

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Instituto de Biociências
Departamento de Genética
Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular

**FARMACOGENÉTICA DO TACROLIMUS EM PACIENTES PEDIÁTRICOS DE
TRANSPLANTE HEPÁTICO**

MARINA HENTSCHE LOPES

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Genética e Biologia Molecular**

Orientadora: Profa. Dra. Ursula Matte
Coorientadora: Dra. Mariana Rodrigues Botton

Porto Alegre, outubro de 2022

INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

Este trabalho desenvolvido no Laboratório Células, Tecidos e Genes (CTG) do Centro de Pesquisa Experimental (CPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, vinculado à Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) com recursos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), (CAPES e CAPES-PROEX), FAPERGS e Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

A aluna recebeu bolsa de estudos concedida pela CAPES, vinculada ao PPGBM/UFRGS.

CIP - Catalogação na Publicação

Hentschke Lopes, Marina
FARMACOGENÉTICA DO TACROLIMUS EM PACIENTES
PEDIÁTRICOS DE TRANSPLANTE HEPÁTICO / Marina
Hentschke Lopes. -- 2022.
68 f.
Orientadora: Ursula Matte.

Coorientadora: Mariana Rodrigues Botton.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Programa
de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular,
Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Farmacogenética. 2. tacrolimus. 3. Transplante
Hepático Infantil. 4. ABCB1, CYP3A4, CYP3A5. I. Matte,
Ursula, orient. II. Rodrigues Botton, Mariana,
coorient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Ursula Matte pela oportunidade de desenvolver esse projeto, por toda a confiança e orientação ao longo de toda a minha iniciação científica e agora durante o mestrado, bem como por todas as contribuições para o meu crescimento intelectual e profissional;

À Dra. Mariana Rodrigues Botton, minha coorientadora durante todos os meus passos dentro da farmacogenética, agradeço por todos ensinamentos, experiências e por dividir comigo a paixão pela área;

À Profa. Dra. Sandra Maria Gonçalves Vieira pela colaboração e demanda pelos resultados desta pesquisa;

Ao Dr. Carlos Oscar Kieling, pela sua disposição e organização quando necessitamos dos dados dos pacientes;

Ao departamento de patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), em especial ao Dr. Carlos Thadeu Schmidt Cerski e à residente Dra. Jéssica Onofre de Brito Lima, pelo auxílio com as amostras biológicas arquivadas;

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular (PPGBM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e a equipe de Hepatologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) que me proporcionaram muitos momentos de aprendizado;

Ao Elmo por toda a ajuda, dedicação e por estarem sempre dispostos a resolver problemas de última hora;

À residente Dra. Raíssa Souza Aguiar, por ter permitido que eu acompanhasse as consultas dos pacientes no ambulatório, pelas explicações dos termos médicos e apoio;

À farmacêutica clínica Samantha Zamberlan pela ajuda com a coleta de assinaturas de TCLE;

Aos órgãos financiadores deste projeto, em especial à CAPES pela bolsa de mestrado;

Ao Dr. Vínicius Sortica pela avaliação e sugestões durante o seminário de dados

À professora Dra. Lavínia Schuler Faccini pela relatoria desta dissertação;

Aos membros da banca examinadora, Dra. Fernanda Rodrigues Soares, Dr. Alexandre Araújo e Dra. Mara Hutz, por aceitarem avaliar este trabalho;

À todos os colegas do laboratório Células, Tecidos e Genes, obrigada pelo companheirismo e ensinamentos, em especial as alunas de iniciação científica Natiele Souza e Roberta Oliveira pelo auxílio direto nesse projeto;

Aos meus amigos, pelo apoio durante o percurso, pelos conselhos, conversas, ânimo e companheirismo ao longo de todos esses anos;

Aos meus pais, Marisa Hentschke e Mauri Barcelos Lopes, por todos os ensinamentos ao longo da vida, pelo apoio incondicional;

Ao meu namorado Bruno Corrêa pela paciência, ajuda, amor e incentivo, por sempre estar ao meu lado em todos os momentos;

Por fim, à todos que contribuíram de alguma forma para minha formação acadêmica até o momento e para realização deste estudo.

SUMÁRIO

FICHA CATALOGRÁFICA.....	2
INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS.....	3
AGRADECIMENTOS.....	4
SUMÁRIO.....	6
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES.....	7
RESUMO	8
ABSTRACT.....	9
CAPÍTULO 1.	
INTRODUÇÃO.....	10
1.1. Transplante Hepático Infantil (THI)	10
1.2. Tacrolimus.....	11
1.3. Farmacogenética.....	12
1.4. Implementação clínica	20
CAPÍTULO 2.	
OBJETIVOS.....	22
CAPÍTULO 3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
CAPÍTULO 4. RESULTADOS.....	26
3.1. Associações entre fatores não genéticos e tacrolimus.....	28
3.2. Associações entre fatores genéticos e tacrolimus.....	29
3.2.a. Variantes genéticas do receptor.....	30
3.2.b. Variantes genéticas do doador.....	34
CAPÍTULO 5. DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
REFERÊNCIAS.....	46
ANEXOS.....	53
Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	
Anexo 2 – Carta de aprovação do projeto no Hospital de Clínicas de Porto Alegre	
Anexo 3 – Outras produções desenvolvidas durante o período de mestrado: Artigo publicado “Sales of "COVID kit" drugs and adverse drug reactions reported by the Brazilian Health Regulatory Agency”	

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

ABCB1/MDR1: gene “*Multi Drug Resistance 1*”, responsável pela codificação da glicoproteína-P

AVB: atresia de vias biliares

CPIC: *The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (Consórcio de Implementação de Farmacogenética Clínica)

CYP: Citocromo P 450

CYP3A4: citocromo P450 isoenzima 3A4

CYP3A5: citocromo P450 isoenzima 3A5

DNA: ácido desoxirribonucléico

FDA: *Food and Drug Administration*

FKBP-12 FK 506 *Binding Protein*: (Proteína de ligação FK506)

HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

EHW: Equilíbrio de Hardy-Weinberg

IHA: Insuficiência Hepática Aguda

IL2: Interleucina-2

PCR: reação em cadeia da polimerase

PELD: *pediatric end-stage liver disease* (doença hepática pediátrica em estágio terminal)

PPK: modelos farmacocinéticos populacionais

RAM: Reação Adversa a Medicamento

RNPGx: *The French National Network of Pharmacogenetics* (rede nacional francesa de farmacogenética)

SNP: *single nucleotide polymorphism* (polimorfismo de nucleotídeo único)

TAC: tacrolimus

TDM: *therapeutic drug monitoring* (Monitorização terapêutica do fármaco)

THI: Transplante Hepático Infantil

TxH: Transplante Hepático

RESUMO

Introdução: tacrolimus (TAC) é uma droga imunossupressora amplamente utilizada após o transplante de órgãos sólidos para prevenir a rejeição. TAC tem uma janela terapêutica estreita entre subdose (que pode levar à rejeição de órgãos) e sobredose (que pode levar a efeitos adversos de toxicidade). A droga é absorvida no intestino pela membrana e bomba de efluxo MDR1 (codificada pelo gene *ABCB1*) e pré-metabolizada pelas enzimas CYP3A. Em seguida, atinge o fígado, onde a metabolização adicional ocorre principalmente pela ação das enzimas CYP3A4 e CYP3A5. Variantes genéticas nesses genes ajudam a explicar a ampla variação inter e intra-individual na dosagem. No transplante de fígado, é importante considerar o genótipo do receptor e do doador, pois o novo órgão também metabolizará o medicamento. Em crianças, o volume de distribuição de fármacos e status de desenvolvimento das enzimas são diferentes dos adultos, elucidando a importância de estudos específicos para essa faixa etária. **Objetivo:** analisar a influência de variantes nos genes *CYP3A4*, *CYP3A5* e *ABCB1* no nível sérico do tacrolimus em pacientes pediátricos que realizaram transplante de fígado e avaliar quais os fatores genéticos, clínicos e demográficos que influenciam na resposta ao tacrolimus. **Metodologia:** os pacientes foram convidados a participar e assinar um termo de consentimento informado. As informações clínicas e demográficas foram coletadas dos prontuários médicos com dados do fim de cada semana dos dois primeiros meses e no sexto mês pós transplante. O DNA foi obtido a partir de amostras de fígado armazenadas em parafina tanto do paciente quanto do doador. A genotipagem foi realizada através de sondas TaqMan para 8 alelos de interesse - *CYP3A4* (*1B e *22), *CYP3A5* (*3, *6 e *7) e *ABCB1* (c.1236C>T, c.2677G>T e c.3435C>T). **Resultados:** os transplantes ocorreram entre 2002 e 2022, e apenas aqueles com material do doador foram incluídos neste estudo, totalizando 71 pacientes, sendo 54 deles com dados de prontuário. As frequências alélicas para as 8 variantes analisadas foram similares às descritas na literatura para a população brasileira, destacando-se como mais frequentes *CYP3A5**3 (73%), *ABCB1* c.3435C>T (38%) e *ABCB1* c.1236C>T (32%). A maior parte dos pacientes necessitou ajustes de dose nas semanas analisadas, com uma tendência de menores trocas ao longo das semanas. Para as análises sobre medicamentos consumidos concomitantemente a TAC, o micofenolato gerou necessidade de maiores doses de TAC, enquanto anlodipina, menores. A presença de ao menos uma cópia de *CYP3A5**3 em receptor foi associada a maiores níveis séricos e menores doses, sendo observado aumento de 136,36% no nível sérico na primeira semana pós transplante quando comparado à ausência da variante. O fenótipo inferido de metabolizador lento para *CYP3A5* em receptor está associado à apresentação de reações adversas e persistência do nível sérico acima do alvo terapêutico, enquanto pacientes metabolizadores ultrarrápidos para *CYP3A4* tiveram associação com níveis séricos abaixo do alvo terapêutico. Em relação ao haplótipo inferido a partir do genótipo do doador, diplótipos de *ABCB1* (c.1236C>T, c.3435C>T, c.2677G>T) contendo CTG ou TTT apresentaram níveis séricos maiores do que aqueles sem variantes. **Discussão e conclusões:** os resultados convergem com os achados em demais estudos da literatura e a respeito de *CYP3A5*, estão de acordo com as recomendações de diretrizes para TAC como a do CPIC. Essa pesquisa contribui com dados brasileiros para a futura implementação clínica e tomada de decisões com base na farmacogenética e elucidada o comportamento da variabilidade na resposta à TAC para o público infantil. Mais pacientes serão incluídos no estudo e mais dados serão coletados para análise multivariada com as principais variáveis demográficas, clínicas e genéticas, visando desenvolver um algoritmo para predição de dose de tacrolimus.

ABSTRACT

Introduction: tacrolimus (TAC) is an immunosuppressive drug widely used after solid organ transplantation to prevent rejection. TAC has a narrow therapeutic window between subdose (that may lead to organ rejection) and overdose (which can lead to adverse toxic effects). The drug is absorbed in the intestine by the membrane and efflux pump MDR1 (coded by *ABCB1* gene) and pre-metabolized by CYP3A enzymes. It then reaches the liver, where further metabolization occurs mainly by the action of CYP3A4 and CYP3A5 enzymes. Genetic variants in these genes help to explain the wide inter and intra-individual variation in dosage. In liver transplantation, it is important to consider the genotype of the recipient and the donor, since the new organ will also metabolize the drug. In children, the volume of drug distribution and status of development of enzymes are different from adults, elucidating the importance of specific studies for this age group. **Objectives:** to evaluate the influence of variants in *CYP3A4*, *CYP3A5* and *ABCB1* at the serum level of TAC in pediatric patients who underwent liver transplantation and to assess the genetic, clinical, and demographic factors that affect the response to tacrolimus. **Methodology:** patients were invited to participate and signed an informed consent form. Clinical and demographic information were collected from medical records with end-of-week data for the first two months and a single date for the sixth month post-transplant. DNA was obtained from archival liver samples both from the patient and liver donor. Genotyping was performed through real-time PCR for 8 alleles of interest - *CYP3A4* (*1B and *22), *CYP3A5* (*3, *6, and *7) and *ABCB1* (c.1236C>T, c.2677G>T, and c.3435C>T). **Results:** transplants took place between 2002 and 2022, and only those with material from the donor were included in this study, totalizing 71 patients, of which 54 of them had medical records data. The allele frequencies for the 8 analyzed variants were similar to those described in the literature for the Brazilian population, standing out as the most frequent *CYP3A5**3 (73%), *ABCB1* c.3435C>T (38%), and *ABCB1* c.1236C>T (32%). Most patients required dose adjustments in the weeks analyzed, with a tendency for fewer changes over the weeks. For the analysis of drugs consumed concomitantly with TAC, mycophenolate generated the need for higher TAC doses, while amlodipine required lower doses. The presence of at least one copy of *CYP3A5**3 in the receptor was associated with higher serum levels and lower doses, with an increase of 136.36% in the serum level in the first week after transplantation when compared to the absence of the variant. The inferred phenotype of poor metabolizer for *CYP3A5* in receptor was associated with the presentation of adverse reactions and persistence of the serum level above the therapeutic target, while patients who are ultra-rapid metabolizers for *CYP3A4* were associated with serum levels below the therapeutic target. Regarding the haplotype inferred from the donor genotype, diplotypes of *ABCB1* (c.1236C>T, c.3435C>T, c.2677G>T) containing CTG or TTT showed higher serum levels than those without these variants. **Discussion and conclusions:** the results converge with the findings in other studies in the literature and, regarding *CYP3A5*, they are in accordance with the recommendations of guidelines for TAC such as the CPIC's one. This research contributes with Brazilian data for future clinical implementation and decision-making based on pharmacogenetics and elucidates the behavior of variability in response to TAC for children. More patients will be included in the study and more data will be collected for further multivariate analysis with the main demographic, clinical and genetic variables, aiming to develop an algorithm for predicting tacrolimus dose.

CAPÍTULO 1. - INTRODUÇÃO

1.1. Transplante Hepático Infantil (THI)

O THI é realizado no mundo desde 1963 (KAMATH, 2010). Atualmente é um procedimento com altas taxas de sobrevida, acima de 90% nos primeiros 5 anos (CUENCA; KIM; VAKILI, 2017; KELLY, 2011) e acima de 75% em 10 anos (OLIVEIRA, 2017). O Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) é um centro de referência de THI, recebendo diversos pacientes vindos de outros estados do país. De acordo com os dados obtidos na instituição, desde 2002 foram realizados 279 transplantes deste órgão pela equipe. Segundo a Associação Brasileira de Transplante de Órgãos, em 2019 foram realizados no Brasil 236 transplantes de fígado em crianças, um aumento de 4,7% em relação ao ano anterior, sendo 29 no estado do Rio Grande do Sul (número somente abaixo do estado de São Paulo, com 142 cirurgias) (CAMARA, 2019). Para o ano de 2021, 235 THIs foram realizados no país, com 29 no estado do Rio Grande do Sul (número somente abaixo do estado de São Paulo, com 135 cirurgias) (ABTO, 2019). O número global do mesmo transplante foi de 2615 entre maio de 2018 e agosto de 2019 (NIEMANN, 2019).

As principais indicações para a realização do procedimento para a população infantil são: atresia biliar, doenças genético-metabólicas e insuficiência hepática aguda grave (OLIVEIRA, 2017). Para priorizar os pacientes em lista, foi criado um sistema de pontuação chamado PELD (*pediatric end-stage liver disease*), onde são consideradas as complicações com risco de vida secundárias à doença hepática ou complicações secundárias à descompensação em doença hepática crônica. Os parâmetros de classificação também permitem que pacientes menos graves possam adiar seu transplante, assim propiciando que a criança cresça, complete o sistema de imunizações e reduza o período de imunossupressão que será empregado ao longo da sua vida pós transplante (KAMATH, 2010).

A possibilidade de realização de transplante hepático intervivos aumenta as chances para crianças que ficavam em posições distantes na lista de espera. Dessa forma, eles não precisam enfrentar as barreiras do transplante com doador falecido - como a disponibilidade de cadáveres elegíveis e sua efetivação como doadores, condições subótimas do órgão e dificuldade de encontrar fígado compatível - assim, ampliando o número de pacientes beneficiados. O pequeno tamanho exigido para o corpo infantil também facilita a retenção

de volume hepático suficiente no corpo do doador para garantir sua segurança e saúde (KIELING et al., 2013).

Ao longo destas três últimas décadas ocorreram importantes evoluções na técnica cirúrgica, no manejo clínico e na terapia medicamentosa utilizada na imunossupressão. Apesar do fígado ser um órgão dotado de um microambiente no qual a tolerância é maior que a imunidade, a maioria dos pacientes que recebem órgãos transplantados necessita de imunossupressão específica por longos períodos para evitar a rejeição (COELHO et al., 2012; DE MARE-BREDEMEIJER; METSELAAR, 2012). Entre os principais imunossupressores utilizados no THI estão a ciclosporina e o tacrolimus (FERNÁNDEZ DE GATTA et al., 2002).

1.2. Tacrolimus

Tacrolimus (TAC) é um fármaco de ação imunossupressora, amplamente usado após o transplante de órgãos sólidos para evitar rejeição e também no manejo de condições autoimunes, como dermatites atópicas e artrite reumatóide (MCCAREY et al., 2004; KAPP; ALLEN; REITAMO, 2003). Assim como outros imunossupressores (como a ciclosporina), o TAC atua inibindo a fosfatase calmodulina-dependente Calcineurina, situada na membrana plasmática de linfócitos T, através da ligação à imunofilina FKBP12. Como consequência, ocorre o bloqueio na transdução do sinal e na transcrição de citocinas essenciais para ativação da resposta imunológica. Também ocorre a inibição da via c-Jun N-terminal kinase (JNK) - envolvida na expressão da citocina IL-2 e da degranulação de células *Natural Killer* (NK) (BARBARINO et al., 2013). Desta forma, o sistema imune fica impossibilitado de agir para a rejeição do novo órgão.

De característica apolar e de baixa biodisponibilidade (em média, 25%), TAC é absorvido cerca de uma hora após a administração para a maioria dos casos. Sua entrada na célula se dá de forma passiva e a molécula é devolvida ao lúmen pelo transportador de membrana e bomba de efluxo ABCB1 presente nas paredes intestinais. A pré-metabolização é mediada por enzimas da família CYP3A no intestino. Alterações na motilidade intestinal devido ao procedimento cirúrgico do transplante pode ser uma das causas da baixa absorção observada em alguns pacientes (STAATZ; TETT, 2004). A passagem da molécula do intestino ao fígado ocorre através da veia porta, iniciando então a metabolização hepática com ação principalmente das enzimas CYP3A4 e CYP3A5, que serão responsáveis pela

formação de até 15 metabólitos a partir do TAC (BARBARINO et al., 2013).

Foi observado que para TAC há uma pequena janela terapêutica entre subdose (que pode não atuar na supressão do sistema imune, causando rejeição mediada por linfócitos T) e superdose (que pode levar a efeitos adversos de toxicidade renal, neurotoxicidade, hipertensão e hiperglicemia) (HUANG et al., 2019). Assim, o alcance rápido da concentração sérica desejada é crucial para o sucesso do manejo pós transplante (BIRDWELL et al., 2015; CALVO et al., 2017).

No entanto, uma dificuldade encontrada no estabelecimento da dosagem da medicação está na grande variação interindividual do nível sérico, observada em vários estudos (NIIOKA et al., 2013; STAATZ; TETT, 2004), também sendo relatada variação intraindividual em diferentes tempos pós-transplante (FRANCKE et al., 2020; SHUKER; VAN GELDER; HESSELINK, 2015). Outros fatores que influenciam na variabilidade observada são os medicamentos coadministrados ao tacrolimus, por conta de interações medicamentosas e competição por grupos de enzima de metabolização compartilhados. Grupos de medicamentos como bloqueadores de canais de cálcio não diidropiridínicos e antifúngicos azólicos são exemplos a serem considerados (BIRDWELL et al., 2015).

Alcançar o alvo terapêutico pode ser um desafio árduo para a equipe que acompanha o paciente após o transplante e podem ser necessárias várias alterações de dose. A metodologia atual utilizada para contornar a variabilidade na resposta observada para TAC e evitar subdose ou superdose inclui a monitorização terapêutica do fármaco (do inglês, *therapeutic drug monitoring* (TDM)). A TDM consiste em acompanhar as concentrações da medicação através dos níveis séricos (concentração do fármaco no sangue periférico), e dessa forma, o alvo terapêutico é atingido por tentativa e erro. Porém não é possível obter informações que auxiliem no cálculo da dose inicial a partir desse recurso.

1.3. Farmacogenética

Farmacogenética (ou farmacogenômica) é um ramo da Medicina Personalizada que procura entender como a genética afeta a resposta pessoal a determinado medicamento. Há várias etapas envolvidas na farmacocinética (absorção, distribuição, metabolização e excreção) e farmacodinâmica (mecanismo de ação) dos fármacos e, portanto, diversos genes estão envolvidos no processo (LAUSCHKE; INGELMAN-SUNDBERG, 2020). A análise da variabilidade desses genes pode auxiliar na compreensão da variabilidade da resposta a fármacos.

Há consórcios internacionais responsáveis por reunir informações e desenvolver, a partir de consensos de especialistas, diretrizes de uso de medicamentos guiadas pela farmacogenética, como *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC), *Dutch Pharmacogenetics Working Group* (DPWG) e *French National Network of Pharmacogenetics* (RNPGx). Essas diretrizes estão disponíveis para fármacos que possuem evidência científica de interação com farmacogenes, os quais chegam a aproximadamente 80 medicamentos de diferentes classes farmacológicas (BIRDWELL et al., 2015; SWEN et al., 2011; WOILLARD et al., 2017). Os principais farmacogenes envolvidos na farmacocinética do TAC são os que codificam as enzimas do citocromo P450 CYP3A4 e CYP3A5 e o gene *ABCB1* que codifica um transportador de membrana responsável pelo efluxo celular do fármaco.

