



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

CLÁUDIA LORENA RIBEIRO LOPES

**PREVALÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASSOCIADOS À RESPOSTA
TERAPÊUTICA AO CLOPIDOGREL EM UMA POPULAÇÃO DO ESTADO DO
PIAUÍ**

PARNAÍBA – PI

2019

CLÁUDIA LORENA RIBEIRO LOPES

**PREVALÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASSOCIADOS À RESPOSTA
TERAPÊUTICA AO CLOPIDOGREL EM UMA POPULAÇÃO DO ESTADO DO
PIAUI**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro Reis Velloso, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas.

Área de concentração: Genética Humana e Médica

Orientador: Prof. Dr. Giovanny Rebouças Pinto

PARNAÍBA – PI

2019

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial Prof. Cândido Athayde – Campus Parnaíba
Serviço de Processamento Técnico

L864p Lopes, Cláudia Lorena Ribeiro
Prevalência de polimorfismos genéticos associados à resposta terapêutica
ao clopidogrel em uma população do estado do Piauí [recurso eletrônico] /
Cláudia Lorena Ribeiro Lopes. – 2019.
1 Arquivo em PDF

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas) -
Universidade Federal do Piauí, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Giovanny Rebouças Pinto.

1. Farmacogenômica. 2. *Cyp2c19*. 3. SNP. 4. Frequência Alélica. 5.
Ancestralidade. I. Título.

CDD: 576.5

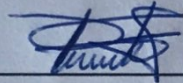
CLÁUDIA LORENA RIBEIRO LOPES

**PREVALÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASSOCIADOS À RESPOSTA
TERAPÊUTICA AO CLOPIDOGREL EM UMA POPULAÇÃO DO ESTADO DO
PIAUI**

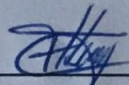
Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro Reis Velloso, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas.

APROVADA EM 03/10/2019

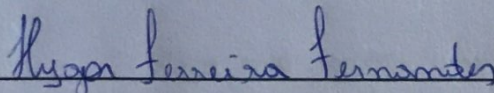
BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Giovanni Rebouças Pinto
Universidade Federal do Piauí
(Orientador)



Profª Dra. France Keiko Nascimento Yoshioka
Universidade Federal do Piauí



Dr. Hygor Ferreira Fernandes
Universidade Federal do Piauí

PARNAÍBA – PI

2019

“Para que serviria uma raça perfeita de seres humanos, quando a imperfeição é, ela própria, uma das características mais fascinantes da nossa espécie?”.

Gonçalo Pereira

Dedico à Deus, por ter me dado a vida, e por ter me sustentado durante todos os meus dias.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser meu Pai amado.

Aos meus pais, pelo incentivo, cuidado, amor e por não me deixarem desistir em nenhuma situação. Vocês são a minha base.

Ao meu irmão Victor Lucas Ribeiro Lopes, por ser companheiro de mestrado, sempre discutindo sobre todos os conteúdos, me fazendo ver o real sentido de tudo e por me atentar todos os dias.

Ao meu noivo Alexandre Oliveira Gomes, por aguentar as madrugadas comigo, por me sustentar quando tudo que eu queria era descansar. Pela motivação, carinho e amor. Por ser um verdadeiro parceiro e cúmplice. Tudo recíproco.

À minha segunda mãe Elisângela da Conceição Silva, por sempre me dizer palavras de incentivo.

Ao meu irmão Wesley Henrique Mendes Silva, por ser sempre prestativo e atencioso.

A minha cunhada Even Herlany Pereira Alves, por sempre me incentivar, dizer que tudo ia dar certo, e pelas olhadas de conferência na minha dissertação (risos).

Aos meus avós, tios e primos por sempre acreditarem em mim.

Ao meu querido orientador Dr. Giovanny Rebouças Pinto, por toda a paciência durante esse período de correria, pelo incentivo, compreensão e pelos ensinamentos que não foram poucos, desde um simples conceito até o mais avançado que eu conseguia entender. Obrigada professor, por ser um verdadeiro mestre e um exemplo a seguir.

A Prof^a Dra. France Keiko Nascimento Yoshioka por todas as considerações, sugestões e orientações a respeito do meu texto.

Ao Dr. Hygor Ferreira Fernandes, pela ajuda desde o início. Desde as orientações para o projeto de ingresso no mestrado, ensinamentos sobre os procedimentos em laboratório, experimentos, ajudas na metodologia e por diversas mensagens no whatsapp respondidas prontamente para tirar dúvidas.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO	14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1 DCVs.....	15
2.2 CLOPIDOGREL	17
2.3 CITOCROMO P450	20
2.4 GENE <i>CYP2C19</i>	22
2.5 POLIMORFISMOS DO GENE <i>CYP2C19</i>	23
2.6 MARCADORES INFORMATIVOS DE ANCESTRALIDADE	27
3 OBJETIVOS	29
3.1 GERAL.....	29
3.2 ESPECÍFICOS	29
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1 ASPECTOS ÉTICOS	30
4.2 EXTRAÇÃO DO DNA, QUANTIFICAÇÃO E GENOTIPAGEM	32
4.3 ANÁLISE DOS DADOS	32
5 RESULTADOS	34
6 DISCUSSÃO	38
7 CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS.....	45
ANEXOS	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Taxa de mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil e distribuição por causas no ano de 2013.	16
Figura 2	Estrutura do clopidogrel.	17
Figura 3	Mecanismo de ação do clopidogrel e metabolismo hepático.	18
Figura 4	Mecanismo de ação do CYP450.	21
Figura 5	Plots de discriminação alélica.	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Caracterização dos fenótipos associados aos polimorfismos do gene <i>CYP2C19</i> .	23
Tabela 2	Cidades onde foram obtidos os materiais biológicos.	30
Tabela 3	Frequências alélicas, genotípicas, fenotípicas e haplotípicas de acordo com grupo ancestral.	35
Tabela 4	Frequências alélicas e genotípicas por mesorregião.	36
Tabela 5	Média da ancestralidade genômica por mesorregião	37
Tabela 6	Comparações das frequências alélicas do <i>CYP2C19*2</i> e <i>CYP2C19*17</i> nesse estudo e em outros estudos populacionais.	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

χ^2	Qui-quadrado
A	Adenina
AAS	Ácido Acetilsalicílico
ADP	Adenosina Difosfato
°C	Graus Celsius
C	Citosina
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CHANCE	<i>Clopidogrel in High-Risk Patients with Acute Nondisabling Cerebrovascular Events</i>
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
CPIC	<i>Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium</i>
CURE	<i>Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events</i>
CYP450	<i>Cytochrome P450</i>
DCNTs	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DCVs	Doenças Cardiovasculares
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
G	Guanina
INDELS	Inserção/Deleção
KDa	Kilo Dalton
Km ²	Quilômetro quadrado
mg	Miligramas
mg/dia	miligramas por dia
MIAs	Marcadores Informativos de Ancestralidade
μL	Microlitro
n	Número amostral
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida
ng/μL	Nanograma por microlitro
nm	Nanômetro
p	Nível de significância
P2Y	Purinoceptor 2 acoplado a proteína G
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>

POINT	<i>Platelet-Oriented Inhibition in New TIA and Minor Ischemic Stroke</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
T	Timina
WHO	<i>World Health Organization</i>

RESUMO

O clopidogrel é um antiagregante plaquetário muito utilizado no tratamento de doenças cardiovasculares; no entanto, seu uso pode ocasionar efeitos adversos, devido à variabilidade genética individual. Essa variabilidade pode ser explicada por polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do inglês *single nucleotide polymorphisms*) no gene *CYP2C19*, responsável pela metabolização do clopidogrel, dentre os quais destacam-se o *CYP2C19*2* e *CYP2C19*17* por resultarem, respectivamente, perda e ganho de função da proteína correspondente. A fim de se evitar o surgimento de efeitos adversos ao uso do clopidogrel, inúmeros estudos têm sido realizados, em diferentes populações mundiais, com a finalidade de se investigar nos pacientes os genótipos dos SNPs *CYP2C19*2* e *CYP2C19*17*, antes da prescrição terapêutica. No entanto, ao nosso conhecimento, não existem estudos que relatem a frequência desses *loci* de interesse farmacogenético na população piauiense. Por esse motivo, este estudo tem como objetivo principal descrever as frequências alélicas, genótípicas e haplotípicas dos SNPs *CYP2C19*2* e *CYP2C19*17*, bem como apresentar a distribuição dos diferentes fenótipos relacionados, em uma amostra miscigenada do Estado do Piauí. O presente estudo foi realizado a partir de DNA de 204 amostras de indivíduos nascidos em duas gerações passadas dentro do território piauiense. Foi realizada extração, quantificação e genotipagem das amostras de DNA, sendo esta última etapa realizada a partir de PCR em tempo real, consistindo em 2,5 µL de Master Mix, 0,25 µL de Sonda/Primers e 2,25 µL de DNA, totalizando 5 µL por poço. Em todas as análises do estudo foi utilizado o nível de significância $p < 0,05$. Todas as frequências genótípicas apresentaram-se dentro do equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$). Foi encontrada uma frequência de 9,6% para o *CYP2C19*2* e de 22% para o *CYP2C19*17*. O haplótipo mais prevalente foi o *1*1, com 68,3%, seguido do *1*17 com 22,1% e *1*2 com 9,6%, o que indica que a maior parte da população apresenta alelos funcionais para o *CYP2C19*. As frequências alélicas do presente estudo foram comparadas com frequências alélicas de diferentes populações mundiais e foi percebido que em relação ao *CYP2C19*2* não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em regiões brasileiras ($p > 0,05$), mas em regiões da Ásia e da África essas diferenças foram percebidas ($p < 0,05$). O *CYP2C19*17* apresentou diferenças significativas com uma população ameríndia brasileira, e com populações latino-americanas, asiáticas e europeias ($p < 0,05$). Os fenótipos mais frequentes foram o metabolizador normal com 46,1% e o metabolizador rápido com 31,9%, mostrando que o genótipo de um paciente pode interferir na metabolização de um medicamento. Não foi encontrada correlação entre ancestralidade e número de cópias do *2 e *17 ($p > 0,05$). Os resultados desse estudo podem guiar políticas públicas de prevenção dos efeitos adversos do uso do clopidogrel na população piauiense.

PALAVRAS-CHAVE: farmacogenômica, *CYP2C19*, SNP, frequência alélica, ancestralidade.

ABSTRACT

Clopidogrel is a widely used antiplatelet agent in the treatment of cardiovascular disease; however, its usage can cause adverse effects, due to individual genetic variety. This variety can be explained as SNPs - single nucleotide polymorphisms - in *CYP2C19* Gene, responsible for metabolizing clopidogrel, among them, *CYP2C19*2* and *CYP2C19*17* stood out because they result in, respectively, gain and loss of the corresponding protein function. In order to avoid adverse effects after clopidogrel usage, numerous studies have been carried out in different world populations intended to investigate in patients the SNPs *CYP2C19*2* and *CYP2C19*17* genotypes, before therapeutic prescription. Nevertheless, as far as it is known, there are no studies that report the frequency of these *loci* of pharmacogenetic interest in Piauí's population. Thus, the main goal in this study is to describe allelic, genotypical and haplotypal frequencies of *CYP2C19*2* and *CYP2C19*17* SNPs; furthermore, present the different related phenotypes distribution in a mixed sample collected in Piauí State. The present study was carried out from DNA from 204 samples of individuals born in two past generations within the Piauí territory. DNA samples were extracted, quantified and genotyped. The last step was performed from real-time PCR, consisting of 2.5 µL Master Mix, 0.25 µL Probe / Primers and 2.25 µL DNA, totaling 5 µL per well. In all analyzes of the study, the significance level $p < 0.05$ was used. All genotypical frequencies presented remained balanced according to Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$). The frequency 9.6% in *CYP2C19*2* and 22% in *CYP2C19*17* was found. The most prevalent haplotype was the *1*1, with 68.3%, followed by *1*17 with 22.1% and *1*2 with 9.6%, which indicate that the most part of the population presents functional alleles for *CYP2C19*. The allelic frequencies in this study were compared to allelic frequencies of other world populations and it was noticed that *regarding CYP2C19*2*, significant statistic differences in Brazilian regions were not found ($p > 0.05$), but in Asia and Africa, these differences were noticed ($p < 0.05$). *CYP2C19*17* presented significant differences in Brazilian amerindian population, and in Latin American, Asian and European populations ($p < 0.05$). The most frequent phenotypes were the normal metabolizer with 46.1%, and the fast metabolizer with 31.9%, showing that a patient's genotype can interfere in medicine metabolization. Correlation between ancestry and the number of copies of *2 and *17 ($p > 0.05$) was not found. The results within the study can guide public policies in favor of adverse effects prevention after clopidogrel usage in Piauí's population.

KEYWORDS: pharmacogenomics, *CYP2C19*, SNP, allelic frequency, ancestry.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, tem sido observado um aumento no número de mortes causadas por doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), impulsionado por maus hábitos alimentares e pelo sedentarismo. Dentre as DCNTs, destacam-se as doenças cardiovasculares (DCVs), que afetam o sistema circulatório e causam problemas no coração e nos vasos sanguíneos (COVATTI et al., 2016).

O clopidogrel é um antiagregante plaquetário muito utilizado no tratamento de DCVs; no entanto, seu uso pode ocasionar efeitos adversos, principalmente, devido à variabilidade genética individual. Essa variabilidade pode ser explicada por polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do inglês *single nucleotide polymorphism*) no gene *CYP2C19*, responsável pela metabolização do clopidogrel, dentre os quais destacam-se o *CYP2C19*2* e *CYP2C19*17* por resultarem em, respectivamente, perda e ganho de função da proteína correspondente (BROWN; PEREIRA, 2018; JAYAKUMAR et al., 2018).

