C. (2013). Pharmacodynamic impacts of

- proton pump inhibitors on the efficacy of clopidogrel in vivo: A systematic review. *Clinical Cardiology*, 36(4), 184–189.
- Chen, B., *et al.* (2017). Departure from Hardy Weinberg Equilibrium and genotyping error. *Frontiers in Genetics*, 8(167), 1-6.
- Choudhry, U. *et al.*, (1998). Proton pump inhibitor-associated gastric polyps: a retrospective analysis of their frequency and endoscopic, histologic, and ultrastructural characteristics. *American Society of Clinical Pathologists*, 110, 615-621.
- Decreto-Lei n.º 48-A/2010 de 13 de Maio. (2010). Ministério da Saúde. Disponível em <https://dre.pt/application/conteudo/227779>. Acedido a 24 de junho de 2019.
- Dehbozorgi, M., *et al.* (2018). Prevalence of the CYP2C19*2 (681 G>A), *3 (636 G>A) and *17 (-806 C>T) alleles among an Iranian population of different ethnicities. *Molecular Medicine Reports*, 17(3), 4195–4202.
- Denisenko, P. N., *et al.* (2017). Urine metabolic ration of omeprazole in relation to CYP2C19 polymorphisms in Russia peptic ulcer patients. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 10, 253-259.
- Deshpande, N., *et al.* (2016). Rapid and ultra-rapid metabolizers with CYP2C19*17 polymorphism do not respond to standard therapy with proton pump inhibitors. *Meta Gene*, 1, 159-164.
- DGS. (2011). Supressão ácida: utilização dos inibidores da bomba de protões e das suas alternativas terapêuticas. Norma n.º 036/2011. Disponível em <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0362011-de-30092011-jpg.aspx>. Acedido a 10 de maio de 2020.
- DGS. (2017). Diagnóstico e tratamento da doença de refluxo gastro esofágico no adulto. Norma n.º 019/2017. Disponível em <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0192017-de-11092017-pdf.aspx>. Acedido a 17 de abril de 2020.
- Dong, O. M., & Wiltshire, T. (2017). Advancing precision medicine in healthcare: addressing implementation challenges to increase pharmacogenetic testing in the clinical setting. *Physiological Genomics*, 49(7), 346–354.
- Drewelow, B., *et al.* (2010). Effects of multiple-dose esomeprazole and pantoprazole on diazepam pharmacokinetic profile and pharmacodynamic effects on cognitive and psychomotor function in healthy volunteers. *Arzneimittelforschung Drug Research*, 60(8), 483–491.

- Ensembl Project. (2020). CYP2C19 gene. Disponível em https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000165841;r=10:94762681-94855547. Acedido a 10 de junho de 2020.
- Eom, C. S., *et al.* (2011). Use of acid-suppressive drugs and risk of pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Canadian Medical Association Journal*, 183(3), 310–319.
- Eusebi, L., *et al.* (2017). Proton pump inhibitors: risks of long-term use. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 32(7), 1295-1302.
- Eyal, A., *et al.* (2014). From hypomagnesaemia to Zollinger-Ellison syndrome: an adverse effect of a proton pump inhibitor. *BMJ case reports*, 1, 1-4.
- Ferreri, P. S., *et al.* (2020). Medication therapy management: current challenges. *Integr Pharm Res Pract*, 9, 71-81.
- Filion, K. B., *et al.* (2014). Proton pump inhibitors and the risk of hospitalisation for community acquired pneumonia: replicated cohort studies with meta-analysis. *Gut and liver*, 63(4), 552–558.
- Fitzgerald, G., *et al.* (2019). Processes and barriers to implementation of point-of-care genotype-guided dosing of warfarin into UK outpatient anticoagulation clinics. *Pharmacogenomics*, 20(8), 599-608.
- FNM. (2020). Formulário Nacional de Medicamentos. Disponível em <https://extranet.infarmed.pt/fnm-fo/#/>. Acedido a 10 de julho de 2020.
- Frelinger, A. L., *et al.* (2012). A randomized, 2-period, crossover design study to assess the effects of dexlansoprazole, lansoprazole, esomeprazole, and omeprazole on the steady-state pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel in healthy volunteers. *J Am Coll Cardiol*, 59(14), 1304-1311.
- Fricke-Galindo, I., *et al.* (2016). Interethnic variation of CYP2C19 alleles, “predicted” phenotypes and “measured” metabolic phenotypes across world populations. *Pharmacogenomics Journal*, 16(2), 113–123.
- Furlanetto, T. W., & Faulhaber, G. A. (2011). Hypomagnesemia and proton pump inhibitors: below the tip of the iceberg. *Arch Intern Med*, 171(15), 1391–1392.
- Furuta, T., *et al.* (2007). Pharmacogenomics-based tailored versus standard therapeutic regimen for eradication of *H. pylori*. *Clin Pharmacol Ther*, 81(4), 521-528.
- Garcia, B. F., *et al.* (2018). Anaphylaxis due to proton pump inhibitors: current understanding and important clinical considerations. *Expert Review of Clinical*

Immunology, 1744, 1-4.