1.3.a. CYP3A (CYP3A4 e CYP3A5)

A subfamília gênica *CYP3A* codifica enzimas de metabolização de fase I e está envolvida na biotransformação de mais da metade dos fármacos comumente usados (CHOLERTON et al., 1992 *apud* PAULUSSEN et al., 2000).

Anteriormente chamado de *CYP3A3*, o gene *CYP3A4* tem 27.306 pares de bases e está presente no braço longo do cromossomo 7. Forma uma proteína de 503 aminoácidos. A variante *CYP3A4*1B* gera uma enzima com atividade aumentada (SHI; TANG; ZHAI, 2015), enquanto *CYP3A4*22* apresenta atividade reduzida (PALLET et al., 2015; WANG et al., 2011). O impacto dessas variantes é de maior relevância quando a enzima CYP3A5 não é expressa (BIRDWELL et al., 2015).

Presente no braço longo do cromossomo 7, o gene *CYP3A5* é responsável por codificar uma isoenzima da família do citocromo P450 composta por 502 aminoácidos. A presença do alelo *1 é capaz de expressar e produzir níveis adequados da enzima. As variantes *3, *6, e *7 resultam em um RNA mensageiro com sítios alternativos de *splicing*, assim gerando perda de expressão ou proteínas não funcionais (KUEHL et al., 2001).

Durante a biotransformação intestinal do TAC, quando o alelo *CYP3A5*1* está presente em ao menos um dos cromossomos, a enzima CYP3A5 apresenta uma maior contribuição para a metabolização do composto do que a enzima CYP3A4, pois consegue gerar o metabólito hidroxila. No fígado, CYP3A5 é responsável por 60% do metabolismo do fármaco (BADER et al., 2000; DAI et al., 2006).

Como observado por Thervet et al. (2010), a testagem genética do paciente para *CYP3A5* resulta em uma predição de dose que consegue adequar mais rapidamente as concentrações terapêuticas individuais do fármaco e com menor necessidade de ajustes comparado aos métodos tradicionais utilizados, como o TDM (FIGURA 1). Assim, o tratamento farmacológico poderia ser mais eficiente com a inclusão de parâmetros genéticos (FRANCKE et al., 2020). É importante deixar claro que a utilização dos dados farmacogenéticos auxilia na predição da dose, porém não exclui a necessidade de acompanhamento das concentrações de TAC e do quadro clínico do paciente durante o tratamento.

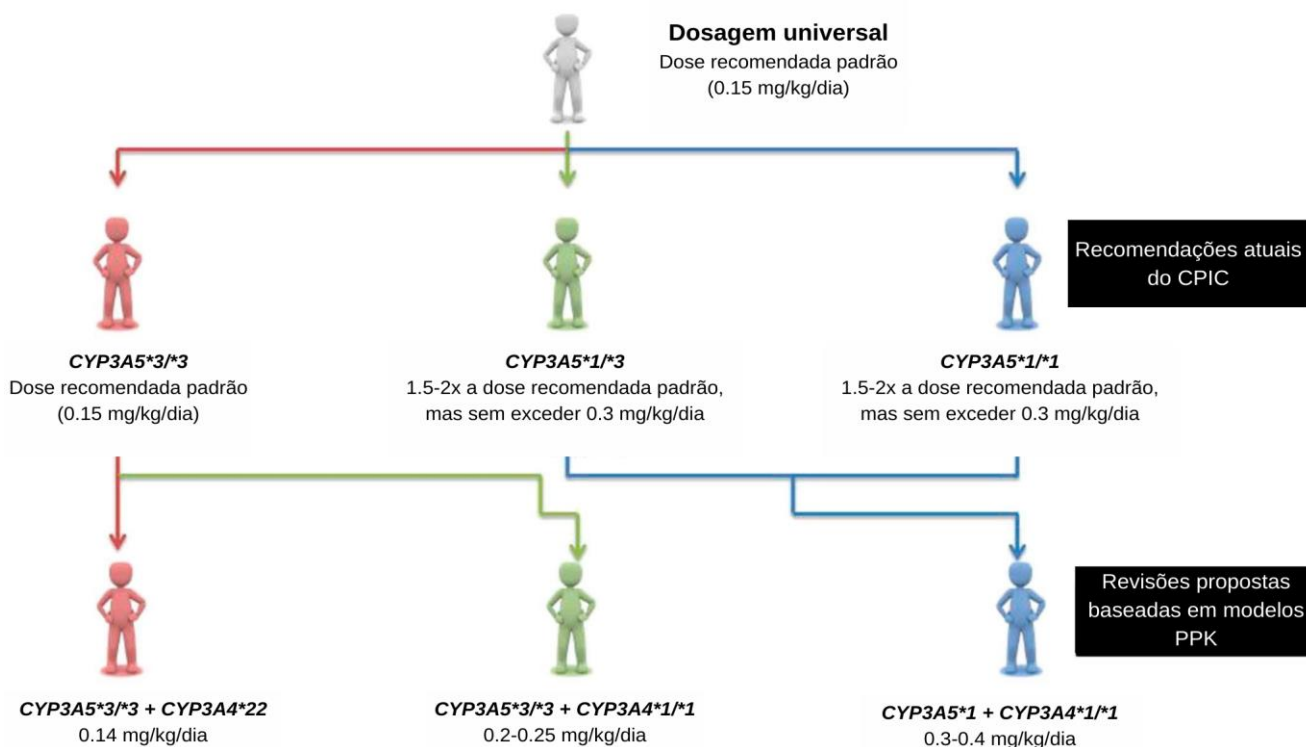


Figura 1 – Combinações de genótipos para *CYP3A4/CYP3A5* e dosagens iniciais sugeridas de acordo com as recomendações do CPIC e revisões propostas com base em modelos populacionais. * PPK = Modelos farmacocinéticos populacionais. Adaptado de Brunet et al., 2019.

Outro detalhe a ser considerado no caso de transplante de fígado se refere à possível diferença de genótipo entre o doador (cujas enzimas com suas respectivas variantes serão responsáveis pela metabolização hepática) e o receptor (que terá seu genótipo responsável

pela metabolização intestinal), pois as fases de farmacodinâmica e farmacocinética serão afetadas diretamente pelo fenótipo apresentado em cada etapa. Alguns estudos mostraram que a determinação do genótipo do doador (ou seja, o genótipo presente no órgão doado), além do receptor, tem impacto positivo sobre a predição de dose de TAC (FUKUDO et al., 2006; LI et al., 2007).

A concentração sérica do fármaco, após ajuste de dose, se apresentou alterada com a presença da variante *CYP3A5*3*, significativamente mais alta do que para o alelo *1 e também maior em homozigose do que heterozigose. Em transplante renal, a diferença foi observada para a presença da variante no receptor, enquanto que para transplante hepático, foi o genótipo do doador (ao invés do genótipo do receptor) que apresentou associação com a concentração sérica. Neste mesmo estudo, não foi encontrada diferença quanto à concentração sérica de TAC na comparação da presença da variante *ABCB1 c.2677G>T* (rs2032582) com o alelo 2677G (JUN et al., 2009). Uma meta-análise de 2019 (NAUSHAD et al., 2019) concluiu que, considerando diversos estudos com transplante de fígado, são sólidas as evidências da influência do genótipo de *CYP3A5* tanto do doador quanto do receptor sobre a razão concentração/dose de TAC, porém para as variantes do gene *ABCB1* não foi observada associação significativa.

Santoro e colaboradores (2013) encontraram um forte desequilíbrio de ligação entre as variantes *CYP3A4*1B* e *CYP3A5*3* na população brasileira. Neste mesmo estudo, foi encontrada associação estatística apenas para a utilização do haplótipo *CYP3A5* na predição de dose de TAC para transplante renal entre brasileiros (sem associação para *CYP3A4*22* e hematócrito). Dentre as variantes de *CYP3A5*, os alelos *6 e *7 (de metabolização lenta) são raros em populações européias, mas têm maior prevalência em populações com ancestralidade africana (SANGHAVI et al., 2017; SANTORO et al., 2011), fator que ressalta a importância de investigar tais variantes na população brasileira por conta de ser uma das três principais origens populacionais.

Para algumas variantes dos genes *CYP3A4* (*1B e *22) e *CYP3A5* (*1, *3, *6, *7), de relevância na metabolização do Tacrolimus, há estudos de frequência alélica descrevendo sua presença na população brasileira (TABELA 1) (KOHLRAUSCH; CARRACEDO; HUTZ, 2014; RODRIGUES- SOARES, 2018; SUAREZ-KURTZ et al., 2014).

Tabela 1 - Frequência de variantes dos genes *CYP3A4* e *CYP3A5* na população brasileira.

a	rs	Kohlrausch, F et al. (2014)		Suarez-Kurtz, G et al. (2014)			Rodrigues-Soares, F et al. (2018)			PharmGKB			REFARGEN - Sul Brasil				Kim, V et al. (2020)					
		Eu-Br	Af-Br	SB Branco	SB Pardo	SB Preto	Branco	Pardo	Preto	Europeu	SS-Af	Af-Am/Af-Car	Latino	Branco	Pardos	Preto	Total	BR Branco	BR Pardo	BR Preto	BR Asiático	BR Total
<i>CYP3A4</i>																						
*1b	rs2740574	0,098	0,379	-	-	-	0,1	-	0,38	0,35	-	-	0,110	-	-	-	-	0,066	0,133	0,438	0,000	0,106
*22	rs35599367	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,022	0,000	0,000	0,000	0,016
<i>CYP3A5</i>																						
*1	n/a	-	-	0,14	0,35	0,35	-	-	-	0,0741	0,479	0,4529	0,173	0,156	0,411	0,417	0,21	-	-	-	-	-
*3	rs776746	0,81	0,523	0,85	0,55	0,49	0,79	0,64	0,5	0,9244	0,241	0,316	0,765	0,844	0,556	0,482	0,77	0,125	0,2	0,5	0,5	0,181
*6	rs10264272	0,005	0,04	0	0,04	0,11	0,01	0,04	0,09	0,0015	0,193	0,1112	0,037	0	0,033	0,101	0,01	0,007	0,1	0,000	0,000	0,021
*7	rs41303343	-	-	0,01	0,06	0,07	0,01	0,03	0,07	0	0,086	0,12	0,025	0,006	0,063	0,078	0,02	-	-	-	-	-

^aGrupos étnicos classificados de acordo com a fonte da literatura (SB = South Brazilian/Sul Brasileiro, Eu-Br = European-

Brazilians/Europeu Brasileiro, Af-Br = African- Brazilians/Africano Brasileiro, SS-Af - Sub-Saharan African/ Africano África

Subsaariana, Af-Am/Af-Car = African American/Afro-Caribbean / Americano Africano/ Afro-Caribenho.

1.3.b. *ABCB1*

A glicoproteína-P (P-gp) ou proteína de resistência a múltiplos fármacos-1 (MDR1) tem 1.280 aminoácidos e é codificada pelo gene *ABCB1* (*ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1*). Está presente de maneira abundante na parede intestinal, na membrana dos hepatócitos, dos linfócitos, das células tubulares renais e da barreira hematoencefálica (TRON et al., 2019). O gene se encontra no braço longo do cromossomo 7 e é responsável pelo efluxo de compostos xenobióticos. O alelo 3435T da variante rs1045642 (c.3435C>T) gera uma expressão intestinal até 2x menor que 3435C (WALLEMACQ et al., 2009). Para a população brasileira, o alelo 3435T apresenta frequência de 47% em brancos, 43% em pardos, 25% em pretos e 38% em descendentes de asiáticos (KIM et al., 2020) como pode ser observado na TABELA 2. Entretanto, estudos que buscam associação do gene *ABCB1* com a farmacocinética de TAC costumam ser inconsistentes (BARBARINO et al., 2013). Coller e colaboradores (2019) não encontraram relação entre as 5 variantes mais comuns de *ABCB1* (61A>G, 1199G>A, 1236C>T, 2677G>T e 3435C>T) e ajuste de dose de TAC nos tempos de 3 e 6 meses após transplante de fígado, achados consistentes com demais estudos prévios (LI et al., 2007 apud COLLER et al, 2019; GOTO et al., 2004 apud COLLER et al, 2019; WANG et al., 2015 apud COLLER et al, 2019). Foi observada uma forte correlação inversa entre a dosagem de TAC e os níveis intestinais de mRNAs provindos do *ABCB1* nos primeiros 7 dias após transplante de fígado (MASUDA et al, 2005 apud BARBARINO et al., 2013) e 4 (MASUDA et al, 2006 apud BARBARINO et al., 2013). Portanto, compreender a influência do conhecimento do genótipo desse gene envolvido com a absorção do fármaco sobre a escolha de uma dosagem de TAC adequada ao paciente é de suma importância.

Tabela 2 - Frequência de variantes do gene *ABCB1* na população brasileira.

	rs		VECCHIA GENVIGIR et al., (2020)	Rodrigues-Soares, F et al. (2018)			REFARGEN			
			Brasileira	Branco	Pardo	Preto	Branco	Pardos	Pretos	Total
<i>a</i>										
<i>ABCB1</i>	rs1128503	1236T>C	0,638	0,4	0,35	0,31	0,449	0,295	0,312	0,378
	rs2032582	2677G>T	0,322	-	-	-	-	-	-	-
	rs2032582	2677G>A	0,036	-	-	-	-	-	-	-
	rs2032582	2677non G	-	0,42	0,32	0,23	0,453	0,196	0,136	0,394
	rs1045642	3435C>T	-	0,44	0,38	0,33	0,5	0,291	0,272	0,452

^aGrupos étnicos classificados de acordo com a fonte da literatura.

1.4. Implementação Clínica

A assertividade relacionada à dosagem ideal de TAC pode ser avaliada através da manutenção do nível sérico no alvo terapêutico que impede a rejeição do órgão transplantado e que apresenta o menor número possível de eventos adversos e de toxicidade. O uso de fatores genéticos - como o genótipo de *CYP3A4*, *CYP3A5* e *ABCB1*- na prescrição de TAC pode ser um caminho para o sucesso do uso dessa medicação, diminuindo assim alguns dos obstáculos observados atualmente na clínica.

Consórcios internacionais como *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC) e *Dutch Pharmacogenetics Working Group* (DPWG) já desenvolveram diretrizes voltadas à utilização de TAC guiada pelas variantes de *CYP3A5*, enquanto o *French National Network of Pharmacogenetics* (RNPGx) também inclui variantes de *CYP3A4* (BIRDWELL et al., 2015; SWEN et al., 2011; WOILLARD et al., 2017). Apesar de já existirem tais diretrizes elucidando a importância dessas variantes e trazendo recomendações quanto à prescrição medicamentosa guiada pela genética, essa informação ainda não está presente na bula do medicamento. Nas bulas brasileiras, é citada a alta variabilidade farmacocinética que deve ser levada em conta para uma posologia individualizada, mas sem citar diretamente fatores genéticos. No caso da bula de Tarfic® (Libbs Farmacêutica), informações de diferenças étnicas são citadas: “A comparação retrospectiva dos pacientes negros e caucasianos submetidos ao transplante de rim indicou que os pacientes negros necessitavam de doses mais elevadas de tacrolimus para atingirem concentrações mínimas semelhantes.” (Tarfic®: tacrolimus. [Bula de Medicamento], 2015). Estudos prévios demonstraram que ao utilizar fatores como idade, peso corporal, hematócrito, concentração de TAC, genótipo para os genes *ABCB1*, *CYP3A4* e *CYP3A5* do receptor e do doador, fármacos coadministrados, função renal, entre outras variáveis, conseguiu-se criar algoritmos para o início e a manutenção da dose de TAC em transplantes de órgãos sólidos, contribuindo para uma decisão clínica mais acurada (TABELA 3) (ANDREWS et al., 2017, ANDREWS et al., 2019 a, ANDREWS et al., 2019 b, BENKALI et al., 2010, CALVO et al., 2017, GUY-VITERBO et al., 2014, HANNACHI et al., 2020, JALIL et al., 2014, PRYTULA et al., 2016, SHAO et al., 2020, UNO et al., 2018, ZUO et al., 2013, Wang et al., 2020).

Tabela 3 – Variáveis consideradas em algoritmos previamente descritos na literatura.

	Órgão Transplantado	População Alvo	Administração	Idade	Peso	Hematócrito	Concentração de TAC	Genótipo Receptor	Genótipo Doador	Drogas Coadministradas	TAC clearance	Volume de distribuição de TAC	Absorção
ANDREWS et al., 2017	Rim	Pediátrico Países Baixos	Oral, duas vezes ao dia (Prograf® e Modigraf)	-	x	-	-	CYP3A5*3/1	-	-	x	-	-
ANDREWS et al., 2019 b	Rim	Pediátrico Países Baixos	Oral, duas vezes ao dia (Prograf® e Modigraf)	-	x	x	-	CYP3A5*3/1	-	-	x	-	-
PRYTULA et al., 2016	Rim	Pediátrico Países Baixos	Oral, duas vezes ao dia (Prograf®)	-	x	-	-	CYP3A5*1	-	-	x	-	-
ANDREWS et al., 2019 a	Rim	Adulto Países Baixos	Oral duas vezes ao dia, liberação imediata	x	-	-	-	CYP3A4*22 a, CYP3A5*3	-	-	x	-	-
BENKALI et al., 2010	Rim	Adulto	Oral, uma vez ao dia (Advagraf), extended-rel...	-	-	-	-	CYP3A5*3/1	-	-	x	-	-
HANNACHI et al., 2020	Rim	Adulto Tunísia	Oral, duas vezes ao dia (Prograf®, Hikma)	-	-	-	x	CYP3A4*22, CYP3A4*1B	-	-	x	x	-
ZUO et al., 2013	Rim	Adulto China	Oral	-	-	x	-	CYP3A5*3, CYP3A4*1G	-	-	x	-	-
UNO et al., 2018	Coração	Adulto japonês	-	x	-	x	-	CYP3A5*3	-	x (Dose de micofenolato)	-	-	-
CALVO et al., 2017	Fígado	Pediátrico Itália	Oral (ou via tubo naso-gástrico no dia 1	x	x	-	x	CYP3A5*1	CYP3A5	-	-	-	-
GUY-VITERBO et al., 2014	Fígado	Pediátrico Bélgica e França	Oral (Prograf®)	x	x	-	-	ABCB1 2677G>T/A	CYP3A4*22, CYP3A5	x (fluconazol)	x	x	x
SHAO et al., 2019	Fígado	Adulto China	Oral	-	-	-	-	CYP3A5*1, CYP3A5*3	CYP3A5*1, CYP3A5*3	-	x	x	x
JALIL et al., 2014	Fígado	Pediátrico Reino Unido	Oral	-	x	-	-	CYP3A5*1	-	-	x	-	-
WANG et al., 2020	Fígado	Pediátrico China	Oral	-	x	-	-	-	-	x (fluconazol, aspirina)	x	x	-

* As seguintes variáveis foram incluídas somente em um modelo avaliado: Sexo Receptor, sexo doador (CALVO et al., 2017), Alvo Terapêutico, Maior área corporal de superfície (BSA) (ANDREWS et al., 2019 a), Doador Vivo ou Não (ANDREWS et al., 2017), Níveis de Creatinina (ANDREWS et al., 2019 b), $R^2 = 0.435$ (UNO et al., 2018), Tempo pós-transplante (Jalil et al., 2014), Cápsula de Wuzhi, dias pós-transplante (Wang et al., 2020). Órgão Tr. = Órgão Transplantado VD TAC = Volume de distribuição de TAC, Drogas Coad. = Drogas Coadministradas.

É importante destacar também que há diferenças relevantes entre indivíduos receptores de transplante adultos e pediátricos. Em crianças, o volume de distribuição do fármaco é até 1,8 vezes maior que em adultos, efeito que pode ser explicado pela maior permeabilidade na membrana dos eritrócitos e afinidade com proteínas ligantes no plasma (STAATZ; TETT, 2004). Também são observadas diferenças quanto ao desenvolvimento e a maturação de enzimas, fator a ser considerado para essa população, pois a imaturidade pode disfarçar o real efeito do genótipo presente sobre o medicamento (LEEDER, 2001 *apud* DE WILDT et al., 2011). Tais diferenças reforçam a necessidade da realização de estudos específicos sobre os efeitos de TAC para cada público-alvo.

Crianças menores de 6 anos apresentam uma maior taxa de metabolismo para TAC, assim demandando maiores doses ao relacionar com peso e altura. Por outro lado, pacientes na adolescência tendem a ter um maior risco de superdosagem considerando o regime de dosagem padrão (FERNÁNDEZ DE GATTA et al., 2002; KAUSMAN et al, 2008). A aumentada depuração total de TAC no corpo parece se relacionar com o maior tamanho relativo do fígado em comparação ao corpo infantil, além de maior atividade da enzima CYP3A4 nos primeiros anos de vida (WALLEMACQ et al., 2009).

Dessa forma, torna-se necessária a realização de estudos específicos na população pediátrica. Além disso, o Brasil apresenta outras barreiras como a alta taxa de miscigenação, de modo que diretrizes internacionais precisam ser validadas antes de serem implementadas em nossa população.

CAPÍTULO 2. OBJETIVOS.

Objetivo Geral

Avaliar a influência de variantes nos genes *CYP3A4*, *CYP3A5* e *ABCB1* no nível sérico do tacrolimus em pacientes pediátricos que realizaram transplante de fígado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Objetivos Específicos

- Determinar a frequência das variantes nos genes *CYP3A4*, *CYP3A5* e *ABCB1* em uma amostra de pacientes pediátricos que realizaram transplante de fígado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
- Avaliar quais os fatores genéticos, clínicos e demográficos que influenciam na resposta ao tacrolimus medida por dose, nível sérico, incidência de rejeição mediada por linfócitos T e de eventos adversos.

