



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas



**Variantes genéticas e fatores associados ao risco
de hemorragia digestiva alta: um estudo de caso-
controle**

Marcela Forgerini

Orientadora: Prof. Dr. Patrícia de Carvalho Mastroianni

Coorientadora: Prof. Dr. Maria Teresa Herdeiro

Araraquara- SP

2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas



**Variantes genéticas e fatores associados ao risco
de hemorragia digestiva alta: um estudo de caso-
controle**

Marcela Forgerini

(Bolsista FAPESP nº 2018/07501-9)

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas,
Área de Pesquisa e Desenvolvimento de
Fármacos e Medicamentos, para obtenção
do título de Doutor em Ciências
Farmacêuticas.

Orientadora: Prof. Dr. Patrícia de Carvalho Mastroianni

Coorientadora: Prof. Dr. Maria Teresa Herdeiro

Araraquara- SP

2021

F721v

Forgerini, Marcela.

Variantes genéticas e fatores associados ao risco de hemorragia digestiva alta: um estudo de caso-controle / Marcela Forgerini. – Araraquara: [S.n.], 2021. 127 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Patrícia de Carvalho Mastroianni.

Coorientadora: Maria Teresa Herdeiro.

1. Hemorragia gastrointestinal. 2. Efeitos Colaterais e Reações Adversas Relacionados a Medicamentos. 3. Farmacogenética. 4. Farmacovigilância. 5. Úlcera péptica. I. Mastroianni, Patrícia de Carvalho, orient. II. Herdeiro, Maria Teresa, coorient. III. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030078P6

Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Determinantes genéticos da hemorragia gastrointestinal associada ao uso de ácido acetilsalicílico como agente antiplaquetário: um estudo de caso-controle

AUTORA: MARCELA FORGERINI

ORIENTADORA: PATRICIA DE CARVALHO MASTROIANNI

COORIENTADORA: MARIA TERESA FERREIRA HERDEIRO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área de conhecimento: Sem Área de Conhecimento pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. PATRICIA DE CARVALHO MASTROIANNI (Participação Virtual)
Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. MARIO HIROYUKI HIRATA (Participação Virtual)
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas / Universidade de São Paulo

Prof. Dr. CLESLEI FERNANDO ZANELLI (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP

Profa. Dra. FERNANDA RODRIGUES SOARES (Participação Virtual)
Departamento de Genética / Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM

Profa. Dra. FABIANA ROSSI VARALLO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Farmacêuticas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP

Araraquara, 07 de maio de 2021

DEDICATÓRIA

À Deus, por sempre me amparar e por conduzir os meus passos mesmo nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, Eduardo e Lucimara, e minha irmã Roberta por todo o apoio e confiança oferecidos ao longo desta jornada. Minha eterna gratidão, pois, sem vocês essa vitória não seria possível.

Aos amigos que carrego no meu coração. Agradeço as amigas da minha cidade natal, as da graduação na Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) e as que Universidade Estadual Paulista (UNESP) me proporcionou. Em especial, a República Agridoce e República Santa Dose, por serem abrigo e aconchego nos dias de luta e por vibrarem em todas as minhas vitórias.

Não poderia deixar de agradecer a todos que contribuíram para a minha formação, mas em especial as minhas orientadoras da UNIFAL-MG: Professora Dr Sandra Maria Oliveira Moraes Veiga e Dr Luciene Alves Moreira Marques. Gratidão por terem participado ativamente da minha formação profissional e pessoal, e por sempre acreditarem em mim da maneira mais humana possível.

E por fim, a todos que de alguma maneira contribuíram para o meu amadurecimento científico, pessoal e na condução desse estudo. Deus colocou muitos anjos para me ampararem nessa trajetória e não teria sido possível sem a contribuição de cada um deles.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Professora Dr Patrícia de Carvalho Mastroianni por todas as oportunidades, ensinamentos e amadurecimento científico. A nossa trajetória foi marcada por muitas dificuldades e lutas, mas também de muitas vitórias. A minha eterna gratidão por todo o aprendizado e por sempre acreditar em mim. Essa jornada não seria possível sem o seu apoio e confiança.

À minha coorientadora Professora Dr Maria Teresa Herdeiro por todas as discussões científicas e ensinamentos.

À cada um dos integrantes do grupo de pesquisa Núcleo de Atenção Farmacêutica (NAF), em especial a Geovana Schiavo, que além de orientada, é uma amiga que sempre acreditou em mim e confiou no meu trabalho. Sou muito grata por compartilhar essa jornada de amadurecimento científico com você.

À Professora Dr Fabiana Rossi Varallo por todas as discussões científicas, apoio e amizade. Agradeço por todas as oportunidades que tive de trabalhar com você e por você confiar em mim e no meu potencial. Você é uma inspiração de ser humano e profissional.

Ao Professor Dr Romeu Magnani por todos os ensinamentos e aulas de estatística, que foram muito desafiadoras devido as restrições impostas pela pandemia COVID-19, mas que se tornaram os momentos mais esperados da minha semana. Minha eterna gratidão por ser esse educador incrível e por ter acreditado no meu potencial. Os seus ensinamentos irão muito além da presente tese e contribuirão para toda a minha jornada acadêmica.

À Dr Rosa Camila Lucchetta por todos os aprendizados, oportunidades e por todo o trabalho que construímos juntas.

Ao Gustavo Urbano por todos os ensinamentos e por todas as vezes que me ajudou, sendo sempre muito gentil e humano.

Ao Professor Dr Tales Rubens de Nadai por ter viabilizado a condução deste estudo.

Ao Professor Dr Adolfo Figueiras pelos ensinamentos metodológicos e pela oportunidade de visita técnica à Universidade de Santiago de Compostela.

Ao Msc Francisco Barbosa Junior por toda assessoria ao banco de dados do presente estudo, ensinamentos, amizade e pelas longas conversas.

A Nayara Telles e Gabriele Castro pelo apoio e pela contribuição na organização do banco de dados.

Ao Hospital Estadual de Américo Brasiliense e por toda a equipe de profissionais tão humanos que me acolheram tão bem e alegraram todos os meus dias de recrutamento de pacientes.

Ao Centro de Medicina Genômica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em especial à Ana Julia Machry por toda a colaboração nas análises genéticas, paciência e ensinamentos.

Ao Laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo e em especial ao Professor Dr Alexandre Fabro Todorovic e Sabrina Setembre Batah pelo acolhimento e colaboração nas análises genéticas.

Ao Laboratório de Biologia Molecular e de Microrganismos da UNESP, por terem me recebido tão bem e em especial ao Professor Dr Cleslei Fernando Zanelli, Dr Maria Olivia Masieiro e Professora Dr Tatiana Souza Moreira por todos os ensinamentos.

Ao Núcleo de Atendimento à Comunidade da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP pela colaboração nos exames de sorologia à *Helicobacter pylori*.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UNESP por ter me proporcionado uma jornada de crescimento e amadurecimento pessoal e científico.

Às agências de fomento Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – processo 2017/24193-3; 2018/07501-9); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – processo 401060/2014-4) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES – código de financiamento 001) que foram essenciais para realização deste estudo.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada (HDA) é uma emergência digestiva associada à alta morbimortalidade e é considerada uma reação adversa a medicamento grave. A presença de variantes genéticas tem sido sugerida como um importante fator de risco para HDA, principalmente em genes envolvidos no metabolismo de medicamentos e em mecanismos fisiológicos de agregação plaquetária e proteção gástrica. **OBJETIVO:** Investigar a associação de variantes genéticas nos genes *PTGS1*, *NOS3*, *CYP2C9*, *VKORC1* e *ABCB1* e o risco de HDA. **METODOLOGIA:** Foi conduzido um estudo caso-controle pareado por gênero e idade (± 5 anos) no complexo hospitalar do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. **Caso:** pacientes com diagnóstico de HDA confirmado mediante endoscopia digestiva alta (EDA) ou intervenção cirúrgica. **Controle:** pacientes submetidos à cirurgia leve não relacionadas à problemas gastrointestinais. Os dados foram coletados por meio de entrevistas e coleta de sangue (5 mL). **Variável dependente:** HDA. **Variável independente:** variante genética. **Variáveis de confusão:** etnia, escolaridade, índice de massa corpórea, histórico familiar de úlcera, histórico pessoal de doenças gastrointestinais (úlcera, hemorragia, dispepsia), sorologia para *Helicobacter pylori*, comorbidades, farmacoterapia em uso, hábitos de vida (tabaco, álcool e café) e consistência da entrevista. Foi proposta a análise dos seguintes genes e variantes: *PTGS1* (rs1330344, rs3842787, rs10306114, rs5788), *NOS3* (rs2070744, rs1799983 e repetição em série de número variável (VNTR) no íntron 4 da *eNOS*), *CYP2C9* (rs1057910 e rs1799853), *VKORC1* (rs9923231) e *ABCB1* (rs1045642). A genotipagem foi conduzida por meio da reação em cadeia da polimerase em tempo real com o ensaio *TaqPath ProAmp* (Applied Biosystems, Foster City, USA) e a determinação da VNTR no íntron 4 da *eNOS* por meio da reação em cadeia da polimerase e análise de fragmentos (ABI3130, Applied Biosystems, Foster City, USA). A sorologia por *Helicobacter pylori* foi determinada por concentração de IgG no plasma dos participantes, por meio da técnica de quimiluminescência. Os dados da entrevista, análise genética e laboratorial foram digitados na plataforma *Research Electronic Data Capture*. Como controle de qualidade, a frequência genotípica das variantes genéticas foi avaliada por meio do Equilíbrio de Hardy-Weinberg. **Análise estatística:** modelos de regressão logística não condicional (programa SPSS). **RESULTADOS:** Foram elegíveis 200 casos e 706 controles, sendo a maioria do gênero masculino [grupo caso: 145 (72,5%) e grupo controle: 512 (72,5%)], autodeclarados brancos [grupo caso: 134 (67,3%) e grupo controle: 516 (73,5%)] e com média de idade de 60,2 ($\pm 16,3$) e 59,8 ($\pm 15,8$) anos, respectivamente. A frequência de admissões hospitalares por HDA foi de 7,1% e estima-se que sete a cada cem pacientes submetidos à EDA foram diagnosticados com HDA. Todas as variantes atenderam ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Foram identificados seis polimorfismos de nucleotídeo único (rs1330344, rs10306114, rs2070744, rs1799983, rs1045642 e rs9923231) e VNTR no íntron 4 da *eNOS* que podem modificar a magnitude de risco de HDA em usuários de ácido acetilsalicílico. Quando foram considerados os usuários de anti-inflamatório não esteroide, as onze variantes genéticas avaliadas neste estudo foram associadas ao risco de HDA. Como fatores de risco independentes para HDA foram identificadas as variáveis: histórico pessoal prévio de úlcera (p-valor: $< 0,001$); sorologia reagente para *Helicobacter pylori* (p-valor: 0,029); uso de anticoagulantes (p-valor: $< 0,001$), ácido acetilsalicílico (p-valor: $< 0,001$) e anti-inflamatórios não esteroidais (p-valor: $< 0,001$); consumo > 15 cigarros/dia (p-valor: $< 0,001$) e consumo de > 30 gramas de álcool/dia (p-valor: $< 0,001$). **CONCLUSÃO:** Trata-se de um estudo inédito na população brasileira e que contribui com a análise de três variantes inéditas no escopo da HDA: rs1330344 (*PTGS1*), rs2070744 (*NOS3*) e rs1045642 (*ABCB1*). Os nossos achados evidenciam que a presença das variantes genéticas avaliadas pode modificar a magnitude do risco de HDA em usuários de ácido acetilsalicílico e/ou de anti-inflamatórios não esteroidais, além de outras variáveis de risco independente para HDA. Por fim, os nossos achados sugerem a necessidade de uma terapia individualizada, considerando o monitoramento do uso de medicamentos e identificação de fatores prévios de risco para HDA a fim de promover a segurança do paciente.