O *CYP2C19*2* está associado com altos níveis de agregação plaquetária, apresentando maiores riscos de eventos cardiovasculares adversos, como por exemplo, a trombose. O *CYP2C19*17* é caracterizado por conferir menor agregação plaquetária, podendo causar hemorragias e também levar a uma resposta mais satisfatória com o clopidogrel (SIBBING et al., 2010a).

A fim de se evitar o surgimento de efeitos adversos relativos ao uso do clopidogrel, inúmeros estudos têm sido realizados, em diferentes populações mundiais, com a finalidade de se investigar nos pacientes os genótipos dos SNPs *CYP2C19*2* e *CYP2C19*17*, antes da prescrição terapêutica (para revisão, JESUS, 2016). No entanto, ao nosso conhecimento, não existem estudos que relatem a frequência desses *loci* de interesse farmacogenético na população piauiense. Por esse motivo, este estudo tem como objetivo principal descrever as frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas dos SNPs *CYP2C19*2* e *CYP2C19*17*, bem como apresentar a distribuição dos diferentes fenótipos relacionados, em uma população do Estado do Piauí. Os resultados aqui apresentados podem guiar políticas públicas de prevenção dos efeitos adversos do uso do clopidogrel na população piauiense.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 DCVs

Com o acelerado processo de globalização, observou-se nos últimos anos uma mudança no estilo de vida da população, onde as pessoas aderiram a hábitos alimentares inadequados, além do sedentarismo. Devido a esses fatores, as causas de mortalidade e morbidade foram alteradas, tendo agora como principais causas as DCNTs e não mais as doenças infecto-contagiosas (MÁSSIMO; SOUSA; FREITAS, 2015; BRITO et al., 2016).

As DCNTs acarretam em uma baixa na qualidade de vida, devido ao grau de limitação e a incapacidade de realizar atividades diárias, causam morte prematura, trazem impactos sociais e econômicos para a família, e ainda constituem um dos maiores problemas de saúde pública da atualidade (MALTA; SILVA, 2018).

Existem diversos fatores que contribuem para o surgimento das DCNTs. Entre eles podem ser citados os fatores de riscos, que são divididos em fatores não modificáveis, como, por exemplo, sexo, idade e história familiar, e os fatores modificáveis, que estão sendo vistos com maior prevalência nos últimos anos, tais como sedentarismo, consumo de álcool, má alimentação e tabagismo, também conhecidos como fatores comportamentais (MÁSSIMO; SOUZA; FREITAS, 2015).

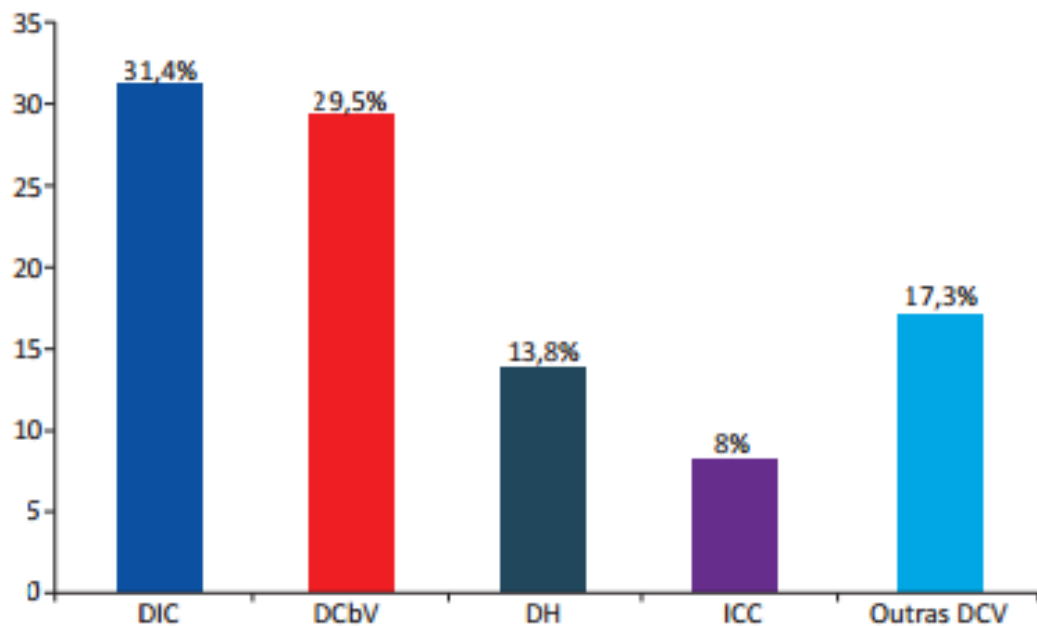
As DCNTs respondem por cerca de 70% de todas as mortes no mundo, com uma estimativa de 38 milhões de mortes por ano. Destas, 16 milhões são mortes prematuras, de indivíduos com menos de 70 anos de idade, e aproximadamente 28 milhões são relatadas em países em desenvolvimento (MALTA et al., 2017).

O sistema circulatório é responsável pelo transporte de oxigênio e nutrientes que as células precisam para realizar suas funções. Quando esse transporte é inadequado ou insuficiente, alterando todo o funcionamento do sistema, chama-se DCV (MAGALHÃES et al., 2014).

A prevenção das DCVs vem sendo preocupação da maioria das organizações de saúde do mundo, onde o foco maior acontece nos países em desenvolvimento (WHO, 2003). No Brasil, o primeiro lugar de causa de mortes são as DCVs (TESTON et al., 2016). Segundo a Organização Mundial de Saúde, quase 23,6 milhões de pessoas morrerão por DCVs até 2030, se tornando a maior causa de mortes no mundo (WHO, 2013). Segundo a 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão, organizada por

Malachias et al. (2016), no ano de 2013 ocorreram 1.138.670 óbitos, dos quais 29,8% (339.672) foram causados por DCVs no Brasil (Figura 1).

Figura 1: Taxa de mortalidade por DCVs no Brasil e distribuição por causas no ano de 2013.



DIC – Doenças isquêmicas do coração; DCbV – Doença cerebrovascular; DH – Doenças hipertensivas; ICC – Insuficiência cardíaca congestiva; DCV – Doenças cardiovasculares.

Fonte: MALACHIAS et al., 2016.

Dentre as DCVs existem as mais comuns e que podem estar relacionadas entre si; são elas a aterosclerose, o acidente vascular encefálico e o infarto do miocárdio. As pessoas que passam por esses eventos cardiovasculares são submetidas a tratamentos farmacológicos e tratamentos não farmacológicos, que envolvem mudanças nos fatores comportamentais que causam as DCVs. Pode-se observar que uma prática de alimentação saudável, o controle de peso, a prática de atividades físicas rotineiras e o corte no consumo de álcool e fumo, trazem benefícios para a saúde dos indivíduos, além de melhorar sua qualidade de vida (BRASIL, 2006).

Nas DCVs é comum surgirem eventos com a formação de trombos. Como as plaquetas têm papel importante nessa patogênese, medicamentos antiplaquetários são essenciais para prevenção primária e secundária desses eventos, já que os fatores de risco estão associados com a ativação plaquetária. Com o uso desses

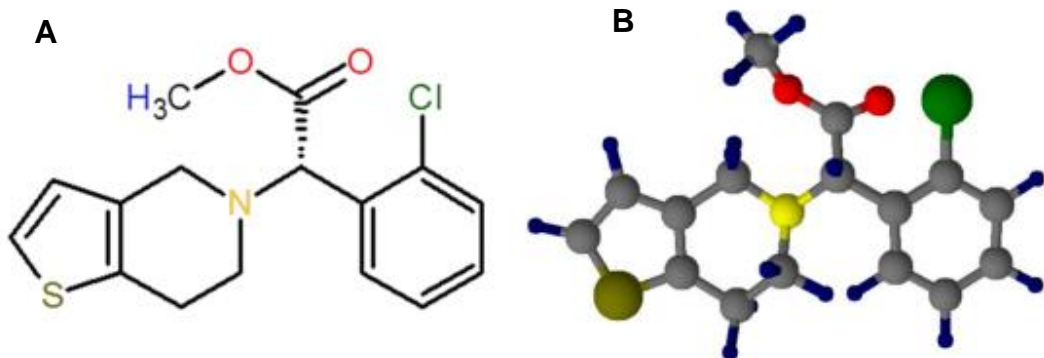
medicamentos, a formação de trombos será evitada. O clopidogrel está entre os antiplaquetários mais utilizados para o tratamento e prevenção de eventos associados às DCVs (SILVA et al., 2013).

2.2 CLOPIDOGREL

O clopidogrel é um medicamento antiplaquetário e auxilia na redução de riscos de aterosclerose, acidente vascular encefálico e infarto agudo do miocárdio. Além disso, é indicado juntamente com a aspirina para pacientes que sejam submetidos a intervenções coronárias percutâneas, como a colocação de um *stent* (DEAN, 2018).

O clopidogrel tem como fórmula molecular $C_{16}H_{16}ClNO_2S \cdot H_2SO_4$, e sua nomenclatura segundo a *International Union of Pure and Applied Chemistry* é metil (+)-(S)-alfa-(2-clorofenil)-6,7-diidrotieno[3,2-c]piridina-5(4H)-acetato sulfato (1:1) (BRAJ et al., 2011) (Figura 2).

Figura 2: Estrutura do clopidogrel.



(A) Fórmula estrutural molecular plana e **(B)** Fórmula tridimensional

Fonte: FARIAS, 2015.

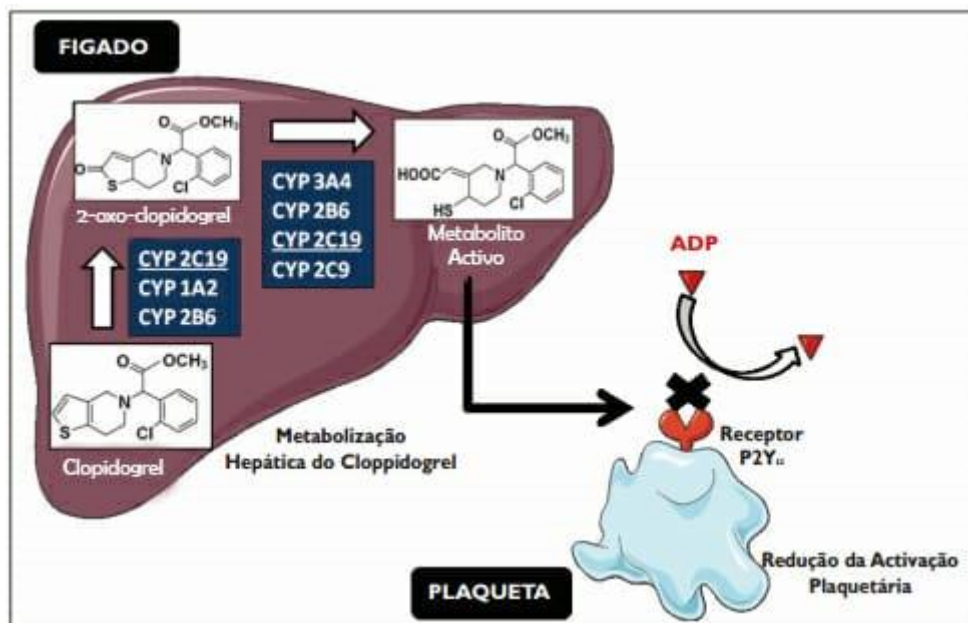
A aspirina, também conhecida como ácido acetilsalicílico (AAS), é um analgésico que pertence à classe dos salicilatos e é indicada para tratamento de diversas patologias, tendo mostrado eficácia na intervenção do infarto do miocárdio (SILVEIRA; GINDRI, 2016).

A intervenção coronária percutânea é um procedimento cardiológico dos mais utilizados por médicos cardiologistas, onde se faz uma intervenção, como por exemplo

a colocação de um *stent*, e para o procedimento ser considerado eficaz e seguro, indica-se a utilização da terapia dupla de antiagregação plaquetária (clopidogrel + AAS) (TRINDADE et al., 2012).

O clopidogrel é derivado da tienopiridina, e substituiu a ticlopidina com eficácia semelhante, devido à uma posologia conveniente (só é utilizado uma vez ao dia), menor prevalência de efeitos colaterais, melhor tolerabilidade e um início de ação mais rápido (JIANG et al., 2015). Atua inibindo completamente o receptor P2Y (purinoceptor 2 acoplado a proteína G) do ADP (adenosina difosfato) plaquetário (ANDRADE; BORGES, 2017), e é metabolizado por duas vias de sequência oxidativa que envolvem o citocromo P450 hepático (FUCHS et al., 2013). É formado um componente, nomeado 2-oxo-clopidogrel, e após a segunda reação de oxidação, o metabólito ativo é formado, sendo que a isoenzima CYP2C19 é um dos elos durante esse processo de ativação do clopidogrel (FONTES-CARVALHO; ALBUQUERQUE, 2010) (Figura 3).

Figura 3: Mecanismo de ação do clopidogrel e metabolismo hepático.



Fonte: FONTES-CARVALHO; ALBUQUERQUE, 2010.

O clopidogrel também é utilizado para tratamento ou prevenção de novos episódios de trombose arterial, que acontece quando um coágulo sanguíneo (trombo) é formado dentro de uma artéria pelo rápido recrutamento e ativação das plaquetas.