CAPÍTULO 3. MATERIAL E MÉTODOS

Estudo retrospectivo em amostra de pacientes pediátricos que realizaram transplante hepático no período de 2003 a 2022 e foram acompanhados pelo Programa de Transplante Hepático Infantil do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Foram utilizadas informações de prontuário e material biológico já existente armazenado no Serviço de Patologia do HCPA. Além disso, foi analisado o DNA de amostras de biópsia dos doadores de cada paciente que também já estavam armazenadas no Serviço de Patologia do HCPA.

A aprovação do Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (Porto Alegre, Brasil) foi obtida (CAE 39338720.4.0000.5327) para o estudo. Os responsáveis por todos os pacientes participantes (ou o próprio paciente, quando atualmente maior de 18 anos) assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO 1). Foram incluídos no estudo aqueles indivíduos que fazem ou fizeram uso do fármaco tacrolimus após o procedimento e que haviam amostras de biópsia hepática armazenadas tanto do receptor quanto do doador disponíveis. O TCLE foi aplicado para os pacientes receptores do transplante que ainda são acompanhados no HCPA. Para os pacientes já falecidos, foi aprovada a dispensa do uso de TCLE.

Os dados demográficos analisados foram cor (através de autodeclaração durante o cadastro de prontuário no hospital), sexo, estado de origem e idade. O diagnóstico de base foi registrado a fim de avaliar possíveis diferenças associadas a ele, uma vez que a concentração sérica terapêutica pode mudar de acordo com essa condição. Informações sobre o transplante como tamanho de fígado implantado e se a origem do órgão foi doador falecido ou doador vivo também foram analisadas. As doses de TAC foram obtidas através da prescrição nos dias anteriores à dosagem do nível sérico e corrigidas pelo peso registrado no dia da medida, somando-se as 2 doses diárias, resultando na dose em mg/kg/dia. A administração de TAC é realizada a cada 12h, com 1 hora de jejum antes e pós ingestão do fármaco. O exame para detecção do nível sérico de TAC é realizado através de quimioluminescência: imunoensaio de micropartículas (Abbott ARCHITEC®, Illions, USA) na rotina do hospital, com amostra de sangue coletada 15 minutos antes da primeira dose diária de TAC. O nível sérico foi avaliado considerando o último dia da semana quando disponível, levando em conta valores 2 dias para mais ou para menos na ausência do dia exato, durante as 8 semanas posteriores à data do transplante e a última data disponível do 6º mês após o transplante (**Figura 2**).

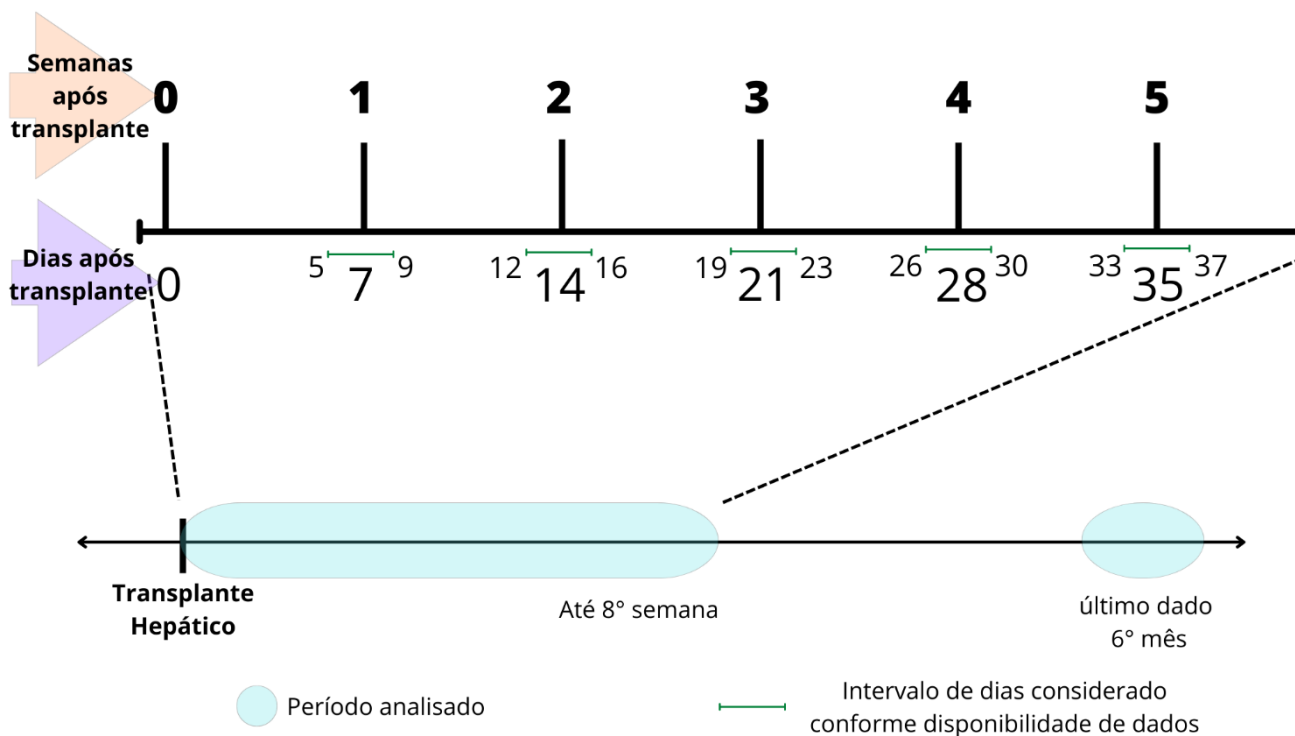


Figura 2 - Esquema dos dias após o transplante considerados para coleta de dados sobre dose e nível sérico de TAC, além de uso de outras medicações e dados antropométricos.

O intervalo de nível sérico correspondente ao alvo terapêutico é definido pela equipe assistencial baseado em critérios clínicos e laboratoriais, sendo para a primeira e segunda semana de 10 a 15 ng/mL, entre a terceira e vigésima terceira semana de 8 a 10 ng/mL e a partir da vigésima quarta semana passa a ser de 5 a 10 ng/mL. A concentração plasmática do imunossupressor e dose em diferentes tempos, além de adequação ao alvo terapêutico foram considerados. A incidência de rejeição mediada por linfócitos T é definida por análise histológica realizada em biópsia hepática, considerando todas intensidades de rejeição relatadas pelo patologista. Eventos adversos como presença de hipertensão arterial, insuficiência renal aguda, hiperglicemia, cardiotoxicidade, hipomagnesemia e tremores também foram levados em conta. Todos esses dados foram obtidos dos prontuários dos pacientes, que contém anotações a partir do acompanhamento realizado na rotina assistencial. As variáveis de outros medicamentos ingeridos foram analisadas por meio de

variáveis *dummy*, onde “0” indica não ingestão e “1” indica ingestão na data analisada.

A única análise laboratorial realizada exclusivamente para esse projeto foi a genotipagem dos genes *CYP3A4*, *CYP3A5* e *ABCB1*. Para isso, os DNAs de amostras de biópsia do fígado fixado em parafina tanto do doador quanto do receptor do fígado foram extraídos usando kits comerciais (MagMAX™ FFPE DNA/RNA Ultra Kit, RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit, ReliaPrep™ FFPE gDNA Miniprep System), de acordo com as instruções dos fabricantes. As genotipagens foram realizadas através de PCR em tempo real utilizando o equipamento *Quant Studio 3* (ThermoFisher™) com ensaios *TaqMan* customizados a partir das sequências adjacentes às variantes enviadas à ThermoFisher™ que fez o desenho dos *primers* e sondas. Dessa forma foram utilizadas sondas específicas para as variantes de interesse dos genes *CYP3A4* (*1B e *22), *CYP3A5* (*3, *6 e *7) e *ABCB1* (c.1236C>T, c.2677G>T e c.3435C>T).

Os desfechos utilizados para análise estatística foram: rejeição mediada por linfócitos T, nível sérico e reações adversas reportadas. Os dados foram analisados utilizando testes estatísticos como Teste de Fisher para análises qualitativas, ANOVA para análises quantitativas e foi considerado $\alpha=0,05$ para significância estatística. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o pacote estatístico SPSS 18.0.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

O tamanho amostral deste estudo é de 71 participantes, a partir de um universo de 279 indivíduos transplantados. Para algumas análises que exigiam dados de prontuário, foi possível incluir apenas 54 pacientes. A maior parte das exclusões ocorreu por falta de amostra armazenada ou não uso contínuo de TAC (136 pacientes). Além disso, apenas para os transplantes realizados após 2013 (129 pacientes) há dados completos de prontuário disponíveis. Sendo assim, a amostra analisada corresponde a 75% da amostra possível para este estudo (**figura 3**). A caracterização da amostra está descrita na **tabela 4**.

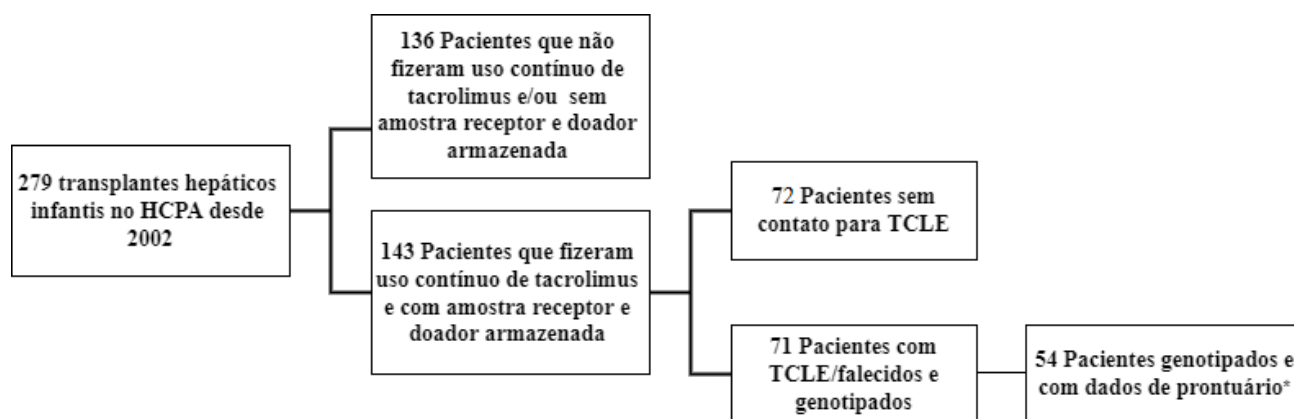


Figura 3 – Diagrama de pacientes incluídos no estudo

* para 18 pacientes não foi possível obter os dados de prontuário

Tabela 4 – Dados demográficos e sobre o transplante dos pacientes

Cor/Raça	N (%)
Branco	51 (71,83%)
Pardo	9 (12,86%)
Preto	11 (15,49%)
Gênero	
Feminino	31(43,66%)
Masculino	40 (56,33%)

Idade	
0	18 (25,35%)
1	12 (16,90%)
2	5 (7,04%)
3	9 (12,86%)
4	4 (5,63%)
5	3 (4,22%)
6	2 (2,82%)
7	4 (5,63%)
8	2 (2,82%)
9	3 (4,22%)
10	1 (1,42%)
11	1 (1,42%)
12	1 (1,42%)
13	3 (4,22%)
14	1 (1,42%)
15	2 (2,82%)

Estado	
RS	54 (76,06%)
SC	8 (11,27%)
PR	3 (4,22%)
Outros estados (AM, MA, RJ, RO, SP)	6 (8,45%)

Diagnóstico*	
Atresia de vias biliares	27 (38,03%)
IHA sem etiologia	6 (8,45%)
Doença da Urina do Xarope de Bordo	5 (7,04%)
Síndrome de Alagille	3 (4,22%)
Colangite esclerosante	3 (4,22%)
Deficiência de Alfa-1-Antitripsina	3 (4,22%)
Tirosinemia	3 (4,22%)
Outros*	21(29,6%)

Tipo de doador	
Doador falecido	46 (64,79%)
Doador vivo	25 (35,21%)

Tipo de fígado transplantado	
Inteiro	18 (25,35%)
Lóbulo esquerdo (LE)	12 (16,90%)
Segmento do lóbulo esquerdo (SLE)	41 (57,75%)

*Os seguintes diagnósticos foram encontrados em 2 pacientes (Cirrose criptogênica, fibrose cística, hepatoblastoma, colestase intra-hepática familiar progressiva, rejeição crônica) e em 1 paciente

(Doença de Caroli, cirrose cisto colédoco, doença do armazenamento de glicogênio tipo IV, hepatite autoimune, hemocromatose neonatal, hepatite viral A fulminante, hepatocarcinoma, IHA por Mitocondriopatia + ácido valpróico, porfiria, síndrome de Budd-Chiari, trombose da artéria hepática).
IHA= Insuficiência Hepática Aguda;

Dentre os 71 pacientes incluídos, 55 (77,46%) estão vivos atualmente e 53 (74,65%) não tiveram perda de enxerto. Considerando todo período analisado, 16 pacientes apresentaram ao menos uma reação adversa a medicamento, podendo estar associado a TAC.

Na primeira semana pós transplante, 8/51 pacientes (15,69%) estavam com nível sérico de TAC no alvo terapêutico desejado. Considerando a quarta semana pós transplante, 11/46 pacientes (23,91%) estavam com nível sérico no alvo. O número de pacientes que atingiram o nível sérico terapêutico manteve uma tendência de crescimento de 38,09% e 55,55% para a 8ª semana e 6º mês após o transplante, respectivamente. A maior parte dos pacientes necessitou ajustes de dose nas semanas analisadas (**Figura 4**).

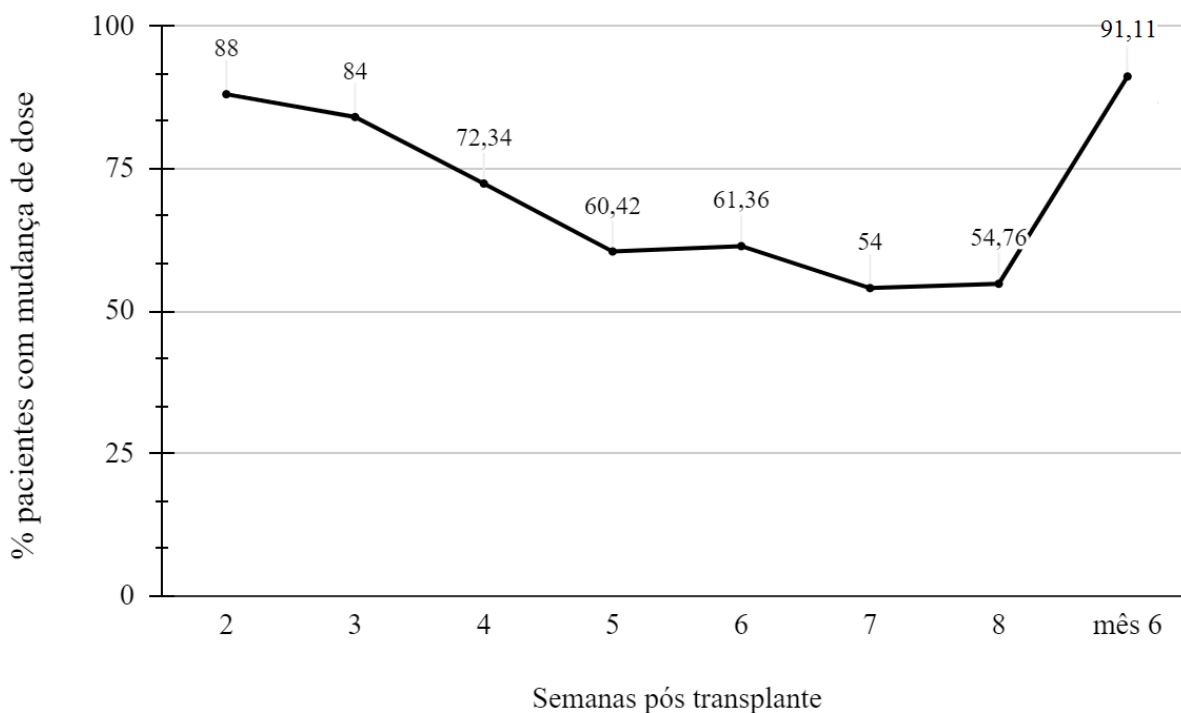


Figura 4 - Porcentagem de pacientes com mudança de dose em relação à semana anterior disponível

4.1 Associações entre fatores não genéticos e tacrolimus

O tamanho de fígado transplantado se mostrou associado à dose necessária na sexta semana após o transplante, sendo que pacientes que receberam fígado inteiro necessitaram doses 42,37% ($p=0,041$) menores em relação àqueles que receberam segmento do lóbulo esquerdo e 21,87% menores do que os que receberam lóbulo esquerdo. Durante a sétima semana após o transplante, indivíduos com fígado inteiro apresentaram necessidade de doses 36,42% menores ($p=0,029$) quando comparados aos que receberam lóbulo esquerdo.

A respeito do tipo de doador, pacientes com órgão recebido de doador vivo necessitaram de maiores doses de TAC durante as semanas 6 ($p=0,22$), 7 ($p=0,002$) e 8 ($p=0,002$) pós transplante quando comparados a doador falecido.

Os níveis séricos de TAC foram analisados em relação ao consumo concomitante com demais medicamentos conforme tabela suplementar 1. Cetamina, cloreto de magnésio, hidralazina, meropenem, ondansetron, sorbitol e sulfametoxazol+trimetoprima se associaram a aumento de nível sérico de TAC em diferentes semanas específicas, enquanto nistatina esteve associada com diminuição do nível sérico de TAC na terceira semana após transplante. A análise preliminar sobre dose de TAC e medicamentos concomitantes incluiu dois fármacos e as seguintes associações foram obtidas: o consumo de micofenolato gerou necessidade de maiores doses de TAC durante as semanas 2 ($p=0,019$), 3 ($p=0,031$), 7 ($p=0,028$) e 8 ($p=0,024$), enquanto a ingestão concomitante com anlodipina gerou necessidade de menores doses de TAC nas semanas 4 ($p=0,037$) e 6 ($p=0,021$) e de maior dose na semana 3 ($p=0,019$).

Em relação ao nível sérico de TAC e sobrevivência atual, observou-se que pacientes que seguem vivos apresentaram nível sérico 55,7% maior ao fim da 5ª semana pós-transplante ($p=0,024$) quando comparados aos pacientes que faleceram.

4.2 Associações entre fatores genéticos e tacrolimus

A frequência alélica observada para todas as variantes analisadas neste estudo são apresentadas na **tabela 5**. Todas as frequências observadas estão de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).

Tabela 5 - Frequências alélicas para as variantes analisadas

Variante	Alelo	Frequência	p-valor EHW
<i>ABCB1 c.1236C>T</i>	T	0,32	0,14
<i>ABCB1 c.2677G>T</i>	T	0,28	0,21
<i>ABCB1 c.3435C>T</i>	T	0,38	0,96
<i>CYP3A4*1B</i>	G	0,06	0,46
<i>CYP3A4*22</i>	T	0,02	0,83
<i>CYP3A5*3</i>	G	0,73	0,90
<i>CYP3A5*6</i>	T	0,03	0,75
<i>CYP3A5*7</i>	T	0,01	0,90

4.2.a. Variantes genéticas do receptor:

A presença de uma cópia da variante *CYP3A4*1B* em receptor está associada a nível sérico 35,41% menor ($p=0,046$) e dose 94,74% maior ($p=0,024$) na quarta semana após transplante, quando comparada a ausência deste alelo. Referente à variante *CYP3A5*3*, a presença de uma cópia está associada a nível sérico 136,36% maior na primeira ($p=0,012$), 61,48% maior na quarta ($p=0,035$) e 60,5% maior na sétima ($p=0,009$) semana após transplante, quando comparado a ausência deste alelo. Para a sexta semana, o mesmo padrão é observado quando a variante está em homozigose ($p=0,031$), com aumento de 34,14% no nível sérico. A variante *CYP3A5*3* quando em homozigose está associada com dose 43,94% menor para a semana 6 ($p=0,013$) e 54,76% menor para o 6º mês após transplante ($p=0,016$), quando comparados à heterozigotos. Quando há ao menos uma cópia de *CYP3A5*3*, a necessidade de dose é 46,75% menor para a semana 3 ($p=0,007$), 55,55% menor para a semana 4, 59,26% menor para a semana 5, 56,99% menor para a semana 7 e 51,85% menor para a semana 8 ($p=0,008$) quando comparados ausência deste alelo. Detalhes sobre esses resultados podem ser conferidos na **tabela 6**.

