



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA

Amanda Hiromi Abe

**Impacto dos polimorfismos CYP2C19*2 e CYP2C19*3 na
evolução pós-operatória de pacientes submetidos a
procedimentos endovasculares periféricos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Marcone Lima Sobreira

Botucatu
2020

Amanda Hiromi Abe

Impacto dos polimorfismos CYP2C19*2 e CYP2C19*3
na evolução pós-operatória de pacientes submetidos a
procedimentos endovasculares periféricos

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestra
em Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Marccone Lima Sobreira

Botucatu

2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Abe, Amanda Hiromi.

Impacto dos polimorfismos CYP2C19*2 e CYP2C19*3 na evolução pós-operatória de pacientes submetidos a procedimentos endovasculares periféricos / Amanda Hiromi Abe. - Botucatu, 2020

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Marcone Lima Sobreira
Coorientador: Rodrigo Gibin Jaldin
Capes: 40102041

1. Polimorfismo (Genética). 2. Angioplastia. 3. Cuidados pós-operatórios. 4. Procedimentos endovasculares. 5. Clopidogrel.

Palavras-chave: Angioplastia de membros inferiores; Clopidogrel; Polimorfismo CYP2C19*2; Polimorfismo CYP2C19*3.

Amanda Hiromi Abe

Impacto dos polimorfismos CYP2C19*2 e CYP2C19*3
na evolução pós-operatória de pacientes submetidos a
procedimentos endovasculares periféricos

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestra
em Medicina.

Data da Defesa: 24 de julho de 2020.

Resultado: _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcone Lima Sobreira
Hospital das Clínicas da UNESP de Botucatu.

Prof. Dr. Matheus Bertanha
Hospital das Clínicas da UNESP de Botucatu.

Prof. Dr. Gustavo Muçouçah Sampaio Brandão
Universidade Federal de São Carlos

RESUMO

Introdução - O uso do clopidogrel associado ao ácido acetilsalicílico é o método mais empregado para prevenção da reestenose após o tratamento endovascular. Entretanto, os polimorfismos no gene CYP2C19 estão relacionados com uma redução da transformação do clopidogrel em seu metabólito ativo, com consequente diminuição da eficácia sobre a inibição das plaquetas, resultando em nova obstrução precoce.

Objetivo - Fornecer dados sobre a influência dos polimorfismos no gene CYP2C19 na redução da eficácia do clopidogrel e dados epidemiológicos sobre a frequência desses polimorfismos gênicos na população brasileira.

Material e métodos - Este foi um estudo retrospectivo de 250 pacientes submetidos à angioplastia de membros inferiores entre os anos de 2015 a 2017. Desses, foram excluídos 153 pacientes, sendo realizado a análise de 97 casos.

Resultados e discussão - A patência primária em 1 ano dos territórios ilíaco e fêmoro-poplíteo foram inferiores ao da literatura, 53,83% x 86% (Indes, et al., 2013) e 35,51% x 73% (Almasri et al., 2017), respectivamente, provavelmente porque os pacientes submetidos à angioplastia eram em sua maioria TASC-II C com risco-operatório para cirurgia aberta alto. Sobre o território infra-poplíteo, a patência primária foi semelhante ao da literatura, 60,52% x 66% (Almasri et al., 2017). Para o estudo da associação entre o uso do clopidogrel e a presença de estenose maior que 50% ou oclusão em menos de 1 ano, foi usado o teste do qui-quadrado, porém não houve associação ($p=0,5$), não sendo possível avaliar a eficácia da medicação no resultado pós-angioplastia periférica.

Conclusão - Este trabalho não demonstrou a frequência desses alelos na população brasileira, devido às dificuldades na avaliação das amostras. Novos estudos deverão ser conduzidos para encontrar a melhor metodologia para realizar a análise das amostras e para a avaliação da presença do polimorfismo CYP2C19, a fim de esclarecer melhor a associação entre o uso de clopidogrel e a estenose/oclusão precoce após o tratamento endovascular.

Palavras-chave: angioplastia de membros inferiores; clopidogrel; polimorfismo CYP2C19*2; polimorfismo CYP2C19*3.

ABSTRACT

Introduction - Clopidogrel therapy associated with acetylsalicylic acid is the most common method used to prevent restenosis. However, the polymorphism in CYP2C19 gene is related to a reduction in the transformation of clopidogrel to its active metabolite, leading to a reduction in the platelet inhibition, resulting in restenosis or new occlusion.

Objective - To provide data on the influence of CYP2C19 polymorphisms gene in reducing the effectiveness of clopidogrel; and to provide epidemiological data on the frequency of CYP2C19 alleles 2 and 3 polymorphisms in the Brazilian population.

Methods - This study is retrospective of a database of 250 patients who underwent lower limb angioplasty from 2015 to 2017. There was 153 patients excluded due to exclusion criteria and statistics analysis were performed of 97 patients.