Este é resultado da ruptura da placa aterosclerótica que faz o revestimento da parede arterial. Dessa forma, o clopidogrel atua como um inibidor plaquetário, para interromper a formação de trombo (LORGA et al., 2013).

Como já citado anteriormente, o uso do tratamento de terapia dupla antiplaquetário, com o uso do clopidogrel em conjunto com AAS é muito utilizado. Essa associação ocorre devido ao estudo *CURE* (do inglês, *Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events*), onde foi avaliado o uso do AAS isolado e do AAS associado ao clopidogrel para o tratamento de DCVs (YUSUF et al., 2001).

O estudo *CURE* (2001) foi realizado com 12.562 pacientes, em que 6259 destes recebiam clopidogrel (dose de ataque de 300 mg e dose diária de 75 mg) e 6303 pacientes recebiam apenas placebo. O AAS (dose única diária de 75 mg a 325 mg), e outra terapia padrão também foram utilizados, e estes pacientes foram acompanhados durante um ano. O desfecho primário mostrou um resultado de 20% de redução do risco relativo para o grupo com clopidogrel (YUSUF et al., 2001).

Baseados no estudo *CURE*, outros dois estudos foram conduzidos utilizando a terapia dupla de antiagregação plaquetária. O estudo *CHANCE* (do inglês, *Clopidogrel in High-Risk Patients with Acute Nondisabling Cerebrovascular Events*) foi realizado em uma população muito restrita (114 centros médicos na China), com 5.170 pacientes. Destes, 2.584 utilizaram a terapia dupla (clopidogrel + AAS) e 2.586 apenas AAS. O desfecho primário apresentou como resultado 32% de redução de risco de recorrência para o grupo com clopidogrel e AAS (WANG et al., 2013).

O estudo *POINT* (do inglês, *Platelet-Oriented Inhibition in New TIA and Minor Ischemic Stroke*), diferentemente do estudo *CHANCE*, foi realizado internacionalmente em 269 locais de 10 países da América do Norte, Europa, Austrália e Nova Zelândia. Dos 4.881 pacientes do estudo, 2.432 faziam uso do clopidogrel em conjunto com o AAS e 2.449 faziam uso apenas do AAS. Observou-se no desfecho primário uma redução de 25% do risco de eventos cardiovasculares para o grupo que fazia uso da terapia dupla (JOHNSTON et al., 2018).

Para pacientes com implantes de *stents* coronarianos, a terapia dupla de antiagregantes plaquetários é a base para o tratamento. No início da terapia, era feita uma associação entre AAS e ticlopidina, porém, esta última foi substituída pelo clopidogrel devido este apresentar uma maior e melhor tolerabilidade e maior segurança. A dose que se usa de antiagregantes plaquetários hoje corresponde 81 a

300 mg/dia de AAS, e 75 mg/dia de clopidogrel se tratando de implante de *stents* (SILVA et al., 2012).

De acordo com Lorga et al. (2013), para os diversos eventos cardiovasculares, utiliza-se uma dose de ataque de 300 mg, seguida de uma dose diária de 75 mg de clopidogrel para manutenção. A associação entre clopidogrel e AAS apresenta resultados mais efetivos do que se ambos forem utilizados separados.

No Brasil, tanto o clopidogrel como o AAS são oferecidos pelo Sistema Único de Saúde (SUS). O clopidogrel está incluído na lista de Assistência Farmacêutica do SUS, com forma de apresentação comprimido 75mg, através do Componente Especializado da Assistência Farmacêutica (BRASIL, 2013a). O AAS também está incluído na lista de Assistência Farmacêutica do SUS, porém, através do Componente Básico da Assistência Farmacêutica, com forma de apresentação comprimido 100mg e 500 mg (BRASIL, 2013b).

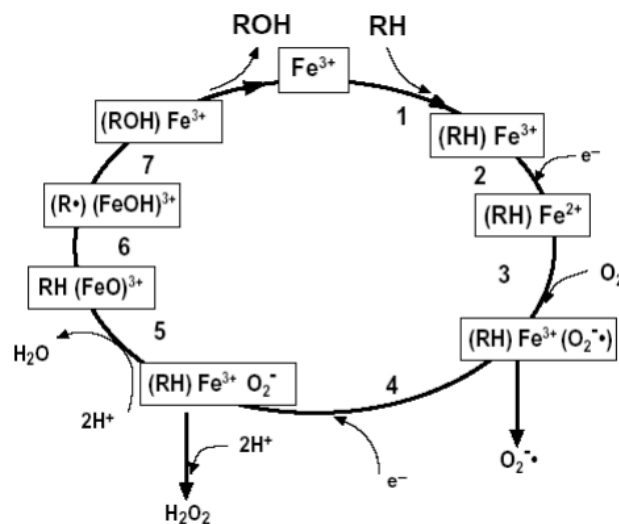
Além do clopidogrel, existem outros dois antiplaquetários que apresentam o mesmo mecanismo de ação, inibindo o receptor P2Y: prasugrel e ticagrelor, que segundo Khayata et al. (2017) apresentam benefícios em relação a variabilidade individual à resposta da droga; porém, apresentam custo-benefício bem mais elevado. O preço médio do clopidogrel 75 mg com 28 comprimidos é de R\$ 30,20. O ticagrelor 90 mg com 60 comprimidos custa R\$ 208,78. O prasugrel 10 mg com 30 comprimidos tem preço de R\$ 206,90. O ticagrelor tem custo 322% maior do que o clopidogrel, enquanto o prasugrel apresenta um custo ainda mais elevado, com 638%. Por esse motivo, o clopidogrel é mais amplamente utilizado pela população brasileira, inclusive por ser oferecido pelo SUS.

2.3 CITOCROMO P450

O citocromo P450 (CYP450) é uma família composta por homoproteínas que estão presentes em diversas espécies. São responsáveis pelo metabolismo de inúmeros xenobióticos (fármacos, pesticidas, esteroides e alcaloides). Também tem função de degradação de substâncias corporais, como, por exemplo, esteroides, sais biliares e vitaminas. Mais de 2000 mil isoformas já foram identificadas em animais e plantas. É chamado de CYP450 devido a 3 fatores: CITO (foram encontrados em células), CROMO e P (existência de um pigmento heme) e 450 (a luz é absorvida com um comprimento de onda de 450 nm) (JAIMES-SANTOYO et al., 2014).

O mecanismo de ação do CYP450 consiste em duas fases definidas como fase I e fase II. A fase I corresponde a oxidação ou desmetilação, formando um substrato, e a fase II utiliza esse substrato para se ligar com uma enzima que contém ferro heme. Um elétron transferido de um NADPH reduzido transforma o ferro heme do estado férrico para o estado ferroso. O oxigênio se liga ao local contendo o ferro heme temporariamente. Logo em seguida, um átomo de oxigênio vai ser inserido no substrato e o outro átomo sofre redução e forma H₂O (Figura 4) (ZANGER; SCHWAB, 2013).

Figura 4: Mecanismo de ação do CYP450.



1- citocromo P450 na forma oxidada (Fe^{3+}) ligado ao substrato. 2 - elétron do NADPH é transportado pela flavoproteína P450 redutase, reduzindo o complexo P450-substrato oxidado, que se une ao oxigênio para formar outro complexo: enzima-oxigênio-substrato (3). 4 - um elétron é transportado do NADPH, pela redutase, formando um complexo oxigênio ativado-P450-substrato. 5 - clivagem entre oxigênio-oxigênio, onde um destes será liberado, e com dois prótons do meio, formará água. 6 - formação de um complexo ferro+oxigênio, resultando no produto oxidado do fármaco.

Fonte: BOWN; TOBAR, 2004 apud SOUZA, 2014.

De acordo com Pettersson (2009), todas as enzimas CYP apresentam uma estrutura tridimensional conservada, se mostrando semelhante a um triângulo invertido.

As isoenzimas do CYP450 são classificadas em subgrupos divididos a partir das semelhanças nas sequências de aminoácidos. O código se inicia em CYP seguido

da designação da família por um número. Em seguida uma letra para determinar a subfamília e um número individual para o gene (AUDI; PUSSI, 2000). Para Sim e Ingelman-Sundberg (2011), se as enzimas CYP compartilharem mais de 40% da identidade na sequência de aminoácidos, elas pertencerão ao mesmo grupo (CYP2). Se essa identidade for superior a 55%, pertencem a mesma subfamília (CYP2C). E, depois, a enzima receberá um número individual (CYP2C19).

Os genes do CYP450 são extremamente polimórficos e podem resultar em atividades enzimáticas e metabólicas nulas, diminuídas ou aumentadas. Dentre esses genes, pode-se citar o *CYP2C19*, no qual os polimorfismos podem resultar em uma metabolização irregular, variando as respostas das drogas de organismo para organismo (DEAN, 2018).

2.4 GENE *CYP2C19*

O gene *CYP2C19* desempenha papel fundamental nos processos de metabolização de drogas no fígado, sendo o clopidogrel um dos medicamentos que fazem uso desses processos para se transformar em um metabólito ativo, apresentando capacidade de inibir a agregação plaquetária (OSNABRUGGE et al., 2015).

O gene *CYP2C19* era conhecido como gene hidroxilase de mefenitoina. Porém, como pertence às enzimas do CYP450, teve alteração no nome. A enzima é codificada pelo gene da subfamília CYP2C, que se situa na região 10q24.1-q24.3, sendo composto por 90.209 nucleotídeos. Na sua estrutura, apresenta nove éxons, com 1.473 nucleotídeos, sendo responsável por codificar uma proteína que é composta por 490 aminoácidos (55 KDa) (SEMEDO, 2017).

CYP2C19 é primordial para o metabolismo de drogas. É responsável por realizar o metabolismo de aproximadamente 10% dos medicamentos mais comumente utilizados, como benzodiazepínicos, antiepilépticos, inibidores de bomba de prótons, antidepressivos tricíclicos e quimioterápicos (SOUZA, 2013). Apresenta uma estereoespecificidade em alto grau para a metabolização de moléculas, apresentando uma maior afinidade por um dos enantiômeros do substrato, de maneira que este é metabolizado primeiramente e com maior rapidez. Os polimorfismos desse gene estão associados à variabilidade nas respostas individuais às drogas (SYCHEV et al., 2018).

Os polimorfismos são variações que ocorrem no genoma individual e podem trazer mudanças no fenótipo, o que pode determinar a diferença nas respostas à medicamentos. Dentre os polimorfismos, cita-se os SNPs, que são os polimorfismos de nucleotídeo único. Podem ocorrer em diversas regiões do gene, mas quando ocorrem em regiões codificadoras, resultam na alteração de um aminoácido, e quando ocorrem em regiões promotoras, alteram a expressão dos genes (ZHOU et al., 2008).

O gene *CYP2C19* apresenta seus polimorfismos catalogados no *Farmacogene Variation (PharmVar)* 35 variantes (DEAN, 2018) e podem ser caracterizados em fenótipos (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização dos fenótipos associados aos polimorfismos do gene *CYP2C19*.

Genótipos	Fenótipos
*1/*1	Metabolizadores normais
*1/*2 *2/*17	Metabolizadores intermediários
*2/*2	Metabolizadores pobres ou lentos
*1/*17	Metabolizadores rápidos
*17/*17	Metabolizadores ultrarrápidos

Fonte: SCOTT et al., 2013.

Essa classificação de fenótipos foi feita pela diretriz do *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC) no ano de 2011, pelo uso clínico de resultados de testes do gene *CYP2C19* em pacientes que precisavam de terapia antiplaquetária, e foi revisada e atualizada pelos mesmos autores da diretriz (SCOTT et al., 2013).

2.5 POLIMORFISMOS DO GENE *CYP2C19*

O *CYP2C19* é um gene extenso, consistindo em nove éxons, e pode apresentar diversos polimorfismos, que tem relevante importância clínica, pois resultam em alterações na capacidade metabólica do indivíduo de resposta a medicamentos.

Dentre os polimorfismos do *CYP2C19*, existem alguns mais frequentes e comuns que outros, como o *CYP2C19*2*, **3* e **17* (UPPUNGUNDURI et al., 2012).

O *CYP2C19*2* (rs4244285) e o *CYP2C19*3* (rs4986893) são caracterizados por uma substituição da guanina (G) pela adenina (A). A variante **2* se encontra no nucleotídeo 681 (681G>A), que está presente no éxon 5, e resulta em um *splicing* defeituoso que afeta a funcionalidade da enzima, deixando-a não funcional e inativa. Já a variante **3* encontra-se no nucleotídeo 636 (636G>A), situado no éxon 3, e resulta na substituição de um triptofano por um códon de parada prematura, gerando uma proteína inativa. As variantes **2* e **3* produzem um fragmento de proteína não funcional e cataliticamente inativo (MORAES, 2011; BROWN; PEREIRA, 2018).

Rideg et al. (2011) identificaram que a frequência do *CYP2C19*3* em uma população caucasiana húngara é de 0,9%. Sipeky et al. (2013) verificaram para populações caucasianas húngara e italiana uma frequência igual a 0%. Existem estudos ainda que mostram que a frequência em caucasianos é menor que 0,5%, divergindo do *CYP2C19*2* e *CYP2C19*17*, em que a frequência encontrada é de 15% e 21%, respectivamente (SANTOS et al., 2011; SAMER et al., 2013; SCOTT et al., 2013; CUSINATO, 2017;). No Brasil, Suarez-Kurtz et al. (2012), ao estudarem populações das regiões Norte, Nordeste, Sul e Sudeste, observaram uma prevalência de 0,05% para o *CYP2C19*3*. Considerando a baixa prevalência desta variante polimórfica, principalmente no Brasil, o *CYP2C19*3* não foi investigado no presente estudo.