- Gawrońska, S. *et al.* (2012). CYP2C19 polymorphism affects single-dose pharmacokinetics of oral pantoprazole in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol*, 68, 1267–1274.
- Geisler, T., *et al.* (2008). CYP2C19 and nongenetic factors predict poor responsiveness to clopidogrel loading dose after coronary stent implantation. *Pharmacogenomics*, 9(9), 1251-1259.
- Giri, J., *et al.* (2019). Concepts driving pharmacogenomics implementation into everyday healthcare. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 12, 305-318.
- Haga, B. S. (2016). Challenges of development and implementation of point of care pharmacogenetic testing. *Expert Rev Mol Diagn*, 16(9), 949-960.
- Hagymási, K., *et al.* (2011). Update on the pharmacogenomics of proton pump inhibitors. *Pharmacogenomics*, 12, 873–888.
- Human Genome Variation Society (2020). Sequence Variation Nomenclature. Disponível em <http://varnomen.hgvs.org>. Acedido a 10 de maio de 2020.
- Infarmed. (2017). Recomendações terapêuticas nº3/março 2017. Disponível em <https://www.infarmed.pt/documents/15786/1909769/Inibidores+da+Bomba+de+Pr+otões/fe44c351-515c-4ab4-a437-689f2f8c1aae>. Acedido a 10 de março de 2019.
- INFOMED. (2020). Base de dados de medicamentos de uso humano. Disponível em <http://app7.infarmed.pt/INFOMED.html>. Acedido a 15 de abril de 2020.
- International Genome Sample Resource. (2020). 1000 genomes project: a deep catalog of human genetic variation. Disponível em <https://www.internationalgenome.org>. Acedido a 10 de março de 2020.
- Islam, M. M., *et al.* (2018). Adverse outcomes of long-term use of proton pump inhibitors: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 30(12), 1395-1405.
- Islam, S. R., *et al.* (2013). Gastric polyps: a review of clinical endoscopic, and histopathologic features and management decisions. *Gastroenterol Hepatol*, 9(10), 640-651.
- Itagaki F., *et al.* (2004). Effect of lansoprazole and rabeprazole on tacrolimus pharmacokinetics in healthy volunteers with CYP2C19 mutations. *J Pharm Pharmacol*, 56(8), 1055–1059.
- Jaynes, M., & Kumar, A. B. (2018). The risks of long-term use of proton pump inhibitors: a critical review. *Therapeutic Advances in Drug Safety*, 14, 1–13.

- Jo, Y., *et al.* (2015). A proton pump inhibitor's effect on bone metabolism mediated by osteoclast action in old age: a prospective randomized study. *Gut and liver*, 9(5), 607–614.
- Johnson, D. A., *et al.* (2017). The safety of appropriate use of over-the-counter proton pump inhibitors: an evidence-based review and delphi consensus. *Drugs*, 77(5), 547–561.
- Katz, P. O., Scheiman, J. M., & Barkun, A. N. (2006). Acid-related disease: what are the unmet clinical needs?. *Aliment Pharmacol Ther*, 23(2), 9–22.
- Katz, P. O., *et al.* (2013). Guidelines for the diagnosis and management of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol*, 108, 308–328.
- Khalifa, M. (2014). Clinical decision support: strategies for success. *Procedia Computer Science*, 37, 422-427.
- Kim, K. A., *et al.* (2010). Assessment of CYP2C19 genetic polymorphisms in a Korean population using a simultaneous multiplex pyrosequencing method to simultaneously detect the CYP2C19*2, CYP2C19*3, and CYP2C19*17 alleles. *J Clin Pharm Ther*, 35(6), 697–703.
- Klassen, S., *et al.* (2013). Pantoprazole induced acute interstitial nephritis. *CMAJ*, 185(1), 56–59.
- Klein, D. M., Williams, K. A., Lee, R. C., & Stouffer, A. G. (2019). Clinical utility of CYP2C19 genotyping to guide antiplatelet therapy in patients with an acute coronary syndrome or undergoing percutaneous coronary intervention. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 39(4), 647-652.
- Klotz, U., Schwab, M., & Treiber, G. (2004). CYP2C19 polymorphism and proton pump inhibitors. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 95(1), 2–8.
- Kourse, M. C., *et al.* (2011). Discontinuation of proton pump inhibitors during assessment of chromogranin, levels in patients with neuroendocrine tumours. *British Journal of Cancer*, 105(8), 1173-1175.
- Kudzma, E. C., & Carey, E. T. (2009). Pharmacogenomics: personalizing drug therapy. *American Journal of Nursing*, 109, 50-57.
- Kuo, C. H., *et al.* (2014). CYP2C19 polymorphism influences Helicobacter pylori eradication. *World Journal of Gastroenterology*, 20(43), 16029-16036.
- Kurzawski, M., *et al.* (2006). Effect of CYP2C19*17 gene variant on Helicobacter pylori eradication in peptic ulcer patients. *European Journal of Clinical Pharmacology*,

- 62(10), 877–880.
- Lam, J. R., *et al.* (2013). Proton Pump Inhibitor and Histamine 2 Receptor Antagonist Use and Vitamin B12 Deficiency. *JAMA*, 22, 2435–2442.
- Lee, C. M., *et al.* (2011). Evaluation of a CYP2C19 genotype panel on the GenMark eSensor[®] platform and the comparison to the Autogenomics Infiniti[™] and Luminex CYP2C19 panels. *Clin Chim Acta*, 412(12), 1133-1137.
- León-Cachón, R. B. R., Ascacio-Martínez, J. A., & Barrera-Saldaña, H. A. (2012). Individual response to drug therapy: Bases and study approaches. *Revista de Investigacion Clinica*, 64(4), 364–376.
- Leon, J., *et al.* (2006). The Amplichip CYP450 genotyping test: integrating a new clinical tool. *Mol Diagn Ther*, 10(3), 135-150.
- Lima, J. J., *et al.* (2020). Clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) guideline for CYP2C19 and proton pump inhibitor dosing. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 1, 1-7.
- Lyman, A. J., *et al.* (2010). Clinical decision support: progress and opportunities. *J Am Med Inform Assoc.*, 17(5), 487-492.
- Malfertheiner, P., *et al.* (2017). Proton pump inhibitors: understanding the complications and risks. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14, 697-710.
- Mckinnon, R. A., *et al.* (2007). A critical analysis of barriers to the clinical implementation of pharmacogenomics. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 3(5), 751-759.
- Medscape. (2020). Drug interaction. Disponível em <https://reference.medscape.com/drug-interactionchecker>. Acedido a 14 de abril de 2020.
- Mordor Intelligence (2020). Proton pump inhibitors market - forecasts (2020-2025). Disponível em <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/proton-pump-inhibitors-market>. Acedido a 10 de setembro de 2020.
- Mukerjee, G., *et al.* (2018). User considerations in assessing pharmacogenomic tests and their clinical support tools. *Genomic Medicine*, 3(26), 1-9.
- National Institute of Health. (2017). Acid reflux (GER & GERD) in adults. Disponível em <https://www.niddk.nih.gov/health-information/digestive-diseases/acid-reflux-ger-gerd-adults>. Acedido a 19 de setembro de 2020.
- Nehra, K. A., *et al.* (2018). Proton pump inhibitors: review of emerging concerns. *Mayo Clinic Proc*, 93(2), 240-246.