Results and discussion- The primary patency in 1 year of the iliac and femoro-popliteal territories were lower than in the literature, 53.83% x 86% (Indes, et al., 2013) and 35.51% x 73% (Almasri et al., 2017), respectively, probably because patients undergoing angioplasty were mostly TASC-II C with high operative risk for open surgery. Regarding the infra-popliteal territory, the primary patency was similar to the literature, 60.52% x 66% (Almasri et al., 2017). For the study of the association between the use of clopidogrel and the presence of stenosis greater than 50% or occlusion in less than 1 year, the chi-square test was used, but there was no association ($p = 0.5$), not being possible to evaluate the effectiveness of the medication in the outcome after peripheral angioplasty.

Conclusion - This study could not demonstrate the frequency of this alleles in the Brazilian population, due to difficulties in evaluating the samples. Further studies should be conducted to find a better methodology to perform the sample analysis and to evaluate the presence of CYP2C19 polymorphisms, in order to better clarify an association between the use of clopidogrel and early stenosis/occlusion after endovascular treatment.

Keywords: lower limb angioplasty; clopidogrel; CYP2C19*2 polymorphism; CYP2C19*3 polymorphism.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mecanismo de biotransformação e ação do clopidogrel.	11
Figura 2 - Localização do gene CYP2C19.	11
Figura 3 - Análise estatística em relação ao sexo do paciente.	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Critérios de inclusão e exclusão do trabalho	15
Tabela 2 - Procedência dos pacientes	17
Tabela 3 - Investigação sobre tabagismo.....	18
Tabela 4 - Classificação de Rutherford na entrada	18
Tabela 5 - Classificação TASC II e runoff pela arteriografia.....	19
Tabela 6 - Reabordagem endovascular do mesmo membro	19
Tabela 7 - Frequência das artérias tratadas.....	20
Tabela 8 - Necessidade de amputação.....	20
Tabela 9 - Nível de amputação	20
Tabela 10 - Uso do clopidogrel.....	21
Tabela 11 - Presença de estenose > 50% ou oclusão em até 1 ano	21
Tabela 12 – Distribuição de frequências dos pacientes segundo uso do Clopidogrel e presença de estenose > 50% ou oclusão ≤ 1 ano.....	22

SUMÁRIO

1. Introdução.....	10
2. Objetivo.....	13
3. Metodologia	14
4. Resultados.....	17
5. Discussão	23
6. Conclusão.....	26
Referências	27

1. Introdução

A doença arterial obstrutiva periférica (DAOP) é caracterizada pelo estreitamento ou oclusão de artérias, responsáveis por nutrir as extremidades, tendo como principal etiologia a aterosclerose. Sua prevalência varia de 10 a 25% na população acima de 55 anos e aumenta nas faixas etárias mais altas. A aterosclerose é uma doença sistêmica e que pode acometer concomitantemente as coronárias e artérias do sistema cerebrovascular, podendo levar a quadros de acidente vascular encefálico (AVE) e/ou infarto agudo do miocárdio (IAM). Pacientes com isquemia crítica representam 1% dos doentes com DAOP e apresentam alta taxa de amputação, caso não sejam tratados adequadamente. Após a realização de exames de imagem, é possível avaliar qual a melhor via de abordagem cirúrgica, seja ela por confecção de enxertos ou por via endovascular¹.

Quando a angioplastia é realizada, dentre as opções medicamentosas que podem ser utilizadas no pós-operatório, estão os antiagregantes plaquetários – clopidogrel (Plavix®) associado ao ácido acetilsalicílico (AAS) – sendo o método mais empregado para prevenção da reestenose. O clopidogrel parece ter melhor efeito sobre a hiperplasia intimal quando comparado ao AAS, sendo importante o seu uso durante os primeiros meses após a realização da angioplastia². Entretanto, a presença dos polimorfismos (alelos 2 e 3) no gene da enzima citocromo CYP2C19 está relacionada com uma redução da biotransformação do clopidogrel em seu metabólito ativo, com consequente diminuição da eficácia sobre a inibição das plaquetas, com consequente aumento de eventos cardiovasculares comparado com pacientes com a função normal dos alelos^{3,4}.

O clopidogrel é uma pró-droga com absorção intestinal, apresentando meia-vida aproximada de 8 horas. Sua metabolização é hepática, ocorrendo através de duas etapas de oxidação, envolvendo diversas enzimas, entre elas a CYP2C19 para formação no metabólito ativo. Este se liga seletivamente e irreversivelmente aos receptores purinérgicos (P2RY12) das plaquetas, inibindo a agregação plaquetária induzida pela adenosina difosfato (ADP). Apenas 15% da quantidade total da droga é biotransformada nesse metabólito ativo, enquanto os outros 85% são hidrolisados por esterases em formas inativas e excretado nas fezes e urina (Figura 1)^{5,6}.