PALAVRAS-CHAVE: Hemorragia gastrointestinal; Efeitos Colaterais e Reações Adversas Relacionados a Medicamentos; Farmacogenética; Farmacovigilância; Úlcera péptica.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Upper gastrointestinal bleeding secondary to complicated peptic disease (UGIB) is a digestive emergency associated with high morbidity and mortality and is considered a serious adverse drug reaction. The presence of genetic variants has been suggested as an important risk factor for UGIB, mainly in genes involved in drug metabolism and in physiological mechanisms of platelet aggregation and gastric protection. **OBJECTIVE:** To investigate the association of genetic variants in the *PTGS1*, *NOS3*, *CYP2C9*, *VKORC1* and *ABCB1* genes and the risk of UGIB. **METHODOLOGY:** A case-control study paired by sex and age (± 5 years) was conducted in the the hospital complex of Clinical Hospital of the Ribeirão Preto Medical School of the University of São Paulo. **Case:** patients diagnosed with UGIB confirmed by upper digestive endoscopy (UDE) or surgical intervention. **Control:** patients undergoing mild surgery not related to gastrointestinal problems. Data were collected through interviews and blood collection (5 mL). *Dependent variable:* UGIB. *Independent variable:* genetic variant. *Confounding variables:* ethnicity, schooling, body mass index, family history of ulcer, personal history of gastrointestinal diseases (ulcer, hemorrhage, dyspepsia), serology for *Helicobacter pylori*, comorbidities, drug therapy in use, lifestyle (tobacco, alcohol and coffee) and consistency of the interview. The analysis of the following genes and variants were proposed: *PTGS1* (rs1330344, rs3842787, rs10306114, rs5788), *NOS3* (rs2070744, rs1799983 and variable number tandem repeats (VNTR) in intron 4), *CYP2C9* (rs1057910 and rs1799853), *VKORC1* (rs9923231). The genotyping were carried out through the real-time polymerase chain reaction with the TaqPath ProAmp assay (*AppliedBiosystems, Foster City, USA*) and the determination of VNTR in intron 4 of *eNOS* through polymerase chain reaction and fragment analysis (ABI3130, *AppliedBiosystems, Foster City, USA*). *Helicobacter pylori* serology was determined by IgG concentration in the participants' plasma, using the chemiluminescence technique. The interview data, genetic and laboratory analysis were entered into the *Research Electronic Data Capture* platform. For genotyping control, the genotypic frequency of the genetic variants was assessed using the Hardy-Weinberg Equilibrium. *Statistical analysis:* unconditional logistic regression models (SPSS program). **RESULTS:** 200 cases and 706 controls were eligible. Most participants were male [case group: 145 (72.5%) and control group: 512 (72.5%)], self-declared white [case group: 134 (67.3%) and control group: 516 (73.5%)] and with a mean age of 60.2 (± 16.3) and 59.8 (± 15.8) years, respectively. The frequency of hospital admissions for UGIB was 7.1% and it is estimated that seven out of every hundred patients undergoing UDE were diagnosed with UGIB. All the genetic variants attend the Hardy-Weinberg Equilibrium. Six single nucleotide polymorphisms (rs1330344, rs10306114, rs2070744, rs1799983, rs1045642 and rs9923231) and VNTR in intron 4 of *eNOS* can modify the UGIB risk magnitude in users of low-dose aspirin. When considering users of non-steroidal anti-inflammatory drugs, the eleven genetic variants evaluated in this study were associated with the risk of UGIB. As independent risk factors for UGIB were identified the following variables: previous personal history of ulcer (p-value: <0.001); reagent serology for *Helicobacter pylori* (p-value: 0.029); use of anticoagulants (p-value: <0.001), low-dose aspirin (p-value: <0.001) and non-steroidal anti-inflammatory drugs (p-value: <0.001); consumption > 15 cigarettes/day (p-value: <0.001) and consumption of > 30 grams of alcohol/day (p-value: <0.001). **CONCLUSION:** This is an unprecedented study in the Brazilian population and which contributes to the analysis of three new variants within the scope of UGIB: rs1330344 (*PTGS1*), rs2070744 (*NOS3*) and rs1045642 (*ABCB1*). Our findings show that the presence of the evaluated genetic variants can modify the magnitude of the risk of UGIB in low-dose aspirin users and/or non-steroidal anti-inflammatory drugs, in addition to other independent risk variables for UGIB. Finally, our findings suggest the need for individualized therapy, considering the monitoring of drug therapy use and the identification of previous risk factors for UGIB in order to promote patient safety.

KEYWORDS: Drug-Related Side Effects and Adverse Reactions; Gastrointestinal Hemorrhage; Peptic ulcer; Pharmacogenetics; Pharmacovigilance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Descrição das atividades conduzidas nas quatro etapas do estudo (clínica, genética, laboratorial e epidemiológica).	39
Figura 2. Plot de discriminação alélica da variante rs1330344 do gene <i>PTGS1</i>	48
Figura 3. Análise do produto da reação em cadeia da polimerase de uma amostra em gel de agarose 1,2%.	50
Figura 4. Perfil de eletroforese do <i>ladder GeneScan™ 1000ROX™</i> (<i>Applied Biosystems, Foster City, USA</i>).	51
Figura 5. Análise de fragmentos no equipamento AB13130, sendo o primeiro gráfico referente ao genótipo selvagem (420 pares de base; b/b; 5 repetições), o segundo ao heterozigoto (393 e 420 pares de bases; a/b) e o homozigoto para o alelo variante (393 pares de bases; a/a; 4 repetições).	53

LISTA DE FLUXOGRAMA

Fluxograma 1. Fluxograma de identificação e elegibilidade de casos diagnosticados com hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada mediante endoscopia digestiva alta (n= 180) e controles (n=706) recrutados no complexo hospitalar do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, no período de julho de 2016 a março de 2020.	62
--	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Classificação de Forrest considerando o tipo de sangramento, estigmata endoscópica e risco de ressangramento.....	20
Quadro 2. Classificação de Sakita considerando o estágio da úlcera e descrição dos achados endoscópicos.	20
Quadro 3. Determinação do fenótipo do gene <i>CYP2C9</i> considerando a combinação de alelos e o fenótipo predito.	30
Quadro 4. Variáveis e fontes de dados e mensuração.....	42
Quadro 5. Descrição dos genes e polimorfismos de nucleotídeo único analisados de acordo com o número de identificação (rs), identificação da troca de base nitrogenada do DNA, código do ensaio da <i>Applied Biosystem</i> , fenótipo e genótipo.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Preparação da reação em cadeia da polimerase para validação do protocolo de análise da repetição em série de número variável do íntron 4 do gene <i>eNOS</i>	49
Tabela 2. Descrição do preparo dos mix para reação em cadeia da polimerase e para eletroforese capilar.....	52
Tabela 3. Descrição das variáveis demográficas e clínicas dos participantes casos (n=200) e controles (n=706) do complexo hospitalar do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, no período de julho de 2016 a março de 2020.	62
Tabela 4. Frequência dos sinais e sintomas clínicos dos participantes do grupo caso (n=200) nos 30 dias anteriores a internação, complexo hospitalar do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, no período de julho de 2016 a março de 2020.	64
Tabela 5. Descrição da frequência dos genótipos dos polimorfismos de nucleotídeo único nos genes <i>PTGS1</i> , <i>NOS3</i> , <i>CYP2C9</i> , <i>ABCB1</i> , <i>VKORC1</i> e repetição em série de número variável (VNTR) do íntron 4 da <i>eNOS</i> e as respectivas análises de <i>Equilíbrio de Hardy–Weinberg</i> entre casos e controles recrutados no complexo hospitalar do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, no período de julho de 2016 a março de 2020.	65
Tabela 6. Razão de chances de hemorragia digestiva alta secundária à úlcera péptica complicada após modelo de regressão logística binária multivariado considerando as variantes genéticas estratificadas em homozigoto para o alelo selvagem, heterozigoto e homozigoto para o alelo variante.	67
Tabela 7. Razão de chances de hemorragia digestiva alta secundária à úlcera péptica complicada após modelo de regressão logística binária multivariado considerando as variantes genéticas estratificadas em homozigoto para o alelo selvagem e presença da variação genética agrupando heterozigoto e homozigoto para o alelo variante.	69
Tabela 8. Modelo de regressão logística para avaliar a influência da repetição em série de número variável (VNTR) do íntron 4 da <i>eNOS</i> e o risco de hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada.....	71
Tabela 9. Modelo de regressão logística para as variantes genéticas localizadas nos genes <i>PTGS1</i> , <i>NOS3</i> , <i>CYP2C9</i> , <i>ABCB1</i> e <i>VKORC1</i> considerando interação multiplicativa com o uso de usuários de ácido acetilsalicílico (AAS) e o risco de hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada.	72
Tabela 10. Modelo de regressão logística para as variantes genéticas localizadas nos genes <i>PTGS1</i> , <i>NOS3</i> , <i>CYP2C9</i> , <i>ABCB1</i> e <i>VKORC1</i> considerando interação multiplicativa com o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e o risco de hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS: ácido acetilsalicílico

AINES: anti-inflamatório não esteroide

EDA: endoscopia digestiva alta

HDA: hemorragia digestiva alta

Heab: Hospital Estadual de Américo Brasiliense

HGI: hemorragia gastrointestinal

IC: intervalo de confiança

OR: *odds ratio*

PCR: Reação em cadeia da polimerase

RedCap: *Research Electronic Data Capture*

SNP: *Single nucleotide polymorphism*

VNTR: *Variable number tandem repeat*

SUMÁRIO

1)	INTRODUÇÃO	17
2)	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1)	Hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada: da etiologia ao diagnóstico.....	19
2.1.1	Infecção por <i>Helicobacter pylori</i> e o risco de hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada	21
2.1.2	Uso de medicamentos e o risco de hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada.....	22
2.2)	Susceptibilidade genética e o risco de hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada.....	26
3)	OBJETIVOS	36
	Objetivo principal.....	36
	Objetivos específicos	36
	Hipóteses do estudo.....	36
4)	METODOLOGIA E CASUÍSTICA	37
4.1)	Estudo 1. Revisão sistemática	37
4.2)	Estudo 2. Estudo observacional do tipo caso-controle.....	37
4.2.1.	Aspectos éticos.....	37
4.2.2.	Desenho.....	38
4.2.3.	Local.....	39
4.2.4.	Participantes	39
4.2.5.	Período e coleta de dados	41
4.2.6.	Variáveis.....	42
4.2.7.	Fonte de dados e mensuração	42
4.2.8.	Análise genética	45
4.2.8.1.	Análise de polimorfismo de nucleotídeo único	46
4.2.8.2.	Análise da repetição em série de número variável do íntron 4 do gene <i>eNOS</i>	49
4.2.9.	Análise laboratorial: sorologia para <i>Helicobacter pylori</i>	53
4.2.10.	Tabulação de dados	54
4.2.11.	Viés.....	54
4.2.12.	Cálculo do tamanho amostral	55
4.2.13.	Análises estatísticas.....	55
4.2.13.1.	Equilíbrio de <i>Hardy-Weinberg</i>	55
4.2.13.2.	Modelo de regressão logística binária	56
5)	RESULTADOS.....	60
(I)	Revisão sistemática das variantes genéticas associadas ao risco de HDA.....	60

(II)	Perfil epidemiológico dos participantes dos grupos caso e controle.....	60
(III)	Análise genética	65
(IV)	Fatores associados a HDA.....	66
6)	DISCUSSÃO	76
7)	FORTALEZAS E LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	86
8)	CONCLUSÃO	87
9)	REFERÊNCIAS.....	89
10)	LISTA DE ANEXOS.....	106
ANEXO 1: Registro da revisão sistemática no International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO) (CRD42020167658).		106
ANEXO 2: Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.		110
ANEXO 3: Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.		114
ANEXO 4. Termo de consentimento livre e esclarecido para participantes do grupo caso. .		119
ANEXO 5. Termo de consentimento livre e esclarecido para participantes do grupo controle.		122
ANEXO 6. Termo de consentimento para guarda para guarda de material biológico		125
11)	LISTA DE APÊNDICE	127
APÊNDICE 1: Flowchart do processo de análise e monitoramento das endoscopias digestivas alta dos pacientes admitidos na Unidade de Urgência e Emergência do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.		127

1) INTRODUÇÃO

A hemorragia digestiva alta (HDA) é considerada uma emergência médica associada a hospitalizações (LAINE, 2016) e alta morbimortalidade devido à necessidade de intervenções cirúrgicas, readmissões hospitalares e mortalidade intra-hospitalar (QUAN et al., 2014).

A HDA possui etiologia varicosa e não varicosa (FEINMAN; HAUT, 2014), sendo a etiologia não varicosa a de maior incidência (LANAS et al., 2018) e com uma taxa de mortalidade que varia de 1.1 a 11% (JAIRATH et al., 2012b) e em até 26% em pacientes hospitalizados (HEARNshaw et al., 2011).

Uma das causas mais frequentes de HDA de etiologia não varicosa é a doença péptica complicada decorrente de úlceras pépticas (duodenais e gástricas) e erosões gastroduodenais (LANAS et al., 2018). A HDA não varicosa também pode ser considerada uma reação adversa a medicamento grave (PIRMOHAMED et al., 2004) e estima-se que sete a cada cem pacientes admitidos e submetidos à endoscopia digestiva alta em um hospital terciário, são diagnosticados com HDA (FORGERINI et al., 2021c).

A presença de variantes genéticas tem sido sugerida como importante fator de risco para HDA secundária à doença péptica complicada (FIGUEIRAS et al., 2016; MALLAH et al., 2020) e para a reincidência de sangramento (KIM et al., 2003). Por meio de uma revisão sistemática foram identificadas variantes genéticas relevantes no escopo da HDA (FORGERINI et al., 2021a) e no que concerne o uso de medicamentos, os estudos têm identificado variantes genéticas associadas à HDA em usuários de ácido acetilsalicílico (AAS) (MALLAH et al., 2020; SHIOTANI et al., 2011, 2014; SHIOTANI; FUJITA; NISHIO, 2015) e de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (FIGUEIRAS et al., 2016; PILOTTO et al., 2007). No entanto, não é de nosso conhecimento nenhum estudo que tenha avaliado a presença de variantes genéticas envolvidas no risco de HDA secundária à doença péptica complicada na população brasileira (FORGERINI et al., 2021a).

Além das variantes genéticas e o uso de medicamentos, comorbidades (CROOKS; WEST; CARD, 2013), infecção por *Helicobacter pylori* (SOSTRES; LANAS, 2011) e hábitos de vida como consumo de álcool e tabaco (CROOKS; WEST; CARD, 2013) também tem sido sugeridos como importantes fatores de risco, independentes, para HDA secundária à doença péptica complicada.