Tabela 6 – Associação entre genótipos de receptor, nível sérico e dose de tacrolimus

Receptor		Dose TAC																		
ABCBI		Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4		Semana 5		Semana 6		Semana 7		Semana 8		Mês 6		
Período pós transplante	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	ABCBI c.3435C>T	
Variante	CC	CT+TT	CC	CT+TT	CC	CT+TT	CC	CT+TT	CC	CT+TT	CC	CT+TT	CC	CT+TT	CC	CT+TT	CC	CT+TT	CC	CT+TT
Genótipo	25,00	31,00	15,00	35,00	15,00	35,00	12,00	34,00	13,00	35,00	11,00	32,00	14,00	35,00	13,00	29,00	12,00	33,00		
Frequência	0,24	0,36	0,4	0,35	0,51	0,43	0,65	0,47	0,64	0,47	0,58	0,46	0,55	0,43	0,48	0,42	0,19	0,32		
Dose da semana (mg/kg/dia)	p=0,044		p=0,537		p=0,456		p=0,179		p=0,217		p=0,328		p=0,342		p=0,597		p=0,228			
p-valor	p=0,044		p=0,537		p=0,456		p=0,179		p=0,217		p=0,328		p=0,342		p=0,597		p=0,228			

CYP3A4		Nível Sérico TAC																		
ABCBI		Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4		Semana 5		Semana 6		Semana 7		Semana 8		Mês 6		
Período pós transplante	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)
Gene	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG
Genótipo	49,00	7,00	49,00	6,00	50,00	6,00	45,00	6,00	46,00	6,00	42,00	5,00	44,00	6,00	39,00	6,00	47,00	5,00		
Frequência	7,05	5,17	8,35	6,3	8,59	11,08	10,11	6,53	9,2	9,7	10,33	8,58	9,6	8,32	9,79	9,52	7,25	8,08		
NS da semana (ng/mL)	p=0,262		p=0,264		p=0,097		p=0,046		p=0,777		p=0,397		p=0,370		p=0,879		p=0,459			
p-valor	p=0,262		p=0,264		p=0,097		p=0,046		p=0,777		p=0,397		p=0,370		p=0,879		p=0,459			

CYP3A4		Dose TAC																		
ABCBI		Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4		Semana 5		Semana 6		Semana 7		Semana 8		Mês 6		
Período pós transplante	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)	CYP3A4 (*1B)
Gene	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG
Genótipo	40,00	5,00	42,00	6,00	43,00	6,00	39,00	6,00	41,00	6,00	37,00	5,00	41,00	6,00	35,00	6,00	38,00	5,00		
Frequência	0,31	0,33	0,38	0,32	0,46	0,46	0,51	0,61	0,5	0,71	0,46	0,72	0,44	0,71	0,38	0,74	0,27	0,45		
Dose da semana (mg/kg/dia)	p=0,806		p=0,577		p=0,989		p=0,572		p=0,255		p=0,137		p=0,119		p=0,024		p=0,255			
p-valor	p=0,806		p=0,577		p=0,989		p=0,572		p=0,255		p=0,137		p=0,119		p=0,024		p=0,255			

CYP3A5		Nível Sérico TAC																		
ABCBI		Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4		Semana 5		Semana 6		Semana 7		Semana 8		Mês 6		
Período pós transplante	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)
Gene	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG
Genótipo	7,00	50,00	7,00	50,00	7,00	49,00	6,00	45,00	6,00	46,00	5,00	42,00	6,00	45,00	6,00	39,00	42,00	6,00	47,00	
Frequência	3,18	7,54	3,19	7,54	8,67	8,91	6,23	10,06	9,05	9,29	7,16	10,32	6,05	9,71	9,32	9,61	6,92	7,25		
NS da semana (ng/mL)	p=0,012		p=0,056		p=0,868		p=0,035		p=0,893		p=0,104		p=0,009		p=0,869		p=0,742			
p-valor	p=0,012		p=0,056		p=0,868		p=0,035		p=0,893		p=0,104		p=0,009		p=0,869		p=0,742			

CYP3A5		Dose TAC																		
ABCBI		Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4		Semana 5		Semana 6		Semana 7		Semana 8		Mês 6		
Período pós transplante	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)	CYP3A5 (*3)
Gene	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA+AG	c.6986 GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG	c.6986 AA	c.6986 AG+GG
Genótipo	7,00	38,00	7,00	42,00	7,00	42,00	6,00	39,00	6,00	41,00	17,00	25,00	6,00	42,00	5,00	39,00	5,00	39,00		
Frequência	0,33	0,32	0,51	0,35	0,77	0,41	0,99	0,44	1,08	0,44	0,66	0,37	0,93	0,4	0,54	0,26	0,54	0,26		
Dose da semana (mg/kg/dia)	p=0,882		p=0,091		p=0,007		p=0,001		p=0,00023		p=0,013		p=0,001		p=0,008		p=0,057			
p-valor	p=0,882		p=0,091		p=0,007		p=0,001		p=0,00023		p=0,013		p=0,001		p=0,008		p=0,057			

Para as semanas 2, 4, 5, 6, 7, 8 e 6° mês após o transplante, não houveram associações com os genótipos de ABCBI. Para as semanas 1, 2, 3, 5, 6, 7 e 6° mês após o transplante, não houveram associações com os genótipos de CYP3A4. Para as semanas 2 e 6° mês após o transplante, não houve associações com os genótipos de CYP3A5.

Em relação a *ABCB1*, a variante c.2677G>T quando em homozigose está associada com nível sérico 40,04% menor para a terceira semana ($p=0,011$) pós transplante, quando comparado a heterozigotos. A presença de ao menos uma cópia da variante c.3435C>T está associada a necessidade de doses 50% maiores durante a primeira semana ($p=0,044$) pós transplante. Entre os receptores homozigotos para a variante c.1236C>T em *ABCB1* a ocorrência de RAM (Reação Adversa a Medicamento) foi de 66,67% durante a primeira semana após transplante ($p=0,048$). Dentre os pacientes com o genótipo c.2677TT, 75% ($p=0,007$) apresentaram RAM durante a primeira semana.

A partir da análise das variantes encontradas, foi possível inferir os fenótipos dos receptores para os genes *CYP3A5* e *CYP3A4*. No caso de *CYP3A5*, metabolizadores normais apresentaram níveis séricos menores nas semanas 2 e 7, quando comparados a metabolizadores lentos e intermediários. Em relação à dose, o mesmo padrão foi observado para a maioria das semanas após a 3^o semana pós transplante. Na semana 6, 50% dos indivíduos com fenótipo inferido de metabolizador lento para *CYP3A5* tiveram nível sérico acima do alvo terapêutico ($p=0,039$). Na segunda semana, pacientes com fenótipo inferido para *CYP3A5* como metabolizador lento correspondem a 60% dentre os pacientes que apresentaram RAM ($p=0,045$). Para o gene *CYP3A4*, 80% ($n=4$) dos pacientes com fenótipo inferido de metabolizador ultrarrápido (duas cópias da variante *CYP3A4*1B*) tiveram nível sérico abaixo do alvo terapêutico na semana 6 ($p=0,033$) (**tabela 7**).

Tabela 7 - Associação entre fenótipos inferidos em receptor, nível sérico e dose de tacrolimus

Receptor		Nível Sérico TAC																																			
ABC1		Semana 1				Semana 2				Semana 3				Semana 4				Semana 5				Semana 6				Semana 7				Semana 8				Mês 6			
Período pós transplante		diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]							
Genótipo	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT				
Frequência	16,00	6,00	17,00	16,00	6,00	17,00	6,00	17,00	12,00	6,00	17,00	12,00	6,00	17,00	11,00	5,00	16,00	12,00	6,00	17,00	14,00	5,00	18,00	12,00	6,00	17,00	14,00	5,00	18,00	12,00	6,00	17,00	14,00				
NS da semana (ng/mL)	6,87	10,07	7,46	7,91	10,22	8,56	9,01	8,82	9,21	10,02	9,42	9,83	9,08	10,17	9,63	9,44	12,46	9,96	8,52	9,58	9,89	7,03	7,82	7,11	9,19	11,02	10,54										
p-valor		p=0,387			p=0,599			p=0,991			p=0,892			p=0,764			p=0,606			p=0,677			p=0,205														
Dose TAC		Semana 1				Semana 2				Semana 3				Semana 4				Semana 5				Semana 6				Semana 7				Semana 8				Mês 6			
Período pós transplante		diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]				diplótipo ABCB1 [c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]							
Genótipo	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT				
Frequência	11,00	5,00	15,00	13,00	6,00	15,00	12,00	6,00	15,00	10,00	6,00	16,00	10,00	6,00	17,00	8,00	5,00	16,00	11,00	6,00	17,00	10,00	5,00	13,00	10,00	5,00	13,00	10,00	5,00	16,00	10,00	5,00					
Dose da semana (mg/kg/dia)	0,23	0,35	0,39	0,42	0,29	0,32	0,58	0,44	0,36	0,76	0,45	0,38	0,72	0,45	0,4	0,66	0,32	0,38	0,61	0,26	0,38	0,56	0,24	0,42	0,2	0,25	0,21										
p-valor		p=0,229			p=0,546			p=0,394			p=0,130			p=0,245			p=0,167			p=0,184			p=0,462														
CYP3A4		Nível Sérico TAC																																			
Período pós transplante		Semana 1				Semana 2				Semana 3				Semana 4				Semana 5				Semana 6				Semana 7				Semana 8				Mês 6			
Variantes		CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22							
Escore de Metabolização	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores					
Frequência	3,00	46,00	7,00	3,00	46,00	6,00	3,00	47,00	6,00	2,00	43,00	6,00	2,00	44,00	6,00	2,00	40,00	5,00	2,00	42,00	6,00	3,00	36,00	6,00	3,00	36,00	6,00	3,00	44,00	5,00							
NS da semana (ng/mL)	8,07	6,98	5,17	9,4	8,28	6,3	9,97	8,5	11,08	9,7	10,12	6,53	8,65	9,22	9,7	7,45	10,47	8,58	8,05	9,68	9,22	12,07	9,6	9,52	9,4	7,1	8,08										
p-valor		p=0,487			p=0,488			p=0,197			p=0,138			p=0,943			p=0,443			p=0,532			p=0,609														
Dose TAC		Semana 1				Semana 2				Semana 3				Semana 4				Semana 5				Semana 6				Semana 7				Semana 8				Mês 6			
Variantes		CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*22							
Escore de Metabolização	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores						
Frequência	4,00	36,00	5,00	3,00	39,00	6,00	3,00	40,00	6,00	2,00	37,00	6,00	2,00	39,00	6,00	2,00	35,00	5,00	2,00	39,00	6,00	3,00	32,00	6,00	3,00	32,00	6,00	3,00	44,00	5,00							
Dose da semana (mg/kg/dia)	0,22	0,32	0,33	0,36	0,28	0,32	0,48	0,46	0,96	0,48	0,61	0,47	1,01	0,47	0,71	0,61	0,45	0,72	0,91	0,42	0,71	0,58	0,37	0,74	0,07	0,29	0,29	0,45									
p-valor		p=0,596			p=0,847			p=0,995			p=0,241			p=0,109			p=0,279			p=0,064			p=0,047														
CYP3A5		Nível Sérico TAC																																			
Período pós transplante		Semana 1				Semana 2				Semana 3				Semana 4				Semana 5				Semana 6				Semana 7				Semana 8				Mês 6			
Variantes		CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)							
Escore de Metabolização	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores						
Frequência	30,00	21,00	6,00	31,00	19,00	6,00	32,00	18,00	6,00	30,00	16,00	5,00	31,00	32,00	15,00	5,00	28,00	15,00	4,00	29,00	17,00	5,00	27,00	13,00	5,00	27,00	13,00	5,00	29,00	19,00	5,00						
NS da semana (ng/mL)	7,42	7,45	3,38	8,16	9,37	4,58	8,99	8,8	8,48	10,08	9,51	7,08	9,33	9,14	9,2	11,04	8,62	7,7	9,655	9,67	5,78	9,87	8,93	9,66	7,38	6,83	7,68										
p-valor		p=0,097			p=0,046			p=0,944			p=0,342			p=0,987			p=0,091			p=0,038			p=0,796														
Dose TAC		Semana 1				Semana 2				Semana 3				Semana 4				Semana 5				Semana 6				Semana 7				Semana 8				Mês 6			
Variantes		CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)				CYP3A5*3(0,73); CYP3A5*6(0,03); CYP3A5*7(0,01)							
Escore de Metabolização	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores	Metabolizadores						
Frequência	24,00	15,00	5,00	27,00	16,00	6,00	28,00	15,00	6,00	25,00	15,00	5,00	27,00	15,00	5,00	25,00	14,00	3,00	27,00	16,00	5,00	24,00	12,00	5,00	24,00	12,00	5,00	25,00	15,00	5,00							
Dose da semana (mg/kg/dia)	0,29	0,36	0,37	0,33	0,37	0,57	0,4	0,4	0,88	0,44	0,45	1,1	0,44	0,43	1,2	0,37	0,5	1,39	0,36	0,47	1,03	0,32	0,5	0,86	0,19	0,36	0,62										
p-valor		p=0,478			p=0,076			p=0,003			p=0,002			p=0,00023			p=0,000			p=0,001			p=0,005														

*Apenas os diplótipos principais, que representam 72,31% do total. Escore de metabolização de acordo com genótipo do paciente. Para *ABCB1*, não houve associações com os principais haplótipos. Para *CYP3A4*, não houveram associações com os fenótipos inferidos nas semanas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 6º mês após o transplante. Para *CYP3A5*, na semana 1 após o transplante, não houve associações com os fenótipos inferido.

4.2.b. Variantes genéticas do doador:

A variante *ABCB1c.3435C>T* quando em homozigose em doador está associada nível sérico 40,90% (p=0,016) maior para a quarta semana após transplante, quando comparado a presença de ao menos um alelo selvagem. Já a presença de ao menos um alelo contendo a variante, o aumento de 55,03% (p=0,029) e 29,91% (p=0,045) em nível sérico foi observado para a primeira e sexta semana após o transplante, respectivamente. Durante a segunda semana após o transplante, pacientes com fígado contendo ao menos uma cópia da variante *ABCB1c.1236C>T* apresentaram nível sérico 28,57% (p=0,011) menor quando comparado aos com a ausência da variante. A presença de ao menos uma cópia da variante *ABCB1c.3435C>T* no fígado está associada com necessidade de dose 65,96% (p=0,016) maior na segunda semana, 69,70% (p=0,018) maior na terceira semana, 106,25% (p=0,004) maior na quarta semana, 88,57% (p=0,012) maior na quinta semana, 111,11% (p=0,047) maior para o 6^o mês após o transplante (tabela 8). Quanto ao gene *CYP3A4*, a presença de uma cópia da variante *1B está associada a necessidade de dose 124% (p=0,022) maior durante a sexta semana (**tabela 8**).

Tabela 8 – Associação entre genótipos de doador, nível sérico e dose de tacrolimus

ABCBI

Doador		Nível Sérico TAC																
Período pós transplante	Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4		Semana 5		Semana 6		Semana 7		Semana 8		Mês 6	
Variante	ABCBI c.1236C>T		ABCBI c.1236C>T		ABCBI c.1236C>T		ABCBI c.1236C>T		ABCBI c.1236C>T		ABCBI c.1236C>T		ABCBI c.1236C>T		ABCBI c.1236C>T		ABCBI c.1236C>T	
Genótipo	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT
Frequência	27,00	29,00	27,00	28,00	27,00	27,00	23,00	27,00	23,00	29,00	20,00	26,00	22,00	28,00	21,00	23,00	26,00	27,00
NS da semana (ng/mL)	6,9	7,33	9,59	6,85	9,75	8,32	9,36	9,65	9,55	9,06	9,3	10,9	8,59	9,73	8,59	10,52	7,54	7,04
p-valor	p=0,717		p=0,011		p=0,115		p=0,816		p=0,673		p=0,222		p=0,218		p=0,119		p=0,448	

Doador		Nível Sérico TAC																
Período pós transplante	Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4		Semana 5		Semana 6		Semana 7		Semana 8		Mês 6	
Variante	ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T	
Genótipo	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT
Frequência	23,00	33,00	23,00	32,00	23,00	31,00	19,00	31,00	20,00	31,00	19,00	26,00	20,00	29,00	16,00	27,00	22,00	30,00
NS da semana (ng/mL)	5,67	8,22	8,77	7,76	9,25	8,58	8,64	10,05	9,89	8,72	8,56	11,12	9,34	9,11	9,39	9,4	7,03	7,51
p-valor	p=0,029		p=0,369		p=0,495		p=0,256		p=0,311		P=0,045		p=0,809		p=0,994		p=0,475	

Doador		Dose TAC																
Período pós transplante	Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4		Semana 5		Semana 6		Semana 7		Semana 8		Mês 6	
Variante	ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T		ABCBI c.3435C>T	
Genótipo	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT	CC	CT/TT
Frequência	17,00	28,00	20,00	28,00	20,00	27,00	18,00	26,00	19,00	27,00	18,00	22,00	19,00	27,00	16,00	23,00	19,00	24,00
Dose da semana (mg/kg/dia)	0,3	0,34	0,27	0,43	0,33	0,56	0,32	0,66	0,35	0,66	0,37	0,59	0,38	0,53	0,38	0,49	0,18	0,38
p-valor	p=0,486		p=0,016		p=0,018		p=0,004		p=0,012		p=0,061		p=0,214		p=0,360		p=0,047	

CYP3A4

Doador		Nível Sérico TAC																
Período pós transplante	Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4		Semana 5		Semana 6		Semana 7		Semana 8		Mês 6	
Gene	CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)	
Genótipo	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG
Frequência	49,00	7,00	48,00	7,00	47,00	7,00	43,00	6,00	45,00	6,00	40,00	5,00	43,00	6,00	38,00	5,00	46,00	7,00
NS da semana (ng/mL)	7,5	4,91	8,54	5,81	8,95	9,06	9,85	8,13	9,33	9,33	10,64	7,58	9,55	7,93	9,88	7,9	7,19	7,89
p-valor	p=0,142		p=0,099		p=0,941		p=0,352		p=0,999		p=0,139		p=0,242		p=0,320		p=0,475	

Doador		Dose TAC																
Período pós transplante	Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4		Semana 5		Semana 6		Semana 7		Semana 8		Mês 6	
Gene	CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)		CYP3A4 (*1B)	
Genótipo	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG	c.-392 AA	c.-392 AG
Frequência	38,00	8,00	41,00	7,00	40,00	7,00	37,00	6,00	40,00	6,00	36,00	4,00	40,00	6,00	34,00	5,00	38,00	6,00
Dose da semana (mg/kg/dia)	0,34	0,23	0,34	0,48	0,42	0,65	0,47	0,73	0,48	0,81	0,45	0,74	0,43	0,6	0,4	0,49	0,25	0,56
p-valor	p=0,123		p=0,149		p=0,095		p=0,148		p=0,071		p=0,112		p=0,283		p=0,524		p=0,022	

Para as semanas 7 e 8 após o transplante, não houveram associações com os genótipos de *ABCBI*. Para as semanas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 após o transplante, não houveram associações com os genótipos de *CYP3A4*. Não houve associações para o gene *CYP3A5*.

Considerando os diplótipos de *ABCB1* apresentados na tabela 9, para doador, diplótipos contendo CTG ou TTT apresentam nível sérico maior durante a sexta semana e necessidade de maiores doses nas semanas 2 e 3 quando comparados a apenas CCG. Durante a semana 1, 47,6% dos pacientes com fígado contendo o diplótipo CCG/CCG ou CCG/TTT (vide classificação da **tabela 9**) apresentaram nível sérico abaixo do alvo terapêutico para a semana 1 ($p=0,040$). Em relação a *CYP3A4*, 80% ($n=4$) com fenótipo inferido de metabolizador ultrarrápido apresentaram nível sérico abaixo do alvo terapêutico para semana 6 ($p=0,019$).