- NICE. (2020). Gastro-esophageal reflux and dyspepsia in adults: investigation and management, guidance and guidelines. Disponível em <https://www.nice.org.uk/guidance/cg184>]. Acedido a 09 de maio de 2020.
- NZYTech. (2020a). NZYTaQ II 2x green master mix handbook. Disponível em <https://www.nzytech.com/products-services/molecular-biology/end-point-pcr/pcr-master-mixes/mb358/>. Acedido a 15 de março de 2020.
- NZYTech. (2020b). Ladders and markers. Disponível em <https://www.nzytech.com>. Acedido a 02 de maio de 2020.
- NZYTech. (2020c). NZYGelpure handbook. Disponível em <https://www.nzytech.com/products-services/molecular-biology/dnarnapurification/nucleic-acids-clean-up/dna-clean-up/mb011/>. Acedido a 10 de outubro de 2020.
- Ogielska, M., *et al.* (2015). Emergence of community acquired *Clostridium difficile* infection: the experience of a french hospital and review of the literature. *Int J Infect Dis*, 37, 36–41.
- Osakidetza. (2016). Inibidores de la Bomba de Protones: Recomendaciones. Disponível em https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/publicaciones_informes_estudio/es_pub/adjuntos/Inhibidores_de_la_Bomba_de_Protones_Recomendaciones_mayo_2016.pdf. Acedido a 03 de março de 2019.
- Park, C. H., *et al.* (2014). The association between the use of proton pump inhibitors and the risk of hypomagnesemia: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 9(11), 1-8.
- Payan, M., *et al.* (2015). Genotype and allele frequency of CYP2C19*17 in a healthy Iranian population. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, 29, 1-8.
- Pedersen, R. S., *et al.* (2010). Linkage disequilibrium between the CYP2C19*17 allele and wide type CYP2C8 and CYP2C9 alleles: identification of CYP2C haplotypes in healthy Nordic population. *Eur J Clin Pharmacol*, 66, 1199-1205.
- PharmGKB. (2020). CYP2C19 gene. Disponível em <https://www.pharmgkb.org/gene/PA124>. Acedido a 18 de março de 2020.
- Portaria n.º 312-A/2010 de 11 de Junho, 2010. (2010). Ministério da economia, da inovação e do desenvolvimento e da saúde, 1ª série, nº112. Disponível em <https://dre.pt/application/conteudo/207801>. Acedido a 18 de maio de 2020.

- Praga, M., Sevillano, A., Aunon, P., & Gonzalez, E. (2015). Changes in the etiology, clinical presentation and management of acute interstitial nephritis, an increasingly common cause of acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant*, 30(9), 1472–1479.
- Pratt, M. V., *et al.* (2018). Recommendations for clinical *CYP2C19* genotyping allele selection: a report of the association for molecular pathology. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 20(3), 269-276.
- Preissner, C. S., *et al.* (2013). Polymorphic cytochrome P450 enzymes (CYPs) and their role in personalized therapy. *Plos One*, 8(12), 1-12.
- QIAGEN. (2020). QIAamp DNA investigator handbook. Disponível em <https://www.qiagen.com/pt/resources/resourcedetail?id=26ef8f2c-7c2a-49e6-b2d2-39d4e130b3cc&lang=en>. Acedido a 10 de fevereiro de 2020.
- Ragia, G., *et al.* (2009). Need for reassessment of reported *CYP2C19* allele frequencies in various populations in view of *CYP2C19*17* discovery: the case of Greece. *Pharmacogenomics*, 10(1), 43-49.
- Ram, R. M., *et al.* (2019). Polymorphisms in the host *CYP2C19* gene and antibiotic-resistance attributes of *Helicobacter pylori* isolates influence the outcome of triple therapy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(1), 11–16.
- Ramsjö, M., *et al.* (2010). *CYP2C19* activity comparison between Swedish and Koreans: effect of genotype, sex, oral contraceptive use and smoking. *Eur J Clin Pharmacol*, 66(9), 871-877.
- Ravishankar, R. M., *et al.* (2019). Polymorphisms in the host *CYP2C19* gene and antibiotic-resistance attributes of *Helicobacter pylori* isolates influence the outcome of triple therapy. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 74, 11-16.
- Ribeiro, S., *et al.* (2014). Uso inapropriado de inibidores da bomba de prótons num serviço de medicina interna. *Jornal Português de Gastrenterologia*, 21(1), 9-14.
- Rocha, A., *et al.* (2010). Omeprazole preferentially inhibits the metabolism of (+)-(S)-citalopram in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol*, 70(1), 43-51.
- Roncato, R., *et al.* (2019). FARMAPRICE: A Pharmacogenetic clinical decision support system for precise and cost-effective therapy. *Genes*, 4(10), 1-13.
- Rouby, E. R., *et al.* (2018). Proton pump inhibitors: from *CYP2C19* pharmacogenetics to precision medicine. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 14(4), 447-460.
- Ruas, L. J., & Lechter, C. M. (1997). Allele frequency of *CYP2C19* in a portuguese population. *Pharmacogenetics*, 7, 333-335.