O *CYP2C19*2* tem sido associado com uma diminuição na capacidade de resposta antiplaquetária, prevendo uma grande proporção da variabilidade na resposta clínica ao clopidogrel, sendo o mais comum polimorfismo de perda de função associado ao *CYP2C19* (BAUER et al., 2011). Montalescot et al. (2009), Hulot et al. (2010), Mega et al. (2010), Sofi et al. (2011), Jin et al. (2011), ao estudarem os polimorfismos do gene *CYP2C19*, relataram que os indivíduos com problemas cardiovasculares, que faziam uso de clopidogrel, com genótipo *CYP2C19*1/*2* ou *CYP2C19*2/*2* apresentavam cerca de 1,5 a 2 vezes maior risco de ocorrência de um evento cardiovascular ou morte cardiovascular, quando comparados aos indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*1*.

Para testar a influência do *CYP2C19*2* relacionado a resposta ao clopidogrel, Gonzalez et al. (2016) estudaram 209 indivíduos que passaram por implante de *stent*. Os indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*2* ou *CYP2C19*2/*2* exibiram uma atividade

antiplaquetária significativamente menor ($p < 0,05$) em relação aos indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*1*.

Alguns estudos, como demonstrados a seguir, apresentam diferenças entre os indivíduos metabolizadores intermediários ou lentos e os metabolizadores normais, no que diz respeito a agregação plaquetária e a resposta do clopidogrel (para revisão, KUBICA et al., 2011). Hulot et al. (2006) analisaram voluntários saudáveis durante 7 dias de uso de clopidogrel, observando que a resposta em indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*1* ou metabolizadores normais foi muito boa em comparação aos indivíduos com metabolização lenta ou intermediária, em que foi prejudicada. Mega et al. (2009) mostraram em seu estudo que os portadores de pelo menos um alelo de função reduzida (indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*2* ou *CYP2C19*2/*2*) apresentaram redução de 32,4% na concentração plasmática de metabólito ativo do clopidogrel e de 9% na agregação plaquetária máxima em comparação com os indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*1*.

O polimorfismo *CYP2C19*17* (rs12248560) está localizado na região promotora do gene (-806C>T), onde que ocorre substituição de uma citosina (C) por uma timina ou adenosina (T/A), levando ao aumento da transcrição (LI-WAN-PO et al., 2010). Este polimorfismo tem sido associado a uma atividade enzimática rápida e metabolismo aumentado, sugerindo ganho de função. De acordo com o estudo de Frère et al. (2009), indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*17* ou *CYP2C19*17/*17* apresentam um aumento da resposta plaquetária ao clopidogrel. Os indivíduos que apresentam esse SNP podem ter um risco aumentado de falhas a partir de tratamentos com fármacos substratos do *CYP2C19*, como por exemplo, o clopidogrel, ao indicar que os indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*17* ou *CYP2C19*17/*17* podem apresentar um maior risco de sangramento.

Sibbing et al. (2010b) avaliaram o impacto do *CYP2C19*17* na agregação plaquetária induzida por ADP, o risco de sangramento e a ocorrência de trombose em 1.524 pacientes tratados com clopidogrel. Tanto os indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*17*, como os indivíduos com genótipo *CYP2C19*17/*17*, apresentaram valores de agregação plaquetária significativamente reduzidos em relação aos indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*1* ($p < 0,05$). Além disso, identificaram fatores de risco para sangramento, mas não encontraram associação com a ocorrência de trombose.

O estudo de Lin et al. (2016) associou o *CYP2C19*17* com eventos isquêmicos em vez de hemorragia, apesar de acreditar-se que o **17* esteja associado a um risco aumentado de hemorragia devido ao seu hiper-funcionamento.

Em casos de indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*2* ou *CYP2C19*2/*2* é recomendado uma terapia antiplaquetária alternativa, se não existir contraindicação, evitando reações adversas causadas pelo clopidogrel, como, por exemplo, trombose. Já para os indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*17* ou *CYP2C19*17/*17* deve ser utilizada a dose recomendada pelo rótulo do medicamento, evitando eventos adversos como sangramentos (DEAN, 2018).

Com relação as frequências dos polimorfismos, Sibbing et al. (2010a) identificaram que 73% dos indivíduos na população alemã apresentavam genótipo *CYP2C19*1/*1*, 25% genótipo *CYP2C19*1/*2* e somente 2% apresentavam genótipo *CYP2C19*2/*2*. Collet et al. (2009) encontraram que a maioria das análises clínicas baseia-se na comparação entre indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*1* e indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*2* ou *CYP2C19*2/*2*, devido ao *CYP2C19*2* em homozigose ser raro. No estudo de Kubica et al. (2011) foi encontrada para o *CYP2C19*2* uma frequência de 40% em africanos e 55% em asiáticos. Para o *CYP2C19*17* foram encontradas frequências mais altas: em alemães, 41% (36% eram indivíduos com genótipo *CYP2C19*1/*17* e 5% com genótipo *CYP2C19*17/*17*), em franceses, 20%, em suecos e etíopes, 18%, e apenas em 4% dos chineses.

Com o intuito de informar a distribuição dos genótipos dos polimorfismos do gene *CYP2C19* no Brasil, Suarez-Kurtz et al. (2012) estudando a população brasileira nas regiões Norte, Nordeste, Sul e Sudeste, encontraram ao analisar 1.034 indivíduos, uma frequência de 13% para o *CYP2C19*2* e de 17% para o *CYP2C19*17*.

Santos et al. (2011) identificaram prevalências do *CYP2C19*2* na população brasileira: 10,4%, 16,9%, 16,5% e 20,2% para ameríndios, descendentes de caucasianos, mulatos e descendentes de africanos, respectivamente. Já em relação ao *CYP2C19*17*, os ameríndios apresentam uma frequência de 15,8%, descendentes de caucasianos 18%, mulatos, 21,3% e descendentes de africanos, 26,3%. Em ameríndios e descendentes de africanos, pode-se observar uma alta prevalência na frequência do **17*.

Os haplótipos são combinações de um determinado grupo de alelos (ou SNPs) adjacentes, presentes no mesmo cromossomo, que apresentam baixa recombinação e, por isso, são geralmente herdados juntos (CARDON; ABECASIS, 2003; ARCE,

2018). Portanto, considerando o *CYP2C19*2* e *CYP2C19*17*, serão possíveis haplótipos os grupos GC (*1*1), GT (*1*17), CA (*1*2) e AT (*2*17).

2.6 MARCADORES INFORMATIVOS DE ANCESTRALIDADE

É de fundamental importância levar em consideração que podem existir diferenças étnicas nas frequências dos polimorfismos genéticos de genes associados a medicamentos (OZAWA et al., 2004). Isso foi estudado por Santos et al. (2011) na população brasileira, onde foi observado que os polimorfismos no *CYP2C19* se distribuem diferencialmente de acordo com a etnia.

O Brasil apresenta uma população miscigenada, por conta do cruzamento entre diversas etnias e povos, o que o torna um país dividido culturalmente. É importante ressaltar que a história de formação das etnias é distinta, sendo diferente nas regiões brasileiras (FERREIRA, 2012).

Para classificar os indivíduos de acordo com etnias, na maioria das vezes, utiliza-se a etnia autodeclarada. Essa classificação apresenta limitações, pois uma pessoa pode ser declarar branca sendo parda, por exemplo. Logo, é necessário um estudo de ancestralidade genética, a partir do DNA, por meio de marcadores genéticos, para avaliar a contribuição ancestral de uma determinada população (SANTOS et al., 2011).

Os marcadores genéticos são caracterizados por apresentarem frequências polimórficas tanto nas populações híbridas como nas populações ancestrais. Para exibir diferenciais de frequências alélicas superiores a 30% entre duas populações parentais, existem marcadores genéticos que são denominados Marcadores Informativos de Ancestralidade (MIAs) (MUNIZ, 2008).

Os MIAs são importantes para inferir a origem de indivíduos, estimar proporções de ancestralidade em populações miscigenadas, analisando a estrutura dessas populações. Além disso, ajudam a entender dinâmicas migratórias e eventos de colonização (FONDEVILLA et al., 2013).

Estudos utilizando MIAs mostram que a população do Brasil é uma das mais heterogêneas do mundo, devido ao seu processo de colonização de 500 anos atrás entre africanos, ameríndios e europeus (ABE-SANDES; SILVA; ZAGO, 2004; MACHADO, 2008). Sabendo que esse marcadores moleculares são usados para estimar o grau de mistura de populações e indivíduos (FELIX et al., 2010), é certo que

pelo fato da população brasileira ser miscigenada, um indivíduo não tem 100% de ancestralidade europeia, mas pode apresentar uma combinação de ancestralidade europeia, africana e ameríndia.

Analisando a população do estado da Bahia, no Brasil, Felix et al. (2010), utilizando MIAs encontrou proporções de ancestralidade de 49% de africanos, 44% de europeus e 7% de ameríndios. Machado (2008) também encontrou em seu estudo no estado da Bahia, um percentual baixo de predominância ancestral ameríndia (14,5%), quando comparados a africana (49,2%) e a europeia (36,3%).

Os MIAs são marcadores moleculares ideais para estimar de forma eficaz as misturas populacionais e para detectar associações alélicas entre *loci* não ligados. Estes loci podem gerar uma maior precisão nas estimativas da composição étnica triíbrida da população brasileira (MUNIZ, 2008).

Seguindo esse princípio, Lopes et al. (2013), em um estudo de ancestralidade da população piauiense utilizando os MIAs, identificaram que em um grupo de 204 indivíduos, 18,5% apresentavam predominância ancestral ameríndia, 21,5% africana e 60% europeia.

Partindo do pressuposto que no estado do Piauí, a população é miscigenada, vê-se a necessidade de fazer um estudo sobre a prevalência desses polimorfismos, com o intuito de influenciar na prática clínica de medicamentos associados, como o clopidogrel.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Avaliar a prevalência de polimorfismos associados a resposta terapêutica ao clopidogrel em uma população do Estado do Piauí.

3.2 ESPECÍFICOS

- Verificar as frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas dos polimorfismos do *CYP2C19*2* e **17*;
- Relacionar a predominância ancestral total e por mesorregião com a distribuição dos SNPs *CYP2C19*2* e **17*;
- Comparar frequências alélicas obtidas com as observados em outros estudos populacionais;
- Classificar os indivíduos estudados a respeito dos fenótipos, classificando-os em metabolizadores normais, intermediários, lentos, rápidos ou ultrarrápidos;
- Correlacionar a variabilidade no *CYP2C19* com as estimativas de ancestralidade genética individual.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

Lopes et al. (2013) ao realizar um estudo sobre análise do perfil genético da população piauiense, utilizando marcadores de ancestralidade do tipo INDELS, coletou amostras de DNA de 204 indivíduos, sendo 102 do sexo feminino e 102 do sexo masculino, saudáveis, todos maiores de 18 anos. Os participantes declararam que nasceram a partir de duas gerações passadas dentro do território piauiense, e as coletas dos materiais biológicos foram feitas nesses indivíduos que residiam em cidades escolhidas a partir de divisões por mesorregião e microrregião. Foram escolhidas 11 microrregiões inseridas dentro das mesorregiões existentes no Piauí e 45 cidades ao longo destas (Tabela 2).

Tabela 2. Cidades onde foram obtidos os materiais biológicos.

Mesorregião	Microrregião	Cidades	Números de Voluntários
		Floriano	14
	Floriano	Itaueira	01
		Jerumenha	01
		Anísio de Abreu	02
		Bonfim do Piauí	01
		Canto do Buriti	02
		Caracol	05
Sudoeste		Coronel José Dias	02
	São Raimundo Nonato	Dirceu Arcoverde	03
		Dom Inocêncio	04
		Fartura do Piauí	01
		São Lourenço do Piauí	01
		São Raimundo Nonato	11
		Tamboril do Piauí	01
		Várzea Grande	02

		Barras	07
		Batalha	01
	Baixo Parnaíba Piauiense	Brasileira	01
		Luzilândia	01
		Piripiri	02
Norte		Cocal	01
		Cocal do Alves	02
	Litoral Piauiense	Luis Correia	01
		Parnaíba	23
		Piracuruca	11
	Teresina	Teresina	15
		Campo Maior	10
	Campo Maior	Domingos Mourão	01
		Pedro II	05
Centro-Norte		Amarante	08
	Médio Parnaíba Piauiense	Regeneração	01
		Inhuma	01
	Valença do Piauí	Novo Oriente do Piauí	01
		Valença do Piauí	11
		Bocaina	01
		Dom Expedito Lopes	01
	Picos	Oeiras	16
		Picos	18
		Santa Cruz do Piauí	02
	Pio IX	Alagoinha do Piauí	01
		Pio IX	03
Sudeste		Itainópolis	02
		Jaicós	03
	Alto Médio Canindé	São João do Piauí	02
		Simplício Mendes	01

Todos os participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, liberando suas amostras de DNA para a realização da pesquisa. Previamente a coleta das amostras, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Piauí, de acordo com a Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, que preconiza normas sobre pesquisas envolvendo seres humanos, sendo aprovadas no dia 20 de março de 2012, sob o Registro CONEP número 045, e CAAE (0443.0.045.000-11) (em anexo).