Tabela 9 – Associação entre haplótipos e fenótipos inferidos para doador, nível sérico e dose de tacrolimus

Doador		Nível Sérico TAC																																	
ABCBI		Semana 1				Semana 2				Semana 3				Semana 4				Semana 5				Semana 6				Semana 7				Semana 8				Mês 6	
Período pós transplante		diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI	
Variante		[c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]*				[c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]*				[c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]*				[c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]*				[c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]*				[c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]*				[c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]*				[c.1236C>T, c.3435C>T, cc.2677G>T]*					
Genótipo		CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	
Frequência		13,00	5,00	13,00	14,00	5,00	13,00	14,00	5,00	13,00	11,00	5,00	14,00	11,00	5,00	14,00	10,00	5,00	12,00	11,00	4,00	13,00	19,00	4,00	13,00	19,00	4,00	11,00	12,00	4,00	11,00	12,00	4,00	11,00	
NS da semana (ng/mL)		5,56	10,74	8,68	10,12	7,4	7,28	9,59	9,52	8,21	8,53	8,06	10,33	10,04	8,34	9,4	8,28	13,12	12,47	8,65	8,67	9,61	7,86	8,12	9,49	6,54	7,28	7,22	6,60	7,28	7,22	6,60			
p-valor		p=0,073				p=0,255				p=0,755				p=0,619				p=0,815				p=0,887				p=0,410				p=0,660					
Dose TAC		Semana 1				Semana 2				Semana 3				Semana 4				Semana 5				Semana 6				Semana 7				Semana 8				Mês 6	
Variante		diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI				diplótipo ABCBI	
Genótipo		CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	CCG/CCG	CCG/CTG	CCG/TTT	
Frequência		9,00	5,00	12,00	11,00	12,00	11,00	11,00	5,00	11,00	11,00	5,00	11,00	10,00	4,00	9,00	11,00	10,00	4,00	9,00	11,00	10,00	4,00	9,00	11,00	10,00	4,00	8,00	11,00	10,00	4,00	8,00	11,00	10,00	
Dose da semana (mg/kg/dia)		0,31	0,31	0,42	0,25	0,71	0,35	0,31	0,86	0,46	0,34	0,91	0,56	0,31	0,79	0,56	0,38	0,41	0,58	0,4	0,37	0,51	0,47	0,4	0,41	0,42	0,18	0,4	0,32	0,18	0,4	0,32			
p-valor		p=0,330				p=0,001				p=0,023				p=0,73				p=0,171				p=0,834				p=0,37				p=0,616					
CYP3A4		Nível Sérico TAC																																	
ABCBI		Semana 1				Semana 2				Semana 3				Semana 4				Semana 5				Semana 6				Semana 7				Semana 8				Mês 6	
Período pós transplante		CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*23				CYP3A4*1B; CYP3A4*24				CYP3A4*1B; CYP3A4*25				CYP3A4*1B; CYP3A4*26				CYP3A4*1B; CYP3A4*27				CYP3A4*1B; CYP3A4*28				CYP3A4*1B; CYP3A4*29				CYP3A4*1B; CYP3A4*30	
Variante		Metabolizadores Normais				Metabolizadores Ultrarrápidos				Metabolizadores Normais				Metabolizadores Ultrarrápidos				Metabolizadores Normais				Metabolizadores Ultrarrápidos				Metabolizadores Normais				Metabolizadores Ultrarrápidos				Metabolizadores Normais	
Escore de Metabolização		1,00	46,00	7,00	1,00	45,00	7,00	1,00	44,00	6,00	1,00	43,00	6,00	0,00	39,00	4,00	5,00	1,00	41,00	6,00	1,00	36,00	3,00	5,00	1,00	36,00	5,00	1,00	44,00	7,00	1,00	44,00	7,00		
Frequência		8,1	7,62	4,91	11,6	8,59	5,81	15,9	9,01	9,06	12,1	9,82	8,133	6	9,45	9,33	-	10,63	7,58	4,9	9,61	7,93	5,4	10,33	7,9	6,8	7,19	7,88	6,8	7,19	7,88				
NS da semana (ng/mL)		8,1	7,62	4,91	11,6	8,59	5,81	15,9	9,01	9,06	12,1	9,82	8,133	6	9,45	9,33	-	10,63	7,58	4,9	9,61	7,93	5,4	10,33	7,9	6,8	7,19	7,88	6,8	7,19	7,88				
p-valor		p=0,317				p=0,171				p=0,565				p=0,714				p=0,139				p=0,146				p=0,178				p=0,767					
Dose TAC		Semana 1				Semana 2				Semana 3				Semana 4				Semana 5				Semana 6				Semana 7				Semana 8				Mês 6	
Variante		CYP3A4*1B; CYP3A4*22				CYP3A4*1B; CYP3A4*23				CYP3A4*1B; CYP3A4*24				CYP3A4*1B; CYP3A4*25				CYP3A4*1B; CYP3A4*26				CYP3A4*1B; CYP3A4*27				CYP3A4*1B; CYP3A4*28				CYP3A4*1B; CYP3A4*29				CYP3A4*1B; CYP3A4*30	
Escore de Metabolização		1,00	35,00	8,00	1,00	38,00	7,00	3,00	40,00	6,00	1,00	35,00	6,00	1,00	38,00	6,00	0,00	35,00	4,00	1,00	38,00	6,00	1,00	32,00	5,00	0,00	37,00	6,00	0,00	37,00	6,00				
Frequência		0,18	0,34	0,23	0,14	0,35	0,48	0,12	0,42	0,65	0,08	0,48	0,73	0,06	0,48	0,81	-	0,44	0,74	0,06	0,43	0,6	0,08	0,41	0,49	-	0,24	0,56	0,24	0,56					
NS da semana (mg/kg/dia)		0,18	0,34	0,23	0,14	0,35	0,48	0,12	0,42	0,65	0,08	0,48	0,73	0,06	0,48	0,81	-	0,44	0,74	0,06	0,43	0,6	0,08	0,41	0,49	-	0,24	0,56	0,24	0,56					
p-valor		p=0,230				p=0,250				p=0,167				p=0,217				p=0,118				p=0,109				p=0,344				p=0,486					
CYP3A5		Nível Sérico TAC																																	
ABCBI		Semana 1				Semana 2				Semana 3				Semana 4				Semana 5				Semana 6				Semana 7				Semana 8				Mês 6	
Período pós transplante		CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)	
Variante		Metabolizadores Lentos				Metabolizadores Intermediários				Metabolizadores Normais				Metabolizadores Lentos				Metabolizadores Intermediários				Metabolizadores Normais				Metabolizadores Lentos				Metabolizadores Intermediários				Metabolizadores Normais	
Escore de Metabolização		34,00	19,00	2,00	33,00	19,00	2,00	32,00	16,00	2,00	33,00	17,00	2,00	29,00	15,00	2,00	31,00	17,00	1,00	27,00	15,00	1,00	27,00	15,00	1,00	25,00	15,00	1,00	35,00	16,00	1,00	35,00			
Frequência		7,68	6,79	3,6	8,11	8,98	3	9,17	9,24	7,8	9,24	10,43	6,65	9,3	9,25	9,15	10,34	10,5	5,95	9,59	9,37	3,5	10,27	9,07	7,7	7,46	6,93	5	6,93	5					
NS da semana (ng/mL)		7,68	6,79	3,6	8,11	8,98	3	9,17	9,24	7,8	9,24	10,43	6,65	9,3	9,25	9,15	10,34	10,5	5,95	9,59	9,37	3,5	10,27	9,07	7,7	7,46	6,93	5	6,93	5					
p-valor		p=0,387				p=0,143				p=0,852				p=0,414				p=0,998				p=0,375				p=0,144				p=0,490					
Dose TAC		Semana 1				Semana 2				Semana 3				Semana 4				Semana 5				Semana 6				Semana 7				Semana 8				Mês 6	
Variante		CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)				CYP3A5*30(73); CYP3A5*60(03); CYP3A5*70(01)	
Escore de Metabolização		29,00	14,00	1,00	30,00	15,00	2,00	29,00	15,00	2,00	28,00	14,00	2,00	30,00	15,00	2,00	27,00	13,00	1,00	25,00	15,00	1,00	25,00	15,00	1,00	25,00	15,00	1,00	29,00	14,00	0,00	29,00			
Frequência		0,33	0,34	0,07	0,32	0,40	0,73	0,44	0,43	1,2	0,48	0,48	1,32	0,52	0,48	1,1	0,48	0,46	1,22	0,47	0,42	1,39	0,45	0,35	1,61	0,28	0,31	-	0,31	-					
NS da semana (mg/kg/dia)		0,33	0,34	0,07	0,32	0,40	0,73	0,44	0,43	1,2	0,48	0,48	1,32	0,52	0,48	1,1	0,48	0,46	1,22	0,47	0,42	1,39	0,45	0,35	1,61	0,28	0,31	-	0,31	-					
p-valor		p=0,401				p=0,031				p=0,006				p=0,016				p=0,137				p=0,137				p=0,055				p=0,02					

*Apenas os haplótipos principais foram incluídos, representando 60,32% do total de haplótipos presentes na amostra. Para ABCBI, nas semanas 1, 4, 5, 7, 8 e 6° mês após o transplante, não houveram associações com os diplótipos. Para CYP3A4, nas semanas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 após o transplante, não houveram associações com os fenótipos inferidos. Para CYP3A5, nas semanas 1, 5, 6, 7 e 6° mês após o transplante, não houveram associações com os fenótipos inferidos.

Oitenta por cento dos pacientes falecidos apresentavam ao menos uma cópia da variante *ABCB1* c.2677G>T ($p=0,017$) no fígado doado.

CAPÍTULO 5. DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A complexidade envolvendo a farmacocinética de TAC exige a investigação de múltiplos fatores, genéticos e ambientais. Neste estudo retrospectivo, investigamos a influência de variantes genéticas nos genes *ABCB1*, *CYP3A5* e *CYP3A4* e de fatores não genéticos sobre parâmetros relacionados à resposta a TAC em pacientes pediátricos de transplante hepático. Este é o primeiro estudo deste tipo a ser realizado na população do Brasil. Em contexto brasileiro, TAC foi estudado em população adulta de outros estados e com foco em transplante renal (SANTORO et al., 2011; CUSINATO et al. 2014; VECCHIA GENVIGIR et al., 2016; VECCHIA GENVIGIR et al., 2020)

Em relação aos fatores não genéticos, a heterogeneidade de faixa etária, o tipo de transplante e demais medicamentos usados concomitantemente afetam a relação com o imunossupressor. De Wildt e colaboradores (2011) reportaram que, tanto para transplante de fígado quanto para de rim, crianças com menos de 5 anos apresentam maior depuração e necessitam de maiores doses de TAC. O tamanho do fígado doado em relação ao tamanho corporal do paciente pediátrico também é um fator de distinção, somado ao período de regeneração até o pleno funcionamento do órgão, principalmente em transplantes com doador vivo durante os primeiros 30 dias (STAATZ et al., 2001; ITOHARA et al., 2019). Staatz e colaboradores (2010) afirmam que o principal órgão que influencia a disposição TAC inicialmente é o intestino (e enzimas com o genótipo do paciente) na fase inicial após o transplante, alterando para o fígado do enxerto (com as enzimas codificadas a partir do genótipo do doador) quando ocorre a recuperação da função metabólica do órgão.

O uso de medicações concomitantes pode interferir com TAC por induzir a expressão, competir pelo uso ou inibir as enzimas relacionadas a sua farmacocinética. De acordo com o descrito pelo consórcio de especialistas europeus em tacrolimus, o aumento no nível sérico de TAC foi reportado para uso concomitante com os seguintes fármacos: cloranfenicol, claritromicina, clotrimazol, ciclosporina, danazol, diltiazem, eritromicina, fluconazol, itraconazol, cetoconazol, metilprednisolona, mibefradil e nefazodona (WALLEMAQ et al., 2009). Observações clínicas demonstram a diminuição do nível sérico de TAC com uso concomitante de rifampicina. Na bula de Tarfic®: tacrolimus (Bula de Medicamento, 2015), além dos medicamentos supracitados, são mencionados os inibidores de *CYP3A4* (que levam ao aumento do nível sérico) como telaprevir, boceprevir, ritonavir, voriconazol e telitromicina. Rifabutina é mencionada como indutora de *CYP3A4*,

levando a diminuição do nível sérico de TAC. O uso concomitante de corticosteróides e TAC também demanda maiores doses de TAC para atingir o alvo terapêutico, por conta dessa classe de medicamentos causar a indução de CYP3A e glicoproteína-P (HESELINK et al., 2003 *apud* ROBLES PIEDRAS and MONROY FUNES, 2011).

A comparação entre níveis séricos de TAC com demais medicamentos de uso concomitante apresentou associação em semanas específicas, não parecendo ser uma associação consistente. Por outro lado, quando comparados com a dose de TAC, pacientes que ingeriram anlodipina apresentaram necessidades de menores doses de TAC em vários momentos analisados. A anlodipina já foi reportada por diminuir a atividade de enzimas CYP, incluindo *CYP3A4* (ZHAO et al., 2012; ZUO et al., 2013) - portanto alterando a velocidade de metabolização de TAC, gerando um aumento do nível sérico e fazendo com que seja possível atingir o nível sérico terapêutico com doses de TAC menores. Para micofenolato, fármaco de função imunossupressora como TAC, observamos comportamento inverso, de necessidade de maiores doses de TAC. Os estudos sobre a interação desses dois medicamentos parecem ser discordantes, sugerindo maior influência de outros fatores sobre os resultados. Kagaya e colaboradores (2008) não encontraram interações farmacocinéticas para transplante renal na população japonesa, enquanto Strojil e colaboradores (2017) observaram necessidade de menores doses de TAC na presença de micofenolato para transplante renal na população da república Tcheca. Kim e colaboradores (2019) reportaram relação dependente do fenótipo de *CYP3A5*, onde pacientes que não expressam a enzima e fazem uso de micofenolato apresentam razão NS/dose maior.

Como visualizado na figura 4, houve um aumento no número de pacientes sem alterações na dose ao longo das semanas. Ao passar do tempo, com a recuperação da cirurgia, outros fatores confundidores que podem interferir na farmacocinética de TAC são estabilizados e a partir da TDM, por tentativa e erro, se encontra a dose correta. A depuração de TAC tem sua taxa praticamente dobrada ao passar pelos primeiros 3 dias pós transplante e após 35 dias, diminui novamente com a estabilização e regeneração do enxerto (LEE et al., 2006). De qualquer forma, o uso de informações farmacogenéticas nesses pacientes daria maior assertividade à prescrição, contribuindo com um ajuste de dose com maior antecedência. Um estudo clínico realizado com pacientes pediátricos de transplante de órgãos sólidos demonstrou que a prescrição guiada pela genética alcançou o alvo terapêutico

em média 3,4 dias antes quando comparado àqueles que receberam a dosagem padrão guiada pela TDM (MIN et al., 2018).

Em relação aos dados genéticos, as frequências alélicas observadas neste estudo foram similares às descritas na literatura para população latina e brasileira (conforme mostrado nas tabelas 1 e 2). Em relação à correlação dos dados clínicos com os dados genotípicos, os resultados também convergiram para o esperado. Receptores com fenótipo metabolizador lento para *CYP3A5* apresentam NS acima do adequado e maior prevalência de RAMs. Esse resultado sugere a importante atuação de *CYP3A5* no intestino, onde ocorre a pré-metabolização do fármaco (UESUGI et al., 2006). Huang e colaboradores (2019) encontraram associação entre pacientes homocigotos para *CYP3A5*3* e maiores níveis séricos de TAC, principalmente nos primeiros três meses pós transplante. Shao e colaboradores (2020) demonstraram a influência do genótipo de *CYP3A5* tanto para o fígado (genótipo do doador) quanto para o intestino (genótipo do receptor) sobre a depuração de TAC em seus modelos estatísticos, solidificando a importância dessa informação para ajustes de dose. Guy-Viterbo e colaboradores (2014), ao estudarem pacientes pediátricos de transplante hepático da França e Bélgica, construíram um modelo farmacocinético para TAC que incluiu *CYP3A4*22* em receptor e doador e expressão de *CYP3A5* em doador. Outros estudos (CHEN et al., 2014; LI et al., 2007; GENVIGIR et al., 2020) utilizaram a razão nível sérico/dose como parâmetro clínico para comparação, portanto não foi possível a comparação direta com nossos achados. De qualquer forma, nossos dados e os demais descritos na literatura estão de acordo com reportado pela diretriz para TAC do CPIC (BIRDWELL et al., 2015) e do RNPGx (WOILLARD et al., 2017), que recomendam dose menor para os pacientes homocigotos para *CYP3A5*3*. É importante frisar que as diretrizes são baseadas em estudos para a população adulta e se destinam a esse público.

Para as análises que consideraram apenas as variantes individualmente e não o fenótipo inferido, a falta de associação encontrada para *CYP3A5*6* e *CYP3A5*7* pode se dever a sua baixa frequência, visto que tal como *CYP3A5*3* resultam na expressão de proteínas não funcionais (KUEHL et al., 2001; RODRIGUEZ-ANTONA et al. 2022). *CYP3A4*1B* aparece associado a menor nível sérico e maior dose na quarta e oitava semana respectivamente para receptor e maior dose no sexto mês em doador, também de acordo com o esperado pois a variante gera atividade aumentada da enzima (SHI; TANG; ZHAI, 2015).

Por outro lado, *ABCB1* tem sua influência sobre TAC inconsistente na maioria dos estudos (BARBARINO et al., 2013). Coller e colaboradores (2019) não encontraram associação entre haplótipos contendo as 5 variantes mais comuns para *ABCB1* (incluindo as 3 avaliadas em nosso estudo) e nível sérico de TAC ajustado pela dose no terceiro e sexto mês após transplante. Riegersperger e colaboradores (2016) também não encontraram associação entre variantes de *ABCB1* e nível sérico ou razão entre nível sérico e dose em pacientes austríacos de transplante de rim que fazem uso de TAC a longo prazo. Vecchia Genvigir e colaboradores (2016), por outro lado, encontraram associação entre portadores de variante c.2677 não GG, necessidade de menores doses e maior razão entre nível sérico e dose em pacientes brasileiros de transplante renal. Considerando outros estudos pediátricos, Min e colaboradores (2018) não encontraram nenhuma associação com variantes de *ABCB1* e Hawwa e colaboradores (2009) encontraram associação entre as variantes c.3435C>T e c.2677G>T individualmente, o haplótipo TTT das variantes c.1236C>T, c.3435C>T, c.2677G>T com maior ajuste de dose pré acerto do alvo terapêutico e com nefrotoxicidade. No presente estudo, encontramos associação com o haplótipo das variantes c.1236C>T, c.3435C>T, c.2677G>T no fígado com maior nível sérico e maiores doses de TAC. Pela glicoproteína-P ser um transportador de membrana celular e uma bomba de efluxo, nossa hipótese para o achado é de que possa estar relacionado ao menor efluxo do fármaco para fora dos hepatócitos, assim necessitando de maiores doses para atingir o nível sérico terapêutico. Estudos funcionais envolvendo c.3435C>T demonstram a diminuição na expressão de mRNA e por conseguinte, da proteína codificada (WANG and SAADÉ, 2006). As variantes c.1236C>T, c.3435C>T, c.2677G>T estão em forte desequilíbrio de ligação, porém através de estudos *in vitro*, confirmou-se o papel central da variante c.3435C>T na diminuição da expressão de mRNA mediante desestabilização da molécula (WANG et al., 2005), o que corrobora com nossa hipótese.

Já foi demonstrado que durante o desenvolvimento fetal e em crianças pequenas, o gene *CYP3A7* é mais ativo, transicionando a maior atividade de *CYP3A4* com o aumento da idade e hormônios até a fase adulta (KANT; BRENNAN, 2022). No entanto, neste trabalho optamos por analisar os genes *CYP3A4* e *CYP3A5* pois é consenso atualmente que são as principais enzimas atuando sobre o metabolismo por *CYP3A* do fármaco e consequentemente, incluem variantes de relevância clínica (FRANCIS LAM, Y.U; CAVALLARI L., 2013). De qualquer forma, se faz necessário evidências específicas para a

população infantil, visto que as recomendações em diretrizes atualmente se voltam à população adulta e podem haver diferenças entre os dois públicos.

A implementação clínica da farmacogenética não acompanha a mesma velocidade dos achados da ciência. Fatores como a presença de variantes raras sem caracterização funcional, estudos de baixo impacto/confiabilidade (pequeno número amostral, falta de validação em coortes independentes) e a falta de instrução sobre farmacogenética entre os prescritores fazem com que a ponte entre as informações comprovadas na pesquisa e a aplicação na clínica demore a ser atravessada (LAUSCHKE; INGELMAN-SUNDBERG, 2020). O resultado de questionários que buscam entender a recepção da farmacogenética por profissionais da saúde demonstram a percepção da relevância da área para o âmbito clínico, porém apontam para falta de educação e treinamento adequado para sua aplicação efetiva (KREBS and MILANI, 2019). Além dos demais obstáculos na implementação de dados farmacogenômicos na rotina clínica, para o Brasil o uso de fatores como cor da pele para indexar fenótipos de metabolização pode esconder a mistura de variantes resultantes da miscigenação (SORTICA, 2012). Um menor número de estudos e desconhecimento por parte dos profissionais de saúde também dificulta a sua implementação no nosso país. Assim, se fazem necessários estudos farmacogenômicos específicos para conhecermos a frequência e o *pool* gênico da população brasileira (RODRIGUES-SOARES; SUAREZ-KURTZ, 2019).

A heterogeneidade inter-individual presente nos genomas é um obstáculo na implementação da medicina personalizada e se fazem necessários estudos para aumentar a caracterização de variantes. A recente tecnologia de sequenciamento de nova geração auxilia na identificação de variantes com potencial farmacogenético, que acabam não sendo cobertas pelos métodos de análise tradicionais por focarem na busca de associação a partir de hipóteses prévias (LAUSCHKE; INGELMAN-SUNDBERG, 2020). Apesar disso, vários fármacos como varfarina e clopidogrel já tem atestada recomendação de testagem farmacogenética prévia ao uso (DUARTE and CAVALLARI, 2021). Estudos de custo-efetividade demonstram os efeitos positivos da incrementação da testagem farmacogenética, como o realizado por AltheaDx que estimou uma economia anual de 549 euros por paciente testado (SHULDINER et al., 2013 apud KREBS and MILANI, 2019) e um estudo focado em medicações psiquiátricas que estimou uma economia anual de 916 euros quando

comparados àqueles com prescrição padrão (WINNER et al., 2015 apud KREBS and MILANI, 2019).

Como limitações, este estudo passou por obstáculos como dados faltantes nos prontuários, problemática intrínseca a estudos retrospectivos. A indisponibilidade de dados de prontuário pré-2013 quanto a trocas de dose e reações adversas reduziu o universo de pacientes com possibilidade de inclusão no estudo. Entretanto, não seria possível realizar um estudo prospectivo durante o período do mestrado, visto que o número de transplantes pediátricos é em torno de 20 por ano. Por conta de o período das medidas clínicas diferirem entre os pacientes, foi necessário estipular pontos (dias do fim de cada semana) para comparação estatística e tal recorte pode ter ocasionado na perda de informações que apareceriam em uma análise mais consecutiva. Optamos pela análise de pontos dentro dos primeiros dois meses após o transplante e um ponto no sexto mês (quando a dose já estaria mais estabilizada, de acordo com o discutido com a equipe do THI), tendo em vista o objetivo da predição e adequação de dose em período precoce. Estudos como o de Riva e colaboradores (2019) analisaram dados do período pós primeiro mês pós transplante, a fim de evitar confundidores atrelados a desestabilização pela cirurgia e com o acompanhamento pós transplante por dois anos, pôde produzir um modelo mais robusto para pacientes pediátricos de transplante hepático - incluindo o genótipo *CYP3A5* para doador e tempo pós transplante como variáveis. Outros estudos, como Vecchia Genvigir e colaboradores (2020) acompanharam o quadro clínico durante todo primeiro ano pós transplante renal de brasileiros adultos, sendo possível a descrição de maior estabilização do nível sérico de TAC somente após os 6 meses.

Por fim, a pandemia de COVID-19 impactou muitas etapas deste estudo. A submissão do projeto ao comitê de ética ocorreu em meio a incertezas sobre o cenário sanitário dos semestres subsequentes. Houve atraso no início previsto para a coleta de TCLEs, visto que as consultas presenciais de ambulatório foram suspensas e, portanto, não foi possível contato com os pacientes até meados de 2021. Além disso, a interdição de atividades presenciais não essenciais na universidade e HCPA por conta da quarentena desde abril de 2020 fez com que apenas a partir de julho de 2021 fosse possível o desarquivamento das amostras para realização das extrações de DNA e genotipagens. Durante esse período de adiamento do início da execução do projeto, foi possível desenvolver um projeto paralelo que resultou no artigo "Sales of "COVID kit" drugs and adverse drug reactions reported by

the Brazilian Health Regulatory Agency”, publicado em julho de 2022 na revista *Cadernos de Saúde Pública*, disponível no anexo 3 desta dissertação.