- Sachs, G, Shin, J. M., & Howden, C. W. (2006). Review article: the clinical pharmacology of proton pump inhibitors. *Aliment Pharmacol Ther*, 23(2), 2–8.
- Saito, Y., *et al.* (2015). First-line eradication for Helicobacter pylori-positive gastritis by esomeprazole-based triple therapy is influenced by CYP2C19 genotype. *World Journal of Gastroenterology*, 21(48), 13548–13554.
- Saitoh, T., *et al.* (2009). Influences of CYP2C19 polymorphism on recurrence of reflux esophagitis during proton pump inhibitor maintenance therapy. *Hepatogastroenterology*, 56, 703–706.
- Salari, P., & Larijani, B. (2017). Ethical issues surrounding personalized medicine: a literature review. *Acta Med Iran*, 55(3), 209–217.
- Salanti, G., *et al.* (2005). Hardy-Weinberg equilibrium in genetic association studies: an empirical evaluation of reporting, deviations and power. *European Journal of Human Genetics*, 13, 840-848.
- Samer, C. F., *et al.* (2013). Applications of CYP450 testing in the clinical setting. *Molecular Diagnosis and Therapy*, 17(3), 165–184.
- Scott *et al.*, (2011). Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for cytochrome P450-2C19 (CYP2C19) genotype and clopidogrel therapy. *Clin Pharmacol Ther*, 90, 328–332.
- Scott, A. S., *et al.* (2012). PharmGKB summary: very important pharmacogene information for cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 19. *Pharmacogenetics and Genomics*, 22(2), 159-165.
- Sedda, G., *et al.* (2019). Challenges and innovations in personalized medicine care. *Future Oncology*, 15(29), 3305-3308.
- Shalia, K. K., *et al.*, (2013). Polymorphisms of MDR1, CYP2C19 and P2Y12 genes in Indian population: effects on clopidogrel response. *Indian Heart Journal*, 65(2), 158–167.
- Shin, J. M., & Sachs, G. (2008). Pharmacology of proton pump inhibitors. *Curr Gastroenterol Rep*, 10, 528–534.
- Shirasaka, Y., *et al.* (2015). Interindividual variability of CYP2C19-catalyzed drug metabolism due to differences in gene diplotypes and cytochrome P450 oxidoreductase content. *The Pharmacogenomics Journal*, 1, 1-13.
- Silva, A., & Oliveira, R. (2016). Utilização de inibidores da bomba de prótons em Portugal. Disponível em

- <https://www.infarmed.pt/documents/15786/2219894/Utiliza%C3%A7%C3%A3o+de+Inibidores+da+Bomba+de+Prot%C3%B5es+em+Portugal/20ad6172-c678-476d-a259-636ccf8c8706>. Acedido a 14 de outubro de 2019.
- Sim, S. C., *et al.* (2006). A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 79, 103-113.
- Smith, M. G., *et al.* (2017). Implementing an integrated care management program in community pharmacies: a focus on medication management services. *J Am Pharm Assoc*, 57(2), 229–235.
- Snyder, M. E., *et al.* (2018). Variation in medication therapy management delivery: implications for health care policy. *J Manag Care Spec Pharm*, 24(9), 896–902.
- Strom, C. M., *et al.* (2012). Testing for variant in CYP2C19: population frequencies and testing experience in clinical laboratory. *Genet Med*, 14(1), 95-100.
- Sugimoto, K., *et al.* (2008). Limited frequency of the CYP2C19*17 allele and its minor role in a Japanese population. *Br J Clin Pharmacol*, 65(3), 437–9.
- Sutton, T. R., *et al.* (2020). An overview of clinical decision support systems: benefits, risks, and strategies for success. *Nature*, 3(17), 1-10.
- The Human Cytochrome P450 Allele Nomenclature Database (2020). CYP2C19. Disponível em <https://www.pharmvar.org/htdocs/archive/cyp2c19.htm>. Acedido a 10 de maio de 2020.
- UpToDate. (2020). Proton Pump Inhibitors: Overview of use adverse effects in the treatment of acid related disorders. Disponível em [[https://www.uptodate.com/contents/proton-pump-inhibitors-overview-of-use-and-adverse-effects-in-the-treatment-of-acid-related-disorders?csi=fc4dec4f-44a5-473c-8765b62c3cd182cf&source=contente Share](https://www.uptodate.com/contents/proton-pump-inhibitors-overview-of-use-and-adverse-effects-in-the-treatment-of-acid-related-disorders?csi=fc4dec4f-44a5-473c-8765b62c3cd182cf&source=contente+Share)]. Acedido a 10 de setembro de 2020.
- Verbelen, M., *et al.*, (2017). Cost-effectiveness of pharmacogenetic-guided treatment: are we there yet?. *The Pharmacogenomics Journal*, 17, 1–8.
- Wedemeyer, S. R., *et al.* (2014). Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors: an update. *Drug safe*, 37, 201-211.
- Yang, F., *et al.* (2004). Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2C19 in health Malasian subjects. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 58(3), 332-335.
- Yang, Y. L., *et al.* (2006). Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. *JAMA*, 296(24), 2947–53.

- Yu, L. Y., *et al.* (2017). A Review of the novel application and potential adverse effects of proton pump inhibitors. *Advances in Therapy*, 34(5), 1070–1086.
- Zanger, U. M., *et al.*, (2008). Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Anal Bioanal Chem*, 392(6), 1093-1108.
- Zhou, C., *et al.* (2008). Clinical pharmacogenetics and potential application in personalized medicine. *Curr Drug Metab*, 9(8), 738-84.
- Zhou, Y., Ingelman-Sundberg, M., & Lauschke, V. M. (2017). Worldwide distribution of cytochrome P450 alleles: a meta-analysis of population-scale sequencing projects. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 102(4), 688–700.

Anexo I – Indicações terapêuticas e esquemas posológicos para os Inibidores da Bomba de Protões em Portugal.

Tabela I.1. Indicações terapêuticas e esquemas posológicos para os Inibidores da Bomba de Protões em Portugal. Indicações com demonstração inequívoca de evidência, autorizadas em Portugal para os IBP, assim como o respetivo regime posológico e a duração da terapêutica (DGS, 2011; Infarmed, 2017; Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, 2016).

Indicação terapêutica		Inibidor da Bomba de Protões				
		Omeprazol	Lansoprazol	Pantoprazol	Esomeprazol	Rabeprazol
Úlcera Duodenal e Úlcera Gástrica	Dose	20-40mg/dia	30mg/dia	40-80mg/dia	40mg/dia	20mg/dia
	Duração	Úlcera duodenal: 2-4 semanas Úlcera gástrica: 4-8 semanas			Úlcera duodenal: 4 semanas Úlcera gástrica: 4-8 semanas	Úlcera duodenal: 4-8 semanas Úlcera gástrica: 6-12 semanas
Esofagite de Refluxo	Dose	20-40mg/dia	30mg/dia	20-80mg/dia	40mg/dia	20mg/dia
	Duração	4-8 semanas				
DRGE (manutenção)	Dose	10-40mg/dia	15-30mg/dia	20mg/dia	20mg/dia	10-20mg/dia
	Duração	Indeterminado				
DRGE (sintomática)	Dose	10-20mg/dia	15-30mg/dia	20mg/dia	20mg/dia	10 mg/dia
	Duração	4 semanas				
Erradicação <i>Helicobacter pylori</i> (associação a antibioterapia)	Dose	20mg 2 vezes/dia	30mg 2 vezes/dia	40mg 2 vezes/dia	20mg 2 vezes/dia	20mg 2 vezes/dia
	Duração	7 dias (10-14 dias, segundo a Norma de Orientação Clínica da Direção-Geral da Saúde nº 036/2011 (DGS, 2011))				
Profilaxia de úlcera duodenal e gástrica	Dose	20mg/dia	15-30mg/dia	20mg/dia	20mg/dia	
	Duração	Indeterminado				
Síndrome Zollinger-Ellison	Dose	60mg/dia ou 2 vezes/dia	60mg/dia a 90mg 2 vezes/dia	80 mg/dia ou 80mg 2 vezes/dia	40-80mg 2 vezes/dia	60mg 1-2 vezes/dia
	Duração	Indeterminado				