4.2 EXTRAÇÃO DO DNA, QUANTIFICAÇÃO E GENOTIPAGEM

O DNA foi extraído de acordo com o descrito por Lopes et al. (2013), em que foi utilizado o conjunto de reagentes da Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI, USA), para extração de DNA a partir de sangue periférico. Em seguida, as amostras passaram por corrida eletroforética em gel de agarose a 0,8%, com o objetivo de verificar a qualidade do DNA, passando também pela quantificação. Para o presente estudo, a quantificação do DNA das 204 amostras foi realizada novamente, a partir do espectrofotômetro BioSpec-nano (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) e todas as amostras de DNA foram diluídas para uma concentração final de 4,5 ng/μL.

Para realizar a genotipagem dos polimorfismos, foram utilizados ensaios validados *TaqMan genotyping assay* para os SNPs *CYP2C19*2* (rs4244285) e *CYP2C19*17* (rs12248560). O preparo da reação consistiu de 2,5 μL de Master Mix (2x TaqMan Universal PCR Master Mix, No UNG), 0,25 μL de Sonda/Primers (20x Drug Metabolism Genotyping Assay Mix) e 2,25 μL de DNA, totalizando 5 μL/poço. Utilizou-se 2 controles negativos por conjunto de reação. As reações seguiram o ciclo de amplificação de 95°C por 10 minutos, 92°C por 15 segundos e 60°C por 90 segundos, passando-se por 50 ciclos, realizados pelo *7500 fast PCR real time* (Applied Biosystems®).

4.3 ANÁLISE DOS DADOS

As frequências genotípicas e alélicas foram realizadas por simples contagem e as distribuições genotípicas observadas e esperadas foram comparadas pelo método do χ^2 (Qui-quadrado) para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg. A frequência

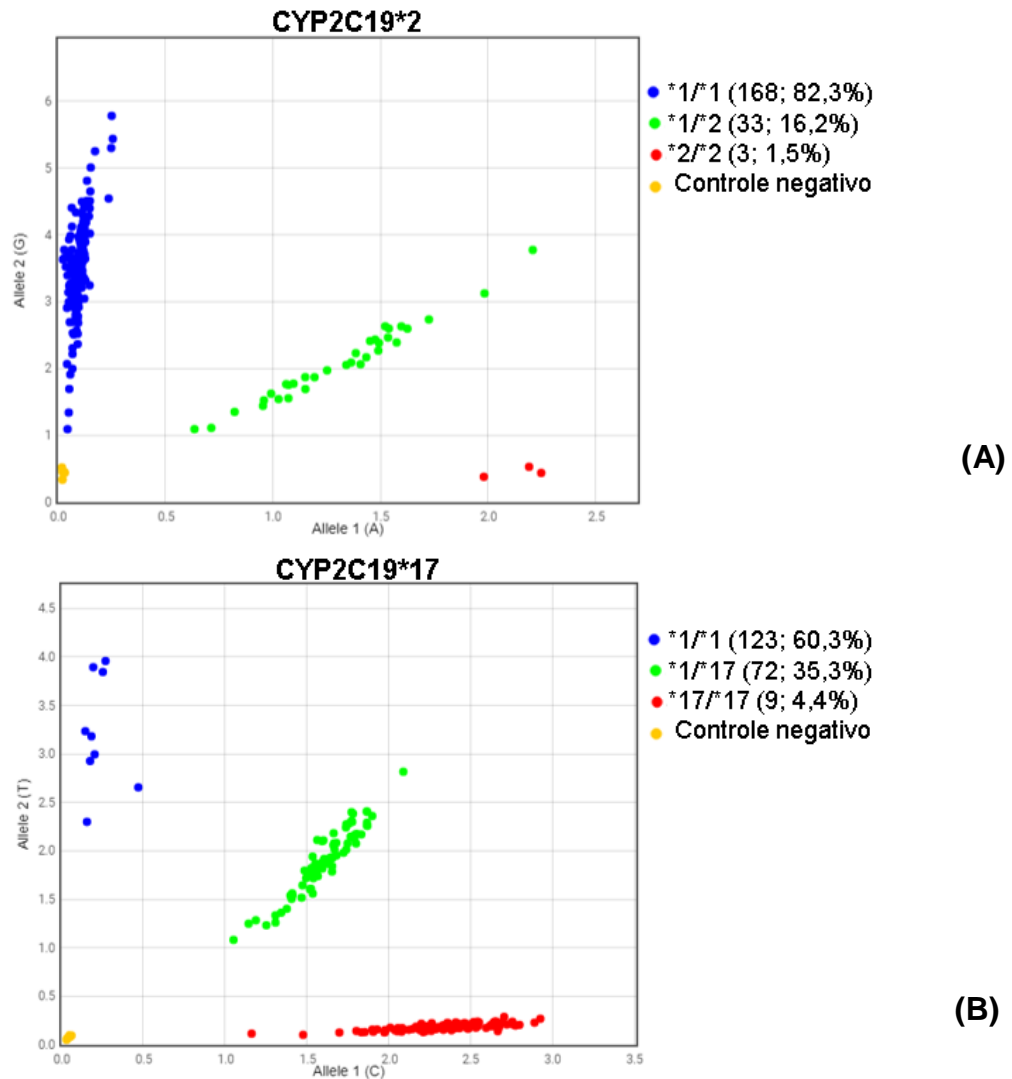
haplotípica foi calculada a partir do software Haploview© (Broad Institute of MIT and Harvard, 2003-2006). Para comparar frequências alélicas entre mesorregiões do estado do Piauí, frequências alélicas do presente estudo com as de outras populações mundiais e frequências haplotípicas foi utilizado o teste exato de Fisher.

Para estimar a correlação entre a ancestralidade individual e o número de cópias de alelo específico em cada indivíduo foi utilizada a correlação de Spearman. Para todas as análises do estudo foi considerado o nível de significância de $p < 0,05$. A análise foi conduzida utilizando o BioStat versão 5.3.

5 RESULTADOS

Os plots de discriminação alélica são resultados da amplificação ocorrida após a análise de PCR em tempo real (Figura 5).

Figura 5: Plots de discriminação alélica.



(A) Plot de discriminação alélica do *CYP2C19*2*. (B) Plot de discriminação alélica do *CYP2C19*17*.

Fonte: 7500 fast PCR real time (Applied Biosystems®), 2017.

Dentre os 204 indivíduos do estudo, 181 possuem predominância ancestral europeia, 16 africana e 7 ameríndia (Tabela 3). Foi observado que as frequências genóticas se encontraram dentro do equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$).

Tabela 3. Frequências genótípicas, alélicas, fenótípicas e haplotípicas de acordo com grupo ancestral

	Europeia (n, %)	Africana (n, %)	Ameríndia (n, %)	Total (n, %)
Genótipos	181 (100%)	16 (100%)	7 (100%)	204 (100%)
<i>CYP2C19*1/*1</i>	85 (46,9)	7 (43,7)	2 (28,6)	94 (46,1)
<i>CYP2C19*1/*2</i>	24 (13,3)	1 (6,3)	1 (14,3)	26 (12,7)
<i>CYP2C19*1/*17</i>	53 (29,2)	8 (50)	4 (57,1)	65 (31,9)
<i>CYP2C19*2/*2</i>	3 (1,7)	0	0	3 (1,5)
<i>CYP2C19*2/*17</i>	7 (3,9)	0	0	7 (3,4)
<i>CYP2C19*17/*17</i>	9 (5)	0	0	9 (4,4)
Alelos	362 (100%)	32 (100%)	14 (100%)	408 (100%)
<i>CYP2C19*1</i>	247 (68,2)	23 (71,9)	9 (64,3)	279 (68,4)
<i>CYP2C19*2</i>	37 (10,2)	1 (3,1)	1 (7,1)	39 (9,6)
<i>CYP2C19*17</i>	78 (21,6)	8 (25)	4 (28,6)	90 (22)
FENÓTIPOS	181 (100%)	16 (100%)	7 (100%)	204 (100%)
Normal	85 (46,9)	7 (43,7)	2 (28,6)	94 (46,1)
Intermediário	31 (17,1)	1 (6,3)	1 (14,3)	33 (16,1)
Lento	3 (1,7)	0	0	3 (1,5)
Rápido	53 (29,3)	8 (50)	4 (57,1)	65 (31,9)
Ultrarrápido	9 (5)	0	0	9 (4,4)
HAPLÓTIPOS	181 (100%)	16 (100%)	7 (100%)	204 (100%)
*1*1	123 (68,2)	11 (71,9)	4 (64,3)	139 (68,3)
*1*17	39 (21,5)	4 (25)	2 (28,6)	45 (22,1)
*1*2	19 (10,3)	1 (3,1)	1 (7,1)	20 (9,6)

Fonte: Autoria própria.

O genótipo *1/*1 apresenta frequência de 46,1%, e observou-se uma elevada frequência para o genótipo *1/*17 com 31,9%. Nos grupos ancestrais, também notou-se uma frequência mais elevada para o genótipo *1/*17; a população com predominância europeia apresenta frequência de 29,2%, a africana 50% e a ameríndia 57,1%.

Para o *2, observou-se uma prevalência de 9,6%, e para o *17 de 22%. Com relação aos grupos ancestrais, a maior frequência do *2 foi na população de predominância ancestral europeia (10,2%), e a maior frequência do *17 na população de ascendência ameríndia (28,6%).

Com relação aos fenótipos, a maior prevalência foi para o fenótipo normal, com 46,1%. Para a população com predominância ancestral europeia e africana, o fenótipo

normal também prevaleceu, com 46,9% e 43,7%, respectivamente. A população com predominância ancestral ameríndia apresentou maior frequência para o fenótipo rápido, com 57,1%.

O haplótipo mais frequente na população total e nos grupos ancestrais é o *1*1, apresentando 68,3% na população total, 68,2% no grupo ancestral europeu, 71,9% no africano e 64,3% no ameríndio, o que mostra que os alelos funcionais são mais prevalentes em relação as variantes do gene *CYP2C19* na população piauiense.

De acordo com as mesorregiões piauienses abordadas no presente estudo, podemos observar que apesar da média de predominância ancestral ser europeia em todas elas, os valores das ascendências africana e ameríndia variam entre si. Isso é explicado pelo fato da população brasileira ser miscigenada, apresentando combinações diversas, em sua maioria portuguesa, africana e ameríndia (Tabela 4).

Tabela 4. Média da ancestralidade genômica de acordo com as mesorregiões.

	N	Ascendência africana	Ascendência europeia	Ascendência ameríndia
Norte Piauiense	50	0.205	0.582	0.207
Centro-Norte Piauiense	50	0.240	0.567	0.193
Sudeste Piauiense	51	0.213	0.630	0.157
Sudoeste Piauiense	53	0.233	0.568	0.199

Fonte: Autoria própria.

Observou-se uma alta prevalência no genótipo *1/*17 em todas as mesorregiões, sendo 36% no centro norte piauiense, 22% no norte piauiense, 41,2% no sudeste piauiense e 29,3% no sudoeste piauiense (Tabela 5).

Tabela 5. Frequências genotípicas e alélicas por mesorregião.

	Centro Norte Piauiense (n, %)	Norte Piauiense (n, %)	Sudeste Piauiense (n, %)	Sudoeste Piauiense (n, %)	TOTAL (n, %)
GENÓTIPOS	50 (100%)	50 (100%)	51 (100%)	53 (100%)	204 (100%)
<i>CYP2C19*1/*1</i>	22 (44)	25 (50)	21 (41,2)	26 (49)	94 (46,1)
<i>CYP2C19*1/*2</i>	6 (12)	8 (16)	6 (11,7)	6 (11,3)	26 (12,7)
<i>CYP2C19*1/*17</i>	18 (36)	11 (22)	21 (41,2)	15 (28,3)	65 (31,9)
<i>CYP2C19*2/*2</i>	1 (2)	1 (2)	0	1 (1,9)	3 (1,5)
<i>CYP2C19*2/*17</i>	0	2 (4)	2 (3,9)	3 (5,7)	7 (3,4)
<i>CYP2C19*17/*17</i>	3 (6)	3 (6)	1 (2)	2 (3,8)	9 (4,4)
ALELOS	100 (100%)	100 (100%)	102 (100%)	106 (100%)	408 (100%)
<i>CYP2C19*1</i>	68 (68)	69 (69)	69 (67,7)	73 (68,9)	279 (68,4)
<i>CYP2C19*2</i>	8 (8)	12 (12)	8 (7,8)	11 (10,4)	39 (9,6)
<i>CYP2C19*17</i>	24 (24)	19 (19)	25 (24,5)	22 (20,7)	90 (22)

Fonte: Autoria própria.

Foi observado que na mesorregião centro norte piauiense a frequência do *2 é de 8%, no norte piauiense 12%, no sudeste piauiense 7,8% e no sudoeste piauiense 10,4%. Já para o *17, 24% é a frequência na mesorregião centro norte piauiense, 19% no norte piauiense, 24,5% no sudeste piauiense e 20,7% no sudoeste piauiense.

A análise da estimativa de correlação entre a ancestralidade individual e o número de cópias de alelo específico demonstrou que a ancestralidade europeia, africana e ameríndia não influencia no número de cópias dos *2 e *17 ($p > 0,05$) na população piauiense.

6 DISCUSSÃO

As enzimas do CYP450 são responsáveis por metabolizar mais da metade de todas as drogas existentes no mercado e o gene *CYP2C19* atua no metabolismo do clopidogrel. O clopidogrel é um fármaco antiplaquetário amplamente distribuído no Brasil pelo SUS para o tratamento de doenças cardiovasculares. Indivíduos que apresentam genótipo *CYP2C19*1/*2* ou *CYP2C19*2/*2* exibem níveis mais baixos do metabólito ativo do clopidogrel, diminuindo conseqüentemente a antiagregação plaquetária e elevando a taxa de eventos cardiovasculares, em comparação com os indivíduos *CYP2C19*1/*1*. Já os indivíduos que apresentam pelo menos um **17* estão associados com o aumento da resposta ao clopidogrel e a um alto risco de sangramento (DEHBOZORGI et al., 2018).