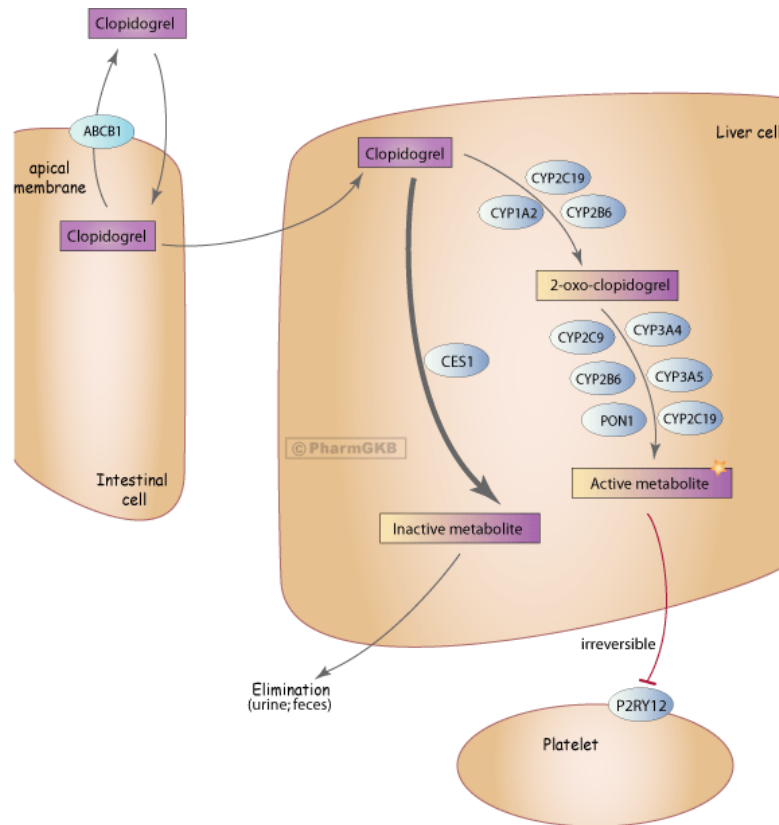


Figura 1 Mecanismo de biotransformação e ação do clopidogrel.
 FONTE: imagem extraída do site PharmGKB*

O gene da CYP2C19 está presente na posição 10q23.33 (Figura 2). O alelo 2 é o mais comum, com frequência de aproximadamente de 15% em populações caucasianas e africanas e de 33% em populações asiáticas. O alelo 3 é extremamente raro na população caucasiana e é mais comum em asiáticos com frequências que podem chegar a 5% em populações na China e Japão ^{7,8,9,10}.

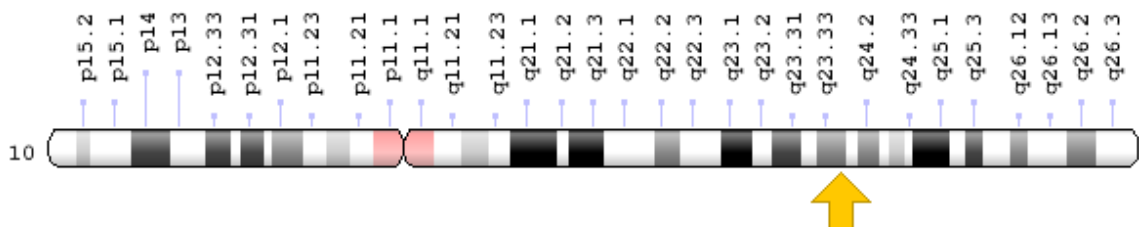


Figura 2 Localização do gene CYP2C19.
 FONTE: imagem extraída do site Genetics Home Reference**

*Endereço eletrônico da imagem: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA154424674>

**Endereço eletrônico da imagem: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/CYP2C19#location>

Diversos estudos ^{7,8,9,10} realizados em outros países avaliaram a presença desses polimorfismos e compararam com os resultados das angioplastias periféricas de membros inferiores. Apesar de existirem na literatura a prevalência de polimorfismos na população brasileira, não há nada sobre sua potencial associação com a evolução desfavorável dos procedimentos endovasculares periféricos (angioplastias com ou sem implante de stent nos territórios ilíacos, femoro-poplíteos e infra-poplíteos).

Como justificativa, este estudo irá contribuir para o serviço, uma vez que irá auxiliar na identificação do perfil de pacientes com resistência ao uso do clopidogrel, os quais poderão se beneficiar com a utilização de outro agente antiagregantes plaquetário, melhorando o resultado das angioplastias periféricas realizadas.