Neste contexto, é proposta a análise de variantes genéticas envolvidas em processos fisiológicos de proteção gástrica e na cascata de agregação plaquetária (variantes nos genes *PTGS1* e *NOS3*) (BRZOZOWSKI et al., 2005; LANAS, 2008), assim como na farmacocinética de medicamentos (variantes nos genes *ABCB1* e *VKOCR1*) (BAHAR et al., 2017; SHIOTANI et al., 2014; ZHOU et al., 2008), e em especial, no metabolismo dos AINEs (variantes no gene *CYP2C9*) (FIGUEIRAS et al., 2016).

Portanto, pretendeu-se investigar a influência de onze variantes genéticas nos genes *PTGS1*, *NOS3*, *CYP2C9*, *ABCB1* e *VKOCR1* no risco de HDA secundária à doença péptica complicada considerando variáveis de confundimento importantes (e.g., comorbidades, infecção por *Helicobacter pylori*, farmacoterapia em uso e hábitos de vida), além de estimar a frequência dessas variantes genéticas na população brasileira.

2) REVISÃO DE LITERATURA

2.1) Hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada: da etiologia ao diagnóstico

A hemorragia gastrointestinal (HGI) é uma emergência médica e é a causa mais frequente de hospitalizações associadas à morbidades digestivas (GRALNEK; NEEMAN; STRATE, 2017; LAINE, 2016). A HGI é classificada como alta (HDA) e baixa (HDB), a depender da proximidade do sangramento ao ligamento de Treitz (FEINMAN; HAUT, 2014).

A HDB tem origem próxima ao ligamento de Treitz e abrange intestino delgado, cólon e reto (FEINMAN; HAUT, 2014). Diverticulite, angiectasias e doenças anorretais como hemorroidas e doenças malignas colorretais são as causas mais frequentes de HDB (HREINSSON et al., 2013; OAKLAND et al., 2018). Já a HDA, possui origem acima do ligamento de Treitz e ocorre nos órgãos esôfago, estômago e duodeno e sua incidência é até cinco vezes maior quando comparada à incidência de HDB (OAKLAND, 2019).

A HDA possui etiologia não varicosa e varicosa (FEINMAN; HAUT, 2014). Enquanto a etiologia varicosa é causada por varizes esofágicas ou gástricas que geralmente estão associadas a doenças hepáticas e hipertensão portal (LANAS et al., 2018), a etiologia não varicosa, definida como desfecho deste estudo, é frequentemente causada por doença péptica complicada, que por sua vez está associada à infecção por *Helicobacter pylori* e ao uso de alguns medicamentos (e.g., AINEs e anticoagulantes orais) (LANAS et al., 2011, 2015). A HDA secundária à doença péptica complicada também pode ser considerada uma reação adversa a medicamento grave (PIRMOHAMED et al., 2004).

A fisiopatologia e os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da HDA secundária à doença péptica complicada ainda não são bem elucidados. No entanto, sabe-se que a presença de fatores envolvidos na fisiopatologia da HDA está associada a danos a mucosa gástrica, o que acarreta na exposição dos vasos sanguíneos da submucosa gástrica à ação de ácido e pepsina o que irá desencadear erosões, comprometimento da parede do vaso e interferência na coagulação sanguínea (LANAS et al., 2018).

Os fatores mais comumente associados ao dano da mucosa gástrica são infecção causada por *Helicobacter pylori* e uso de medicamentos como AINEs, antiagregantes plaquetários e anticoagulantes (LANAS; CHAN, 2017). Além desses fatores, a influência da presença de variantes genéticas (FORGERINI et al., 2021a), comorbidades não gastrointestinais (CROOKS; WEST; CARD, 2013) e hábitos de vida (e.g., tabagismo e ingestão de álcool) (LANGSTED; NORDESTGAARD, 2019; STRATE et al., 2016) também devem ser considerados. Esses fatores são detalhados mais adiante.

Em relação ao diagnóstico de HDA, a endoscopia digestiva alta (EDA) é o padrão ouro para o diagnóstico e também como o método para o tratamento (LANAS et al., 2018). No entanto, todo paciente admitido no serviço de saúde e apresentando um quadro indicativo de HDA deve ser submetido à uma estratificação de risco pré-endoscópica (LANAS et al., 2018). Existem diversos instrumentos para a estratificação de risco, mas o escore de *Glasgow-Blatchford* apresenta uma boa performance e é utilizado mundialmente, sendo efetivo em prever necessidade de intervenção, complicações e morte, tanto na pré-admissão do paciente quanto após endoscopia (STANLEY et al., 2017).

A EDA será essencial para identificar a causa da HDA e quando realizada dentro de 24 horas após a apresentação dos sintomas, há melhora nos desfechos do paciente (JAIRATH et al., 2012a; SARIN; MONGA; ADAMS, 2009). Portanto, a EDA é recomendada para: a) diagnóstico da causa do sangramento; b) avaliar os estigmas de sangramento recente (e.g. sangramento ativo, vaso sanguíneo visível, presença de coágulos e manchas escuras recobrimdo a úlcera); c) estratificar os pacientes de acordo com a classificação de Forrest (FORREST; FINLAYSON; SHEARMAN, 1974); e d) avaliar o nível de cicatrização da úlcera considerando a classificação de Sakita (SAKITA, 1973).

A classificação de Forrest permite identificar os pacientes que necessitam de tratamento, assim como estratificar os que possuem riscos de ressangramento e necessidade de intervenção cirúrgica (LAU et al., 1998). O tratamento do paciente por meio de endoscopia é recomendado para os pacientes classificados por Forrest como Ia, Ib e IIa, sendo efetivo em prevenir sangramentos persistentes ou sangramento recorrente (LAINE; MCQUAID, 2009). Já a classificação de Sakita permite avaliar o nível de cicatrização da úlcera.

Os quadros 1 e 2 resumizam como os achados endoscópicos dos pacientes submetidos à EDA são classificados de acordo com Forrest e de Sakita (Quadros 1 e 2).

Quadro 1. Classificação de Forrest considerando o tipo de sangramento, estigmas endoscópica e risco de ressangramento.

Classificação de Forrest	Sangramento	Estigmas endoscópica	Risco de ressangramento
Forrest Ia	I – Ativo	Em jato	Muito alto
Forrest Ib		Babando	Muito alto
Forrest IIa	II – Recente	Coto vascular visível	Alto
Forrest IIb		Coágulo recente	Alto
Forrest IIc		Fundo hematínico	Baixo
Forrest III	III - Sem sangramento	Sem sinal de sangramento	Muito baixo

Fonte: (FORREST; FINLAYSON; SHEARMAN, 1974)

Quadro 2. Classificação de Sakita considerando o estágio da úlcera e descrição dos achados endoscópicos.

Classificação de Sakita	Estágio da úlcera	Descrição dos achados
A (active)		
A1	Ativo	Lesão com bordas planas e nítidas, fundo com fibrinas, e chances de restos necróticos
A2	Ativo	Bordas bem definidas, às vezes elevadas, com forma mais nítida, fundo com fibrinas espessa e clara
H (healing)		
H1	Cicatrizando	Fibrina mais tênue, discreta convergência de pregas, com hiperemia marginal
H2	Cicatrizando	Ilhas de tecido de regeneração, com convergência nítida de pregas e intensa hiperemia marginal
S (scar)		
S1	Cicatrizado	Formação de cicatriz vermelha com reação inflamatória adjacente residual
S2	Cicatrizado	Formação de cicatriz branca, com retração adjacente variável

Fonte: (SAKITA, 1973)

2.1.1 Infecção por *Helicobacter pylori* e o risco de hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada

A *Helicobacter pylori* é uma bactéria gram-negativa cuja infecção ocorre possivelmente por meio do ciclo oral-oral e fecal-oral (BURKITT et al., 2017) e está associada a diversas doenças gástricas, sendo amplamente estudada no risco de úlcera péptica e câncer gástrico (LEE et al., 2016; WANG et al., 2014).

A prevalência global de infecção por *Helicobacter pylori* é estimada em 50%, sendo mais alta em países em desenvolvimento (BURKITT et al., 2017). No Brasil, por exemplo, a prevalência de infecção por *Helicobacter pylori* é estimada em cerca de 90% (PELETEIRO et al., 2014) e o nível socioeconômico (EPPLEIN et al., 2011), etnia (EVERHART et al., 2000), presença de sintomas dispépticos (NARAYANAN; REDDY; MARSICANO, 2018) e gênero masculino (OR: 1,16, IC95% 1.11–1.22) (DE MARTEL; PARSONNET, 2006) parecem estar associados a infecção.

A infecção por *Helicobacter pylori* é uma resposta inflamatória mediada por neutrófilos, linfócitos, células plasmáticas e macrófagos na mucosa gástrica, o que acarreta na degeneração e lesão das células epiteliais (NARAYANAN; REDDY; MARSICANO, 2018). A inflamação do revestimento do estômago (gastrite) geralmente é mais grave no antro, com pouca ou nenhuma inflamação no corpo gástrico (NARAYANAN; REDDY; MARSICANO, 2018). No entanto, em alguns indivíduos essa inflamação pode comprometer o corpo gástrico levando à pangastrite, que por sua vez, poderá evoluir para vários graus de atrofia e redução da produção de ácido clorídrico. Estes eventos são reportados como precursores da úlcera péptica e do câncer gástrico (LADEIRA; SALVADORI; RODRIGUES,

2003). Também foi reportado um sinergismo importante no dano da mucosa gástrica em usuários de AINEs com infecção por *Helicobacter pylori* (HUANG; SRIDHAR; HUNT, 2002).

O tratamento da *Helicobacter pylori* consiste na combinação de antimicrobianos e supressores da secreção ácida (BURKITT et al., 2017). Para o tratamento de primeira linha é recomendada a terapia tripla com claritromicina, amoxicilina e omeprazol e o prescritor deve avaliar se o paciente reside em local de resistência antimicrobiana e questionar a respeito do uso prévio de antimicrobianos (CHEY et al., 2018).

Nos últimos anos tem sido observada uma queda na frequência de úlcera péptica associada à *Helicobacter pylori*, o que pode ser justificado pela melhoria nas condições sociais e sanitárias (MCJUNKIN et al., 2011), assim como os avanços no tratamento e erradicação da infecção (GROENEN et al., 2009).

No entanto, apesar do tratamento ser efetivo, as falhas terapêuticas tem sido frequentes especialmente devido a presença de cepas de *Helicobacter pylori* resistentes aos antimicrobianos (BURKITT et al., 2017). Sob outra perspectiva, a adesão ao tratamento para erradicação da infecção (FISCHBACH; EVANS, 2007) e presença de variantes genéticas no gene *CYP2C19* que é responsável por metabolizar os inibidores da bomba de prótons também são fatores que poderão influenciar diretamente nas falhas terapêuticas (TANG et al., 2013).

2.1.2 Uso de medicamentos e o risco de hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada

Ácido acetilsalicílico (AAS)

Entre os medicamentos antiagregantes, o AAS é um medicamento de fácil acesso e é frequentemente prescrito na prevenção primária e secundária de eventos cardiovasculares e estima-se que aproximadamente 24,8% da população brasileira o utiliza para prevenção primária e 34,3% para prevenção secundária (VIANNA; GONZÁLEZ; MATIJASEVICH, 2012). No entanto, apesar de *guidelines* recomendarem o AAS na prevenção de eventos cardiovasculares, esse uso vem sendo associado ao risco de eventos adversos em tratamentos prolongados (LANAS et al., 2015; SHIOTANI; FUJITA; NISHIO, 2015; WANG, 2019) e o real risco/benefício foi questionado (BERGER et al., 2006).

A avaliação do benefício do uso do AAS na prevenção primária de eventos cardiovasculares tem sido alvo de inúmeros estudos, especialmente em indivíduos com peso superior a 70 quilos, com diagnóstico de diabetes e idosos (BOWMAN et al., 2018; GAZIANO et al., 2018; MCNEIL et al., 2018; ROTHWELL et al., 2018; SMITH; DEMETRIOU; WEBER, 2019).

Uma metanálise que incluiu 117.279 participantes (dez ensaios clínicos) não identificou evidência de benefício do AAS em participantes com peso superior a 70 quilos e reportou que a

efetividade do AAS (doses de 75 – 100 mg) diminui conforme o peso do indivíduo aumenta (ROTHWELL et al., 2018). Considerando os indivíduos com diagnóstico de diabetes e idosos que não possuem doenças cardiovasculares, dois ensaios clínicos não identificaram evidência do benefício do AAS nessas populações e reportaram aumento do risco de sangramentos (BOWMAN et al., 2018; MCNEIL et al., 2018).

O ensaio ASCEND incluiu 15.000 participantes diabéticos e identificou que apesar dos indivíduos tratados com AAS terem uma menor incidência de eventos cardiovasculares graves (RR: 0,88, CI95%: 0,79 – 0,97), foi observado um aumento do risco de sangramentos (RR: 1,29, CI95%: 1,09 – 1,52) (BOWMAN et al., 2018). O ensaio ASPREE incluiu 17.000 idosos (> 70 anos) e também foi observado aumento no risco de sangramento (HR: 1,38, IC95% 1,18 1,62) e ausência de benefício do AAS na prevenção de eventos cardiovasculares (MCNEIL et al., 2018). Um outro ensaio clínico (ARRIVE) avaliou 12.546 participantes com risco moderado de doença cardiovascular (aterosclerose) e também não identificou melhora em nenhum dos desfechos cardiovasculares avaliados (GAZIANO et al., 2018).