A composição genética da população brasileira é bastante heterogênea, devido ao seu processo de formação por meio de diversos cruzamentos interétnicos. Isso porque no período colonial e com o desenvolvimento do país, diversos povos contribuíram com sua influência, sendo prioritariamente: o indígena, nativo da região, que vivia como nômade, se mantendo através de caça e pesca; o português, colono, de procedência europeia; e o africano, trazido como escravo, advindo da África. Em menor proporção, outros povos também se fixaram no país e contribuíram com a formação da população, como os holandeses, franceses, ingleses, italianos, alemães e japoneses (TRENNEPOHL, 2014).

A formação da população piauiense ocorreu, assim como no Brasil, pela influência prioritária dos mesmos três grupos étnicos: indígenas, portugueses e africanos. Com o passar dos anos, também recebeu outros povos, como espanhóis, holandeses e franceses (RODRIGUES, 2004; NUNES, 2007; LOPES et al., 2013). Essa mistura de povos pode trazer diferenças nas frequências das variantes genéticas e o presente estudo é o primeiro a abordar frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos associados a eficácia do clopidogrel (*CYP2C19*2* e *CYP2C19*17*) na população piauiense. Por isso, é importante comparar as frequências alélicas encontradas no nosso estudo com as encontradas em diversas populações mundiais, para observar se diante da heterogeneidade da população, as diferenças entre as frequências serão expressivas (Tabela 6).

Tabela 6. Comparações das frequências alélicas do *CYP2C19*2* e *CYP2C19*17* nesse estudo e em outros estudos populacionais.

População	n	*2	p	*17	p	Referência
Brasileira (Piauí)	204	9,6%	-	22%	-	Este estudo
Brasileira (diferentes regiões)	1034	13%	0,329	17%	0,237	Suarez-Kurtz et al. (2012)
Brasileira (diferentes regiões)	1029	16%	0,146	20,3%	0,431	Santos et al. (2011)
Brasileira (Goiás)	137	11,7%	0,410	16,8%	0,237	Semedo (2017)
Brasileira (São Paulo)	198	14,6%	0,196	19,9%	0,431	Prado et al. (2012)
Brasileira (Rio de Janeiro)	155	18,2%	0,0764	14%	0,098	Jesus (2016)
Brasileira (Guarani)	90	11,1%	0,5	1,1%	0,0000	Vargens et al. (2011)
Grega (todas as regiões)	283	13,1%	0,329	-	-	Arvanitidis et al. (2007)
Francesa (todas as regiões)	225	15,4%	0,196	20,2%	0,431	Simon et al. (2009)
Alemã (Munique)	986	13,5%	0,257	21,3%	0,5	Sibbing et al. (2010 ^a)
Suecos (Estocolmo)	314	-	-	18%	0,298	Sim et al. (2006)
Etiópes	190	-	-	17,9%	0,298	Sim et al. (2006)
Chinesa	68	-	-	4,4%	0,0001	Sim et al. (2006)
Holandesa (Rotterdam)	178	15%	0,196	24%	0,433	Schenk et al. (2010)
Norueguesa (Oslo)	166	18,1%	0,076	22%	0,567	Rudberg et al. (2008)
Polonesa (Warsaw)	261	11,9%	0,410	-	-	Małek et al. (2010)
Americana (Baltimore, EUA)	261	17,3%	0,106	19,3%	0,363	Gurbel et al. (2011)
Americana (Pensilvânia)	429	17%	0,106	25%	0,369	Shuldiner et al. (2009)
Iraniana (diferentes etnias)	1229	21,4%	0,024	27,1%	0,255	Dehbozorgi et al. (2018)
Peruana	81	8%	0,402	-	-	Marsh et al. (2015)
Chilena	145	-	-	30,3%	0,056	Espinoza et al. (2019)
Equador	297	7,8%	0,402	24,9%	0,369	Vicente et al. (2014)
Bolivianos	778	7,8%	0,402	-	-	Bravo-Villalta et al. (2005)
Colombianos	133	8,6%	0,5	27,8%	0,207	Galvis et al. (2019)
Mexicanos (Jalisco)	238	8,6%	0,5	14,3%	0,098	Favela-Mendoza et al. (2015)

Mexicanos americanos (Los Angeles, EUA)	692	9,7%	0,592	-	-	Luo et al. (2006)
Asiáticos (New York, EUA)	500	27,6%	0,001	6,2%	0,0009	Martis et al. (2013)
Afro-americanos (New York, EUA)	500	19,4%	0,053	18,2%	0,298	Martis et al. (2013)
Malaia (Kuala Lumpur, Malásia)	54	23%	0,010	-	-	Yang et al. (2004)
Chinesa (Kuala Lumpur, Malásia)	68	31%	0,0002	-	-	Yang et al. (2004)
Indiana (Kuala Lumpur, Malásia)	20	38%	0,0000	-	-	Yang et al. (2004)
Rússia (diferentes regiões)	512	11,3%	0,5	22%	0,567	Mirzaev et al. (2017)
Italianos (Ferrara)	300	14,3%	0,257	19,8%	0,431	Campo et al. (2011)
Egípcia (Cairo)	190	12,6%	0,329	17%	0,237	Khalil et al. (2016)
Costa-riquenha (diferentes etnias)	282	7,2%	0,306	6,8%	0,002	Céspedes-Garro et al. (2016)
Arabia Saudita (Riyadh)	201	11,2%	0,5	25,7%	0,309	Saeed; Mayet (2013)
Portuguesa	95	14,2%	0,257	34,2%	0,041	Teixeira et al. (2012)
África do Sul	200	20%	0,036	15,5%	0,183	Dodgen et al. (2015)
Austrália (Melbourne)	5408	16,4%	0,146	20,2%	0,431	Mostafa et al. (2019)

Fonte: Autoria própria.

Observa-se que nenhum dos estudos de regiões brasileiras apresentaram diferença estatisticamente significativa para o χ^2 quando comparados ao presente estudo ($p > 0,05$). Dos estudos listados na tabela 6, seis populações apresentaram diferença estatisticamente significativa, sendo maioria asiáticos e africanos, a saber: população iraniana, em que encontrou-se uma prevalência de 21,4% ($p = 0,024$) (DEHBOZORGI et al., 2018); asiáticos residentes em Nova Iorque, com frequência de 27,6% ($p < 0,05$) (MARTIS et al., 2013); malaaios, com frequência de 23% ($p = 0,01$); chineses e indianos residentes na Malásia, apresentando respectivamente, 31% ($p < 0,05$) e 38% ($p < 0,05$) (YANG et al., 2004); e a população da África do Sul com frequência de 20% ($p = 0,03$) (DODGEN et al., 2015). De forma interessante, na população do presente estudo, a frequência do χ^2 em indivíduos de predominância africana foi mais baixa.

Para a frequência do *17, foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa ao comparar nosso estudo com o de Vargens et al. (2011) ($p < 0,05$), ao encontrarem uma prevalência de 1,1% na população guarani brasileira, e sem diferença com as frequências de outras regiões brasileiras (SANTOS et al., 2011; PRADO et al., 2012; SUAREZ-KURTZ et al., 2012; JESUS, 2016; SEMEDO, 2017). Outras populações que diferiram as frequências foram a chinesa, com 4,4% ($p < 0,05$) (SIM et al., 2006), a costa-riquenha, com 6,8% ($p < 0,05$) (CÉSPEDES-GARRO et al., 2016), e asiática residente em Nova Iorque, com 6,2% ($p < 0,05$) (MARTIS et al., 2013) e a portuguesa com 34,2% ($p = 0,04$) (TEIXEIRA et al., 2012).

Céspedes-Garro et al. (2016), encontraram em seu estudo uma correlação entre a ancestralidade americana e africana com os alelos variantes do *CYP2C19* ($p < 0,05$). Neste mesmo estudo, os autores encontraram para o *CYP2C19**17 uma correlação positiva com a ascendência africana e negativa com a ascendência nativa americana ($p < 0,01$). Nosso resultado apresentou-se diferente, pois não foi encontrada relação entre ancestralidade e o número de cópias dos *2 e *17.

No nosso estudo, observou-se uma prevalência para o metabolizador rápido de 57,1% no grupo ancestral ameríndio (Tabela 3). Saber disso é importante, pois a saúde pública pode focar na atenção à saúde desses indivíduos, com o intuito de evitar eventos adversos associados ao uso do clopidogrel. No estudo de Santos et al. (2011), ao estudar uma população com ancestralidade ameríndia (183 indivíduos), observou-se para o metabolizador ultrarrápido um percentual de 20,8%, sendo este unido pelos genótipos *CYP2C19**1/*17 e *CYP2C19**17/*17, não diferenciando o metabolizador rápido. Vargens et al. (2011) encontraram em seu estudo com uma população guarani brasileira (90 indivíduos) uma prevalência de 2,2% para o metabolizador rápido (*CYP2C19**1/*17). Sugere-se que a elevada prevalência de metabolizadores rápidos neste grupo pode ter sido devido ao baixo número amostral (7 indivíduos).

Como citado anteriormente, a classificação para fenótipos do nosso estudo é dividida em 5 categorias de acordo com o CPIC (SCOTT et al., 2013), e estudos como o de Santos et al. (2011) e Vargens et al. (2011), apresentam uma classificação diferente, apenas com 4 fenótipos, considerando o *CYP2C19**1/*17 como fenótipo ultrarrápido. Naranjo et al. (2018), considerando apenas 3 fenótipos (normal, pobre e ultrarrápido) e estudando sobre os nativos latino-americanos, encontraram 2,74% para o fenótipo ultrarrápido. O estudo de Santos et al. (2011) corrobora com o presente

estudo, porém o de Naranjo et al. (2018) e de Vargens et al. (2011) diferenciam do nosso e apresentam semelhança entre si. Essas diferenças nas frequências do fenótipo rápido, mostram que ainda precisam ser realizados estudos com populações ancestrais ameríndias para uma melhor definição. Porém, as frequências devem ser baixas, como mostrado por Naranjo et al. (2018), ao estudar mais de 6000 indivíduos, em que as frequências de todas as populações nativo americanas encontraram-se menores do que nos demais grupos estudados (latino americanos mestiços: 12,33%; latino americanos afrodescendentes: 21,34%; latino americanos brancos: 16,10%; iberianos: 19,89%; e argentinos: 20,55%).

No grupo ancestral africano, a frequência para o metabolizador rápido foi de 50% (Tabela 3). No estudo de Martis et al. (2013), por apresentar uma classificação diferente em relação ao presente estudo, foi encontrada uma frequência para o metabolizador ultrarrápido de 2,8%, e o genótipo *CYP2C19**1/*17 que classificaria o metabolizador rápido apresentou frequência de 20,4%, mostrando a importância de realizar a genotipagem em pacientes com eventos cardiovasculares e que necessitem utilizar medicação antiplaquetária, com o intuito de analisar o metabolizador, antes de prescrever um medicamento como o clopidogrel.

Em contraste, observou-se para a população total estudada, uma prevalência de 1,5% para o fenótipo lento. O mesmo foi observado por Santos et al. (2011) em uma população de diferentes regiões brasileiras, em que a frequência para metabolizadores pobres em seu estudo foi de 4,6%. O estudo de Kohlrausch, Carrecedo e Hutz (2014) apresenta uma prevalência para o fenótipo lento de 2,2% para uma população do sul do Brasil, corroborando com o presente estudo.

Quanto aos haplótipos, observou-se uma alta prevalência para o haplótipo *1*1 (CG) com 68,3%, mostrando que a maioria da população piauiense avaliada apresenta alelos funcionais. Os haplótipos *1*17 (TG) e *1*2 (CA) apresentaram frequência de 22,1% e 9,6%, respectivamente (Tabela 3). Justenhoven et al. (2009) não encontraram em seu estudo com uma população caucasiana da Alemanha diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) quando comparados ao nosso, apresentando para o haplótipo *1*1 uma frequência de 60,6%, para o haplótipo *1*17 de 25,1% e para o haplótipo *1*2 de 14,3%. Segundo Botstein e Risch (2003) e Oliveira (2008), a associação entre SNPs poderia formar um haplótipo que apresenta uma variante funcional. Dessa forma, esse haplótipo pode servir como marcador de uma doença, já que os haplótipos são responsáveis pelas características individuais,

proporcionando suscetibilidade ou resistência as doenças e diferentes respostas aos fármacos, como o clopidogrel.

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre as frequências alélicas das mesorregiões ($p > 0,05$), o que mostra que apesar do Piauí apresentar um território extenso, de aproximadamente 251.529 km² (IBGE, 2010), e apesar da formação da população piauiense ser diferente nas mesorregiões (LOPES, 2012), a distribuição das frequências alélicas não é interferida pela predominância ancestral.

Souza et al. (2014) ressaltam que os efeitos adversos associados aos medicamentos são considerados um grave problema de saúde pública, pois além de aumentarem a morbimortalidade dos pacientes, apresentam um enorme gasto ao sistema de saúde, causando impacto negativo na área clínica, humana e econômica. Estes mesmos autores suspeitam que a prevalência de morbimortalidade relacionada a medicamentos no Brasil seja maior do que em países como os Estados Unidos e a Alemanha. Nos Estados Unidos, até o ano de 2010, o custo chegou a 289 bilhões de dólares e na Alemanha a 816 milhões de euros. O valor gasto com internações hospitalares relacionadas a ocorrência de eventos adversos é 200,5% maior do que nas internações sem eventos, e o tempo da internação é em média 28,3 dias a mais (PORTO et al., 2010).