Como perspectivas futuras para este trabalho, pretendemos incluir mais pacientes a fim de dar mais robustez às análises estatísticas e concluir a avaliação da associação entre outros medicamentos de uso concomitante e dose de TAC. Adicionalmente, temos a intenção de realizar uma análise multivariada com os principais achados significativos clínicos, demográficos e genéticos com intuito de gerar um algoritmo de predição de dose para TAC baseado em nossa população. Também pretendemos testar os dados observados em algoritmos de predição de dose já descritos na literatura (como os apresentados na tabela 3). Há a possibilidade de explorar outras variantes e outros genes, como *ACE*, *POR*, *CYP3A7* e demais *CYPs*, que, apesar de não ter sido significativo em outros estudos (CHEN et al., 2014; GENVIGIR et al., 2020), não foram investigados dentro da população gaúcha e, mesmo com menor influência, podem auxiliar na compreensão global da variabilidade de resposta a TAC.

REFERÊNCIAS

Andrews LM et al. (2017) A Population Pharmacokinetic Model to Predict the Individual Starting Dose of Tacrolimus Following Pediatric Renal Transplantation. *Clinical Pharmacokinetics* v. 57 n. 4: 475–489.

Andrews LM et al. (2019) A population pharmacokinetic model to predict the individual starting dose of tacrolimus in adult renal transplant recipients. *British Journal of Clinical Pharmacology* v. 85 n. 3: 601–615. (a).

Andrews LM et al. (2019) A Population Pharmacokinetic Model Does Not Predict the Optimal Starting Dose of Tacrolimus in Pediatric Renal Transplant Recipients in a Prospective Study: Lessons Learned and Model Improvement. *Clinical Pharmacokinetics* v. 59 n. 5: 591–603 (b).

Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO). (2021) Dimensionamento dos Transplantes no Brasil e em cada estado (2014-2021). *Ano XXVIII* (4): 1-88.

Bader A et al. (2000) Primary porcine enterocyte and hepatocyte cultures to study drug oxidation reactions. *British Journal of Pharmacology* v. 129 n. 2: 331–342.

Barbarino J M et al. (2013) PharmGKB summary. *Pharmacogenetics and Genomics* v. 23 n. 10: 563–585.

Benkali K et al. (2010) Population Pharmacokinetics and Bayesian Estimation of Tacrolimus Exposure in Renal Transplant Recipients on a New Once-Daily Formulation. *Clinical Pharmacokinetics* v. 49 n. 10: 683–692.

Birdwell KA et al. (2015) Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for *CYP3A5* Genotype and Tacrolimus Dosing. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* v. 98 n. 1: 19–24.

Brunet M et al. (2019) Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus-Personalized Therapy: Second Consensus Report. *Ther Drug Monit* v.41:261–307.

Calvo PL et al. (2017) Donor *CYP3A5* genotype influences tacrolimus disposition on the first day after paediatric liver transplantation. *British Journal of Clinical Pharmacology* v. 83 n. 6: 1252–1262.

Chen YK, Han LZ, Xue F, Shen CH, Lu J, Yang TH, Zhang JJ and Xia Q (2014) Personalized tacrolimus dose requirement by *CYP3A5* but not *ABCB1* or *ACE* genotyping in both recipient and donor after pediatric liver transplantation. *PLoS One* 9:9–12.

Camara TQ (comp.). Registro Brasileiro de Transplantes: dimensionamento dos transplantes no Brasil e em cada estado. 2019. Elaborada pela Associação Brasileira de Transplante de Órgãos, <http://www.abto.org.br/abtov03/Upload/file/RBT/2019/RBT-2019-leitura.pdf>. (July 31, 2020)

Coelho T, Tredger M, Dhawan A (2012) Current status of immunosuppressive agents for solid organ transplantation in children. *Pediatric Transplantation* v. 16 n. 2: 106–122.

Coller JK. et al. (2019) The impact of liver transplant recipient and donor genetic variability on tacrolimus exposure and transplant outcome. *British Journal of Clinical Pharmacology* v. 85 n. 9: 2170–2175.

Cuenca AG, Kim HB, Vakili K (2017). Pediatric liver transplantation. *Seminars in Pediatric Surgery* v. 26 n. 4: 217–223.

Cusinato DAC, Lacchini R, Romao EA, Moysés-Neto M and Coelho EB (2014) Relationship of CYP3A5 genotype and ABCB1 diplotype to tacrolimus disposition in Brazilian kidney transplant patients. *Br J Clin Pharmacol* 78:364–372

Dai Y et al. (2006) Effect of *CYP3A5* polymorphism on tacrolimus metabolic clearance in vitro. *Drug Metabolism and Disposition* v. 34 n. 5: 836–847.

De mare-bredemeijer ELD, Metselaar HJ (2012) Optimization of the use of Calcineurin inhibitors in liver transplantation. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* v. 26 n. 1: 85–95.

De wildt SN et al.(2011) The interactions of age, genetics, and disease severity on tacrolimus dosing requirements after pediatric kidney and liver transplantation. *European Journal of Clinical Pharmacology* v. 67 n. 12: 1231–1241.

Duarte JD and Cavallari LH (2021) Pharmacogenetics to guide cardiovascular drug therapy. *Nat Rev Cardiol* 18:649–665.

Fernández de Gatta MD et al. (2002) Immunosuppressive Therapy for Paediatric Transplant Patients. *Clinical Pharmacokinetics* v. 41 n. 2: 115–135.

Francis Lam YW, Cavallari L (2013) *Pharmacogenomics: Challenges and Opportunities in Therapeutic Implementation*, 1st ed.

Francke MI et al. (2020) The pharmacogenetics of tacrolimus and its implications for personalized therapy in kidney transplant recipients. *Expert Review of Precision Medicine and Drug Development*:1–4.

Fukudo M et al.(2006) Population pharmacokinetic and pharmacogenomic analysis of tacrolimus in pediatric living-donor liver transplant recipients. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* v. 80 n. 4: 331–345.

Guy-Viterbo V et al. (2014) Influence of donor–recipient CYP3A4/5 genotypes, age and fluconazole on tacrolimus pharmacokinetics in pediatric liver transplantation: a population approach. *Pharmacogenomics* v. 15 n. 9: 1207–1221.

Hannachi I et al. (2020) Effect of CYP3A4*22 and CYP3A4*1B but not CYP3A5*3 polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetic model in Tunisian kidney transplant. *Toxicology and Applied Pharmacology* v. 39:115000.

Hawwa AF, McKiernan PJ, Shields M, Millership JS, Collier PS and McElnay JC (2009) Influence of ABCB1 polymorphisms and haplotypes on tacrolimus nephrotoxicity and dosage requirements in children with liver transplant. *Br J Clin Pharmacol* 68:413–421.

Huang L et al. (2019) Impact of CYP3A4/5 and ABCB1 polymorphisms on tacrolimus exposure and response in pediatric primary nephrotic syndrome. *Pharmacogenomics* v. 20 n. 15: 1071–1083.

Itohara K, Yano I, Tsuzuki T, Uesugi M, Nakagawa S, Yonezawa A, Okajima H, Kaido T, Uemoto S and Matsubara K (2019) A Minimal Physiologically-Based Pharmacokinetic Model for Tacrolimus in Living-Donor Liver Transplantation: Perspectives Related to Liver Regeneration and the cytochrome P450 3A5 (CYP3A5) Genotype. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 8:587–595.

Jalil MHA, Hawwa AF, McKiernan PJ, Shields MD and McElnay JC (2014) Population pharmacokinetic and pharmacogenetic analysis of tacrolimus in paediatric liver transplant patients. *Br J Clin Pharmacol* 77:130–140.

Jun KR et al. (2009) Tacrolimus concentrations in relation to CYP3A and ABCB1 polymorphisms among solid organ transplant recipients in Korea. *Transplantation* v. 87 n. 8: 1225–1231.

Kagaya H, Miura M, Satoh S, Inoue K, Saito M, Inoue T, Habuchi T and Suzuki T (2008) No pharmacokinetic interactions between mycophenolic acid and tacrolimus in renal transplant recipients. *J Clin Pharm Ther* 33:193–201.

Kamath BM and Olthoff KM (2010) Liver Transplantation in Children: Update 2010. *Pediatr Clin North Am* 57:401–414.

Kant S and Brennan DC (2022) Combining Clinical and Genetic Factors to Predict Tacrolimus Levels in Pediatric Solid Organ Transplants: Problem Solved? *Transplantation* 106:449–450.

Kapp A, Allen B and Reitamo S (2003) Atopic dermatitis management with tacrolimus ointment (Protopic®). *J Dermatolog Treat* 14:5–16.

Kausman JY, Patel B, Marks SD (2008) Standard dosing of tacrolimus leads to overexposure in pediatric renal transplantation recipients. *Pediatric Transplantation* v.12 n.3: 329–335.

Kelly D (2011) Safety and efficacy of tacrolimus in pediatric liver recipients. *Pediatric Transplantation* v.15 n. 1: 19–24.

Kieling C et al. (2013) Programa de Transplante Hepático Infantil do Hospital de Clínicas de Porto Alegre: resultados dos doze primeiros transplantes hepáticos intervivos. *Revista AMRIGS* v. 57 n. 4: 265-272

Kim JH, Han N, Kim MG, Kim YW, Jang H, Yun H-Y, Yu M-Y, Kim I-W, Kim YS and Oh JM (2019) Model based development of tacrolimus dosing algorithm considering CYP3A5 genotypes and mycophenolate mofetil drug interaction in stable kidney transplant recipients. *Sci Rep* 9:11740.

Kim V et al. (2020) Brazilian cohort and genes encoding for drug metabolizing enzymes and drug transporters. *Pharmacogenomics* v.21 n.9: 2020-0013.

Kohlrausch FB, Carracedo A, Hutz MH (2014) Characterization of *CYP1A2*, *CYP2C19*, *CYP3A4* and *CYP3A5* polymorphisms in South Brazilians. *Molecular Biology Reports* v. 41 n. 3: 1453–1460.

Krebs K and Milani L (2019) Translating pharmacogenomics into clinical decisions: do not let the perfect be the enemy of the good. *Hum Genomics* 13:39. doi: 10.1186/s40246-019-0229-z.

Kuehl P et al. (2001) Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nature Genetics* v. 27 n. 4: 383–391.

Lauschke VM, Ingelman-Sundberg M (2020) Emerging strategies to bridge the gap between pharmacogenomic research and its clinical implementation. *npj Genomic Medicine* v. 5 n. 1: 9.

Lee JY, Hahn HJ, Son IJ, Suh KS, Yi NJ, Oh JM and Shin WG (2006) Factors Affecting the Apparent Clearance of Tacrolimus in Korean Adult Liver Transplant Recipients. *Pharmacotherapy* 26:1069–1077

Li D et al. (2007) Polymorphisms of tumor necrosis factor- α , interleukin-10, cytochrome P450 3A5 and ABCB1 in Chinese liver transplant patients treated with immunosuppressant tacrolimus. *Clinica Chimica Acta* v. 383 n. 1–2: 133–139.

McCarey DW, Capell HA and Madhok R (2004) Tacrolimus therapy in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 43:946–948.

Min S, Papaz T, Lafreniere-Roula M, Nalli N, Grasemann H, Schwartz SM, Kamath BM, Ng V, Parekh RS, Manlhiot C et al. (2018) A randomized clinical trial of age and genotype-guided tacrolimus dosing after pediatric solid organ transplantation. *Pediatr Transplant* 22:e13285

Naushad SM et al. (2019) Recipient ABCB1, donor and recipient CYP3A5 genotypes influence tacrolimus pharmacokinetics in liver transplant cases. *Pharmacological Reports* v. 71 n. 3: 385–392.

Niemann C (org.) (2019). ILTS Pediatric Liver Transplantation Global Census 2019. Elaborada pela International Liver Transplantation Society, https://s3.amazonaws.com/wp-ilsts-media/wp-content/uploads/2019/11/26190554/Report_Pediatric-Liver-Transplantation-Global-Census.pdf (July 31,2020).

Niioka T et al. (2013) Pharmaceutical and genetic determinants for interindividual differences of tacrolimus bioavailability in renal transplant recipients. *European Journal of Clinical Pharmacology* v. 69 n. 9: 1659–1665.

Oliveira JTP (2017) Avaliação de adesão ao tacrolimo em crianças submetidas ao transplante hepático ortotópico. 95 f. Dissertação (Mestrado em Gastroenterologia e Hepatologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017. <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/159148> (July 31,2020).

Pallet N et al. (2015) Kidney transplant recipients carrying the CYP3A4*22 allelic variant

have reduced tacrolimus clearance and often reach supratherapeutic tacrolimus concentrations. *American Journal of Transplantation* v. 15 n. 3: 800–805

Paulussen A et al. (2000) Two linked mutations in transcriptional regulatory elements of the *CYP3A5* gene constitute the major genetic determinant of polymorphic activity in humans. *Pharmacogenetics* v. 10 n. 5: 415–424.

Prytula A et al. (2016) Tacrolimus Predose Concentration Is Associated With Hypertension in Pediatric Liver Transplant Recipients. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* v. 63 n. 6: 616–623.

Riegersperger M, Plischke M, Steinhauser C, Jallitsch-Halper A, Sengoelge G, Winkelmayr W, Sunder-Plassmann G and Födinger M (2016) The Effect of ABCB1 Polymorphisms on Serial Tacrolimus Concentrations in Stable Austrian Long-Term Kidney Transplant Recipients. *Clin Lab*.

Riva N, Woillard JB, Distefano M, Moragas M, Dip M, Halac E, Cáceres Guido P, Licciardone N, Mangano A, Bosaleh A et al. (2019) Identification of Factors Affecting Tacrolimus Trough Levels in Latin American Pediatric Liver Transplant Patients. *Liver Transplant* 25:1397–1407.

Robles Piedras AL and Monroy Funes MA (2011) Clinical Pharmacokinetics of Triple Immunosuppression Scheme in Kidney Transplant (Tacrolimus, Mycophenolate Mofetil and Corticosteroids). *Underst Complexities Kidney Transplant*.

Rodrigues-Soares F, Kehdy FSG, Sampaio-Coelho J, Andrade PXC, Céspedes-Garro C, Zolini C, Aquino MM, Barreto ML, Horta BL, Lima-Costa MF et al. (2018) Genetic structure of pharmacogenetic biomarkers in Brazil inferred from a systematic review and population-based cohorts: a RIBEF/EPIGEN-Brazil initiative. *Pharmacogenomics J* 18:749–759.

Rodrigues-Soares F, Suarez-Kurtz G (2019) Pharmacogenomics research and clinical implementation in Brazil. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* v. 124 n. 5: 538–549.

Rodriguez-Antona C, Savieo JL, Lauschke VM, Sangkuhl K, Drögemöller BI, Wang D, van Schaik RHN, Gilep AA, Peter AP, Boone EC et al. (2022) PharmVar GeneFocus: *CYP3A5*. *Clin Pharmacol Ther* 0:1–13.

Sanghavi K et al. (2017) Genotype-guided tacrolimus dosing in African-American kidney transplant recipients. *The Pharmacogenomics Journal* v. 17 n. 1: 61–68.

Santoro AB et al. (2013) *CYP3A5* genotype, but not *CYP3A4*1b*, *CYP3A4*22*, or hematocrit, predicts tacrolimus dose requirements in Brazilian renal transplant patients. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* v. 94 n. 2: 201–202.

Santoro AB et al. (2011) Pharmacogenetics of calcineurin inhibitors in Brazilian renal transplant patients. *Pharmacogenomics* v. 12 n. 9: 1293–1303.

Shao J et al. (2020) Impact of Donor and Recipient *CYP3A5*3* Genotype on Tacrolimus Population Pharmacokinetics in Chinese Adult Liver Transplant Recipients. *Annals of*

Pharmacotherapy v.54 n.7: 652-661

Shi W-L, Tang HL, Zhai S-D (2015) Effects of the CYP3A4*1B Genetic Polymorphism on the Pharmacokinetics of Tacrolimus in Adult Renal Transplant Recipients: A Meta-Analysis. PLOS ONE v. 10 n. 6: e0127995.

Shuker N, Van Gelder T, Hesselink DA (2015) Intra-patient variability in tacrolimus exposure: Causes, consequences for clinical management. Transplantation Reviews v. 29 n. 2: 78–84.

Sortica V de A, Ojopi EB, Genro JP, Callegari-Jacques S, Ribeiro-dos-Santos Â, de Moraes MO, Romano-Silva MA, Pena SDJ, Suarez-Kurtz G and Hutz MH (2012) Influence of Genomic Ancestry on the Distribution of SLCO1B1, SLCO1B3 and ABCB1 Gene Polymorphisms among Brazilians. Basic Clin Pharmacol Toxicol 110:460–468.

Staatz CE, Taylor PJ, Lynch S V., Willis C, Charles BG and Tett SE (2001) Population pharmacokinetics of tacrolimus in children who receive cut-down or full liver transplants. Transplantation 72:1056–1061.

Staatz CE, Tett SE (2004) Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. Clinical Pharmacokinetics v. 43 n. 10: 623–653.

Strojil J, Orság J, Fürst T, Urbánek K, Anzenbacher P and Krejčí K (2017) Possible interaction between mycophenolate mofetil and tacrolimus in kidney transplant patients. Klin Farmakol a Farm 31:3–6.

Suarez-Kurtz G et al. (2014) Global Pharmacogenomics: Distribution of CYP3A5 Polymorphisms and Phenotypes in the Brazilian Population. PLoS ONE v. 9 n. 1: e83472.

Swen JJ et al. (2011) Pharmacogenetics: From Bench to Byte— An Update of Guidelines. Clinical Pharmacology & Therapeutics v. 89 n. 5: 662–673.

Tarfic®: tacrolimus. [Bula de Medicamento]. Responsável técnico Cintia Delphino de Andrade. São Paulo: Libbs Farmacêutica Ltda; 2015. https://www.libbs.com.br/wp-content/uploads/2015/12/Tarfic-capsula_Profissional-V7-15-ampliada.pdf (July 31,2020).

Thervet E et al. (2010) Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing. Clinical Pharmacology and Therapeutics v. 87 n. 6: 721–726.

Tron C et al. (2019) Pharmacogenetics of Membrane Transporters of Tacrolimus in Solid Organ Transplantation. Clinical Pharmacokinetics v. 58 n. 5: 593–613.

Uesugi M, Masuda S, Katsura T, Oike F, Takada Y and Inui K (2006) Effect of intestinal CYP3A5 on postoperative tacrolimus trough levels in living-donor liver transplant recipients. Pharmacogenet Genomics 16:119–127.

Uno T et al. (2018) Impact of the CYP3A5*1 Allele on the Pharmacokinetics of Tacrolimus in Japanese Heart Transplant Patients. European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics v. 43 n. 6: 665–673.

Vecchia Genvigir FD, Salgado PC, Felipe CR, Luo EYF, Alves C, Cerda A, Tedesco-Silva H, Medina-Pestana JO, Oliveira N, Rodrigues AC et al. (2016) Influence of the CYP3A4/5 genetic score and ABCB1 polymorphisms on tacrolimus exposure and renal function in Brazilian kidney transplant patients. *Pharmacogenet Genomics* 26:462–472.

Vecchia Genvigir FD et al. (2020) CYP3A5*3 and CYP2C8*3 variants influence exposure and clinical outcomes of tacrolimus-based therapy. *Pharmacogenomics* v. 21 n. 1: 7–21.

Wallemacq P et al. (2009) Opportunities to Optimize Tacrolimus Therapy in Solid Organ Transplantation: Report of the European Consensus Conference. *Therapeutic Drug Monitoring* v. 31 n. 2: 139–152.

Wang D et al. (2011) Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. *Pharmacogenomics Journal* v. 11 n. 4: 274–286.

Wang D and Sadée W (2006) Searching for polymorphisms that affect gene expression and mRNA processing: Example ABCB1 (MDR1). *AAPS J* 8:E515–E520.

Wang DD, Chen X, Fu M, Zheng QS, Xu H and Li ZP (2020) Model extrapolation to a real-world dataset: evaluation of tacrolimus population pharmacokinetics and drug interaction in pediatric liver transplantation patients. *Xenobiotica* 50:371–379.

Woillard JB et al. (2017) Pharmacogenetics of immunosuppressants: State of the art and clinical implementation – recommendations from the French National Network of Pharmacogenetics (RNPGx). *Therapie* v. 72 n. 2: 285–299.

Zhao W, Baudouin V, Fakhoury M, Storme T, Deschênes G and Jacqz-Aigrain E (2012) Pharmacokinetic Interaction Between Tacrolimus and Amlodipine in a Renal Transplant Child. *Transplantation* 93:e29–e30.

Zuo XC et al. (2013) Effects of CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetics in Chinese adult renal transplant recipients: A population pharmacokinetic analysis. *Pharmacogenetics and Genomics* v. 23 n. 5: 251–261.

Zuo X, Zhou Y, Zhang B, Yang G, Cheng Z, Yuan H, Ouyang D, Liu S, Barrett JS, Li P et al. (2013) Effect of CYP3A5*3 Polymorphism on Pharmacokinetic Drug Interaction between Tacrolimus and Amlodipine. *Drug Metab Pharmacokinet* 28:398–405.

ANEXOS

Anexo 1 - Tabela suplementar 1 – Associação entre nível sérico de tacrolimus e medicações concomitantes.