Os eventos de sangramento reportados por esses estudos, especialmente risco de HDA, podem ser justificados pelo próprio mecanismo de ação do AAS, o qual irá conferir tanto os seus benefícios quanto os potenciais riscos de segurança (SMITH; DEMETRIOU; WEBER, 2019).

Para o efeito farmacológico antiagregante, o AAS inibe irreversivelmente, por meio de acetilação, a atividade da isoenzima *COX-1*, o que impede a formação de tromboxano A2 durante toda a vida da plaqueta (7 a 10 dias). O tromboxano A2, por sua vez, é um potente vasoconstritor e indutor da ativação e agregação plaquetária e a sua não formação acarretará na redução da agregação, prolongando, assim, o tempo de sangramento e aumentando o risco de sangramento (AWTRY; LOSCALZO, 2000).

Também é essencial considerar que existem uma série de fatores que podem influenciar no risco de HDA durante o uso de AAS, como a idade do paciente, gênero, presença de variantes genéticas que de alguma maneira interfiram na farmacocinética e dinâmica do AAS e hábitos de vida (COLLINS et al., 2009; SHIOTANI; FUJITA; NISHIO, 2015; WHITLOCK et al., 2016). Logo, a decisão de iniciar a terapia antiagregante com o AAS, principalmente em indivíduos sem histórico prévio de doença cardiovascular, deve ser avaliada pelo prescritor de uma maneira individualizada, uma vez que há uma alta variabilidade interindividual (WHITLOCK et al., 2016).

Sob outra perspectiva, também é crescente o número de estudos avaliando o uso de AAS na prevenção do câncer. No entanto, a maior limitação desses estudos está relacionada ao fato da maioria dos dados ser proveniente de estudos que avaliaram a prevenção de doenças cardiovasculares e portanto, não foram delineados com desfecho primário de câncer (SMITH; DEMETRIOU; WEBER, 2019). Essa hipótese somada ao fato do AAS ser um medicamento de fácil acesso, faz com que haja um aumento do uso não racional deste medicamento e consequentemente da incidência de HDA. Ademais, uma revisão sistemática que incluiu 103.787 participantes não identificou redução da

incidência de câncer, nem tampouco a mortalidade geral de câncer com o uso de AAS (CHUBAK et al., 2016).

Anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs)

Usuários de AINEs têm até três vezes mais chances de desenvolver lesões na mucosa gástrica (TSUJIMOTO et al., 2018), úlcera péptica (LANAS; CHAN, 2017) e eventos gastrointestinais graves como úlcera perfurada e HDA (LANAS et al., 2015). E, na população brasileira, foi observado um aumento na prevalência de úlcera péptica associada ao consumo de AINEs quando comparada a prevalência associada à infecção por *Helicobacter pylori* (CARLI et al., 2015).

Assim como o AAS, o mecanismo de ação dos AINEs está diretamente associado ao risco de sangramento. De modo geral, a ação dos AINEs envolve a inibição irreversível da *COX-1* e *COX-2*, isoenzimas envolvidas na biossíntese das prostaglandinas, que por sua vez estão fortemente implicadas na inflamação e em processos fisiológicos da gastroproteção e agregação plaquetária (CRYER; FELDMAN, 1998). É importante recordar que a *COX-1* é constitutiva e possui funções a nível renal, gástrico e plaquetário importantes, enquanto a *COX-2* é induzida e intervém em processos inflamatórios, febris e de dor (LIPPI; DANESE; FAVALORO, 2019).

Alguns AINEs são inibidores não específicos de ambas as enzimas, enquanto os chamados "coxibes" irão inibir especificamente a *COX-2*. É esperado, portanto, um menor risco de sangramento gastrointestinal em usuários de coxibe quando comparado aos usuários de AINEs, uma vez que não há a inibição da *COX-1*. No entanto, mesmo com a seletividade dos coxibe, o risco de complicações gastrointestinais nos usuários ainda é reportado (BINDU; MAZUMDER; BANDYOPADHYAY, 2020).

A nível da mucosa gástrica, os AINEs, assim como o AAS, também diminuem a hidrofobicidade do muco gástrico, fazendo com que o epitélio fique exposto a ação do ácido gástrico e pepsina, levando ao dano da mucosa gástrica (LANAS et al., 2018) e além da seletividade para a *COX-2*, a dose diária e tempo de uso do AINE também poderá influenciar no risco de HDA (CHATTERJEE et al., 2015).

É observado um efeito dose dependente no risco de sangramento gastrointestinal quando se compara usuários de baixas (RR: 2,5, IC95% 2,0 – 3,0) e altas doses de AINEs (RR: 4,5, IC95% 4,0 – 6,1), assim como usuários de AINEs de meia vida curta (RR: 2,4, IC95% 1,9 – 3,1) e longa (RR: 4,5, IC95% 3,3 – 6,2) (GARCÍA RODRÍGUEZ; BARREALES TOLOSA, 2007).

Quando o tempo de uso do AINEs é considerado, um maior risco de sangramento gastrointestinal é observado em períodos de uso inferiores à um mês (OR: 8,00, IC95% 6,37 – 10,06) quando comparado à períodos de até três meses (OR: 3,31, IC95% 2,27 – 4,82) ou superiores à três meses de uso (OR: 1,92, IC95% 1,19 – 3,13) (GABRIEL, 1991). Este achado sugere que há uma relação inversa entre o tempo de uso dos AINEs e a ocorrência de sangramento, o que pode ser

justificado pela possível adaptação da mucosa gástrica como observado em usuários crônicos de AAS (GRAHAM et al., 1988).

O risco de complicações gastrointestinais em usuários de AINEs também aumenta em indivíduos com história prévia de incidentes gastrointestinais (DUBOIS et al., 2004), além de outros fatores como idade superior a 60 anos, uso concomitante de com corticoides e AAS (LANAS et al., 2015).

Outro aspecto importante que também pode influenciar no risco de HDA em usuários de AINEs é a presença de variantes genéticas que configuram um metabolismo lento desses medicamentos (FIGUEIRAS et al., 2016; PILOTTO et al., 2007). Primeiramente, o metabolismo da maioria dos AINEs é realizado pelo sistema de enzimas microsossomais citocromo P450 (*CYP*), sendo a *CYP2C9* a isoenzima mais importante no processo de metabolismo, seguida de *CYP3A4*, *CYP2C19* e *CYP2C8* (WYATT; PETTIT; HARIRFOROOSH, 2012).

Notavelmente, as variantes *CYP2C9**2 e *CYP2C9* *3 podem afetar diretamente a efetividade dos AINEs (WYATT; PETTIT; HARIRFOROOSH, 2012), além de estarem associadas à desfechos negativos de segurança (e.g., HDA) (BLANCO et al., 2008; FIGUEIRAS et al., 2016). A influência dessas variantes no risco de HDA é abordado detalhadamente na próxima seção.

Outros medicamentos

Os anticoagulantes orais e outros antiagregantes plaquetários também têm sido associados ao risco de HDA (LANAS-GIMENO; LANAS, 2017; PANNACH et al., 2017), principalmente em idosos (ABRAHAM et al., 2015) e em indivíduos em uso concomitante dessas classes e AAS e/ou AINEs (ABRAHAM, 2016).

Uma metanálise que incluiu 151.578 participantes identificou que o uso dos anticoagulantes orais de nova geração (e.g., rivaroxaban) foi associado à uma razão de chances de HDA de 1,45 (IC95% 1,07 – 9,07) e esse risco é mais elevado em indivíduos com trombose (OR: 1,59, IC95% 1,03 – 2,44) e síndrome coronariana aguda (OR: 5,21, IC95% 2,58 – 10,53) (HOLSTER et al., 2013).

O uso dos anticoagulantes de nova geração parece possuir maior probabilidade de estar associado ao risco de hemorragia digestiva baixa (LANAS-GIMENO; LANAS, 2017) e o uso de anticoagulantes antagonistas de vitamina K e antiagregantes ao risco de HDA (PANNACH et al., 2017).

Uma explicação para esse dado seria o fato dos anticoagulantes de nova geração serem dependentes da absorção e excreção mediada pela Pgp e, por consequência, estarem em uma maior concentração no intestino, contrastando com a via de absorção e excreção dos antagonistas de vitamina K e antiagregantes (KIRCHHOF et al., 2016). Outro aspecto que poderia explicar esse risco seria a diferença de meia vida entre essas classes farmacológicas, sendo 9 – 17 horas (anticoagulantes de nova

geração) *versus* uma semana (alguns antagonistas de vitamina K e antiagregantes) (PANNACH et al., 2017).

No entanto, em um estudo coorte realizado nos Estados Unidos o risco de HDA foi reportado como similar tanto em usuários dos anticoagulantes de nova geração quanto os de varfarina, um anticoagulante antagonista de vitamina K de estreita faixa terapêutica (ABRAHAM et al., 2015). Nesse contexto, o monitoramento da terapia anticoagulante e antiplaquetária, o emprego de *scores* preditivos de risco de HDA considerando uma avaliação integral do paciente, assim como discussões rotineiras com o cardiologista e educação ao paciente são essenciais (ABRAHAM et al., 2015).

Em relação a outros medicamentos, a influência do uso de antidepressivos e anti-hipertensivos no risco de HDA também tem sido avaliada. No entanto, os dados na literatura são controversos, pois ao passo que alguns estudos identificaram risco de HDA, em outros a associação não foi significativa, tanto em usuários de antidepressivos (CARVAJAL et al., 2011; DE ABAJO et al., 2006) quanto para os de anti-hipertensivos (NAGATA et al., 2015; SUISSA et al., 1998).

Na população do presente estudo foi testada a associação do uso de antidepressivos e de anti-hipertensivos e o risco de HDA e o risco foi identificado em usuários antidepressivos concomitante ao uso de AAS e em usuários de anti-hipertensivos das classes dos bloqueadores dos canais de cálcio e bloqueadores alfa e beta adrenérgicos (dados ainda não publicados).

2.2) Susceptibilidade genética e o risco de hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada

A presença de variantes genéticas pode estar associada ao risco de HDA e estudos têm reportado respostas idiossincráticas ao uso de alguns medicamentos, principalmente AAS na prevenção de doenças cardiovasculares (GROZA et al., 2017; MALLAH et al., 2020; NEGOVAN et al., 2015; WANG, 2019) e AINEs (FIGUEIRAS et al., 2016; PILOTTO et al., 2007).

Adiante são abordados os genes selecionados no presente estudo, assim como as variantes genéticas avaliadas.

Gene *PTGS1*

Prostaglandina-endoperoxídeo sintase 1 (*PTGS1*) é um gene de aproximadamente 22kb, composto por 11 exons codificadores e localizado no cromossomo 9 (localização 9q32-q33.3) (CHANDRASEKHARAN; SIMMONS, 2004), enquanto a prostaglandina-endoperoxídeo sintase 2 (*PTGS2*) é um gene localizado no cromossomo 1. Estes genes são responsáveis pela codificação das ciclooxigenases 1 e 2, respectivamente, também designadas como isoenzimas *COX-1* e *COX-2*.

A *COX-1* e *COX-2* possuem um peso molecular de 71kDa e são estruturalmente semelhantes, compartilhando cerca de 63% da sequência de aminoácidos, assim como regiões funcionais (SIMMONS; BOTTING; HLA, 2004).

Essas isoenzimas estão envolvidas em diversos processos fisiológicos e patológicos na agregação plaquetária e trato gastrointestinal (BRZOZOWSKI et al., 2005; PALMA-BARQUEROS et al., 2020). A *COX-1* é considerada uma enzima constitutiva expressa na maioria dos tecidos, principalmente no endotélio, plaquetas e monócitos (AGÚNDEZ et al., 2015) e desempenha um papel importante na biologia plaquetária e hemostasia (PALMA-BARQUEROS et al., 2020), enquanto a *COX-2* é uma enzima induzida e pró-inflamatória cuja superexpressão está associada ao risco de câncer (VOGEL et al., 2014).

A *COX-1* media a conversão do ácido araquidônico livre em prostanóides (tromboxano A₂, prostaglandina e prostaciclina) que são cruciais em processos fisiológicos como agregação plaquetária, citoproteção gástrica, função renal e reatividade vascular (VANE; BAKHLE; BOTTING, 1998). Ressalta-se que o tromboxano A₂ é um agonista da agregação plaquetária e que a prostaglandina está envolvida na manutenção da integridade gástrica (e.g., produção de muco produtor e redução da produção de ácido clorídrico) e do fluxo sanguíneo (BRZOZOWSKI et al., 2005).

A relevância clínica da *COX-1* e *COX-2* está associada principalmente ao uso de medicamentos inibidores dessas enzimas e as reações adversas a medicamento associadas (AGÚNDEZ et al., 2015). A maioria das reações adversas a medicamento observadas durante o uso dos inibidores da *COX* está relacionada com reações a nível gastrointestinal devido a inibição da *COX-1* (RAO; KNAUS, 2008) e apesar do constante desenvolvimento de medicamentos que são inibidores específicos da *COX-2*, o uso de inibidores não específicos é frequente.

Dentre os fatores capazes de modificar a atividade da *COX-1*, destacam-se as variações genéticas que podem modificar a expressão basal, a estrutura, função ou ainda levar a indução dessa enzima (AGÚNDEZ et al., 2015). Nesse contexto, têm sido descritas variantes genéticas que induzem alterações em sítios de transcrição do gene *PTGS1*.