2. Objetivo

O objetivo deste trabalho é descrever as frequências de polimorfismos gênicos CYP2C19*2 e CYP2C19*3 em pacientes submetidos à angioplastia periférica e correlacionar a ocorrência de evolução desfavorável dos procedimentos endovasculares periféricos (estenose maior que 50% ou oclusão em menos de 1 ano) à presença desses polimorfismos.

3. Metodologia

Este é um estudo retrospectivo, no qual foram selecionados 250 pacientes que foram submetidos a angioplastia (com ou sem stent) para o tratamento de doença arterial obstrutiva periférica dos territórios ilíaco, fêmoro-poplíteo e infra-poplíteo na hemodinâmica do serviço de Cirurgia Vascular e Endovascular do Hospital das Clínicas de Botucatu entre 2015 e 2017. Os pacientes que concordaram em participar do estudo, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e foram coletados 10ml de sangue periférico para posterior genotipagem no laboratório – todas as análises foram feitas no Laboratório de Farmacogenética do Departamento de Farmacologia do Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP (responsável: Professora Valéria Sandrim).

No laboratório de farmacogenética, os procedimentos seguiram da seguinte forma: O DNA era extraído manualmente de leucócitos pelo método de salting-out simples dos dez mililitros de sangue venoso coletados. Após a extração, o DNA era dissolvido em água destilada estéril e armazenado a -20°C até a análise por reação de polimerase em cadeia (PCR). Então, realizava-se amplificação do material por PCR. Em seguida, utilizava-se enzimas de restrição (SMA1 e BamH1) para processar os produtos da PCR dos alelos 2 e 3 da CYP2C19, respectivamente¹¹.

Os pacientes foram classificados quanto a gravidade do quadro clínico inicial na entrada ao serviço pela classificação de Rutherford de 0 a 6 e quanto a classificação TASC II (TransAtlantic InterSociety Consensus) para o manejo da doença arterial periférica (A, B, C e D) e quanto ao defluxo de 0 a 3 artérias da perna (Runoff).

Dos 250 pacientes selecionados para o estudo, houve 153 exclusões, sendo incluídos um total de 97 pacientes para a análise estatística. O motivo mais frequente para exclusão do paciente do trabalho foi ele ser classificado pela arteriografia como TASC II D, que ocorreu em 26,15% dos pacientes. Em segundo lugar foi o seguimento menor que um ano (19,6% pacientes), sendo na maioria dos casos, por não haver retorno do paciente ao hospital após a alta. Em terceiro lugar foi a alta com varfarina, que ocorreu por vários motivos, como uso contínuo devido fibrilação atrial ou tromboembolismo venoso recente e a necessidade da combinação de tromboembolectomia à Fogarty com angioplastia de membro

inferior (necessitando do uso de anticoagulação por um mês após a alta). Outras causas foram a angioplastia realizada sem sucesso em 11,76% dos casos (na maioria das vezes por insucesso na recanalização); amputação maior na mesma internação em 8,5% (seja por infecção da lesão trófica ou por insucesso na angioplastia); angioplastia não realizada em 2 casos (um paciente apresentou parada cardio-respiratória na antes do início do procedimento, sendo reanimado e evoluindo com amputação maior do membro e outro não conseguiu realizar pelas condições clínicas, indo à óbito na mesma internação); 2 pacientes tiveram alta sem clopidogrel, devido sangramento maior ao utilizar dupla antiagregação, sendo optado por manter apenas com AAS; 2 pacientes tiveram alta com Rivaroxabana, por fazerem uso por fibrilação atrial prévia; e 4 pacientes fizeram a angioplastia por outro motivo que não da doença arterial obstrutiva periférica (DAOP), como por exemplo, correção de aneurisma de poplítea, de pseudoaneurisma de anastomose de enxerto e angioplastia de enxerto. Os critérios de inclusão e exclusão estão listados na Tabela 1.

Tabela 1

Critérios de inclusão e exclusão do trabalho

CRITÉRIO DE INCLUSÃO	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO
- Pacientes submetidos a angioplastia (com ou sem stent) nos territórios ilíaco, fêmoro-poplíteo e infra-poplíteo de 2015 a 2017	- Lesões TASC II D
- Concordar em participar do estudo	- Menos de 1 vaso de runoff
	- Angioplastia sem sucesso
	- Necessidade de derivação arterial < 1 ano
	- Evolução para amputação maior < 1 ano
	- Óbito em menos de 1 ano
	- Seguimento menor que 1 ano
	- Alergia ao clopidogrel
	- Alta com anticoagulante
	- Sangramentos graves durante o uso de antiagregantes
	- Não ter como doença de base a doença arterial obstrutiva periférica

Nenhum procedimento intervencionista ou diagnóstico adicional foi necessário na condução desse estudo. As amostras sangue periférico dos pacientes foram

coletadas dos casos que já estavam internados ou que teriam consultas com a cirurgia vascular no âmbito do Hospital das Clínicas de Botucatu.