Medicamentos		Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4		Semana 5		Semana 6		Semana 7		Semana 8		Mês 6	
		Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
cetamina	Nível sérico TAC (ng/mL)	6,59 (n=28)	8,08 (n=20)	7,35 (n=43)	11,60 (n=5)	9,27 (n=44)	9,15 (n=4)	9,44 (n=42)	4,6 (n=2)	9,79 (n=40)	8,6 (n=5)	9,69 (n=37)	16,7 (n=3)	9,31 (n=43)	7,4 (n=2)	10,32 (n=36)	11,23 (n=3)	7,4 (n=45)	- (n=0)
	p-valor		p=0,265	p=0,031		p=0,948		p=0,088		p=0,521		p=0,007		p=0,403		p=0,702			
cloreto de magnésio	Nível sérico TAC (ng/mL)	7,29 (n=35)	7,01 (n=13)	6,76 (n=24)	8,82 (n=24)	9,14 (n=20)	9,35 (n=28)	9,25 (n=13)	9,21 (n=31)	9,92 (n=14)	9,54 (n=31)	10,39 (n=11)	10,15 (n=29)	7,44 (n=10)	9,74 (n=35)	8,73 (n=6)	10,69 (n=33)	7,39 (n=18)	7,41 (n=27)
	p-valor		p=0,855		p=0,088		p=0,841		p=0,971		p=0,764		p=0,881	p=0,038		p=0,264		p=0,980	
hidralazina	Nível sérico TAC (ng/mL)	6,40 (n=46)	9,54 (n=12)	8,13 (n=50)	8,26 (n=7)	8,92 (n=49)	8,8 (n=8)	9,7 (n=46)	8,62 (n=6)	9,24 (n=46)	9,57 (n=7)	10,37 (n=43)	8,48 (n=5)	9,42 (n=48)	8,17 (n=4)	9,67 (n=45)	10,6 (n=1)	7,4 (n=45)	- (n=0)
	p-valor		0,024		p=0,940		p=0,931		p=0,556		p=0,839		p=0,354		p=0,468		p=0,824		
meropenem	Nível sérico TAC (ng/mL)	7,18 (n=28)	7,26 (n=20)	8 (n=34)	6,94 (n=13)	9,42 (n=36)	9 (n=11)	8,57 (n=37)	12,67 (n=6)	9,30 (n=39)	12,66 (n=5)	10,42 (n=34)	8,44 (n=5)	9,26 (n=42)	7,35 (n=2)	10,60 (n=36)	6,75 (n=2)	7,5 (n=43)	5,25 (n=2)
	p-valor		p=0,954		p=0,445		p=0,736		p=0,016		p=0,069		p=0,363		p=0,405		p=0,184		p=0,193
nistatina	Nível sérico TAC (ng/mL)	6,96 (n=19)	7,38 (n=29)	8,44 (n=35)	5,57 (n=12)	9,71 (n=39)	7,45 (n=8)	9,11 (n=39)	9,4 (n=4)	9,82 (n=41)	7,77 (n=3)	10,28 (n=37)	8 (n=2)	9,36 (n=41)	6,67 (n=3)	10,62 (n=35)	7,87 (n=3)	7,4 (n=45)	- (n=0)
	p-valor		p=0,759	p=0,040			p=0,107		p=0,892		p=0,384		p=0,490		p=0,153		p=0,253		
ondansetron	Nível sérico TAC (ng/mL)	5,35 (n=17)	8,23 (n=31)	7,01 (n=16)	8,18 (n=32)	9,12 (n=19)	9,36 (n=29)	8,34 (n=16)	9,72 (n=28)	9,89 (n=23)	9,42 (n=22)	10,17 (n=20)	10,26 (n=20)	8,78 (n=25)	9,79 (n=20)	11,28 (n=22)	9,24 (n=17)	7,42 (n=44)	6,5 (n=1)
	p-valor		p=0,033		p=0,365		p=0,825		p=0,264		p=0,692		p=0,953		p=0,283		p=0,107		p=0,706
sorbitol	Nível sérico TAC (ng/mL)	6,60 (n=42)	11,34 (n=5)	7,65 (n=43)	8,3 (n=4)	9,58 (n=45)	3,55 (n=2)	9,03 (n=41)	11,4 (n=2)	9,83 (n=42)	6,6 (n=2)	10,31 (n=38)	4,6 (n=1)	9,17 (n=44)	- (n=0)	10,4 (n=38)	- (n=0)	7,4 (n=45)	- (n=0)
	p-valor		p=0,025		p=0,771		p=0,019		p=0,412		p=0,257		p=0,212		-		-		
sulfametoxazol + trimetoprima	Nível sérico TAC (ng/mL)	7,02 (n=33)	7,3 (n=14)	7,99 (n=21)	7,48 (n=26)	9,36 (n=15)	9,31 (n=32)	9,34 (n=11)	9,07 (n=32)	9,89 (n=9)	9,63 (n=35)	11,03 (n=7)	9,98 (n=32)	6,29 (n=8)	9,82 (n=36)	10,54 (n=30)	9,89 (n=8)	7,44 (n=9)	7,39 (n=36)
	p-valor		p=0,851		p=0,687		p=0,965		p=0,852		p=0,862		p=0,581		p=0,003		p=0,686		p=0,951

Anexo 2 – Termo De Consentimento Livre e Esclarecido

Nº do projeto GPPG ou CAAE 39338720.4.0000.5327

Seu filho/a ou pessoa pela qual você é responsável está sendo convidado a participar da pesquisa "**Farmacogenética do Tacrolimus em pacientes transplantados**", cujo objetivo é verificar a influência dos genes no efeito do medicamento Tacrolimus sobre o desfecho após transplante hepático. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Grupo de Estudos em Farmacogenética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) com colaboração do Programa de Transplante Hepático Infantil do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você aceitar que ele/ela participe da pesquisa, os procedimentos envolvidos são os seguintes:

- 1 - Autorizar o acesso ao material biológico armazenado (biópsias de fígado pré e pós transplante) para extração de DNA;
- 2 - Autorizar o acesso às informações de prontuário relacionadas à dosagem de Tacrolimus e dados clínicos relativos ao transplante.

Nesse estudo serão avaliados genes envolvidos apenas na metabolização do Tacrolimus. Os resultados desse estudo ficarão disponíveis no prontuário do paciente e poderão auxiliar o médico nas futuras prescrições.

Os possíveis riscos decorrentes da participação na pesquisa são o esgotamento do material biológico existente e a quebra de confidencialidade das informações obtidas. Os pesquisadores se comprometem a garantir o sigilo e a confidencialidade dos dados, bem como a integridade do material biológico.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não autorizar a participação, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento prestado na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, o seu nome não aparecerá na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável, Dra. Ursula Matte, pelo telefone 3359-7473, com a pesquisadora Mariana Botton, pelo telefone 3359-8852 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Av. Protásio Alves, 211 - Portão 4 - 5º andar do Bloco C - Rio Branco - Porto Alegre/RS, de segunda à sexta, das 8h às 17h, telefone (51) 33596246, e-mail cep@hcpa.edu.br.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

Nome do pesquisador que aplicou o termo

Nome do responsável

Assinatura do responsável

Assinatura do pesquisador

Local e Data: _____

Anexo 3 – Carta de aprovação do projeto no Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

Grupo de Pesquisa e Pós Graduação

Carta de Aprovação

Projeto

2020/0558

Pesquisadores:

URSULA DA SILVEIRA MATTE

MARIANA RODRIGUES BOTTON

MARINA HENTSCHE LOPES

Número de Participantes: 130

Título: Farmacogenética do Tacrolimus em pacientes transplantados

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos, metodológicos, logísticos e financeiros para ser realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Esta aprovação está baseada nos pareceres dos respectivos Comitês de Ética e do Serviço de Gestão em Pesquisa.

- Os pesquisadores vinculados ao projeto não participaram de qualquer etapa do processo de avaliação de seus projetos.

- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG).

22/12/2020



Assinado digitalmente por:

PATRICIA ASHTON PROLLA

Grupo de Pesquisa e Pós-graduação

28/12/2020 16:14:00

<https://registro-externo.hcpa.edu.br/pesquisa/publico/cadastroapoioc/conferenciaArquivo.xhtml?co>

Anexo 4 – Outras produções desenvolvidas durante o período de mestrado: Artigo publicado “Sales of "COVID kit" drugs and adverse drug reactions reported by the Brazilian Health Regulatory Agency”

Sales of “COVID kit” drugs and adverse drug reactions reported by the Brazilian Health Regulatory Agency

Vendas de “kit-COVID” e reações adversas a esses medicamentos relatadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Ventas de medicamentos del “kit-COVID” y reacciones adversas a los medicamentos notificadas por la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria

Marina Hentschke-Lopes ^{1,2}

Mariana R. Botton ¹

Pâmella Borges ¹

Martiel Freitas ^{1,2}

Aline Castello Branco Mancuso ³

Ursula Matte ^{1,2}

doi: 10.1590/0102-311XEN001022

Abstract

Off-label use of azithromycin, hydroxychloroquine, and ivermectin (the “COVID kit”) has been suggested for COVID-19 treatment in Brazil without clinical or scientific evidence of efficacy. These drugs have known adverse drug reactions (ADR). This study aimed to analyze if the sales of drugs in the “COVID kit” are correlated to the reported number of ADR after the COVID-19 pandemic began. Data was obtained from the Brazilian Health Regulatory Agency (Anvisa) website on reported sales and ADRs for azithromycin, hydroxychloroquine, and ivermectin for all Brazilian states. The period from March 2019 to February 2020 (before the pandemic) was compared to that from March 2020 to February 2021 (during the pandemic). Trend adjustment was performed for time series data and cross-correlation analysis to investigate correlation between sales and ADR within the same month (lag 0) and in the following months (lag 1 and lag 2). Spearman’s correlation coefficient was used to assess the magnitude of the correlations. After the pandemic onset, sales of all investigated drugs increased significantly (69.75% for azithromycin, 10,856,481.39% for hydroxychloroquine, and 12,291,129.32% for ivermectin). ADR levels of all medications but azithromycin were zero before the pandemic, but increased after its onset. Cross-correlation analysis was significant in lag 1 for all drugs nationwide. Spearman’s correlation was moderate for azithromycin and hydroxychloroquine but absent for ivermectin. Data must be interpreted cautiously since no active search for ADR was performed. Our results show that the increased and indiscriminate use of “COVID kit” during the pandemic correlates to an increased occurrence of ADRs.

COVID-19; Drug-Related Side Effects and Adverse Reactions; Azithromycin; Hydroxychloroquine; Ivermectin

Correspondence

M. Hentschke-Lopes

Laboratório de Células, Tecidos e Genes, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Rua Ramiro Barcelos 2350, Porto Alegre, RS 90035-007, Brasil. mari_hentschke@hotmail.com

¹ Laboratório de Células, Tecidos e Genes, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

³ Unidade de Bioestatística, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil.



Introduction

During the COVID-19 pandemic, a set of drugs including azithromycin, hydroxychloroquine, and ivermectin was proposed as prophylactic or early treatment for COVID-19 in Brazil and other countries ^{1,2,3,4,5}. As of April 2020, increasing evidence showed that these medicines were inefficient against the disease ^{6,7,8}. Some groups, however, continued to advocate the off-label use of such drugs. Off-label administration is acceptable if no standard therapy is available for a serious condition and if its potential benefit is evidenced ^{9,10}.

Potential adverse drug reactions (ADR) may occur even for recommended drugs. The World Health Organization (WHO) defines ADR as “a response to a drug which is noxious and unintended, and which occurs at doses normally used in man for the prophylaxis, diagnosis, or therapy of disease or for the modification of physiological function” ¹¹ (p. 40). In turn, Edwards & Aronson ¹² (p. 1255) define it as “an appreciably harmful or unpleasant reaction, resulting from an intervention related to the use of a medicinal product, which predicts hazard from future administration and warrants prevention or specific treatment, or alteration of the dosage regimen, or withdrawal of the product”.

The Brazilian Health Regulatory Agency (Anvisa) has a national surveillance program on ADR. The agency reports on and discloses pharmacovigilance data on their website, an important resource to record the safety of medicines and the late ADRs that often escape clinical research ¹³. The website also presents data on release of controlled medicines, such as the ones used for the early treatment of COVID-19.

Melo et al. ¹⁴ described the ADRs reported for patients with COVID-19 during the first half of 2020. On average, 1.6 ADRs were reported per patient, and the drugs frequently associated with were those included in the “COVID kit”. The authors also found that pharmacists notified the most ADRs whereas physicians notified the least, raising discussion on underreporting and the importance of training health professionals in pharmacovigilance. Also, Melo et al. ¹⁵ stress that notifications reported in the VigiMed system do not discriminate whether the drug was used by medical indication or self-medication.

This study aimed to analyze if the sales of azithromycin, hydroxychloroquine, and ivermectin increased after the onset of the COVID-19 pandemic and if this is correlated with increased reports of ADR.

Methodology

Data were obtained from the Anvisa website both for sales ¹⁶ and for reported ADR ¹⁷. Drugs included in the search were azithromycin, hydroxychloroquine, and ivermectin. Sales history was selected considering both manipulated and industrialized drugs, and the number of sales was converted to grams if presented in another measurement. Chloroquine was not included since it lacked available industrialized sales data. The monthly history was obtained from March 2019 to February 2021 to analyze the 12 months before and after the onset of the COVID-19 pandemic (Brazil’s first case of COVID-19 was diagnosed on February 26, 2020, and WHO declared the pandemic on March 11, 2020).

The history was assessed by cross-correlation analysis to investigate correlation between sales and ADR within the same month (lag 0) and in the following month (lag 1) or two months (lag 2) after sales. The necessary adjustments for time series data were performed. Spearman’s correlation coefficient was used to assess the magnitude of the correlations. Such analyses were conducted for the whole country’s total data and by regions for each drug. Statistical significance was considered as $p < 0.05$. This research did not receive or use any funding.

Results

In the pre-pandemic period (from March 2019 to February 2020), azithromycin was the most sold drug nationwide. As a broad-spectrum antibiotic, it was mostly sold in the South and Southeast regions, which present more cases of respiratory infections¹⁸. After the pandemic onset, sales of azithromycin grew 60.18% in these regions and 69.75% nationwide (Table 1). On the other hand, before the pandemic, only the Northeast and Southeast regions of Brazil reported hydroxychloroquine sales. These sales increased nationwide from 72g to 7,816,738.60g (or 7.8 ton) in the next 12 months after the onset (10,856,481.39% increase). Sales of ivermectin, an antiparasitic drug, rose from 1.22g to 150,444.65g (12,291,129.32% increase).

Reported ADRs also increased. Before the pandemic, ADR levels were zero to most drugs but azithromycin, which went from 16 to 80 reported ADRs after the pandemic onset (Table 1). In the next 12 months, 150 ADRs of hydroxychloroquine and six ADRs of ivermectin were reported. Figure 1 shows the behavior of sales and reported ADRs in Brazil over the studies period.

The cross-correlation analysis showed that increased azithromycin sales were significantly correlated with increased ADR notifications in the following month both nationwide (correlation of 0.522, in lag 1) and in the Central-West Region (correlation of 0.517, in lag 1). Higher hydroxychloroquine sales were significantly correlated with increased ADRs within the same month for Brazil (correlation of 0.498, in lag 0) and regions South (correlation of 0.490, in lag 0) and Southeast (correlation of 0.562, in lag 0). Ivermectin sales also exploded, and the cross-correlation analysis with related ADR showed significant coefficients for a late correlation in Brazil (correlation of 0.681, in lag 2) and in the Central-

Table 1

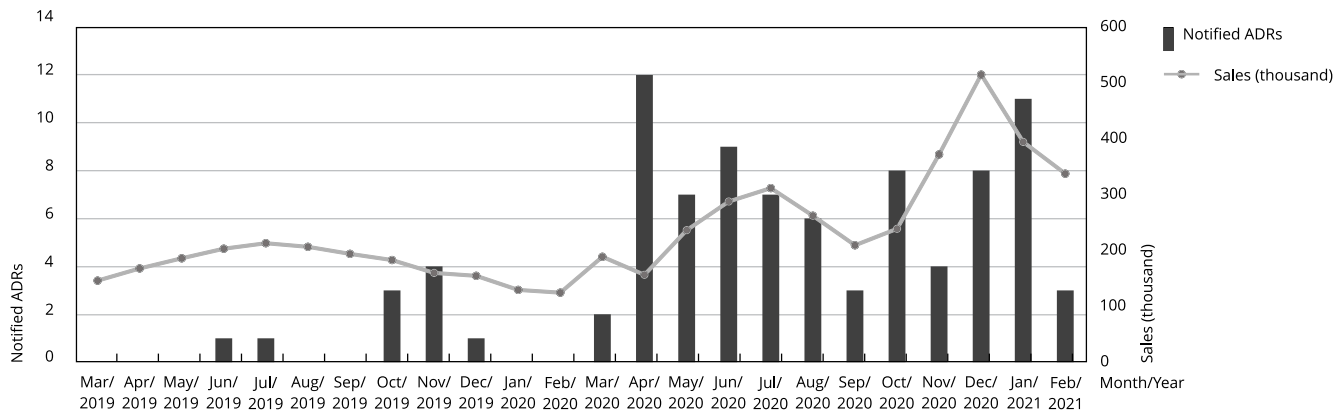
Total number of reported sales (in grams) and reported adverse drug reactions (ADRs) of azithromycin, hydroxychloroquine, and ivermectin in the 12 months pre- and post-onset of the COVID-19 pandemic for each region of Brazil.

Drug/Region	Sales (in grams)		Reported ADRs	
	Pre-pandemic	Post-pandemic	Pre-pandemic	Post-pandemic
Azithromycin				
Central-West	104,721.70	222,787.94	8	17
North	88,407.55	247,782.60	0	0
Northeast	392,584.56	665,555.63	3	12
South	544,913.43	837,195.62	1	4
Southeast	936,880.93	1,536,323.91	4	47
Total	2,067,508.16	3,509,645.70	16	80
Hydroxychloroquine				
Central-West	0.00	528,661.30	0	3
North	0.00	312,067.07	0	0
Northeast	48.00	1,715,558.08	0	30
South	0.00	2,006,754.80	0	17
Southeast	24.00	3,253,697.35	0	100
Total	72.00	7,816,738.60	0	150
Ivermectin				
Central-West	0.22	3,369.76	0	1
North	0.20	12,198.79	0	0
Northeast	0.26	99,751.36	0	2
South	0.02	7,961.08	0	1
Southeast	0.52	27,163.65	0	2
Total	1.22	150,444.65	0	6

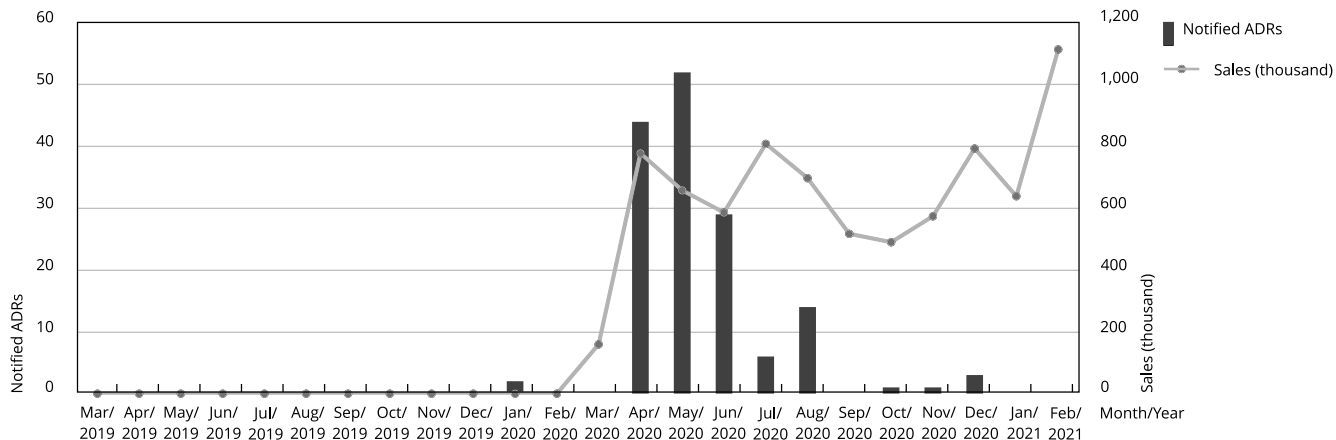
Figure 1

Monthly sales and reported adverse drug reactions (ADRs) in Brazil (all regions considered) between pre- and post-pandemic onset for azithromycin, hydroxychloroquine, and ivermectin.

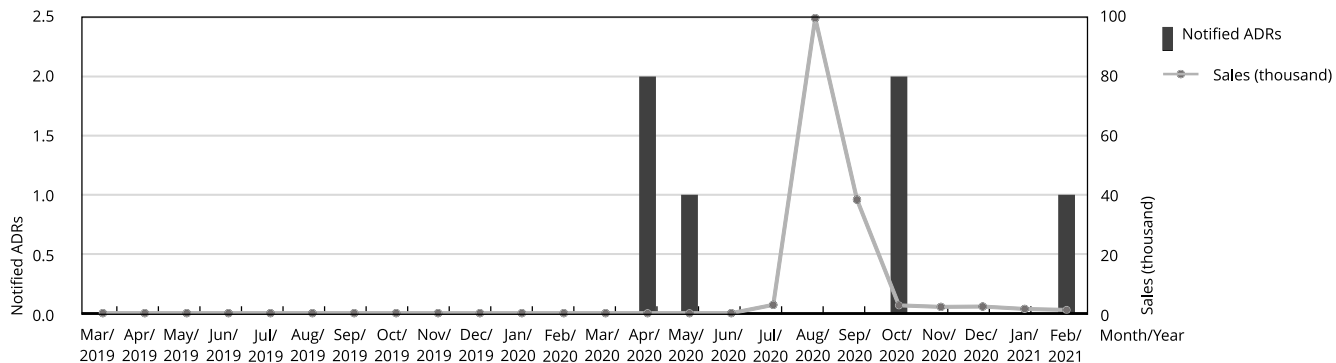
1a) Azithromycin



1b) Hydroxychloroquine



1c) Ivermectin



West Region (correlation of 0.942, in lag 2) but an early correlation in the Southeast (correlation of 0.820, in lag 1). Figure 2 shows the observed cross-correlation analysis for the country.