A presença de variantes genéticas no gene *PTGS1* tem sido comum em diferentes populações. No entanto, a presença dessas variantes é de duas a três vezes mais frequente na população europeia e americana miscigenada, respectivamente, quando comparada à população asiática. Ademais, a frequência dessas variantes na população de origem africana é cerca de dez vezes maior do que a identificada na população asiática (AGÚNDEZ et al., 2015).

Em 2003 foram identificados pelo menos vinte polimorfismos de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphism*) no gene *PTGS1* (HALUSHKA; WALKER; HALUSHKA, 2003). Dois deles, que se encontram em desequilíbrio de ligação completo em indivíduos saudáveis dos Estados Unidos (rs10306114 e rs3842787), parecem aumentar a sensibilidade ao AAS, uma vez que essas variantes dão lugar a uma *COX-1* com menor capacidade de síntese de prostaglandina (HALUSHKA; WALKER; HALUSHKA, 2003).

As variantes rs10306114 e rs1330344 têm sido relacionados com resistência à terapia antiplaquetária (LI et al., 2013; ULEHLOVA et al., 2014) e a rs5788 a diminuição da agregação plaquetária (MAREE et al., 2005). A variabilidade na inibição da COX também é uma explicação plausível para a ocorrência de reações adversas a medicamento (DOÑA et al., 2011; TORRES et al., 2014).

Gene NOS3

O óxido nítrico (NO) media inúmeros processos fisiológicos no trato gastrointestinal, incluindo manutenção do tônus muscular e da integridade e modulação do fluxo sanguíneo da mucosa gástrica (LANAS, 2008), além de estimular a secreção de muco e inibir a aderência do leucócito e plaquetas às paredes do endotélio na microcirculação gastrointestinal (PIQUE; WHITTLE; ESPLUGUES, 1989). O NO também tem potencial de inibição da agregação plaquetária ao ponto de desagregar plaquetas previamente agregadas (RADOMSKI; PALMER; MONCADA, 1987), logo, a inibição de sua síntese pode levar ao aumento da agregação. Portanto, no trato digestivo o NO atua na homeostase do trato gastrointestinal e no reparo de possíveis danos; e quando essa homeostase é interrompida, podem ocorrer condições patológicas (LANAS, 2008).

O NO é sintetizado a partir da conversão da L-arginina em L-citrulina e NO (VANHOUTTE et al., 2017), conversão a qual é catalisada por meio de uma das três isoformas da oxido nítrico sintase (NOS). A nível gastrointestinal há duas isoformas constitutivas expressas no endotélio vascular e no sistema nervoso entérico do trato gastrointestinal, sendo a NOS endotelial (*eNOS*) e a neuronal (*nNOS*). Há também a isoforma induzida da NOS (*iNOS*) que é expressa em macrófagos e neutrófilos e possui um potente sinal indutor (CHO, 2001).

Sabe-se também que as prostaglandinas derivadas tanto do NO quanto da COX compartilham similaridade em várias funções no trato gastrointestinal, pois mediam mecanismos de defesa da mucosa gástrica em um nível de cooperação e a supressão de uma delas pode levar a uma elevação compensatória da outra (WALLACE; MILLER, 2000).

Observou-se que a concentração de NO plasmático está associada a variações no gene NOS3. Foi descrita uma repetição em série de número variável caracterizada por 27 pares de base no íntron 4 da isoforma *eNOS*, também conhecida como 4b/4a VNTR, tendo como alelos mais comuns aqueles com cinco (variante 4b) ou quatro cópias (variante 4a) do fragmento de 27 pares de base (COOKE; DOSHI; BINKLEY, 2007). Essa VNTR regula o gene em um nível pós-transcricional por meio da formação de um pequeno RNA de interferência (sirRNA) (ZHANG et al., 2008).

Quantidades maiores de sirRNA foram encontradas em células endoteliais com a variante 4b resultando em uma menor quantidade de RNA mensageiro da NOS3 quando comparado com as células com a variante 4a (ZHANG et al., 2008), o que pode ser justificado pelo fato do sirRNA inibir a expressão gênica (ZHANG et al., 2005).

O número dessas repetições está associado à alterações superiores à 25% na concentração basal de NO (WANG et al., 1997) e as implicações clínicas têm sido amplamente estudadas, especialmente no risco de doenças cardiovasculares (OLIVEIRA-PAULA; LACCHINI; TANUS-SANTOS, 2016).

Foram identificados apenas dois estudos que avaliaram a repetição em tandem de número variável no íntron 4 da eNOS e o risco de HDA, sendo ambos caso-controle e conduzidos na população espanhola. Serrano *et al.* (2002) incluíram 188 pacientes com diagnóstico de úlcera péptica (subgrupo de 86 pacientes com HDA) e 120 controles, restringindo a inclusão apenas para participantes caucasianos (SERRANO et al., 2002); enquanto que Piazuello *et al.* (2008) incluíram 88 pacientes diagnosticados com HDA e 108 controles hospitalares e 158 doadores de sangue, incluindo apenas usuários de AAS (PIAZUELO et al., 2008). Em ambos os estudos os carreadores do alelo “a”, considerado raro, foi associado à uma redução do risco de HDA.

Além da repetição em série de número variável 4b/4a no íntron 4 da eNOS, também foram descritas duas variantes funcionais que também podem influenciar na atividade da NOS3 e consequentemente na concentração de NO e agregação plaquetária: rs1799983 e rs2070744 (OLIVEIRA-PAULA; LACCHINI; TANUS-SANTOS, 2016).

A variante rs1799983 está localizado no éxon 7 e se caracteriza pela mudança de uma guanina para timina na posição -894, resultando na substituição de uma glutamina por aspartato na posição -298 (MARSDEN et al., 1993). Essa variante, também conhecida como Glu298Asp, está envolvida na regulação da atividade do gene NOS3.

A presença do alelo aspartato resulta em uma redução da ligação da NOS3 à caveolina-1, o que levará a redução da disponibilidade de NOS3 na fração caveolar nas células endoteliais. Tendo uma quantidade reduzida de NOS3 disponível para ativação mediada pelo complexo cálcio-calmodulina, por meio da dissociação da ligação da NOS3 e caveolina-1, haverá uma menor atividade da NOS3 e consequentemente menor produção de NO (JOSHI et al., 2007).

A variante rs2070744 está localizado em uma região promotora e é caracterizado pela substituição de uma timina por citosina na posição -786, o que pode afetar a NOS3 em um nível transcricional. A proteína de replicação A1 (RPA1), que atua como um repressor gênico, passará a se ligar com uma maior afinidade nessa região devido a presença da citosina, o que irá resultar em uma redução da atividade transcricional da NOS3 (NAKAYAMA et al., 1999; WANG; DUDLEY; WANG, 2002) e, consequentemente, em uma menor expressão do gene (MIYAMOTO, 2000). Nesse contexto, foi observada uma menor biodisponibilidade de NO em indivíduos carreadores do alelo variante C (presença de citosina) quando comparado ao alelo T (presença de timina) (NAGASSAKI et al., 2006).

É de nosso conhecimento apenas um estudo que avaliou o rs1799983 no escopo da HDA secundária à doença péptica complicada (FORGERINI et al., 2021a). Trata-se de um estudo caso-controle espanhol no qual foi identificado risco de HDA em usuários de AAS na presença dos genótipos heterozigoto e homozigoto (GT + TT) (OR: 7.690, CI: 2.4 – 23.7) (MALLAH et al., 2020). A análise do polimorfismo rs2070744 proposta no presente estudo é, portanto, uma análise inédita.

Gene *CYP2C9*

O citocromo P450 (*CYP*) compreende um grupo de hemoproteínas responsáveis pelo metabolismo de fase I de substratos endógenos e exógenos (RENDIC; CARLO, 1997). A *CYP* tem sido alvo de inúmeros estudos farmacogenéticos pois é responsável pelo metabolismo de cerca de 60% dos medicamentos (ZHOU et al., 2008) e a presença de variantes genéticas está associada à alterações clinicamente relevantes na depuração, resposta terapêutica ou idiossincrática de medicamentos (HIROTA; EGUCHI; IEIRI, 2013).

A subfamília *CYP2C*, em especial a isoenzima *CYP2C9* localizada no cromossomo 10 (q24.2) é responsável pelo metabolismo oxidativo de uma gama de medicamentos, incluindo aqueles com estreita faixa terapêutica, como varfarina (RETTIE et al., 1992) e fenitoína (BAJPAI et al., 1996), além de outros medicamentos amplamente prescritos como losartana, fluoxetina, tamoxifeno e pelo menos 16 AINEs (e.g., diclofenaco, ibuprofeno e meloxicam) (HIROTA; EGUCHI; IEIRI, 2013; RENDIC, 2002).

Em 2002 foram identificados 42 alelos da *CYP2C9*, sendo que o alelo *1 é considerado o selvagem e, dentre os alelos, os mais estudados são os *2 e *3, os quais configuram seis genótipos: *1/*1 (selvagem), *1/*2, *1/*3, *2/*2, *3/*3 e *2/*3 (LEE; GOLDSTEIN; PIEPER, 2002).

O alelo variante *CYP2C9**2, também conhecido como Arg¹⁴⁴Cis, é localizado no éxon 3, e se dá por meio da substituição de uma citosina por timina na posição -430, o que irá acarretar na codificação de uma substituição de arginina por cisteína na posição -144. Já o alelo variante *CYP2C9**3, também conhecido como Ile³⁵⁹Leu, é localizado no éxon 7 e ocorre por meio da transversão de uma adenina por citosina na posição -1075, o que irá acarretar na codificação de uma leucina no resíduo do aminoácido -359 (BHASKER et al., 1997). Tem sido reportada uma redução de 20 – 30% da atividade enzimática na presença da variante *CYP2C9**2 e uma redução de até 70% na presença da variante *CYP2C9**3 (ZHOU et al., 2008).

Scott *et al.* (2007) propuseram a determinação do fenótipo considerando os metabolizadores como extensivos ou normais (*extensive metabolizers - EM*), intermediários (*intermediate metabolizers - IM*) e lentos (*poor metabolizers - PM*) como descrito no quadro 3 (SCOTT et al., 2007).

Quadro 3. Determinação do fenótipo do gene *CYP2C9* considerando a combinação de alelos e o fenótipo predito.

Fenótipo predito	Combinação de alelos	Combinação de alelos
Metabolizador extensivo (<i>EM</i>)	EM + EM	*1/*1
Metabolizador intermediário (<i>IM</i>)	EM + IM	*1/*2, *1/*3
Metabolizador lento (<i>PM</i>)	IM + IM	*2/*2, *3/*3, *2/*3

EM: *Extensive metabolizers* (metabolizadores extensivos ou normais); IM: *Intermediate metabolizers* (metabolizadores intermediários); PM: *Poor metabolizers* (metabolizadores lentos).

Fonte: Adaptação de (SCOTT et al., 2007).

O primeiro estudo a avaliar os genótipos e fenótipos do *CYP2C9* na população brasileira foi conduzido por Viana-Jorge *et al.* (2004), no qual foi realizada a genotipagem de 331 participantes saudáveis (VIANNA-JORGE et al., 2004). As frequências identificadas dos alelos *CYP2C9*1*, *CYP2C9*2* e *CYP2C9*3* foram de 84,9%, 8,6% e 6,5%, respectivamente. Ademais, os participantes foram estratificados por meio da auto percepção de cor em branco, preto e pardo e foi observado uma frequência dos genótipos **1/*2* e **1/*3* três vezes menor em participantes pretos quando comparado aos brancos.

Um segundo estudo, conduzido pelo mesmo grupo de pesquisa, realizou a genotipagem de 390 participantes em uso de anticoagulantes orais e foi observada uma frequência de 11,8% e 5,4% para *CYP2C9*2* e *CYP2C9*3* (PERINI et al., 2008). Foi observado que participantes brancos necessitavam de uma dose de varfarina menor em comparação aos pretos, o que pode ser justificado pela maior frequência dos alelos de metabolização lenta nos participantes brancos.

Nestes dois estudos foram observadas diferenças nas frequências alélicas a depender da cor do participante, o que pode ser justificado pela alta miscigenação da população brasileira (SUAREZ-KURTZ et al., 2012) e a ancestralidade que irá influenciar diretamente na frequência das variantes genéticas (RAMOS et al., 2014; RODRIGUES-SOARES et al., 2018).

Em outro estudo brasileiro, as frequências alélicas do *CYP2C9*2* (9,1%) e *CYP2C9*3* (4,3%) em usuários de varfarina foram semelhantes às identificadas por Viana-Jorge *et al.* (VIANNA-JORGE et al., 2004), e a presença dos alelos **2* e **3* também foi associada à necessidade de uma dose reduzida de varfarina (ALMEIDA et al., 2014).

No escopo da HDA, o gene *CYP2C9* é o mais avaliado e foram identificados seis estudos (sete publicações) na literatura que avaliaram os alelos *CYP2C9*2* e *CYP2C9*3* (FORGERINI et al., 2021a). Esses estudos foram conduzidos na Espanha (n = 02), Itália (n = 01), Reino Unido (n = 01), China (n = 01) e Turquia (n = 01) e foi identificado risco de HDA em usuários de AINEs e carreadores do alelo *CYP2C9*2* (BLANCO et al., 2008; FIGUEIRAS et al., 2016; MARTÍNEZ et al., 2004; PILOTTO et al., 2007) e *CYP2C9*3* (FIGUEIRAS et al., 2016). De fato, foi reportado que usuários de AINEs e carreadores dos alelos **2* e **3* possuem um maior risco de desenvolverem sangramentos gastrointestinais e outros eventos adversos a medicamento a nível gastrointestinal (MACÍAS et al., 2020).