Os dados laboratoriais e os resultados das análises farmacogenéticas seriam utilizados para a elaboração de uma tabela de frequências, entretanto, após a coleta de 60 amostras, foi evidenciado dificuldade metodológica na separação do DNA dos leucócitos, não sendo possível realizar a extração do DNA das amostras. Devido esse problema, foi optado juntamente com o orientador a realizar um trabalho epidemiológico com os dados demográficos já coletados, com objetivo de avaliar a eficácia do uso do clopidogrel após angioplastia periférica.

Esses dados foram compilados em planilha de Excel para análise estatística epidemiológica e análise das variáveis, “uso do clopidogrel” e “presença de oclusão ou estenose maior 50% em 1 ano”, através do teste do qui-quadrado.

4. Resultados

A média da idade dos 97 pacientes foi de 66,97 anos, sendo o mais novo de 42 anos e o mais idoso de 90 anos. Havia 70,1% dos pacientes que estavam acima dos 60 anos. Em relação ao sexo, houve prevalência maior do sexo masculino (Figura 3).

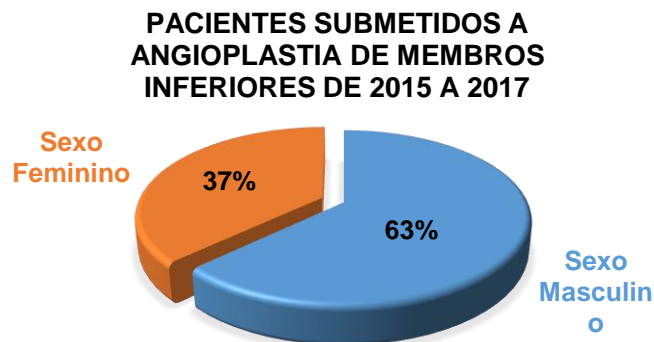


Figura 3 Análise estatística em relação ao sexo do paciente.

Em relação à procedência dos pacientes, havia um total de 32 cidades do interior de São Paulo das quais eles eram provenientes. A cidade com maior número de casos atendidos foi Botucatu, seguido de São Manuel, conforme a tabela 2.

Tabela 2
Procedência dos pacientes

CIDADE	N	CIDADE	N
Agudos-SP	3	Jaú-SP	5
Anhembi-SP	1	Laranjal Paulista-SP	3
Areiópolis-SP	4	Lins-SP	1
Avaré-SP	7	Manduri-SP	3
Bariri-SP	1	Paranapanema-SP	1
Barra Bonita-SP	2	Pardinho-SP	2
Bofete-SP	4	Pereiras-SP	2
Botucatu-SP	20	Piedade-SP	1
Brotas-SP	3	Piraju-SP	3
Cafelândia-SP	1	Pirajuí-SP	1
Conchas-SP	3	Pratânia-SP	1
Dois Córregos-SP	1	São Manuel-SP	13
Igaraçu do Tietê-SP	2	São Miguel Arcanjo-SP	1
Ipaussu-SP	1	Sorocaba-SP	1
Itapuí-SP	2	Taquarituba-SP	1
Itatinga-SP	2	Torrinha-SP	1

As comorbidades avaliadas mais prevalentes foram: hipertensão arterial sistêmica (HAS) com 73,19% dos casos, diabetes mellitus (DM) com 68,04%, dislipidemia (DLP) com 27,83%, infarto agudo do miocárdio (IAM) com 13,4%, acidente vascular encefálico (AVE) com 12,37% e doença renal crônica (DRC) com 11,34%.

O tabagismo ativo foi observado em 40,2%, sendo considerados como ativo inclusive os que haviam cessado em menos de 4 semanas (Tabela 3).

Tabela 3

Investigação sobre tabagismo

	N	%
Tabagista	39	40,2
Ex-tabagista	35	36,1
Não tabagista	21	21,64
Sem informações	2	2,06
Total	97	100

A análise do quadro clínico de entrada conforme a classificação de Rutherford está descrita na Tabela 4.

Tabela 4

Classificação de Rutherford na entrada

CLASSIFICAÇÃO DE RUTHERFORD	N	%
0 (assintomático)	0	0
1 (claudicação intermitente leve)	0	0
2 (claudicação intermitente moderada)	0	0
3 (claudicação intermitente grave)	4	4,12
4 (dor em repouso)	19	19,58
5 (lesão trófica menor)	58	59,8
6 (lesão trófica maior)	16	16,5
Total	97	100

Em relação à análise da arteriografia, a classificação TASC-II mais encontrada foi a C (60,85%) e dois pacientes não tinham as imagens da arteriografia no

prontuário eletrônico, apenas do tratamento. As frequências de cada classificação TASC-II e o defluxo estão descritas na Tabela 5.