Realizando um estudo com a população brasileira, Sousa et al. (2018), considerando todas as regiões, observaram uma prevalência de efeitos adversos a medicamentos gerais de 6,6%, e diretamente para medicamentos associados ao sistema cardiovascular 4,02%.

Diante disso, avaliar a prevalência de polimorfismos genéticos é muito importante no Brasil, e em outros países que tenham uma população diversificada. Assim, os resultados podem trazer benefícios na aplicação da terapia antiplaquetária (MIRZAEV et al., 2017).

7 CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou frequência alélica do *CYP2C19*2* de 9,6% e do *CYP2C19*17* de 22%. Essas frequências são consideradas significantes ao tratar de um paciente que apresente um desses polimorfismos. A frequência genotípica que apresenta uma maior prevalência é a do genótipo *CYP2C19*1/*1* com 46,1%, e o haplótipo mais frequente é o **1*1* com 68,3%, mostrando que a maior parte da população apresenta alelos funcionais.

Observou-se uma alta prevalência para o metabolizador rápido em ameríndios, com 57,1%, o que pode ser justificado pelo número amostral pequeno, e africanos com 50%. Foi percebida uma maior prevalência do metabolizador normal para a população total com 46,1%, mostrando que 53,9% da população estudada apresenta metabolizadores que apresentam problema na resposta ao clopidogrel, o que mostra a importância de realizar uma genotipagem antes de prescrever um medicamento antiplaquetário que pode ocasionar diversos efeitos adversos, incluindo o óbito.

Por fim, conclui-se que na população piauiense é importante existir políticas de atenção à saúde em pacientes que passaram por eventos cardiovasculares, ou que tem riscos de os desenvolver, e irão precisar utilizar medicamentos antiplaquetários, como o clopidogrel. Assim, os profissionais de saúde saberão que a genotipagem seria uma abordagem interessante antes da prescrição do medicamento, com o intuito de prevenir efeitos adversos associados ao clopidogrel, e, cortando gastos públicos desnecessários relacionados a esses eventos, ocasionados por polimorfismos do gene *CYP2C19*.

REFERÊNCIAS

- ABE-SANDES, K.; SILVA, W. A.; ZAGO, M. A. Heterogeneity of the Y chromosome in Afro-Brazilian populations. **Human Biology**, v. 76, n. 1, p. 77-86, 2004.
- ANDRADE, P. B.; BORGES, L. S. R. Antiplaquetários nas síndromes coronarianas agudas. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v. 30, n. 5, p. 442-451, 2017.
- ARCE, C. D. S. **Comparação de métodos de construção de haplótipos em estudo de associação genômica ampla com dados simulados**. 2018. 43 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2018.
- ARVANITIDIS, K. et al. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A5 in the Greek population. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 21, n. 4, p. 419-426, 2007.
- AUDI, E. A.; PUSSI, F. D. Isoenzimas do cyp450 e biotransformações de drogas. **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 2, p. 599-604, 2000.
- BAUER, T. et al. Impact of *CYP2C19* variant genotypes on clinical efficacy of antiplatelet treatment with clopidogrel: systematic review and meta-analysis. **Bmj**, v. 343, p. d4588, 2011.
- BOTSTEIN, D.; RISCH, N. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. **Nature Genetics**, v. 33, n. 3s, p. 228, 2003.
- BOWN, M. O.; TOBAR, V. G. Actividad del citocromo P450 y su alteración en diversas patologías. **Revista Médica de Chile**, v. 132, p. 85-94, 2004 apud SOUZA, T. M. V. **Alterações farmacogenéticas de drogas pelo citocromo P450 na leishmaniose visceral humana**. 2014. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, 2014.
- BRAJ, B. et al. **Polymorphs and amorphous form of (s)-(+)-clopidogrel bisulfate**. U.S. Patent n. 7,872,019, 18 jan. 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Prevenção Clínica de Doenças Cardiovasculares, Cerebrovasculares e Renais**. Brasília: MS, 2006.
- BRASILa. Nota Técnica nº 294/2013. **Princípio Ativo: clopidogrel**. Brasília, agosto de 2013.
- BRASILb. Nota Técnica nº 206/2013. **Princípio Ativo: ácido acetilsalicílico**. Brasília, abril de 2013.

BRAVO-VILLALTA, H. V. et al. Genetic polymorphism of *CYP2C9* and *CYP2C19* in Bolivian population: an investigative and comparative study. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 61, n. 3, p. 179-184, 2005.

BRITO, B. B. et al. Doenças cardiovasculares: fatores de risco em adolescentes. **Cogitare Enfermagem**, v. 21, n. 2, 2016.

BROWN, S. A.; PEREIRA, N.. Pharmacogenomic impact of *CYP2C19* variation on clopidogrel therapy in precision cardiovascular medicine. **Journal of Personalized Medicine**, v. 8, n. 1, p. 8, 2018.

CAMPO, G. et al. Prospective evaluation of on-clopidogrel platelet reactivity over time in patients treated with percutaneous coronary intervention: relationship with gene polymorphisms and clinical outcome. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 57, n. 25, p. 2474-2483, 2011.

CARDON, L.; ABECASIS, G. Using haplotype blocks to map human complex trait loci. **Elsevier Science**, v. 19, p. 135-140, 2003.

CÉSPEDES-GARRO, C. et al. Relevance of the ancestry for the variability of the Drug-Metabolizing Enzymes *CYP2C9*, *CYP2C19* and *CYP2D6* polymorphisms in a multiethnic Costa Rican population. **Revista de Biología Tropical**, v. 64, n. 3, p. 1067-1076, 2016.

COLLET, J. P. et al. Cytochrome P450 *2C19* polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study. **The Lancet**, v. 373, n. 9660, p. 309-317, 2009.

COVATTI, C. C.; SANTOS, J. M.; VICENTE, A. A. S.; GREFF, N. T.; VICENTINI, A. P. Fatores de risco para doenças cardiovasculares em adultos e idosos de um hospital universitário. **Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria**, v. 36, n. 1, p. 24-30, 2016.

CUSINATO, D. A. C. **Influência do EPP-AF® na atividade da glicoproteína P e do citocromo P450 em voluntários sadios usando coquetel de marcadores**. 2017. 37 f. Tese (Doutorado em Toxicologia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2017.

DEAN, L. Clopidogrel therapy and *CYP2C19* genotype. In: **Medical Genetics Summaries [Internet]**. National Center for Biotechnology Information (US), 2018.

DEHBOZORGI, M. et al. Prevalence of the *CYP2C19**2 (681 G> A), *3 (636 G> A) and *17 (-806 C> T) alleles among an Iranian population of different ethnicities. **Molecular Medicine Reports**, v. 17, n. 3, p. 4195-4202, 2018.

DODGEN, T. M. et al. Evaluation of predictive *CYP2C19* genotyping assays relative to measured phenotype in a South African cohort. **Pharmacogenomics**, v. 16, n. 12, p. 1343-1354, 2015.

ESPINOZA, N.; GALDAMES, J.; NAVEA, D.; FARFÁN, M. J.; SALAS, C. Frequency of the *CYP2C19*17* polymorphism in a Chilean population and its effect on voriconazole plasma concentration in immunocompromised children. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 8863, 2019.

FARIAS, M. A. S. **Aplicação de métodos quimiométricos de calibração e resolução multivariada de curvas em espectroscopia Raman para análise qualitativa e quantitativa de polimorfismo em carbamazepina, clopidogrel e ezetimiba**. 2015. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de São Carlos. 2015.

FAVELA-MENDOZA, A. F. et al. Genetic variability of *CYP2C19* in a Mexican population: contribution to the knowledge of the inheritance pattern of *CYP2C19* 17* to develop the ultrarapid metabolizer phenotype. **Journal of Genetics**, v. 94, n. 1, p. 3-7, 2015.

FELIX, G. E. S. et al. Ancestry informative markers and complete blood count parameters in Brazilian blood donors. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 4, p. 282-285, 2010.

FERREIRA, E. A. M. **Refletindo o conceito de miscigenação no Brasil**. 2012. 27 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura Plena em Pedagogia) – Universidade Estadual da Paraíba. Guarabira, 2012.

FONDEVILA, M. et al. Revision of the SNPforID 34-plex forensic ancestry test: assay enhancements, standard reference sample genotypes and extended population studies. **Forensic Science International: Genetics**, v. 7, n. 1, p. 63-74, 2013.

FONTES-CARVALHO, R.; ALBUQUERQUE, A. Interação clopidogrel–inibidores da bomba de prótons: implicações para a prática clínica [108]. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 29, n. 10, p. 1555-1567, 2010.

FRERE, C. et al. The *CYP2C19*17* allele is associated with better platelet response to clopidogrel in patients admitted for non-ST acute coronary syndrome. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 7, n. 8, p. 1409-1411, 2009.

FUCHS, A. et al. Trombose intrastent e resistência ao clopidogrel em pacientes diabéticos. **Revista Brasileira de Cardiologia. (Impr.)**, v. 26, n. 1, p. 58-61, 2013.

GALVIS, A. A.; RANGEL, A. A. T.; REGINO, W. O. Personalized therapy for *Helicobacter pylori*: *CYP2C19* genotype effect on first-line triple therapy. **Helicobacter**, e12574, 2019.

GONZÁLEZ, A. et al. Effect of *CYP2C19* polymorphisms on the platelet response to clopidogrel and influence on the effect of high versus standard dose clopidogrel in carotid artery stenting. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 51, n. 2, p. 175-186, 2016.

GURBEL, P. A. et al. The relation between *CYP2C19* genotype and phenotype in stented patients on maintenance dual antiplatelet therapy. **American Heart Journal**, v. 161, n. 3, p. 598-604, 2011.

HULOT, J. S. et al. Cytochrome P450 *2C19* loss-of-function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects. **Blood**, v. 108, n. 7, p. 2244-2247, 2006.

HULOT, J. S. et al. Cardiovascular risk in clopidogrel-treated patients according to cytochrome P450 *2C19**2 loss-of-function allele or proton pump inhibitor coadministration: a systematic meta-analysis. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 56, n. 2, p. 134-143, 2010.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - **IBGE**. **Censo Demográfico**. 2010.

JAIMES-SANTOYO, J. et al. El Citocromo P-450. **Revista del Hospital Juárez de México**, v. 81, n. 4, p. 250-256, 2014.

JAYAKUMAR, T. et al. Possible molecular targets of novel ruthenium complexes in antiplatelet therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 6, p. 1818, 2018.

JESUS, A. C. S. **A interação de polimorfismos no gene *CYP2C19* com fatores epidemiológicos e clínicos em mulheres diagnosticadas com endometriose na cidade do Rio de Janeiro, Brasil**. 2016. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2016.

JIANG, X. L. et al. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 54, n. 2, p. 147-166, 2015.

JIN, B. et al. Cytochrome P450 *2C19* polymorphism is associated with poor clinical outcomes in coronary artery disease patients treated with clopidogrel. **Molecular Biology Reports**, v. 38, n. 3, p. 1697-1702, 2011.

JOHNSTON, S. C. et al. Clopidogrel and aspirin in acute ischemic stroke and high-risk TIA. **New England Journal of Medicine**, v. 379, n. 3, p. 215-225, 2018.

JUSTENHOVEN, C. et al. *CYP2C19**17 is associated with decreased breast cancer risk. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 115, n. 2, p. 391-396, 2009.

KHALIL, B. M. et al. Genetic and nongenetic factors affecting clopidogrel response in the Egyptian population. **Clinical and Translational Science**, v. 9, n. 1, p. 23-28, 2016.

KHAYATA, M. et al. Comparison of clopidogrel with prasugrel and ticagrelor in patients with acute coronary syndrome: Clinical outcomes from the national cardiovascular database ACTION registry. **Cardiology Research**, v. 8, n. 3, p. 105, 2017.

- KOHLRAUSCH, F. B.; CARRACEDO, Á.; HUTZ, M. H. Characterization of *CYP1A2*, *CYP2C19*, *CYP3A4* and *CYP3A5* polymorphisms in South Brazilians. **Molecular Biology Reports**, v. 41, n. 3, p. 1453-1460, 2014.
- KUBICA, A. et al. Genetic determinants of platelet response to clopidogrel. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v. 32, n. 4, p. 459, 2011.
- LIN, M. et al. Association between *CYP2C19* polymorphisms and outcomes in cerebral endovascular therapy. **American Journal of Neuroradiology**, v. 37, n. 1, p. 108-113, 2016.
- LI-WAN-PO, A. et al. Pharmacogenetics of *CYP2C19*: functional and clinical implications of a new variant *CYP2C19*17*. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 69, n. 3, p. 222-230, 2010.
- LOPES, T. R. **Análise do perfil genético da população do estado do Piauí por marcadores informativos de ancestralidade**. 2013. 101 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, Parnaíba. 2013.
- LOPES, T. R. et al. Population data of the 46 insertion–deletion (INDEL) loci in population in Piauí State, Northeastern Brazil. **Forensic Science International: Genetics**, v. 9, p. e13-e15, 2014.
- LORGA F. A. M. et al. Diretrizes brasileiras de antiagregantes plaquetários e anticoagulantes em cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2013.
- LUO, H. R. et al. Genetic polymorphism of cytochrome P450 *2C19* in Mexican Americans: A cross-ethnic comparative study. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 80, n. 1, p. 33-40, 2006.
- MACHADO, T. M. B. **Ancestralidade em Salvador – BA**. 2008. 86 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Fundação Oswaldo Cruz – Salvador, 2008.
- MAGALHÃES et al. Fatores de risco para doenças cardiovasculares em profissionais de enfermagem: estratégias de promoção da saúde. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 67, n. 3, p. 394-400, 2014.
- MALACHIAS, M. V. B. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Hipertensão, Sociedade Brasileira de Nefrologia. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 3, p. 1-82, 2016.
- MAŁEK, Ł. A. et al. Cytochrome P450 *2C19* polymorphism, suboptimal reperfusion and all-cause mortality in patients with acute myocardial infarction. **Cardiology**, v. 117, n. 2, p. 81-87, 2010.
- MALTA, D. C. et al. Doenças crônicas não transmissíveis e a utilização de serviços de saúde: análise da Pesquisa Nacional de Saúde no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, 2017.