Apesar do estudo de Ucar *et al.* ter reportado risco de HDA em usuários de varfarina em carreadores dos alelos *CYP2C9*2* e *CYP2C9*3*, os dados estatísticos não foram reportados (UCAR et al., 2013). Em relação aos aspectos metodológicos, também vale ressaltar que não está claro o processo

de recrutamento dos participantes, a identificação e ajuste de variáveis de confusão, assim como a mensuração do uso de varfarina nesse estudo.

Portanto, não é de nosso conhecimento nenhum estudo que avaliou o risco de HDA associado a presença das variantes do gene *CYP2C9* na população brasileira.

Gene *VKORC1*

O *VKORC1* é o principal gene envolvido na farmacodinâmica da varfarina, por ser o alvo molecular de inibição durante a terapia anticoagulante. Este gene codifica a subunidade-1 do complexo epóxido-redutase da vitamina K, um cofator essencial para a γ -carboxilação de proteínas dependentes de vitamina K, incluindo os fatores de coagulação II, VII, IX e X (FLOCKHART et al., 2008).

Primeiramente ocorre a conversão da vitamina K-epóxido-redutase, formada durante a carboxilação de várias proteínas, em vitamina K-quinona. Essa conversão irá permitir que o ciclo da vitamina K funcione cataliticamente na geração de resíduos γ -glutamil carboxilase (OMIM 137167), que por sua vez, serão responsáveis pela modificação pós-tradução de resíduos de glutamyl em proteínas, incluindo a formação de fatores de coagulação (FLOCKHART et al., 2008).

Considerando que os anticoagulantes exercem um efeito antagonista sobre o gene *VKORC1* por meio do antagonismo à vitamina K e pela inibição da formação das redutases, especialmente vitamina K-epóxido (OLDENBURG et al., 2007). Logo, se há uma inibição da K-epóxido, haverá uma menor γ -carboxilação de proteínas e consequentemente uma redução da produção de fatores de coagulação dependentes de vitamina K, resultando no aumento do tempo de sangramento e em um INR mais elevado (*international normalized ratio*) (FLOCKHART et al., 2008).

Os fatores pró-coagulantes afetados pela inibição da γ -carboxilação pela varfarina são os fatores II, VII, IX e X e os fatores coagulantes afetados são as proteínas S e C (FLOCKHART et al., 2008).

Nesse contexto, a presença de variantes genéticas localizadas no *VKORC1* irá afetar diretamente na farmacodinâmica da varfarina e de outros anticoagulantes, podendo resultar tanto na resistência quanto na sensibilidade a esses medicamentos (WADELIUS et al., 2005). Na chamada sensibilidade à varfarina, a dose requerida deste medicamento tende a ser menor e o risco de anticoagulação excessiva tende a ser maior.

Uma das variantes mais estudadas no gene *VKORC1* ocorre em uma região promotora na posição -1639 (rs9923231, G > A). Os indivíduos carreadores do genótipo GG (selvagem) possuem baixa sensibilidade à varfarina requerendo uma dose aumentada em até 35%; enquanto indivíduos carreadores do genótipo AA (homozigoto) possuem alta sensibilidade à varfarina e requerem uma dose até 32% menor de varfarina (FLOCKHART et al., 2008).

Suarez-Kurtz *et al.* (2010) realizaram a genotipagem desse polimorfismo em 1037 brasileiros saudáveis de quatro regiões geográficas diferentes, estratificados em branco, pardo e preto, de acordo com o auto relato do participante e considerando os marcadores de ancestralidade, e foi observada alta

variabilidade interindividual devido a heterogeneidade da população brasileira. A frequência do genótipo AA (homozigoto), alelo que confere sensibilidade à varfarina, variou continuamente conforme aumentou a ancestralidade europeia dos participantes, independentemente da cor auto relatada ou da região geográfica. Logo, foi identificado que participantes de ancestralidade europeia apresentaram uma frequência maior do alelo variante (SUAREZ-KURTZ et al., 2010).

Essa variante, em conjunto com outras variantes localizadas no *VKORC1* e de metabolização lenta localizadas no *CYP2C9* (alelos *2 e *3) tem sido amplamente estudadas na variabilidade da dose de manutenção da varfarina (RODRIGUES-SOARES; SUAREZ-KURTZ, 2019; SCOTT et al., 2010), especialmente para a redução de sangramentos graves e para proporcionar uma qualidade de vida melhor ao paciente (PANCHENKO et al., 2020). Essas variantes parecem atuar de maneira independente e aditiva, e a presença de variantes em ambos os genes tem um impacto maior na dose de varfarina, mas não há uma relação sinérgica (MONTES et al., 2008).

Praxedes *et al.* (2020) validaram um algoritmo na população brasileira para prever o tempo de intervalo terapêutico da varfarina considerando a influência das variantes *CYP2C9**2 e *CYP2C9**3 e *VKORC1*, além de outros fatores não genéticos (e.g., gênero, assistência para administração da varfarina e número de medicamentos crônicos em uso), o que permite estratificar os pacientes com risco elevado de sangramento e a qualidade do controle da terapia anticoagulante (PRAXEDES et al., 2020).

Portanto, variantes localizadas no *VKORC1* têm sido avaliadas no escopo da terapia anticoagulante (AL-MAHAYRI et al., 2019; SOLTANI BANAVANDI; SATARZADEH, 2020) e no contexto da HDA, é de nosso conhecimento apenas dois estudos que avaliaram a influência da variante rs9923231 no risco de hemorragia digestiva (GROZA et al., 2017; MONTES et al., 2008).

Montes *et al.* (2008) avaliaram o risco de hemorragia digestiva em 267 participantes em uso de acenocumarol (89 casos e 178 controles). O risco de hemorragia digestiva só foi identificado nos participantes carreadores do alelo variante da rs9923231 e em uso concomitante com AAS (OR: 8,97; IC: 1,66 – 48,34). No entanto, vale ressaltar o baixo número amostral do grupo de usuários de acenocumarol + AAS (seis casos e dois controles), além dos critérios de inclusão e exclusão não serem claros e a hemorragia digestiva de etiologia baixa ter sido incluída (MONTES et al., 2008).

Groza *et al.* (2017) avaliaram 341 participantes romenos (163 casos e 178 controles), sendo que os pacientes em terapia com antagonistas da vitamina K foram excluídos. Este foi o primeiro estudo a avaliar a influência do polimorfismo rs9923231 no risco HDA secundária a doença péptica complicada; e o risco foi identificado em carreadores do genótipo AA (OR: 1,36, IC: 0,99 – 1,86) e em usuários de AAS e AINEs carreadores do genótipo AA (OR: 7,64; IC: 3,12 – 18,74), sendo “A” o alelo variante. No entanto, não está claro como os autores definiram e mensuraram o uso de AAS e AINEs entre os participantes (GROZA et al., 2017).

Portanto, considerando o possível risco de HDA identificado por Groza *et al.* (2017), principalmente em usuários de AAS e AINEs, o presente estudo pretendeu testar a hipótese de que a

presença da variante rs9923231 está associada a ocorrência de HDA, independente da terapia anticoagulante.

Gene *ABCB1*

O gene *ABCB1*, também conhecido como MDR1 (gene humano de resistência a múltiplas drogas), se localiza no cromossomo 7 (q21.1) (CALLEN et al., 1987) e é constituído por uma região promotora e 29 éxons (CHEN et al., 1990). Em 2010, foram reportadas cerca de 50 variantes localizadas neste gene, sendo este, considerado altamente polimórfico (SCHEINER; DAMASCENO; MAIA, 2010).

A glicoproteína P (Pgp), uma proteína de membrana integral de 170 k-Da que pertence a superfamília de transportadores (*ABCB1 – ATP binding cassette*) que atua como uma barreira de proteção e bomba de efluxo para uma grande variabilidade de compostos naturais e xenobióticos lipofílicos (WOODAHL; HO, 2004), e é expressa no gene *ABCB1*.

A Pgp é codificada nas células epiteliais intestinais e é responsável pelo efluxo de vários medicamentos para o intestino e desempenha um papel crítico nos processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção de medicamentos (MEGA et al., 2010). Logo, a presença de variantes localizadas no *ABCB1* pode afetar diretamente a farmacocinética e farmacodinâmica de inúmeros substratos da Pgp e, conseqüentemente, a biodisponibilidade desses substratos (SCHEINER; DAMASCENO; MAIA, 2010).

A variante rs1045642, também conhecida como C3435T, é uma das mais frequentemente reportados na literatura. Apesar de ser uma variante considerada “silenciosa”, tem sido associada a alterações no efluxo de medicamentos assim como a baixa expressão da Pgp. Essa variante foi associada à alterações na eficácia e segurança das estatinas (GUAN et al., 2019) e a necessidade de ajustes de doses em tratamento com antidepressivos e antipsicóticos (SAIZ-RODRÍGUEZ et al., 2018), antivirais (COELHO et al., 2013), quimioterápicos (LEPPER et al., 2005) e clopidogrel (MEGA et al., 2010).

Mega et al. (2010) identificaram um aumento no efluxo de clopidogrel para o intestino em carreadores da variante rs1045642, o que desencadeou à uma alta reatividade plaquetária e não resposta ao tratamento (MEGA et al., 2010).

Também foi observada a necessidade de ajustes para doses menores de varfarina em brasileiros carreadores do alelo variante “T” possivelmente devido a uma alteração da conformação da Pgp, afetando o local de reconhecimento da varfarina e, portanto, levando à diminuição do efluxo desse anticoagulante (TAVARES et al., 2018). Rozhkov, Sychev & Kazakov (2015) apesar de não terem identificado necessidade de alterações nos regimes de dose do acenocumarol, também reportaram risco de sangramento associado a presença do alelo variante “T” (ROZHKOV; SYCHEV; KAZAKOV, 2015).

Apesar de não ter sido identificado nenhum estudo que avaliou a influência das variantes no gene *ABCB1* no risco de HDA (FORGERINI et al., 2021a), *Kugai et al* (2013) reportaram que o efluxo do AAS ocorre por meio da Pgp e que a presença de variantes impactará diretamente na permeabilidade desse medicamento nas células epiteliais intestinais, podendo estar relacionado a um alto risco de lesão intestinal induzida (KUGAI et al., 2013). Essa alteração de efluxo está associada ao aumento da biodisponibilidade do AAS e, conseqüentemente, no aumento da sua absorção (LI et al., 2017).

Portanto, não há demonstrações que os alelos no gene *ABCB1* estão correlacionados com o risco de HDA, e nesse contexto, foi testada a hipótese de que se a possível alteração da biodisponibilidade do AAS na presença da variante rs1045642 está associada a esse risco.

3) OBJETIVOS

Objetivo principal

Investigar a influência de variantes genéticas localizados nos genes *PTGS1* (rs1330344, rs10306114, rs3842787, rs5788), *NOS3* (rs2070744, rs1799983, VNTR íntron 4), *CYP2C9* (rs1057910 e rs1799853), *VKORC1* (rs9923231) e *ABCB1* (rs1045642) com o diagnóstico de HDA secundária à doença péptica complicada.

Objetivos específicos

- Conduzir uma revisão sistemática a fim de identificar as variantes genéticas envolvidas no risco de HDA de etiologia não varicosa;
- Estimar a incidência de admissões hospitalares em decorrência de HDA secundária à doença péptica complicada e o perfil epidemiológico desses pacientes;
- Avaliar o risco de HDA secundária à doença péptica complicada em usuários de AAS e usuários de AINEs.

Hipóteses do estudo

H0. A presença das variantes genéticas nos genes *PTGS1*, *NOS3*, *CYP2C9*, *ABCB1* e *VKORC1* não está associada ao diagnóstico de HDA secundária à doença péptica complicada independente do uso de medicamentos e em subgrupos de participantes em uso de AAS e AINEs.

H1. A presença das variantes genéticas nos genes *PTGS1*, *NOS3*, *CYP2C9*, *ABCB1* e *VKORC1* está associada ao diagnóstico de HDA secundária à doença péptica complicada independente do uso de medicamentos e em subgrupos de participantes em uso de AAS e AINEs.

4) METODOLOGIA E CASUÍSTICA

4.1) Estudo 1. Revisão sistemática

Foi conduzida uma revisão sistemática a fim de identificar as variantes genéticas envolvidas no risco de HDA de etiologia não varicosa por meio de duas questões norteadoras:

"Quais são as variantes genéticas associadas ao diagnóstico de HDA de etiologia não varicosa?" e "Quais são as variantes genéticas e farmacoterapia associada ao diagnóstico de HDA de etiologia não varicosa como uma possível reação adversa a medicamento?"

O protocolo metodológico foi delineado e publicado na *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences* (Qualis B2) (FORGERINI; LUCCHETTA; MASTROIANNI, 2019) (<https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/626>) e a revisão foi registrada no *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO) (CRD42020167658) (ANEXO 1).

As buscas foram conduzidas por meio de estratégia pré-definida nas bases de dados PubMed, Scopus e Cochrane Central, considerando o seguinte acrônimo PECOS:

Participants: estudos que incluíram participantes com HDA, independentemente dos critérios diagnósticos, gênero, idade ou etnia. Estudos que incluíram explicitamente participantes com HDA de etiologia varicosa serão excluídos;

Exposure: estudos que avaliaram variantes genéticas associadas ao diagnóstico de HDA;

Comparator: sem restrições;

Outcome: HDA de etiologia não varicosa;

Study design: estudos observacionais do tipo caso-caso, caso-controle e coorte.