Anexo II – Recomendações terapêuticas para os Inibidores da Bomba de Protões do Consórcio de Implementação da Farmacogenética Clínica, considerando o genótipo e o fenótipo do *CYP2C19*.

Tabela II.1. Recomendações do Consórcio de Implementação da Farmacogenética Clínica para a terapêutica com IBP, considerando o genótipo e o fenótipo do *CYP2C19*. Caracterização do fenótipo de metabolização *CYP2C19* e genótipo, assim como as implicações associadas, recomendações terapêuticas e a respetiva classificação da recomendação (Lima *et al.*, 2020).

Fenótipo de metabolização <i>CYP2C19</i>	Genótipo <i>CYP2C19</i>	Implicações associadas	Recomendações terapêuticas	Classificação da recomendação – Omeprazol, Lanzoprazol, Pantoprazol e (Dexlansoprazol*)
Metabolizador Ultrarrápido (MUR)	2 alelos associados ao aumento de função enzimática (*17/*17)	Diminuição das concentrações plasmáticas de IBP, em comparação com o fenótipo MN; Aumento do risco de falha terapêutica.	Aumento da dose diária instituída em 100%, ficando ao critério a posologia; Monitorizar a eficácia da terapêutica.	Opcional
Metabolizador Rápido (MR)	1 alelo associado ao aumento de função e 1 alelo com função enzimática normal (*1/*17)	Diminuição das concentrações plasmáticas de IBP, em comparação com o fenótipo MN; Aumento do risco de falha terapêutica.	Iniciar a terapêutica com a dose inicial recomendada; Considerar aumentar a dose em 50-100% para a erradicação do <i>Helicobacter pylori</i> e esofagite erosiva; Monitorizar a eficácia da terapêutica.	Moderada (Opcional*)
Metabolizador Normal (MN)	Nenhum alelo testado para aumento de função enzimática ou LOF (*1/*1)	Metabolismo normal do IBP; Risco acrescido para falha da terapêutica, em comparação com os fenótipos MI e ML.	Iniciar a terapêutica com a dose inicial recomendada; Considerar aumentar a dose em 50-100% para a erradicação do <i>Helicobacter pylori</i> e esofagite erosiva; Monitorizar a eficácia da terapêutica.	Moderada (Opcional*)
Metabolizador Intermédio (MI)	1 alelo associado à função normal e 1 alelo LOF (*1/*2, *1/*3, *2/*17 e *3/*17)	Aumento da concentração plasmática de IBP, em comparação com o fenótipo MN; Aumento da eficácia da terapêutica e potencial toxicidade.	Iniciar a terapêutica com a dose inicial recomendada; Na terapêutica crónica (superior a 12 semanas), considerar a redução de 50% da dose diária e monitorar a eficácia da terapêutica.	Opcional
Metabolizador Lento (ML)	2 alelos LOF (*2/*3, *2/*2, *3/*3)	Aumento da concentração plasmática de IBP, em comparação com o fenótipo MN; Aumento da eficácia da terapêutica e potencial toxicidade.	Iniciar a dose recomendada. Para terapêutica crónica (superior a 12 semanas), considerar a redução de 50% da dose diária e monitorar a eficácia.	Moderada (Opcional*)

Anexo III – Carta de opinião farmacêutica (Modelo).

Carta de Opinião Farmacêutica *(Modelo)*

Localidade/ data

Assunto: Sugestão de otimização da terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões.

1. Contextualização

No âmbito do Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas na Unidade Curricular de Estágio do Instituto Universitário Egas Moniz (IUEM) (Campus Universitário - Quinta da Granja, Monte da Caparica, 2829-511 Caparica, Portugal), realizou-se o estudo intitulado: “*Caracterização dos polimorfismos CYP2C19 mais relevantes para a variabilidade interindividual na resposta à terapêutica com inibidores da bomba de protões (IBP) – aplicação da Farmacogenética na farmácia comunitária portuguesa*”. Com a orientação da Professora Doutora Ana Clara Ribeiro (Investigador Principal) e realizado pela Mestranda Adriana Ferraz, no âmbito do Estágio em Farmácia Comunitária, nomeadamente na Farmácia Comunitária Nobre Guerreiro, localizada no concelho do Seixal, sendo que se solicitou a participação do/a Sr./^a _____, no presente estudo, o/a qual aceitou participar.

O presente estudo refere-se a um estudo piloto que pretende caracterizar o genótipo dos doentes sujeitos à terapêutica com IBP, no que diz respeito ao gene *CYP2C19*, nomeadamente as variantes *CYP2C19*1*, *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* e *CYP2C19*17*, assim como avaliar a adequação da terapêutica selecionada e da dose instituída e testar um modelo de intervenção farmacêutica, no qual o farmacêutico comunitário perante os resultados de Farmacogenética obtidos sugere a otimização da terapêutica ao médico assistente, através da presente carta de opinião farmacêutica.

Apesar do perfil geral de eficácia e segurança dos IBP, alguns doentes não respondem de forma adequada à terapêutica ou desenvolvem efeitos adversos, a longo prazo. Esta resposta variável deve-se, essencialmente, à variabilidade genotípica associada ao gene *CYP2C19*, o gene que codifica a isoenzima do citocromo P450 2C19 (*CYP2C19*) que, por sua vez, é responsável pela metabolização de diversos IBP, tal como o omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, esomeprazol e dexlansoprazol (Deshpande *et al.*, 2016; Rouby *et al.*, 2018).