- MALTA, D. C.; SILVA, M. M. A. As doenças e agravos não transmissíveis, o desafio contemporâneo na Saúde Pública. **Ciência da Saúde Coletiva**, v. 23, n. 5, 2018.
- MARSH, S. et al. Pharmacogenomic assessment of Mexican and Peruvian populations. **Pharmacogenomics**, v. 16, n. 5, p. 441-448, 2015.
- MARTIS, S. et al. Multi-ethnic distribution of clinically relevant *CYP2C* genotypes and haplotypes. **The Pharmacogenomics Journal**, v. 13, n. 4, p. 369, 2013.
- MÁSSIMO, E. A. L.; DE SOUZA, H. N. F.; FREITAS, F. M. I. Doenças crônicas não transmissíveis, risco e promoção da saúde: construções sociais de participantes do Vigitel. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 20, n. 3, p. 679-688, 2015.
- MEGA, J. L. et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 4, p. 354-362, 2009.
- MEGA, J. L. et al. Reduced-function *CYP2C19* genotype and risk of adverse clinical outcomes among patients treated with clopidogrel predominantly for PCI: a meta-analysis. **Jama**, v. 304, n. 16, p. 1821-1830, 2010.
- MIRZAEV, K. B. et al. *CYP2C19* polymorphism frequency in Russian patients in Central Russia and Siberia with acute coronary syndrome. **Pharmacogenomics and Personalized Medicine**, v. 10, p. 107, 2017.
- MONTALESCOT, G. TRITON-TIMI 38 investigators. Prasugrel compared with clopidogrel in patients undergoing percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction (TRITON-TIMI 38): double-blind, randomised controlled trial. **Lancet**, v. 373, p. 723-731, 2009.
- MORAES, M. F. **Transleitura do codon de parade premature do alelo *CYP2C19*3* induzida por aminoglicosídeos**. 2011. 79 f. Tese (Doutorado em Oncologia) – Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro. 2011.
- MOSTAFA, S. et al. An analysis of allele, genotype and phenotype frequencies, actionable pharmacogenomic (PGx) variants and phenoconversion in 5408 Australian patients genotyped for *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP2C9* and *VKORC1* genes. **Journal of Neural Transmission**, v. 126, n. 1, p. 5-18, 2019.
- MUNIZ, Y. C. N. **Marcadores genéticos de ancestralidade em comunidades fundadas por açorianos na ilha de Santa Catarina**. 2008. 124 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2008.
- NARANJO, M. E. G. et al. Interethnic Variability in *CYP2D6*, *CYP2C9*, and *CYP2C19* Genes and Predicted Drug Metabolism Phenotypes Among 6060 Ibero-and Native Americans: RIBEF-CEIBA Consortium Report on Population Pharmacogenomics. **Omics: a Journal of Integrative Biology**, v. 22, n. 9, p. 575-588, 2018.

NUNES, O. **Pesquisa para História do Piauí**. vol. 1. Teresina: FUNADEPI; Fund. Mons. Chaves, 2007. 216p (Coleção Grandes Textos, v. 1).

OLIVEIRA, L. C. **Estudo do polimorfismo genético na hepatite auto-imune na infância: busca de genes e haplótipos de suscetibilidade**. 2008. 179f. Tese (Dourado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

OZAWA, S. et al. Ethnic differences in genetic polymorphisms of *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP3As* and *MDR1/ABCB1*. **Drug Metab Pharmacokinet**, v. 19, n. 2, p. 83-95, 2004.

OSNABRUGGE, R. L. et al. A systematic review and critical assessment of 11 discordant meta-analyses on reduced-function *CYP2C19* genotype and risk of adverse clinical outcomes in clopidogrel users. **Genetics in Medicine**, v. 17, n. 1, p. 3, 2015.

PETTERSSON, H. Steroid-Metabolizing cytochrome P450 (CYP) enzymes in the maintenance of cholesterol and sex hormone levels. Acta Universitatis Upsaliensis. **Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Pharmacy**, v. 96, 51 p., 2009.

PORTO, S. et al. A magnitude financeira dos eventos adversos em hospitais no Brasil. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 10, p. 74-80, 2010.

PRADO, C. M.; BILT, M. T. V.; MORENO, R. A.; OJOPI, E. B.; GATTAZ, W. F. Development of methodology for determining the major alleles of *CYP2D6*, *CYP2C19* and *CYP2C9* genes: application in pharmacogenetics. In: **2nd Latin American Pharmacogenomics and Personalized Medicine Congress**, Rio de Janeiro, Abstract Book, 2012.

RIDEG, O. et al. Pilot study for the characterization of pharmacogenetically relevant *CYP2D6*, *CYP2C19* and *ABCB1* gene polymorphisms in the Hungarian population. **Cell Biochemistry and Function**, v. 29, n. 7, p. 562-568, 2011.

RODRIGUES, J. L. P. **Geografia e História do Piauí**. Teresina: Halley, 2004

RUDBERG, I. et al. Impact of the ultrarapid *CYP2C19*17* allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 83, n. 2, p. 322-327, 2008.

SAEED, L. H.; MAYET, A. Y. Genotype-Phenotype analysis of *CYP2C19* in healthy Saudi individuals and its potential clinical implication in drug therapy. **International Journal of Medical Sciences**, v. 10, n. 11, p. 1497, 2013.

SAMER, C. F. et al. Applications of CYP450 testing in the clinical setting. **Molecular Diagnosis & Therapy**, v. 17, n. 3, p. 165-184, 2013.

SANTOS, P. C. J. L. et al. *CYP2C19* and *ABCB1* gene polymorphisms are differently distributed according to ethnicity in the Brazilian general population. **BMC medical genetics**, v. 12, n. 1, p. 13, 2011.

SCHENK, P. W. et al. The *CYP2C19*17* genotype is associated with lower imipramine plasma concentrations in a large group of depressed patients. **The Pharmacogenomics Journal**, v. 10, n. 3, p. 219, 2010.

SCOTT, S. et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450–*2C19* (*CYP2C19*) genotype and clopidogrel therapy. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 90, n. 2, p. 328-332, 2011.

SCOTT, S. A. et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for *CYP2C19* genotype and clopidogrel therapy: 2013 update. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 94, n. 3, p. 317-323, 2013.

SEMEDO, A. T. **Avaliação da influência dos polimorfismos *CYP2C19*2* e *CYP2C19*17* na resposta ao tratamento à clozapina na esquizofrenia**. 2017. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2017.

SHULDINER, A. R. et al. Association of cytochrome P450 *2C19* genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy. **Jama**, v. 302, n. 8, p. 849-857, 2009.

SIBBING, D. et al. Isolated and interactive impact of common *CYP2C19* genetic variants on the antiplatelet effect of chronic clopidogrel therapy. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 8, n. 8, p. 1685-1693, 2010a.

SIBBING, D. et al. Cytochrome *2C19*17* allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement. **Circulation**, v. 121, n. 4, p. 512-518, 2010b.

SILVA, F. B. et al. Resistência ao clopidogrel: prevalência e variáveis associadas. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 99, n. 6, p. 1135-1141, 2012.

SILVA, M. V. F. et al. Antiagregantes plaquetários na prevenção primária e secundária de eventos aterotrombóticos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 100, n. 6, p. e78-e84, 2013.

SILVEIRA, M. S.; GINDRI, A. L. Avaliação da qualidade de comprimidos de ácido acetilsalicílico. **Multiciência online**, 2016. Disponível em: <<http://urisantiago.br/multicienciaonline/adm/upload/v2/n3/14d6d6bdb4b9e8900d266ee4b408cbfa.pdf>>. Acesso em: 02 de junho de 2018.

SIM, S. C. et al. A common novel *CYP2C19* gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 79, n. 1, p. 103-113, 2006.

SIM, S. C.; INGELMAN, M. Pharmacogenomic biomarkers: new tools in current and future drug therapy. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 32, n. 2, p. 72-81, 2011.

SIMON, T. et al. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 4, p. 363-375, 2009.

SIPEKY, C. et al. High prevalence of *CYP2C19*2* allele in Roma samples: study on Roma and Hungarian population samples with review of the literature. **Molecular Biology Reports**, v. 40, n. 8, p. 4727-4735, 2013.

SOFI, F. et al. Cytochrome P450 *2C19*2* polymorphism and cardiovascular recurrences in patients taking clopidogrel: a meta-analysis. **Pharmacogenomics Journal**, v. 11, n. 3, p. 199-206, 2011.

SOUSA, L. A. O. et al. Prevalence and characteristics of adverse drug events in Brazil. **Cadernos de Saude Pública**, v. 34, n. 4, 2018.

SOUZA, C. A. C. Farmacogenômica: janela à medicina personalizada. **Psychiatry on line Brasil**, v. 18, n. 8, 2013.

SOUZA, T. T. et al. Morbidade e mortalidade relacionadas a medicamentos no Brasil: revisão sistemática de estudos observacionais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 4, 2015.

SUAREZ-KURTZ, G. et al. Global pharmacogenomics: Impact of population diversity on the distribution of polymorphisms in the *CYP2C* cluster among Brazilians. **The Pharmacogenomics Journal**, v. 12, n. 3, p. 267, 2012.

SYCHEV, D. A. et al. The cytochrome P450 isoenzyme and some new opportunities for the prediction of negative drug interaction in vivo. **Drug design, Development and Therapy**, v. 12, p. 1147, 2018.

TEIXEIRA, R. et al. *CYP2C19*2* and prognosis after an acute coronary syndrome: Insights from a Portuguese center. **Revista Portuguesa de Cardiologia (English Edition)**, v. 31, n. 4, p. 265-273, 2012.

TESTON, E. F. et al. Fatores associados às doenças cardiovasculares em adultos. **Medicina**, v. 49, n. 2, p. 95-102, 2016.

TRENNEPOHL, V. L. **Formação e desenvolvimento da sociedade brasileira**. Ijuí: Ed. Unijuí, 2014. 130 p.

TRINDADE, L. F. et al. desfechos clínicos em 30 dias dos pacientes submetidos a intervenção coronária percutânea eletiva com alta no mesmo dia. **Revista Brasileira de Cardiologia Invasiva**, v. 20, n. 4, p. 398-402, 2012.

UPPUGUNDURI, C. R. et al. Transcriptional regulation of *CYP2C19* and its role in altered enzyme activity. **Curr Drug Metab**, v. 13, n. 8, p. 1196-1204, 2012.

VARGENS, D. D.; PETZL-ERLER, M. L.; SUAREZ-KURTZ, G. Distribution of *CYP2C* Polymorphisms in a Amerindian Population of Brazil. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 110, n. 4, p. 396-400, 2011.

VICENTE, J. et al. Genetic polymorphisms of *CYP2C8*, *CYP2C9* and *CYP2C19* in Ecuadorian Mestizo and Spaniard populations: a comparative study. **Molecular Biology Reports**, v. 41, n. 3, p. 1267-1272, 2014.

WANG, Y. et al. Clopidogrel with aspirin in acute minor stroke or transient ischemic attack. **New England Journal of Medicine**, v. 369, n. 1, p. 11-19, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases**. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global Action Plan for the Prevention and Control of NCDs 2013-2020**. Geneva: WHO; 2013.

YANG, Y. S. et al. Genetic polymorphism of cytochrome P450 *2C19* in healthy Malaysian subjects. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 58, n. 3, p. 332-335, 2004.

YUSUF, S. et al. Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events Trial Investigators. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation: CURE study. **New England Journal of Medicine**, v. 345, n. 7, p. 494-502, 2001.

ZANGER, U. M.; SCHWAB, M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. **Pharmacology and Therapy**, v. 138, n. 1, p. 103-141, 2013.

ZHOU, L.; MA, X.; SUN, F. The effects of protein interactions, gene essentiality and regulatory regions on expression variation. **BMC System of Biology**, v. 2, n. 54, 2008.

ANEXOS



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
(CONEP)

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP- UFPI
REGISTRO CONEP: 045



CARTA DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa . UFPI, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa . (CONEP/MS) analisou o protocolo de pesquisa:

(Título: Análise do perfil Genético da População do Estado do Piauí por Marcadores informativos de Ancestralidade.)

CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética): 0443.0.045.000-11

Pesquisador Responsável France Keiko Nascimento Yoshioka.

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê. O pesquisador deve apresentar ao CEP:

Janeiro/2013

Relatório Final

Os membros do CEP-UFPI não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

DATA DA APROVAÇÃO: 20/03/2012

Teresina, 21 de Março de 2012.


Prof. Dr. Eulálio Gomes Campelo Filho
Comitê de Ética em Pesquisa . UFPI
COORDENADOR