Tabela 5
Classificação TASC II e Runoff pela arteriografia

TASC-II	N	%	RUNOFF	N	%
A	11	11,35	1	24	24,75
B	25	25,77	2	51	52,58
C	59	60,82	3	17	17,52
Sem informações	2	2,06	Sem informações	5	5,15
Total	97	100	Total	97	100

O membro inferior esquerdo foi mais acometido que o direito (57,73% x 39,17%) e em três casos o tratamento inicial foi bilateral. Uma nova abordagem em menos de 1 ano foi necessária em 59,09% dos casos (Tabela 6). Além disso, 10 pacientes foram submetidos à angioplastia do membro contralateral em um segundo procedimento.

Tabela 6
Reabordagem endovascular do mesmo membro

NOVA ANGIOPLASTIA NO MESMO MEMBRO		
	N	%
Uma vez	65	59,09
Duas vezes	30	27,27
Três Vezes	9	8,18
Quatro vezes	3	2,72
Total de membros tratados	110	100

A artéria femoral superficial foi tratada com maior frequência (46,39%), seguido da artéria tibial anterior (41,23%) e da artéria poplítea (36,08%). As frequências de acometimento das artérias estão descritas na tabela 7.

Tabela 7
Frequência das artérias tratadas

ARTÉRIAS TRATADAS	N	%
Artéria ilíaca comum	8	8,24
Artéria ilíaca externa	3	3,09
Artéria femoral superficial	45	46,39
Artéria poplítea	35	36,08
Artéria tibial anterior	40	41,23
Tronco tibiofibular	17	17,52
Artéria fibular	29	29,89
Artéria tibial posterior	20	20,61
Fibrinólise	1	1,03

Houve necessidade de amputação em 44,33% dos casos, sendo mais da metade delas de pododáctilos (58,14%) (Tabelas 8 e 9).

Tabela 8
Necessidade de amputação

AMPUTAÇÃO	N	%
Sim	43	44,33
Não	54	55,67
Total	97	100

Tabela 9
Nível da amputação

NÍVEL	N	%
Pododáctilo	25	58,14
Transmetatársico	9	20,93
Transtársica	4	9,3
Transtibial	1	2,33
Transfemoral	4	9,3
Total	43	100

Com relação ao uso do clopidogrel, foi possível avaliar 73 dos 97 pacientes, sendo que 55 haviam feito uso da medicação corretamente (Tabela 10).

Tabela 10
Uso do clopidogrel

FEZ USO		
CLOPIDOGREL	n	%
Sim	55	56,7
Não	18	18,55
Sem informações	24	24,75
Total	97	

A patência primária em 1 ano do território ilíaco, fêmoro-poplíteo e infra-poplíteo foi, respectivamente, de 53,84%, 35,51% e 60,52% (Tabela 11). Após o segundo tratamento, dezesseis pacientes (16,49%) apresentaram uma nova estenose maior que 50% ou oclusão em 1 ano. Além disso, vinte e nove pacientes (29,9%) não foram submetidos à uma nova angioplastia mesmo com a estenose/occlusão.

Tabela 11

Presença de estenose >50% ou oclusão em até 1 ano

	N	%
Patência primária (ilíaco-femoral)	7	53,84
Patência primária (fêmoro-poplíteo)	20	35,51
Patência primária (infra-poplíteo)	23	60,52
Patência primária assistida	8	8,25
Patência secundária	2	2,06
Não realizaram nova angioplastia	29	29,9
Estenose >50% ou oclusão em menos de 1 ano após 1º angioplastia	57	58,75%

Para o estudo da associação entre o uso do clopidogrel a presença de estenose maior que 50% ou oclusão em menos de 1 ano (Tabela 12) foi usado o teste do qui-quadrado, porém não houve associação entre uso do Clopidogrel e presença de estenose/occlusão ($p=0,5$).

Tabela 12

Distribuição de frequências dos pacientes segundo uso do Clopidogrel e presença de estenose > 50% ou oclusão ≤ 1ano.

Uso do Clopidogrel	Estenose>50% ou oclusão ≤ 1ano		Total
	Sim	Não	
Sim	26	23	49
	53,1	46,9	100,0
Não	12	6	18
	66,7	33,3	100,0
S/D	19	11	30
	63,3	36,7	100,0
Total	57	40	97
	58,8	41,2	100,0

p=0,50

5. Discussão

A dificuldade metodológica encontrada na separação do DNA dos leucócitos poderia ter sido causada devido à demora entre a coleta e o processamento das amostras ou, ainda, por algum outro motivo. Para corrigir esse problema seria necessário realizar um novo estudo para descobrir qual seria a melhor metodologia para avaliação das amostras.