A terapêutica com IBP deve ser realizada na dose mínima efetiva, durante o menor tempo possível, reavaliando periodicamente a necessidade do tratamento (DGS, 2011). Neste sentido, a caracterização do fenótipo interindividual na população portuguesa é de extrema relevância, dado que nos doentes que apresentam o fenótipo de metabolizador lento (ML), associado às variantes

*CYP2C19*2* e *CYP2C19*3* e a uma perda de atividade, as concentrações plasmáticas de IBP são 3-5 vezes superiores, comparativamente com o fenótipo de metabolizador normal (MN) (*CYP2C19*1*), o que poderá desencadear determinados efeitos adversos (Lima *et al.*, 2020; Pratt *et al.*, 2018). Tal como hipomagnesémia, infeções por *Clostridium difficile*, deficiência em vitamina B12 (cianocobalamina), pólipos benignos no estômago e interferência com testes laboratoriais para pesquisa de tumores neuroendócrinos, conduzindo ao aumento dos níveis de Cromogranina A (CgA) e origina diagnósticos falsos positivos, a longo prazo (Nehra *et al.*, 2018).

Por outro lado, o fenótipo de metabolizador rápido (MR), variante *CYP2C19*17*, está associado à indução da enzima CYP2C19, a uma função enzimática elevada, à rápida restauração da secreção ácida gástrica, a uma diminuição da concentração plasmática de IBP, à persistência da sintomatologia e à recidiva da doença (Atkinson, Reynolds & Travis, 2015; Lam *et al.*, 2012; UpToDate, 2020; Osakidetza, 2016; Nehra *et al.*, 2018; Islam *et al.*, 2013).

A caracterização dos polimorfismos *CYP2C19* poderá afetar positivamente a terapêutica individual e conduzir a melhores resultados a nível do sucesso do regime terapêutico, sendo que a introdução do teste Farmacogenético na prática clínica, reduz os custos desnecessários, considerando o uso crescente dos IBP, nos últimos anos em Portugal (Silva & Oliveira, 2016).

2. Informação técnica

2.1. Metodologia

- 1) A extração de ácido desoxirribonucleico (ADN) foi realizada através da utilização de um kit comercial. A avaliação da concentração e qualidade de ADN foi realizada por espectrofotometria;
- 2) A técnica de genotipagem foi realizada através do estudo acerca de variantes do gene *CYP2C19* (*1; *2; *3; *17), associadas à farmacocinética e farmacodinâmica dos IBP;
- 3) Técnicas de biologia molecular, tal como a reação em cadeia da polimerase ou *Polymerase Chain Reaction* (PCR) e a respetiva análise dos fragmentos de restrição dos polimorfismos ou *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) e técnica de sequenciação, com um elevado nível de precisão e reprodutibilidade;

A recolha das amostras foi realizada pela Mestranda e analisada no IUEM, Laboratório de Biologia Molecular. A disponibilização dos resultados, inicialmente estaria prevista num prazo de 3 dias, mas num contexto de Pandemia SARS-Cov-2, apenas neste momento tal foi possível.

3. Resultados

3.1. Informação acerca do perfil genético e respetivo fenótipo

- *CYP2C19*1/*17*: Heterozigótico e Metabolizador Rápido (MR)

Com base no perfil genético este doente apresenta o fenótipo MR, existindo o risco de falha da terapêutica (DGS, 2011; DGS 2017). É recomendado considerar a utilização de outros agentes antiulcerosos ou estratégias alternativas na dosagem do atual IBP (se não existirem contraindicações e se aplicável à respetiva história clínica), tal como os Antagonistas dos recetores H₂ (ARH₂) (Famotidina); protetor da mucosa gástrica (Sucralfato); análogos das Prostaglandinas (Misoprostol).

Os resultados do teste genético devem ser interpretados no contexto da avaliação clínica, história familiar e origem racial/étnica do doente. Outros fatores como a idade, índice de massa corporal (IMC), diabetes *mellitus* e a administração de determinados antiagregantes plaquetários, tal como o clopidogrel, podem influenciar a resposta à terapêutica com resposta IBP, nomeadamente o omeprazol (DGS, 2011; Lima *et al.*, 2020). Para além das Normas de Orientação Clínica (NOCs) disponíveis, por parte da Direção-Geral da Saúde (DGS) (tal como a Norma nº 036/2011 e Norma nº 019/2017), é fundamental considerar as recomendações terapêuticas por parte do Consórcio de Implementação de Farmacogenética Clínica ou *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC) e o perfil genético de cada doente (Lima *et al.*, 2020).

A genotipagem do *CYP2C19* pode auxiliar na otimização de estratégias terapêuticas e, por sua vez, o CPIC estabeleceu diversas recomendações terapêuticas tendo em consideração o fenótipo associado ao gene *CYP2C19*. Todas as evidências descritas, são suportadas através de artigos científicos indexados na PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), PharmGKB (<https://www.pharmgkb.org>) e a base de dados *Human Gene Mutation* (<http://www.hgmd.org>), consultados em junho de 2020.

O CPIC desenvolve orientações clínicas (*peer-reviewed*) acerca das interações gene-fármaco, as quais são publicadas e atualizadas periodicamente em <http://www.pharmgkb.org>, de acordo com os novos desenvolvimentos na área e estabeleceu diversas recomendações acerca da terapêutica com IBP, no passado mês de agosto de 2020, com base na interpretação e aplicação clínica dos genótipos do *CYP2C19* (Lima *et al.*, 2020).

Segundo o CPIC, o genótipo heterozigótico *CYP2C19**1/*17 (c.-806C/T, rs12248560) está associado à diminuição das concentrações plasmáticas de IBP, em comparação com fenótipo de MN e ao aumento do risco de falha terapêutica. Deve-se iniciar a terapêutica com a dose diária recomendada e considerar aumentar a dose em 50-100% na erradicação do *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) e esofagite erosiva, sendo que a dose diária deve adotar um regime posológico repartido e com especial ênfase na monitorização da eficácia da terapêutica (Lima *et al.*, 2018).