Similarly, in Spearman's correlation analysis (Table 2) azithromycin and hydroxychloroquine were moderately correlated to ADRs (according to Devore¹⁹) during and one month after sales nationwide. By region, however, only hydroxychloroquine showed moderate levels of correlation in the South, Southeast, and Northeast regions. Ivermectin was not correlated to ADRs in any scenario.

Discussion and conclusion

ADRs are a major concern for all used drugs. However, they are underreported even in intra-hospital scenarios²⁰. In this study, we used a public database on drug dispensing and ADRs. Despite obvious limitations, we can assume that information for drug dispensing is more accurate due to legal constraints. Since 2008, Brazil has an online database, the National System for Management of Controlled Substances (SNGPC; <http://sngpc.anvisa.gov.br/>), which registers the sales of pharmacies^{16,21}.

Among all drugs considered in this study, azithromycin and hydroxychloroquine are evidently associated with ADRs related to prolonged QT interval^{22,23,24}. The literature shows that hydroxychloroquine is also related to neurotoxicity and retinopathy²⁵. ADRs like gastrointestinal distress, confusion, ataxia, hypotension and seizures have been reported after high dosage exposure to ivermectin²⁶. In all cases, ADRs depend on dose and duration of exposure to the drug.

Drug label information for azithromycin suggests taking daily doses of 1,500mg for three days. Though hydroxychloroquine dosing depends on indication, the maximum initial dose is 1,600mg followed by daily doses of 400mg. Most common indications, however, recommend initial doses of up to 800mg followed by daily doses of up to 400mg. For ivermectin, the drug label recommends a single daily dose of up to 200mcg/kg a day according to the cause of the disease.

The Brazilian Commission for the Incorporation of Technologies in the Unified Health System (CONITEC) prepared a document called *Brazilian Guidelines for Outpatient Drug Treatment of Patients with COVID-19*²⁷, published in November 2021. The document does not recommend using medicines from the "COVID kit" (azithromycin, chloroquine, hydroxychloroquine, and ivermectin) in infected patients since randomized clinical trials and other national and international guidelines showed no evidence of efficacy of these drugs for the outpatient treatment of patients with COVID-19.

The recommended dose of these medicines for treating COVID-19 is difficult to find, especially considering the increasing evidence on their inefficacy. Some documents from municipalities or private health companies can be found in Portuguese^{28,29}. They suggest 500mg of azithromycin per day for five days or, if symptoms persist, for ten days, along with simultaneous use of 400mg hydroxychloroquine every 12 hours for the first day and then 400mg/day for up to ten days. For ivermectin, the documents suggested daily doses of 6mg for four days then about 250mcg/kg per day.

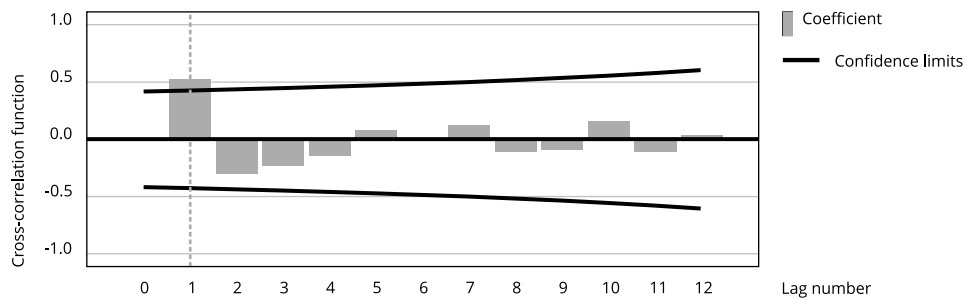
Exposing patients to these risks with no confirmed benefits of the drugs contradicts the risk-benefit assumptions adopted in clinical practice. ADRs can threaten life and challenge the health system. Mota et al.¹³ showed that 9.2% of ADRs motivated or prolonged hospitalization and 4.7% threatened life. In Brazil, the estimated prevalence of suspected notified ADRs is 6.6%³⁰. We emphasize that both manufacturers and regulatory agencies have condemned the use of such medicines for COVID-19 treatment^{31,32,33}. Merck-Sharp-Dohme, for example, stated that they do not believe that the data available support the safety and efficacy of ivermectin beyond the doses and populations indicated in the regulatory agency-approved prescribing information³⁴.

ADR underreporting is a worldwide problem which limits our results. Several studies^{35,36,37,38} indicate that underreporting is caused by the lack of knowledge about the process of notifying or identifying ADRs, insecurity, busy work routine, lack of interest, lack of incentive, guilt for having possibly harmed the patient, or the feeling that only safe drugs are allowed on the market. Many of these reasons overlap with the "seven deadly sins" list created by William Inman in the 1980s. According to the studies, continuous educational interventions and measures could mitigate several of these motivations and encourage health professionals to notify cases. Having a good notification instrument (easy to access, simple to fill out, anonymous, with little bureaucracy) also eliminates other possible obstacles³⁸.

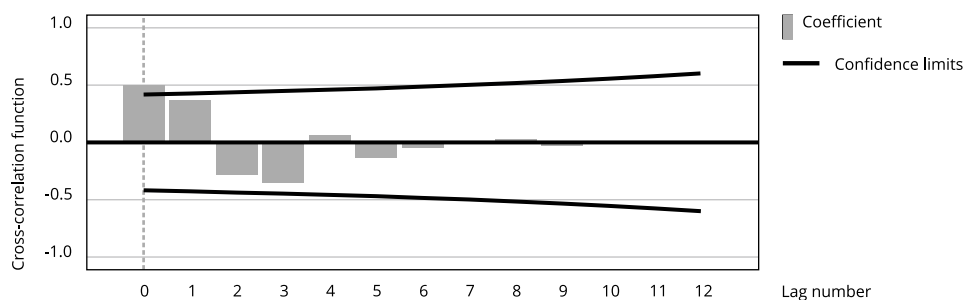
Figure 2

Cross-correlation between sales and notified adverse drug reactions (ADRs) in Brazil.

2a) Azithromycin



2b) Hydroxychloroquine



2c) Ivermectin

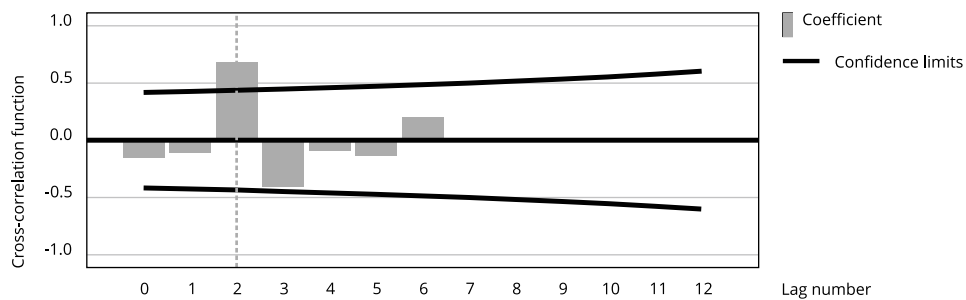


Table 2

Spearman's correlation coefficient between sales and adverse drug reactions (ADRs) in Brazil and Brazilian regions for lag 0 and lag 1.

Region	Azithromycin		Hydroxychloroquine		Ivermectin	
	Lag 0	Lag 1	Lag 0	Lag 1	Lag 0	Lag 1
Brazil	0.614 *	0.537 *	0.606 *	0.531 *	0.243	0.107
South	0.152	0.015	0.562 *	0.508 **	-0.181	-0.177
Southeast	0.344	0.311	0.555 *	0.578 *	0.263	0.374
Central-West	0.240	0.245	0.293	0.347	0.181	0.355
Northeast	0.276	0.287	0.641 *	0.593 *	-0.273	0.016

* Correlation is significant at 0.01 level (two-tailed);

** Correlation is significant at 0.05 level (two-tailed).

Another limitation of this study is the lack of an active search for ADRs to gather data closer to reality. However, this would be impractical considering the size of Brazil and the regional differences in using the "COVID kit". Moreover, in some periods, data was not up-to-date and repressed data were logged into the system at once. Monthly data should thus be interpreted cautiously. Nevertheless, the use of these medicines and of ADRs over the year-long period increased overall.

Finally, though this type of analysis does not allow making causal inferences, it analyzes the association between the rising sales of off-label drugs for COVID-19 and side effects to these drugs. In short, our results show that, despite underreporting, the increased and indiscriminate use of azithromycin, hydroxychloroquine, and ivermectin during the pandemic correlates to an increased development of ADRs.

Contributors

M. Hentschke-Lopes contributed to the data collection and analysis, writing, and review of the manuscript. M. R. Botton contributed to the data analysis, writing, and review of the manuscript. P. Borges and M. Freitas contributed to the data collection and review of the manuscript. A. C. B. Mancuso contributed to the study conception and design, data analysis, writing, and review of the manuscript. U. Matte contributed to the study conception and design, writing, and review of the manuscript. All the authors approved the final version of the manuscript.

Additional informations

ORCID: Marina Hentschke-Lopes (0000-0002-0254-0305); Mariana R. Botton (0000-0002-0509-9199); Pâmella Borges (0000-0003-2250-7112); Martiela Freitas (0000-0003-4178-6604); Aline Castello Branco Mancuso (0000-0001-6033-8335); Ursula Matte (0000-0003-4977-6662).

References

1. Paumgartten FJR, Oliveira ACAX. Off label, compassionate and irrational use of medicines in Covid-19 pandemic, health consequences and ethical issues. *Ciênc Saúde Colet* 2020; 25:3413-9.
2. Paumgartten FJR, Delgado IF, Pitta LR, Oliveira ACAX. Chloroquine and hydroxychloroquine repositioning in times of COVID-19 pandemics, all that glitters is not gold. *Cad Saúde Pública* 2020; 36:e00088520.
3. Chaccour C, Hammann F, Ramón-García S, Rabinovich NR. Ivermectin and COVID-19: keeping rigor in times of urgency. *Am J Trop Med Hyg* 2020; 102:1156-7.
4. Malik M, Tahir MJ, Jabbar R, Ahmed A, Husain R. Self-medication during Covid-19 pandemic: challenges and opportunities. *Drugs Ther Perspect* 2020; 36:565-7.
5. Kalil AC. Treating COVID-19-off-label drug use, compassionate use, and randomized clinical trials during pandemics. *JAMA* 2020; 323:1897-8.
6. Axfors C, Schmitt AM, Janiaud P, Van't Hooft J, Abd-Elsalam S, Abdo EF, et al. Mortality outcomes with hydroxychloroquine and chloroquine in COVID-19 from an international collaborative meta-analysis of randomized trials. *Nat Commun* 2021; 12:3001.
7. Deng J, Zhou F, Ali S, Heybati K, Hou W, Huang E, et al. Efficacy and safety of ivermectin for the treatment of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *QJM* 2021; 114:721-32.
8. RECOVERY Collaborative Group. Azithromycin in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomized, controlled, open-label, platform trial. *Lancet* 2021; 397:605-12.
9. Le Jeune C, Billon N, Dandon A; participants of round table N° 3 of Giens XXVIII. Off-label prescriptions: how to identify them, frame them, announce them and monitor them in practice? *Therapies* 2013; 68:233-9.
10. Howland RH. Off-label medication use. *J Psychosoc Nurs Ment Health Serv* 2012; 50:11-3.
11. World Health Organization. The importance of pharmacovigilance: safety monitoring of medicinal products. Geneva: World Health Organization; 2002.
12. Edwards IR, Aronson JK. Adverse drug reactions: definitions, diagnosis, and management. *Lancet* 2000; 356:1255-9.
13. Mota DM, Vigo A, Kuchenbecker RS. Reações adversas a medicamentos no sistema de farmacovigilância do Brasil, 2008 a 2013: estudo descritivo. *Cad Saúde Pública* 2019; 35:e00148818.
14. Melo JRR, Duarte EC, Moraes MV, Fleck K, Silva ASN, Arrais PSD. Adverse drug reactions in patients with COVID-19 in Brazil: analysis of spontaneous notifications of the Brazilian pharmacovigilance system. *Cad Saúde Pública* 2021; 37:e00245820.

15. Melo JRR, Duarte EC, Moraes MV, Fleck K, Arrais PSD. Automedicação e uso indiscriminado de medicamentos durante a pandemia da COVID-19. *Cad Saúde Pública* 2021; 37:e00053221.
16. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consultar dados de vendas de medicamentos controlados, antimicrobianos e outros. <https://www.gov.br/pt-br/servicos/consultar-dados-de-vendas-de-medicamentos-controlados-antimicrobianos-e-outros> (accessed on 02/Mar/2021).
17. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Notificações de farmacovigilância. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acesoainformacao/dado-sabertos/informacoes-analiticas/notificacoes-de-farmacovigilancia> (accessed on 02/Mar/2021).
18. Alonso WJ, Tamerius J, Freitas ARR. Respiratory syncytial virus causes more hospitalizations and deaths in equatorial Brazil than influenza (including during the 2009 pandemic). *An Acad Bras Ciênc* 2020; 92:e20180584.
19. Devore JL. Probabilidade e estatística: para engenharia e ciências. São Paulo: Pioneira/Thomson; 2006.
20. Varallo FR, Guimarães SOP, Abjaude SAR, Mastroianni PC. Causes for the underreporting of adverse drug events by health professionals: a systematic review. *Rev Esc Enferm USP* 2014; 48:739-47.
21. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 174, de 15 de setembro de 2017. Dispõe sobre a atualização da lista de antimicrobianos registrados na Anvisa. *Diário Oficial da União* 2017; 18 sep.
22. Agstam S, Yadav A, Kumar-M P, Gupta A. Hydroxychloroquine and QTc prolongation in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Indian Pacing Electrophysiol J* 2021; 21:36-43.
23. Diaz-Arocutipa C, Brañez-Condorena A, Hernandez AV. QTc prolongation in COVID-19 patients treated with hydroxychloroquine, chloroquine, azithromycin, or lopinavir/ritonavir: a systematic review and meta-analysis. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2021; 30:694-706.
24. Gérard A, Romani S, Fresse A, Viard D, Parasol N, Granvullemin A, et al. "Off-label" use of hydroxychloroquine, azithromycin, lopinavir-ritonavir and chloroquine in COVID-19: a survey of cardiac adverse drug reactions by the French Network of Pharmacovigilance Centers. *Therapie* 2020; 75:371-9.
25. Doyno C, Sobieraj DM, Baker WL. Toxicity of chloroquine and hydroxychloroquine following therapeutic use or overdose. *Clin Toxicol (Phila)* 2021; 59:12-23.
26. Temple C, Hoang R, Hendrickson RG. Toxic effects from ivermectin use associated with prevention and treatment of Covid-19. *N Engl J Med* 2021; 385:2197-8.
27. Ministério da Saúde. Diretrizes brasileiras para tratamento hospitalar do paciente com COVID-19. Brasília: Ministério da Saúde; 2021.
28. Comissão Covid 19 – Secretaria Municipal de Saúde e Saneamento. Tratamento precoce de pacientes COVID-19 (pré-hospitalar) e profilaxia nos trabalhadores em saúde. <https://www.taquarussu.ms.gov.br/site/wp-content/uploads/2020/08/PROTOCOLO-TRATAMENTO-COVID-19-TAQUARUSSU-2020.pdf> (accessed on 22/Nov/2020).
29. Freitas TIS, organizadora. Protocolo para atendimento da COVID-19 na atenção primária e hospitalar. https://www.ufpi.br/arquivos_download/arquivos/PROTOCOLO_PARA_ATENDIMENTO_DA_COVID_Diagramado_paginado_justificadoNovo_PDF20200706211125.pdf (accessed on 22/Nov/2020).
30. Sousa LAO, Fonteles MMF, Monteiro MP, Mengue SS, Bertoldi AD, Dal Pizzolo TS, et al. Prevalência e características dos eventos adversos a medicamentos no Brasil. *Cad Saúde Pública* 2018; 34:e00040017.
31. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota de esclarecimento sobre a ivermectina. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/nota-de-esclarecimento-sobre-a-ivermectina> (accessed on 22/Nov/2020).
32. Apsen Farmacêutica. Posicionamento. Informações sobre hidroxycloquina. https://www.apsen.com.br/na_midia/posicionamento-informacoes-sobre-hidroxycloquina/ (accessed on 22/Nov/2020).
33. EMS Pharma. Esclarecimentos sobre o uso da hidroxycloquina. <https://www.ems.com.br/esclarecimentos-sobre-o-uso-da-hidroxycloquina-release,1082.html> (accessed on 22/Nov/2020).
34. Merck & Co. Merck statement on ivermectin use during the COVID-19 pandemic. <https://www.merck.com/news/merck-statement-on-ivermectin-use-during-the-covid-19-pandemic> (accessed on 22/Nov/2020).
35. Hazell L, Shakir SAW. Under-reporting of adverse drug reactions: a systematic review. *Drug Saf* 2006; 29:385-96.
36. Lopez-Gonzalez E, Herdeiro MT, Figueiras A. Determinants of under-reporting of adverse drug reactions: a systematic review. *Drug Saf* 2009; 32:19-31.
37. Varallo FR, Guimarães SOP, Abjaude SAR, Mastroianni PC. Causes for the underreporting of adverse drug events by health professionals: a systematic review. *Rev Esc Enferm USP* 2014; 48:739-47.
38. Mascarenhas FAS, Anders JC, Gelbecke FL, Lanzoni GMM, Ilha P. Facilities and difficulties of health professionals regarding the adverse event reporting process. *Texto & Contexto Enferm* 2019; 28:e20180040.

Resumo

No Brasil, o uso off label de azitromicina, hidroxicloroquina e ivermectina (o “kit-COVID”) foi sugerido para tratar COVID-19 sem que tivéssemos evidências clínicas ou científicas de sua eficácia. Estas drogas têm causado reações adversas (RA) em quem as tomam. Este estudo almejou analisar se a venda dos medicamentos que compõem o “kit-COVID” correlaciona-se com o número relatado de RAs após o início da pandemia da COVID-19. Os dados sobre vendas e RA associados a azitromicina, hidroxicloroquina e ivermectina foram obtidos no site da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) para todos os estados brasileiros. Comparamos o período entre março de 2019 e fevereiro de 2020 (antes da pandemia) ao de março de 2020 a fevereiro de 2021 (durante a pandemia). Ajustamos tendências para os dados de séries temporais e as análises de correlação cruzada para investigar a correlação entre vendas e RA em um mesmo mês (lag 0) e nos seguintes (lag 1 e 2). O coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para avaliar a magnitude das correlações. Após o início da pandemia, as vendas de todos os medicamentos investigados aumentaram significativamente (69,75% para azitromicina, 10.856.481,39% para hidroxicloroquina e 12.291.129,32% para ivermectina). Os níveis de RAs de todos os medicamentos (com exceção de azitromicina) eram zero antes da pandemia mas aumentaram após seu início. A análise de correlação cruzada foi significativa no lag 1 para todas as drogas em todo o país. A correlação de Spearman foi moderada para azitromicina e hidroxicloroquina, mas ausente para ivermectina. Os dados devem ser interpretados com cautela, uma vez que não realizamos uma busca ativa por RA. Nossos resultados mostram que o uso aumentado e indiscriminado do “kit-COVID” durante a pandemia se correlaciona com uma ocorrência aumentada de RAs.

COVID-19; Efeitos Colaterais e Reações Adversas Relacionados a Medicamentos; Azitromicina; Hidroxicloroquina; Ivermectina

Resumen

Se ha sugerido el uso fuera de lo establecido de azitromicina, hidroxicloroquina e ivermectina (el “kit-COVID”) para el tratamiento de la COVID-19 en Brasil sin evidencia clínica o científica de su eficacia. Estos medicamentos tienen reacciones adversas (RAM) conocidas. Este estudio pretendía analizar si las ventas de medicamentos del “kit-COVID” están correlacionadas con el número de reacciones adversas notificadas tras el inicio de la pandemia de COVID-19. Los datos se obtuvieron del sitio web de la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (Anvisa) sobre las ventas y las RAM notificadas para la azitromicina, la hidroxicloroquina y la ivermectina para todos los estados brasileños. Se comparó el periodo de marzo de 2019 a febrero de 2020 (antes de la pandemia) con el de marzo de 2020 a febrero de 2021 (durante la pandemia). Se realizó un ajuste de tendencia para los datos de las series de tiempo y un análisis de correlación cruzada para investigar la correlación entre las ventas y la RAM dentro del mismo mes (lag 0) y en los meses siguientes (lag 1 y lag 2). Se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman para evaluar la magnitud de las correlaciones. Tras el inicio de la pandemia, las ventas de todos los medicamentos investigados aumentaron significativamente (69,75% para la azitromicina, 10.856.481,39% para la hidroxicloroquina y 12.291.129,32% para la ivermectina). Los niveles de RAM de todos los medicamentos, excepto la azitromicina, eran nulos antes de la pandemia, pero aumentaron tras su inicio. El análisis de correlación cruzada fue significativo en el lag 1 para todos los medicamentos a nivel nacional. La correlación de Spearman fue moderada para la azitromicina y la hidroxicloroquina, pero no para la ivermectina. Los datos deben interpretarse con cautela, ya que no se realizó una búsqueda activa de RAM. Nuestros resultados muestran que el uso creciente e indiscriminado del “kit-COVID” durante la pandemia se correlaciona con una mayor aparición de las RAM.

COVID-19; Efectos Colaterales y Reacciones Adversas Relacionados con Medicamentos; Azitromicina; Hidroxicloroquina; Ivermectina

Submitted on 05/Jan/2022

Final version resubmitted on 19/Apr/2022

Approved on 13/May/2022