A análise de qualidade metodológica dos estudos foi conduzida utilizando o instrumento padronizado *Joanna Briggs Institute for case-control studies*.

A elegibilidade (etapas de triagem e leitura na íntegra) e extração de dados foram conduzidas de maneira independente por dois pesquisadores, assim como a análise de qualidade dos estudos incluídos.

4.2) Estudo 2. Estudo observacional do tipo caso-controle

4.2.1. Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (CAAE

53753115.4.0000.5440; protocolo nº 1.536.886) – ANEXO 2 – e da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (CAAE 53753115.4.3001.5426; protocolo nº 1.657.615) – ANEXO 3.

O estudo também foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (REBEC – número de registro: RBR-3hstqm; <https://ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-3hstqm>).

4.2.2. Desenho

Foi conduzido um estudo do tipo caso-controle, pareado por gênero, idade (± 5 anos) e data de recrutamento (3 meses), tendo como desfecho de interesse a HDA secundária à doença péptica complicada. Considerando a HDA como uma possível reação adversa a medicamento é um evento de baixa incidência e que se objetivou conhecer os fatores de risco associados, esse é o desenho de estudo mais adequado (YANG et al., 2010). O reporte deste estudo é baseado no *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology* (STROBE) (VON ELM et al., 2008).

Partindo dos princípios básicos de um estudo caso-controle, os casos e controles foram selecionados de uma mesma população, sendo os casos aqueles participantes com o desfecho (HDA secundária à doença péptica complicada) e os controles aqueles participantes sem o desfecho.

A seleção dos participantes foi realizada independente de outras possíveis variáveis de confusão (e.g., uso de medicamentos, infecção por *Helicobacter pylori*, hábitos de vida) (SETIA, 2016). É relevante comentar que a seleção dos participantes independente do uso de medicamentos permite avaliar diretamente a influência das variantes genéticas no risco de HDA (ESTANY-GESTAL et al., 2011) e quando o recrutamento é limitado apenas para indivíduos em uso de medicamentos, a seleção dos participantes do grupo controle é ainda mais complexa, pois os participantes de ambos os grupos devem compartilhar o mesmo uso (ESTANY-GESTAL et al., 2011).

Etapas do estudo caso-controle

O estudo foi conduzido em quatro etapas: clínica, análises genéticas e laboratorial e epidemiológica.

Na etapa clínica foram identificados os pacientes com diagnóstico de HDA secundária de doença péptica complicada e recrutados os participantes para os grupos caso e controle por meio de entrevistas e coleta de sangue total. Na etapa de análise genética o DNA genômico foi obtido por meio do sangue total coletado dos participantes para posterior análise das variantes genéticas propostas, e na laboratorial o plasma dos participantes foi utilizado para análise de anticorpos IgG para infecção por *Helicobacter pylori*.

Na etapa epidemiológica, todos os dados obtidos por meio das entrevistas com os participantes caso e controle, assim como os resultados das análises genéticas e laboratorial, foram digitados e conferidos na base de dados *Research Electronic Data Capture* (RedCap). Posteriormente, os dados

foram extraídos e tabulados para as análises estatísticas a fim de avaliar quais eram as variáveis envolvidas no risco do diagnóstico de HDA, considerando, portanto, as variáveis clínicas, genéticas, laboratorial e epidemiológica (Figura 1).

Todas as quatro etapas são descritas detalhadamente adiante.

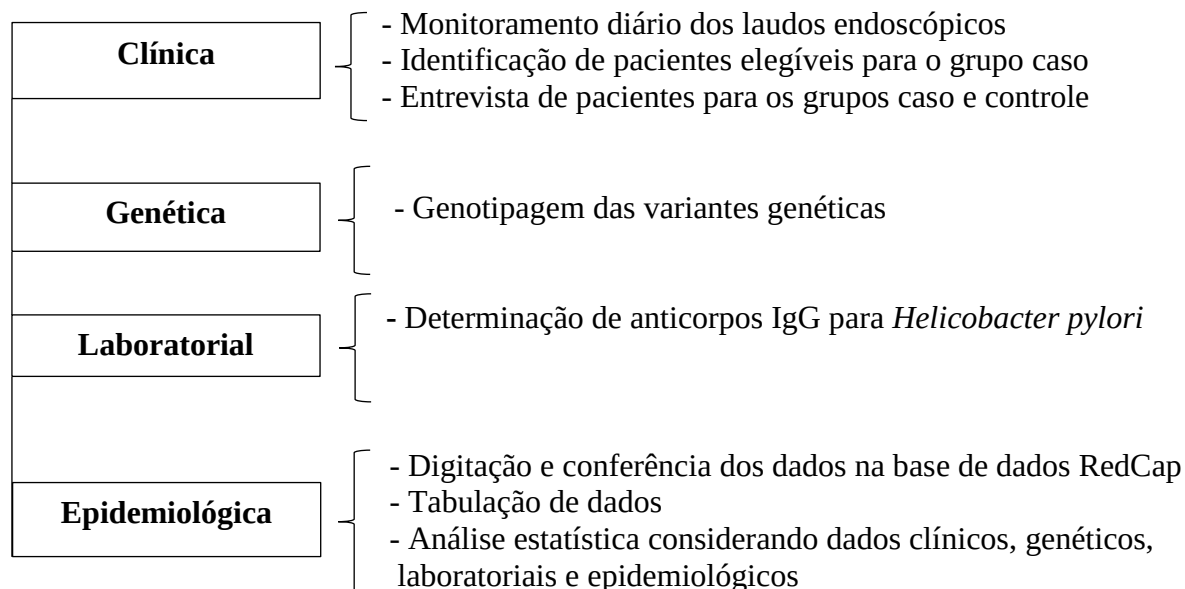


Figura 1. Descrição das atividades conduzidas nas quatro etapas do estudo (clínica, genética, laboratorial e epidemiológica).

4.2.3. Local

O estudo foi conduzido no complexo hospitalar Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HC-RP) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo que compreende quatro hospitais: o Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, hospital de nível terciário com mais de 700 leitos; a Unidade de Emergência de Ribeirão Preto, hospital de urgência com 300 leitos; o Hospital Estadual de Ribeirão Preto, hospital de nível secundário com 60 leitos; e Hospital Estadual de Américo Brasiliense (Heab), hospital de 110 leitos de nível secundário. Esse conjunto hospitalar atende a população da região sanitária do noroeste paulista (Departamentos Regionais de Saúde - DRS-III e DRS-XIII), abrangendo 49 municípios e cerca de 2.461.143 habitantes – DRS-III: 24 municípios e 989.971 habitantes e DRS-XIII: 25 municípios e 1.471.172 habitantes.

4.2.4. Participantes

Critérios de elegibilidade

Todos os participantes dos grupos caso e controle foram recrutados no complexo hospitalar HC-RP, considerando o importante princípio de um estudo caso-controle de que todos participantes do

grupo controle devem ser comparáveis e devem ser recrutados de uma mesma “base de estudo” que os participantes caso (SETIA, 2016; WACHOLDER et al., 1992).

Grupo caso

Para a identificação dos pacientes com o desfecho de interesse (HDA secundária a doença péptica complicada), foi realizado o rastreio e monitoramento diário dos laudos das endoscopias digestivas altas (EDA) realizadas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HC-FMRP-USP).

O rastreio foi conduzido por meio da avaliação dos laudos das EDA e em duplicata com o médico Gustavo Urbano (G.U), membro do corpo clínico do HC-RP e da equipe do projeto. Definiu-se que como achados endoscópicos de interesse úlcera gástrica ou duodenal; erosões, lesões agudas da mucosa gástrica ou duodenal; e gastrite ou duodenite erosiva (com ou sem sangramento ativo ou recente) e durante o processo de rastreio, as histórias clínicas de potenciais casos foram discutidas para avaliar se o paciente se enquadrava nos critérios de inclusão.

Todas as EDA rastreadas foram tabuladas com os dados de registro hospitalar do paciente, nome, idade, achados endoscópicos e quando aplicável as justificativas de exclusões primárias, secundárias ou perdas.

Após identificar um paciente que atendesse aos critérios do grupo caso, o paciente foi convidado para participar da entrevista e a partir do aceite, para cada caso coletado foram coletados participantes controle, pareados por gênero, idade (± 5 anos) e tempo de admissão hospitalar (período máximo de até três meses posteriores a data da EDA do participante caso).

Foram considerados casos todos os pacientes maiores de 18 anos que apresentaram doença péptica complicada, caracterizada por hemorragia digestiva alta (HDA) ou úlceras perfuradas, e que atendam aos seguintes critérios: (i) admissão nos hospitais de estudo com queixa de HDA, caracterizada pela presença de hematêmese, vômitos escuros ou em borra de café, melena e/ou hematoquezia e tenham sido submetidos a endoscopia digestiva alta (EDA); (ii) pacientes que não apresentavam sintomas de HDA, mas que tenham sido submetidos à EDA por motivos diversos e durante a mesma observam-se sinais de sangramento recente (sangramento ativo, coágulo aderido, vaso visível); (iii) pacientes que foram admitidos com sintomas de abdome agudo perfurativo, confirmado por exames de imagem (raio-X ou tomografia computadorizada) e que tenham sido submetidos a procedimento cirúrgico, no qual confirmou-se tratar de perfuração de úlcera péptica (gástrica ou duodenal).

Como critérios de exclusão primária para os casos: (i) pacientes que foram admitidos nos hospitais de estudo com queixa de HDA por outros diagnósticos endoscópicos, como varizes esofágicas, neoplasia gástrica, e síndrome de *Mallory-Weiss*; (ii) pacientes com HDA intra-hospitalar e (iii) admissão não associada à HDA.

Como critérios de exclusão secundária, incluem-se: (i) casos cuja endoscopia não tenha sido realizada até 48 horas após o ingresso no hospital, ou, no caso de pacientes ambulatoriais, aqueles cuja endoscopia tenha sido marcada há mais que 7 dias; (ii) pacientes que não foram entrevistados até 15 dias após o ingresso no hospital; (iii) pacientes em estado grave e (iv) óbito.

O fluxograma de rastreio e monitoramento das EDA é descrito no APÊNDICE A.

Grupo controle

Os participantes do grupo controle foram recrutados da unidade pré-operatória, entre pacientes que foram submetidos às cirurgias leves e programadas de processo clínico, como cirurgias plásticas; de facectomias, correção de hérnias inguinais/umbilicais, adenomas da próstata, entre outros.

Critérios de exclusão primária para casos e controles

Menores de 18 anos; histórico de neoplasia e coagulopatias; pacientes HIV positivos; narcóticos; portadores de sonda nasogástrica ou percutânea; pacientes que foram ao hospital por qualquer motivo 15 dias antes da admissão atual (casos) ou da entrevista (controles); e não residentes na região por pelo menos três meses foram excluídos.

4.2.5. Período e coleta de dados

O recrutamento dos participantes do grupo caso e controle foram conduzidos por quatro pesquisadores (M.F, P.C.M, T.R.N, G.U) após treinamento prévio e mediante Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXOS 4 e 5). A coleta de dados teve início em julho de 2016 e finalizou em março de 2020.

A coleta de dados foi conduzida por meio de entrevistas com os pacientes e/ou familiares, com duração aproximada de 40 minutos/entrevista, mediante um questionário previamente validado (FIGUEIRAS et al., 2016) e traduzido e adaptado para ser aplicado no Brasil. O questionário está disponível na íntegra no depósito público OSF (FORGERINI et al., 2021b).

Os dados obtidos durante a entrevista foram confirmados em fontes secundárias, como prontuário médico eletrônico do HC-RP (ATHOS) que possui a anamnese da equipe multiprofissional detalhada desde a inserção do paciente no serviço de saúde, além de prescrições médicas e exames laboratoriais.

As entrevistas foram avaliadas pelos entrevistadores mediante uma escala de 0 a 10, considerando a consistência das informações recordadas. Foi considerada baixa consistência da entrevista notas inferiores a seis pontos, valor de referência adotado seguindo o estudo de Figueiras *et al* (FIGUEIRAS et al., 2016).

Coleta de amostra biológica

Após a entrevista feita a coleta de cerca de 5,0 mL de sangue total dos participantes dos grupos caso e controle para posterior análise das variantes genéticas propostas e pesquisa de anticorpos para infecção por *Helicobacter pylori*.

4.2.6. Variáveis

Dependente: diagnóstico de hemorragia digestiva alta secundária a doença péptica complicada mediante endoscopia digestiva alta ou intervenção cirúrgica;

Independentes: presença das variantes genéticas nos genes *PTGS1*, *CYP2C9*, *NOS3*, *VKORC1* e/ou *ABCB1*, etnia, escolaridade, índice de massa corpórea, histórico familiar de úlcera, histórico pessoal de doenças gastrointestinais (úlcera, hemorragia, dispepsia), comorbidades, sorologia *Helicobacter pylori*, farmacoterapia em uso (AAS, AINEs, inibidores da bomba de prótons, antagonistas dos receptores de H₂, anticoagulantes e antidepressivos), hábitos de vida (tabagismo, consumo de álcool e café) e consistência da entrevista.