Segundo Rouby *et al.* (2018), o sucesso do regime terapêutico dos IBP na erradicação do *H. pylori* é improvável nos doentes com o fenótipo MR, existindo também o agravamento da sintomatologia, associada à úlcera duodenal, úlcera gástrica e Doença do Refluxo Gastro Esofágico (DRGE) e a recidiva da doença.

Na redação da presente carta de opinião farmacêutica cumpre-se um dos objetivos principais da implementação da Farmacogenética na prática clínica, ou seja, a otimização da terapêutica com IBP considerando a variabilidade interindividual na resposta à terapêutica.

Com os melhores cumprimentos (*assinaturas*):

Direção técnica
António Nobre Guerreiro
Farmácia Nobre Guerreiro

Mestranda
Adriana Ferraz
Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
Instituto Universitário Egas Moniz


Investigador Principal
Ana Clara Ribeiro
PharmD, PhD
Instituto Universitário Egas Moniz

Em caso de necessidade de contacto: acribeiro@egasmoniz.edu.pt

4. Recomendações, *guidelines* e outra evidência científica

- Atkinson, N. S., Reynolds, D. J., & Travis, S. P. (2015). 'Lemonade Legs': why do some patients get profound hypomagnesaemia on proton-pump inhibitors?. *Intestinal Research.*, 13(3), 227–32.
- Deshpande, N. V. S., *et al.* (2016). Rapid and ultra-rapid metabolizers with CYP2C19*17 polymorphism do not respond to standard therapy with proton pump inhibitors. *Meta Gene*, 9, 159–164.
- DGS. (2011). Supressão ácida: utilização dos inibidores da bomba de protões e das suas alternativas terapêuticas. Norma nº 036/2011. Disponível. Disponível em <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0362011-de-30092011-jpg.aspx>. Acedido a 10 de maio de 2020.
- DGS. (2017). Diagnóstico e tratamento da doença de refluxo gastro esofágico no adulto. Norma nº 019/2017. Disponível em <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0192017-de-11092017-pdf.aspx>. Acedido a 17 de abril de 2020.
- Islam, S. R., *et al.* (2013). Gastric polyps: a review of clinical endoscopic, and histopathologic features and management decisions, *Gastroenterol Hepatol*, 9(10), 640-651.
- Lam, J. R., *et al.* (2013). Proton Pump Inhibitor and Histamine 2 Receptor Antagonist Use and Vitamin B12 Deficiency. *JAMA*, 22, 2435–2442.
- Lima, J. J., *et al.* (2020). Clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) guideline for CYP2C19 and proton pump inhibitor dosing. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 1, 1-7.
- Nehra, K. A., *et al.* (2018). Proton Pump Inhibitors: Review of Emerging Concerns. *Mayo Clinic Proc*, 93(2), 240-246.
- Osakidetza. (2016). Inibidores de la Bomba de Protones: Recomendaciones. Disponível em https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/publicaciones_informes_estudio/es_pub/adjuntos/Inhibidores_de_la_Bomba_de_Protones_Recomendaciones_mayo_2016.pdf. Acedido 03 de março de 2019.
- Pratt, M. V., *et al.* (2018). Recommendations for clinical CYP2C19 Genotyping Allele Selection. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 20(3).
- Rouby, N., *et al.* (2018). Proton pump inhibitors: from CYP2C19 pharmacogenetics to precision medicine. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, 14(4), 447–460.
- Silva, A., & Oliveira, R. (2016). Utilização de inibidores da bomba de protões em Portugal. Disponível em <https://www.infarmed.pt/documents/15786/2219894/Utilização+de+Inibidores+da+Bomba+de+Protões+em+Portugal/20ad6172-c678-476d-a259-636ccf8c8706>. Acedido a 14 de outubro de 2019.
- UpToDate. Proton Pump Inhibitors: Overview of use adverse effects in the treatment of acid related disorders. Acedido a 10 de maio de 2020. Disponível em [<https://www.uptodate.com/contents/proton-pump-inhibitors-overview-of-use-and-adverse-effects-in-the-treatment-of-acid-related-disorders?csi=fc4dec4f-44a5-473c-8765-b62c3cd182cf&source=contentShare>]. Acedido a 14 de março de 2020.

Anexo IV – Consentimento informado.



EGAS MONIZ

Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17_03

Amora, ____ de _____ de 2020

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, na Unidade Curricular de *Estágio* do Instituto Universitário Egas Moniz (IUEM), sob a orientação da Prof^a Doutora Ana Clara Ribeiro, solicita-se autorização para a participação no estudo intitulado: **“Caracterização dos polimorfismos CYP2C19 mais relevantes para a variabilidade interindividual na resposta à terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões - Aplicação da farmacogenética na Farmácia Comunitária Portuguesa”**. Com o objetivo de caracterizar o Genótipo de cada utente implicado na terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões, evitar reações adversas e ajustar a dose a cada indivíduo. O Farmacêutico Comunitário, perante os resultados obtidos, em carta de opinião farmacêutica, poderá sugerir a otimização da terapêutica.

A participação neste estudo é voluntária. A sua não participação ou desistência, em qualquer momento, não lhe trará qualquer prejuízo, sendo que a participação neste estudo implica:

- 1) Responder a um questionário que será realizado no momento da dispensa da terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões, na Farmácia Comunitária;
- 2) Recolher a amostra na mucosa oral, através da técnica de zaragatoa bucal;
- 3) Facultar o contacto (informação) sobre o seu Médico Assistente, para que o mesmo possa ter acesso à carta de opinião farmacêutica (caso aplicável);

A informação será recolhida pela aluna do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Adriana Ferraz e, destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação e será, posteriormente, tratada pela orientadora, a Prof^a Doutora Ana Clara Ribeiro e/ou pelos seus mandatados. A recolha de todos os dados será anónima e confidencial (dados registados com recurso a uma codificação), tendo o direito de poder desistir, a qualquer momento, do estudo sem qualquer prejuízo.

Este estudo pode trazer-lhe benefícios tais como o conhecimento acerca do seu Genótipo (nomeadamente nos genes implicados na terapêutica com os Inibidores da Bomba de Protões), poderá ainda contribuir para o sucesso, eficácia e efetividade da respetiva terapêutica e beneficiar de um serviço rápido e de fácil acesso, através da aplicação da Farmacogenética na Farmácia Comunitária Portuguesa.