Houve uma maior frequência de tratamento endovascular em pacientes com mais de 60 anos, correspondendo a 70,1% dos casos, dado que a DAOP aumenta em número de casos conforme ocorre o aumento da idade, conforme relatado por *Robertson et al., 2017*¹². O aumento da idade corresponde a um importante fator de risco para aterosclerose, junto com a HAS, DM e DLP.

A prevalência maior de homens submetidos ao tratamento endovascular (63% x 37%) se deve a maior incidência DAOP em homens do que em mulheres, conforme é observado na literatura. Entretanto, a proporção inverte à medida que a idade aumenta, pois, o estrogênio parece ter ação protetora nas mulheres (o que é perdido na pós-menopausa)¹³.

O hospital das clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu faz parte do Departamento de Saúde VI (DRS VI), contendo 68 cidades, das quais podem ser encaminhados pacientes para atendimento especializado do SUS (sistema único de saúde), não existente na cidade de origem. Por isso, havia 32 cidades do interior de São Paulo das quais os pacientes eram provenientes e a cidade com maior número de casos atendidos foi Botucatu, por ser sede do hospital, seguido de São Manuel, que é uma das cidades mais próximas da UNESP.

As comorbidades que foram encontradas com maior frequência, correspondem aos principais fatores de risco para aterosclerose (HAS com 73,19%, DM com 68,04% e dislipidemia DLP com 27,83%), assim como outras doenças que tem como causa a doença aterosclerótica, como o infarto agudo de miocárdio (13,40%) e o acidente vascular encefálico (12,37%).

O tabagismo também é, junto com o aumento da idade, HAS, DM e DLP, um dos principais fatores de risco para aterosclerose, podendo o cigarro ser responsável por 50% dos casos de DAOP¹². *Lu et al., 2014*, observou que pacientes ex-tabagistas apresentam um menor risco de desenvolvimento de DAOP do que os tabagistas ativos, porém é, ainda, maior do que as pessoas que nunca

fumaram ¹⁴. Por esses motivos, foi muito maior a presença de pacientes com tabagismo ativo, correspondendo a 40,2% dos casos e em menor frequência de ex-tabagistas (36,1%) e em último lugar, de pacientes que nunca fumaram, mas que apresentavam outros fatores de risco para aterosclerose.

No quadro clínico de entrada havia pacientes com categoria 3, 4, 5 e 6 da classificação de Rutherford, não havendo quadros mais leves, pois o tratamento cirúrgico só indicado em casos de claudicação grave, que ocorre com menos de 50 metros de caminhada ou de isquemia crítica como dor em repouso e presença de lesão trófica.

Após o tratamento, houve amputação em 44,33% dos casos, sendo mais da metade de pododáctilos (58,14%), dado que 59,8% dos pacientes apresentavam classificação de Rutherford 5 (lesão trófica menor) na entrada. Dentre os pacientes que apresentaram amputações maiores (11,63%), a maioria deu entrada com classificação Rutherford 6 (lesão trófica extensa), associado a infecção que não teve melhora com antibiótico e apesar do tratamento endovascular, por estarem já em estado avançado.

A patência primária em 1 ano do território ilíaco e do fêmoro-poplíteo foi inferior ao da literatura, 53,83% x 86% (Indes, et al., 2013) e 35,51% x 73% (Almasri et al., 2017), respectivamente, provavelmente porque os pacientes submetidos à angioplastia eram em sua maioria TASC-II C com risco-operatório para cirurgia aberta alto ^{15,16}. Sobre o território infra-poplíteo, a patência primária foi semelhante ao da literatura, 60,52% x 66% (Almasri et al., 2017) ¹⁶.

Em relação ao uso do clopidogrel, não havia dados suficientes em prontuário para saber se o paciente fez uso ou não da medicação e houve dificuldade de entrar em contato telefônico, pois muitos telefones estavam desatualizados no cadastro e a grande maioria não atendeu a ligação, sendo possível avaliar apenas 73 dos 97 pacientes, sendo que 55 haviam feito uso da medicação corretamente. Muitos pacientes que não fizeram o uso correto relataram dificuldade financeira para adquirir a medicação em farmácias comuns e disseram não ter retirado a medicação pela unidade básica de saúde (UBS) devido à burocracia associada à retirada da medicação de alto custo (paciente deveria retirar uma documentação no posto de saúde da cidade de origem, levar até o Hospital das Clínicas da UNESP de Botucatu para ser preenchida pelo médico da vascular, para depois retirar a documentação e entregá-la à UBS de sua cidade).

Neste estudo, não houve associação entre o uso do clopidogrel a presença de estenose maior que 50% ou oclusão em menos de 1 ano ($p=0,5$), não sendo possível avaliar a eficácia da medicação no resultado pós-angioplastia periférica.

