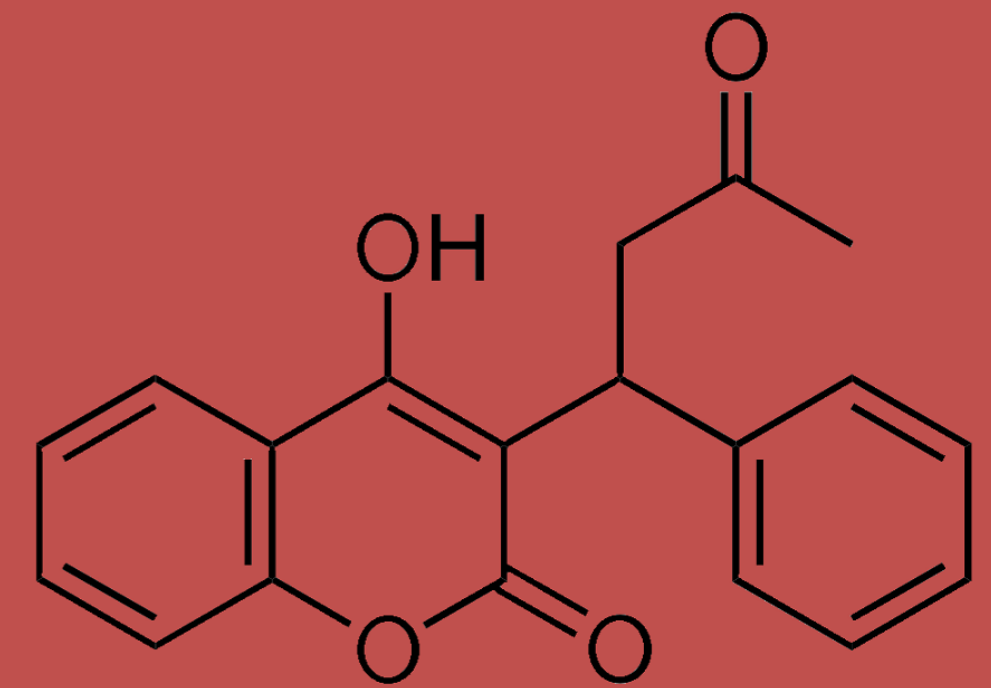


A INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO -323 INS/DEL NO PROMOTOR DO F7 NA DOSE DE VARFARINA



Patrícia Pacheco Viola¹, Eliane Bandinelli¹



* patricia.viola@ufrgs.br

¹Laboratório de Hemostasia, Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução

As desordens tromboembólicas são caracterizadas por alguma disfunção na hemostasia. Os anticoagulantes orais cumarínicos são amplamente utilizados para o tratamento e a prevenção dessas desordens. O anticoagulante mais utilizado na clínica é a varfarina. Existe uma grande variação interindividual na resposta a esse medicamento, uma vez que sua farmacocinética e farmacodinâmica variam de acordo com fatores ambientais e genéticos. Os fatores II, VII, IX e X da cascata de coagulação são carboxilados na presença de vitamina K, tornando-se funcionais. Entretanto, a atuação da varfarina como antagonista da vitamina K, leva a uma diminuição dos níveis destes fatores na forma funcional. Estudos *in vitro* demonstraram que o Fator VII está diminuído na presença do alelo -323 Ins no promotor do gene F7. Sendo este fator de coagulação diretamente ligado ao mecanismo de ação da varfarina, a variação dos níveis de FVII devido ao polimorfismo -323 Ins/Del pode ocasionar variação no efeito dose/resposta de cada paciente.

Objetivo

Investigar a influência do polimorfismo -323 Ins/Del no gene F7 na dose/resposta de varfarina.

Materiais

Foram recrutados 279 pacientes, todos com descendência europeia, do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, a participarem desse estudo. Esses pacientes usavam regularmente o anticoagulante varfarina e com frequência era realizado o teste de protrombina para o ajuste da dose com base no INR alvo. A dose de varfarina de cada paciente foi definida como aquela em que o paciente se manteve com o INR alvo por pelo menos duas visitas consecutivas ao hospital. Um questionário foi realizado por entrevista a todos os pacientes para a coleta de informações como ancestralidade, idade, etilismo, tabagismo e demais medicamentos. As análises estatísticas foram feitas no programa SPSS 18.0. O comitê de ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre aprovou o estudo.

Discussão

Estes resultados sugerem que o alelo Ins do polimorfismo -323 Ins/Del influencia na utilização de doses menores de varfarina, tanto em homozigose quanto em heterozigose, na população do Sul do Brasil. Como perspectiva, podemos adicionar essa informação a algoritmos que tentam explicar a variabilidade dose/resposta ao fármaco. Alguns algoritmos realizados com a população brasileira conseguem explicar de 50% a 63% da variabilidade. Portanto, levando em consideração a influência desse polimorfismo, podemos obter uma maior explicação da variabilidade do fármaco.

Metodologia

O DNA genômico foi isolado a partir de amostra de sangue usando o Kit comercial PureLink™ Genomic DNA Purification Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) de acordo com as instruções do fabricante. Os pacientes foram genotipados para o polimorfismo -323 Ins/Del no promotor do gene F7 por PCR. Os genótipos foram obtidos através da visualização direta do fragmento amplificado em gel de poliacrilamida 6% (figura 1). O fragmento visualizado poderia ter 224 ou 234 pb, caso houvesse deleção ou inserção, respectivamente. A genotipagem foi realizada de forma cega às características clínicas e demográficas dos pacientes. Controles negativos foram executados em todos os PCRs. A Determinação do INR através do tempo de protombina foi realizada no Laboratório de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

As médias da dose semanal de varfarina entre os genótipos foram comparadas pelo teste de ANOVA e foi utilizado o teste qui-quadrado para analisar os diferentes percentis (15º: dose \geq 17,5 mg, 20º: dose \geq 20,0 mg, 25º: dose \geq 22,5 mg, 30º: dose \geq 25,0 mg e 35º: dose \geq 27,5 mg).



Figura 1. Verificação dos genótipos em gel de poliacrilamida 6%. Destaque para os genótipos Ins/Del, Ins/Ins e Del/Del, respectivamente.

Resultados

Na amostra estudada, a idade média foi de $62,6 \pm 14,1$ variando de 18 a 88, e 55,6% dos pacientes eram do sexo masculino. Não houve diferença estatística ($p = 0,335$) nas médias de dose semanal de varfarina entre os genótipos. Quando analisado o 35º percentil (tabela 1.), foi observada diferença estatisticamente significativa entre os 2 grupos analisados (Del/Del X Ins/Del + Ins/Ins) com $p = 0,024$. Os genótipos com a presença da variante Ins foi observada em maior proporção no grupo de menores doses. Para os demais percentis analisados, nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada.

Tabela 1. Análise do 35º percentil (dose \geq 27,5 mg).

	Del/Del	Del/Ins + Ins/Ins	P
Baixas doses (n = 86)	59,3%	40,7%	0,024
Altas doses (n = 196)	73,6%	26,4%	