Assim como, a aquisição de conhecimentos que poderão vir a beneficiá-lo a si ou a terceiros, no futuro, a nível do progresso do conhecimento científico.

(Riscar o que não interessa)


ACEITO/NÃO ACEITO participar neste estudo, confirmando que fui esclarecido sobre as condições do mesmo e que não tenho dúvidas.

(Assinatura do participante)

1

Figura IV.1. Consentimento informado. Formalização da adesão ao estudo, por parte do participante, sob a forma de um consentimento informado.

Anexo V – Questionário de avaliação da terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões.

 EGAS MONIZ	Codificação: _____
	Farmácia: Nobre Guerreiro

Questionário de Avaliação
(a preencher pelo investigador)

1. **Sexo:** Masculino Feminino

2. **Idade:** _____

3. **Etnia:** _____

4. **1ª Prescrição** **Renovação da Terapêutica**

4.1. Caso seja Renovação da Terapêutica, há quanto tempo realiza a terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões ? _____

5. **Inibidor da Bomba de Protões:** _____

5.1. **Indicação:** _____

5.2. **Posologia:** _____

5.3. **Duração da terapêutica:** _____

5.4. **Efeitos Adversos Observados:** Sim Não

5.4.1. Caso “Sim”, Quais? _____

6. **Terapêutica concomitante:**

6.1.

Princípio Ativo: _____ Dose: _____

6.1.1. **Posologia:** _____

6.1.2. **Duração da terapêutica:** _____

6.2.

Princípio Ativo: _____ Dose: _____

6.2.1. **Posologia:** _____

6.2.2. **Duração da terapêutica:** _____

6.3.

Princípio Ativo: _____ Dose: _____

6.3.1. **Posologia:** _____

6.3.2. **Duração da terapêutica:** _____

7. **Contacto do Médico Assistente:** _____

1

Figura V.1. Questionário de avaliação da terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões. Aplicado, após a recolha da amostra, para posterior recolha de dados.

Anexo VI – Carta da comissão de ética Egas Moniz.

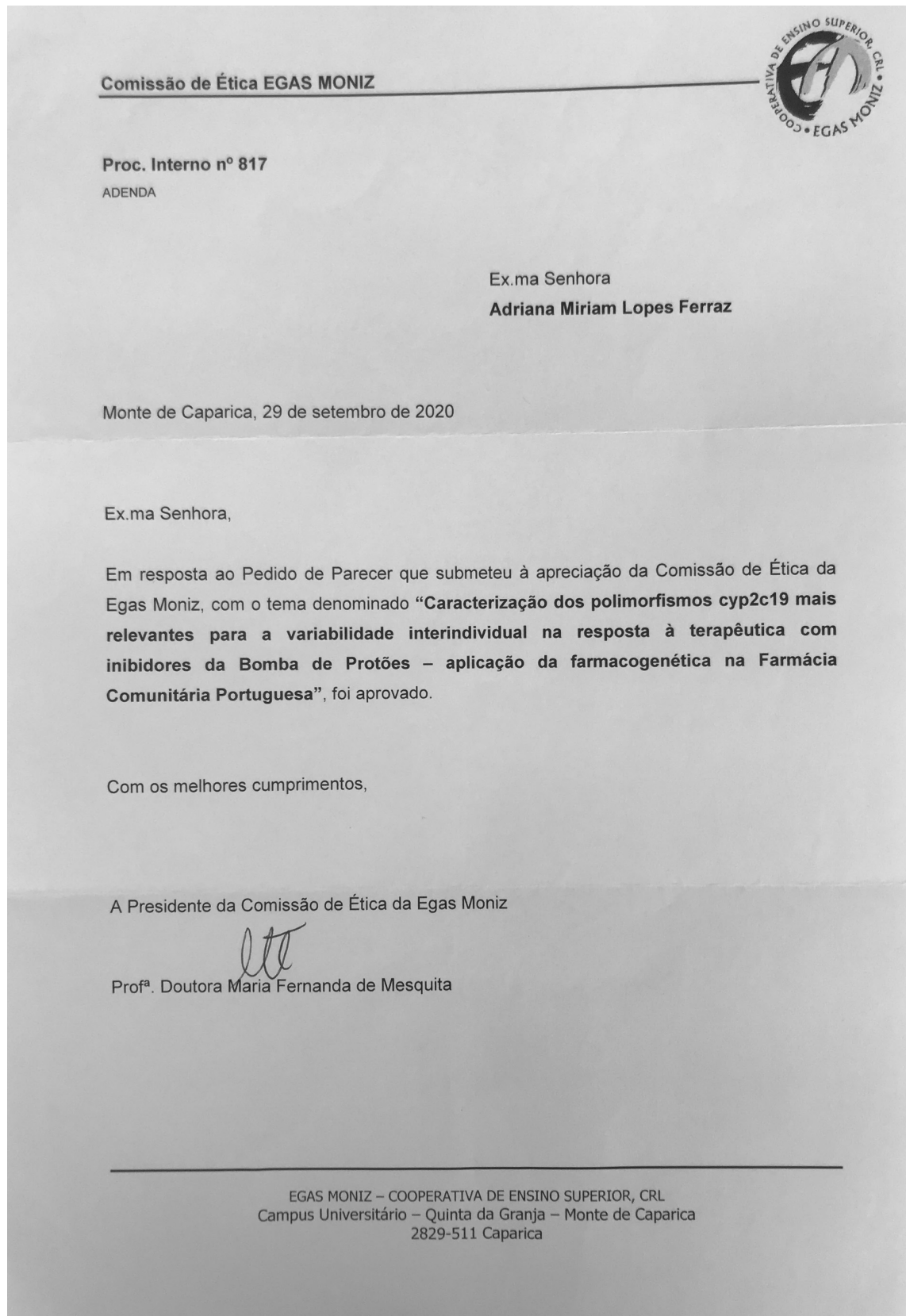


Figura VI.1. Carta da comissão de ética Egas Moniz. Aprovação do pedido de parecer submetido.