6. Conclusão

Devido dificuldade na avaliação das amostras coletadas, este estudo não conseguiu descrever as frequências de polimorfismos gênicos CYP2C19*2 e CYP2C19*3 em pacientes submetidos à angioplastia periférica e sua relação com a prognóstico dos tratamentos endovasculares periféricos.

Além disso, não foi encontrado associação entre o uso do clopidogrel e a presença de estenose maior que 50% ou oclusão em menos de 1 ano ($p=0,5$) nessa amostra de pacientes. Novos estudos deverão ser conduzidos para encontrar a melhor metodologia para realizar a análise das amostras e para avaliação da presença do polimorfismo CYP2C19 alelos 2 e 3, a fim de esclarecer melhor a associação entre o uso de clopidogrel e a estenose/oclusão precoce.

Referências

1. BURIHAN MC, et al. Concenso e Atualização no Tratamento da Doença Arterial Obstrutiva Periférica. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.
2. SERRANO Junior CV, et al. Posicionamento Sobre Antiagregantes Plaquetários e Anticoagulantes em Cardiologia – 2019. *Arq Bras Cardiol.* 2019;113 (1):111-134.
3. DEAN L. Clopidogrel Therapy And CYP2C19 Genotype. 8 de março de 2012 [Atualizado 18 de abril de 2018]. In: PRATT V, MCLEOD H, DEAN L, et al., editors. *Medical Genetics Summary*. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US), 2012. [Acesso em: 20 maio de 2020]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK84114>.
4. PARÉ G, et al. Effects of CYP2C19 genotype on outcomes of clopidogrel treatment. *N Engl J Med.* 2010;363(18):1704-14.
5. SANGKUH K, KLEIN TE, ALTMAN RB. Clopidogrel Pathway, Pharmacokinetics. *PharmaGKB*, 2010. [Acesso em: 10 de Fevereiro de 2019]. Disponível em: <http://www.pharmgkb.org/pathway/PA154424674>.
6. SANGKUH K, KLEIN TE, ALTMAN RB. Platelet aggregation pathway. *PharmaGKB*, 2010. [Acesso em: 10 de Fevereiro de 2019]. Disponível em: <http://www.pharmgkb.org/pathway/PA154424674>.
7. GUO, B. et al. Patients Carrying CYP2C19 loss of function alleles have a reduced response to clopidogrel therapy and a greater risk of in-stent restenosis after endovascular treatment of lower extremity peripheral arterial disease. *J Vasc Surg.* 2014;60(4):993-1001.
8. ZHU WY, et al. Association of CYP2C19 polymorphism with the clinical efficacy of clopidogrel therapy in patients undergoing carotid artery stenting in Asia. *Scientific Reports*, 2016. [Acesso em: 15 de março de 2019]. Disponível em: www.nature.com/scientificreports.
9. DÍAZ-VILLAMARÍN X, et al. Genetics polymorphisms influence on the response to clopidogrel in peripheral artery disease patients following percutaneous transluminal angioplasty. *Pharmacogenomics.* 2016;17(12):1327-38.

10. 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. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2016;51:175-186.
11. NEGIN Z, NADER T, MAHMOOD H, ALIREZA MS, IRAJ M. Allele Frequency of CYP2C19 Gene Polymorphisms in a Healthy Iranian Population. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics.* 2006;4:124-127.
12. ROBERTSON L, PARASKEVAS KI, STEWART M. Angioplasty and stenting for peripheral arterial disease of the lower limbs: an overview of Cochrane Reviews (2017). [Acesso em: 06 de junho de 2020]. Disponível em: https://www.cochrane.org/CD012542/PVD_angioplasty-and-stenting-peripheral-arterial-disease-lower-limbs-overview-cochrane-reviews
13. SCHRAMM K, ROCHON PJ. Gender Differences in Peripheral Vascular Disease. *Semin Intervent Radiol.* 2018;35(1):9-16.
14. LU L, MACKAY DF, PELL JP. Meta-analysis of the Association Between Cigarette Smoking and Peripheral Arterial Disease. *Heart.* 2014;100(5):414-23.
15. INDES JE, PFAFF MJ, FARROKHVAR F, BROWN H, HASHIM P, CHEUNG K, SOSA JA. Clinical outcomes of 5358 patients undergoing direct open bypass or endovascular treatment for aortoiliac occlusive disease: a systematic review and meta-analysis. *J Endovasc Ther.* 2013;20:443-445.
16. ALMASRI J, ADUSUMALLI J, ASI N, LAKIS S, ALSAWAS M, PROKOP LJ, BRADBURY A, HONOURS C, KOLH P, CONTE MS, MURAD MH. A systematic review and meta-analysis of revascularization outcomes of infrainguinal chronic limb-threatening ischemia. *J Vasc Surg.* 2018;69(6):126S-136S.