4.2.7. Fonte de dados e mensuração

As variáveis e as respectivas fontes de dados e mensuração são descritas detalhadamente no Quadro 4.

Quadro 4. Variáveis e fontes de dados e mensuração.

Variável (classificação)	Fonte mensuração	Fonte de dados
Desfecho		
Hemorragia digestiva alta secundária a doença péptica complicada (variável qualitativa nominal)	Os laudos das endoscopias digestivas alta (EDA) conduzidas Unidade de Urgência e Emergência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP) foram monitorados diariamente. Os laudos das EDA foram avaliados, em duplicata, a partir da presença dos achados clínicos de interesse: úlceras gástrica ou duodenal; lesões agudas da mucosa gástrica ou duodenal; e gastrite ou duodenite erosiva. Na presença de tais achados clínicos, o prontuário eletrônico do paciente foi consultado a fim de identificar a presença de sinais e sintomas clínicos, como a presença de hematêmese, vômitos escuros ou em borra de café, melena e/ou hematoquezia, além do motivo do paciente ter procurado o serviço. Os pacientes que buscaram o serviço devido perfuração da úlcera e foram submetidos a intervenção cirúrgica (laparotomia exploratória), se elegíveis, também foram incluídos.	Laudos de endoscopia digestiva alta, laparotomia exploratória e prontuário médico eletrônico

Variáveis demográficas e clínicas		
Gênero (variável qualitativa nominal), idade (variável quantitativa contínua), etnia (variável qualitativa nominal) e escolaridade (variável qualitativa ordinal)	Recordados por meio de auto-relato durante a entrevista.	Auto-relato e prontuário médico eletrônico
Índice de massa corpórea (kg/m²) (variável quantitativa contínua)	O peso e a altura dos participantes foram aferidos pela equipe de enfermagem do hospital e o índice de massa corpórea foi calculado por meio da razão do peso pela altura ao quadrado.	Auto-relato e prontuário médico eletrônico
Comorbidades (variável qualitativa nominal)	Diabetes <i>mellitus</i> ; hipertensão arterial; dislipidemia; doenças cardiovasculares, sanguíneas, respiratórias e renal; depressão; artrite e artrose.	Auto-relato e prontuário médico eletrônico
Histórico pessoal de doenças gastrointestinais (variável qualitativa nominal)	Histórico pessoal de doenças gastrointestinais foi definido como úlcera (duodenal, gástrica, intestinal ou não especificada), hemorragia (fezes escurecidas ou sanguinolentas, vômito escurecido ou sanguinolento), dispepsia (dor; queimação no estômago ou sensação de digestão lenta) e auto-relato de infecção por <i>Helicobacter pylori</i> no passado.	Auto-relato e prontuário médico eletrônico
Histórico familiar de úlcera (variável qualitativa nominal)	O histórico familiar de úlcera foi definido considerando se algum familiar do participante já teve úlcera e o grau de parentesco.	Auto-relato e prontuário médico eletrônico
Data índice	Para evitar que a presença de sinais e sintomas da hemorragia digestiva alta não varicosa modifiquem a avaliação das variáveis de interesse, foi estabelecida uma data índice para os casos e controles. Definiu-se como data índice o dia de início dos sinais e sintomas da hemorragia digestiva alta não varicosa para os casos e a data da entrevista para os controles. Foi considerada uma janela etiológica de sete dias anteriores ao dia índice (LANAS et al., 1998; LAPORTE et al., 1991) e para as análises estatísticas, o consumo de medicamento posterior ao dia índice não foi considerado como uso.	Auto-relato e prontuário médico eletrônico
Farmacoterapia em uso (variável qualitativa nominal: uso e não uso)	Os medicamentos de uso crônico ou por automedicação utilizados nos dois meses anteriores a data índice foram recordados por meio de auto-relato durante a entrevista e confirmados mediante prontuário eletrônico médico e prescrições médicas. Para todos os participantes foi feita uma anamnese farmacoterapêutica, considerando os medicamentos em uso (nome do fármaco; <i>Anatomical Therapeutic Chemical Code</i> ; indicação; forma farmacêutica; posologia; uso por prescrição ou automedicação; último consumo; e tempo de uso). Além do uso de ácido acetilsalicílico na indicação antiagregante e anti-inflamatórios não esteroidais, foi avaliado o uso de classes farmacológicas que possam ser fatores de risco ou confusão para a HDA, como os anticoagulantes orais, antidepressivos, inibidores de	Auto-relato, prontuário médico eletrônico e prescrições médicas

	bomba de prótons e antagonistas dos receptores de H2.	
Ácido acetilsalicílico na indicação antiagregante (variável qualitativa nominal)	O uso de ácido acetilsalicílico na indicação antiagregante foi considerado em doses inferiores a 150 miligramas e por um período mínimo de três meses.	Auto-relato, prontuário médico eletrônico e prescrições médicas
Uso de anti-inflamatórios não esteroidais (variável qualitativa nominal)	O uso de anti-inflamatórios não esteroidais foi definido pelo consumo desta classe nos sete dias anteriores a data índice para os participantes do grupo caso e controle.	Auto-relato, prontuário médico eletrônico e prescrições médicas
Anti-inflamatórios não esteroidais metabolizados pelo CYP2C9 (variável qualitativa nominal)	Foram estabelecidos dois grupos de anti-inflamatórios não esteroidais: aqueles que são metabolizados em mais de 50% pelo CYP2C9 (celecoxibe, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, aceclofenaco, indometacina, lornoxicam e piroxicam) e o demais foram alocados no grupo “outros AINEs”.	Estratificação de grupo de anti-inflamatório proposta por FIGUEIRAS <i>et al.</i> , 2016.
Dose diária definida acumulada dos anti-inflamatórios não esteroidais (variável quantitativa contínua)	A dose diária definida (DDD) foi calculada por meio da razão da dose diária consumida do medicamento pela dose diária recomendada pela Organização Mundial da Saúde. A DDD acumulada se refere ao consumo do anti-inflamatório não esteroidal durante janela etiológica de sete dias anteriores ao dia índice.	Dose diária recomendada pela Organização Mundial da Saúde
Tabagismo (variável qualitativa nominal) e quantidade de tabaco consumida (variável quantitativa discreta)	O hábito de tabagismo foi recordado por meio do auto-relato durante a entrevista e foi estratificado em não tabagista, tabagista e ex-tabagista. A quantidade de tabaco consumida/dia foi estratificada em sem consumo; “moderada” (1 a 15 cigarros/dia) e “pesada” (> 15 cigarros/dia).	Auto-relato e prontuário médico eletrônico
Consumo de álcool (variável qualitativa nominal) e quantidade de álcool consumida (variável quantitativa discreta)	O consumo de álcool nos dois meses anteriores a data índice foi recordado por meio de auto-relato durante as entrevistas e estratificado em: consumo e não consumo de álcool. Dentre os participantes que consumiam álcool, o consumo foi estratificado em bebidas fermentadas (cerveja, vinho tinto e branco) e bebidas destiladas (whisky, cachaça e vodka). A quantidade média em gramas de álcool consumida/dia foi estratificada em sem consumo; 0 a ≤ 30 gramas de álcool/dia e > 30 gramas de álcool/dia.	Auto-relato e prontuário médico eletrônico
Consumo de café (variável qualitativa nominal) e quantidade de café consumida (variável quantitativa discreta)	O consumo de café nos dois meses anteriores a data índice foi recordado por meio de auto-relato durante as entrevistas e estratificado em: consumo e não consumo. A quantidade de café consumida/dia foi estratificada em sem consumo; $0 < \text{mL} \leq 100$; $100 < \text{mL} \leq 500$; > 500 mL.	Auto-relato
Consistência da entrevista (variável quantitativa discreta)	A consistência da entrevista foi mensurada usando escores de 0 a 10. O entrevistador atribuiu a pontuação de acordo com a qualidade/consistência das informações fornecidas pelo paciente e/ou membro da família durante as entrevistas.	Avaliação de 0 a 10 pontos feita pelo entrevistador

Análise genética		
Ácido desoxirribonucleico (DNA)	A obtenção do DNA dos participantes casos e controles foi mediante coleta de sangue total (5 mL) durante o processo de entrevista. O sangue total foi centrifugado para obtenção das fases de interesse e a extração de DNA foi realizada por meio de cromatografia em sílica.	Kit de extração de DNA com <i>beads</i> magnéticas. Análise realizada no equipamento <i>Maxwell RSC</i> (Promega).
Polimorfismo de nucleotídeo único (variável qualitativa nominal)	Foram avaliados dez polimorfismos de nucleotídeo único, sendo: quatro variantes no gene <i>PTGS1</i> (rs1330344, rs10306114, rs3842787 e rs5788), duas no gene <i>NOS3</i> (rs1799983 e rs2070744); duas no gene <i>CYP2C9</i> (rs1799853 e rs1057910); uma no gene <i>VKORC1</i> (rs9923231) e uma no gene <i>ABCB1</i> (rs1045642). Para análise dessas variantes foi utilizada a técnica de genotipagem no termociclador em tempo real por meio da tecnologia <i>TaqPath ProAmp SNP Genotyping Assay</i> (<i>AppliedBiosystems, Foster City, USA</i>).	Genotipagem por meio de reação em cadeia da polimerase no equipamento <i>StepOne Plus</i> (<i>AppliedBiosystems, Foster City, USA</i>)
Determinação da repetição em tandem de número variável (VNTR) (variável qualitativa nominal)	Foi avaliada a VNTR do íntron 4 do gene <i>NOS3</i> por meio de reações em cadeia da polimerase utilizando os iniciadores [5'AGGCCCTATGGTAGTGCCTTT3'/5'TCTCTT AGTGCTGGTCAC3'] marcados com fluorescência (WANG et al., 1997).	Análise de fragmento por meio de sequenciador genético ABI 3130
Análise laboratorial (análise tercerizada)		
Infecção por <i>Helicobacter pylori</i> (variável qualitativa ordinal)	Para identificar infecção por <i>Helicobacter pylori</i> foi realizada a determinação de anticorpos IgG no plasma dos participantes no Laboratório de Apoio Álvaro do Núcleo de Atendimento a Comunidade da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (UNESP). Os resultados dos exames foram estratificados em: reagente ($\geq 1,10$ U de IgG/mL), não reagente ($\leq 0,90$ U de IgG/mL) e inconclusivo (0,91 a 1,09 U de IgG/mL).	Análise de anticorpos IgG por técnica de quimioluminescência

4.2.8. Análise genética

A extração e quantificação de DNA e as análises de polimorfismos de nucleotídeo único e de repetição em série de número variável foram conduzidas no Centro de Medicina Genômica do HC-RP, Laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina da USP-RP e o Laboratório de Biologia Molecular da UNESP.

Obtenção do DNA genômico e quantificação de DNA

A partir do sangue total coletado em ácido etilenodiamino tetra-acético foi realizada a extração do DNA a partir do *buffy coat* (leucócitos e plaquetas) no Centro de Medicina Genômica do HC-RP.

O sangue total foi centrifugado por 20 minutos (2000 rotações por minuto) em uma centrífuga a 4°C e foram obtidas três fases: superior (plasma); intermediária [leucócitos e plaquetas (*buffy coat*)] e inferior (eritrócitos). A fase contendo o plasma foi separada para ser congelado a -80°C para a análise posterior de anticorpos IgG para *Helicobacter pylori* e o *buffy coat* foi separado das demais fases para a extração do DNA genômico.

A extração de DNA foi conduzida por meio da técnica de extração utilizando *beads*-magnéticas que é fundamentada na interação do DNA com partículas magnéticas revestidas de sílica no equipamento *Maxwell RSC* (Promega). Essa técnica evita a contaminação cruzada de amostras e o DNA extraído dispõe de alta pureza. Para tal, o *buffy coat* de cada participante foi pipetado individualmente nos cartuchos do kit *Maxwell® 16 Blood DNA Purification* (Promega), seguindo o protocolo operacional padrão recomendado pelo kit.

Após a extração do DNA genômico, foi realizada a quantificação de DNA (ng/uL) de cada uma das amostras obtidas, por meio do ensaio com *Qubit™ dsDNA HS Assay Kit* (*AppliedBiosystems, Foster City, USA*).

O DNA extraído dos participantes incluídos no estudo está devidamente identificado e armazenado no Biorrepositório aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP (CAAE 53753115.4.0000.5440; protocolo nº1.536.886) a -80°C (ANEXO 6).

4.2.8.1. Análise de polimorfismo de nucleotídeo único

A análise dos polimorfismos de nucleotídeo único foi conduzida inicialmente no Centro de Medicina Genômica do HC-RP e finalizada no laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina da USP-RP.

Para os polimorfismos de nucleotídeo único, foi utilizada a técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real. Nessa técnica, as reações de PCR são realizadas utilizando o sistema *TaqPath ProAmp SNP Genotyping Assay* (*AppliedBiosystems, Foster City, USA*) que é constituído por um par de iniciadores e duas sondas marcadas com os fluoróforos VIC e FAM. Esses fluoróforos são diferentes para cada alelo, discriminando assim os alelos que correspondem aos indivíduos heterozigotos ou homozigotos para um ou outro alelo.

Nesse estudo, foi utilizado o termociclador em tempo real *Stepone Plus* (*AppliedBiosystems, Foster City, USA*) e foram analisados os seguintes genes e variantes: *PTGS1* (rs1330344, rs10306114, rs3842787, rs5788); *CYP2C9* (rs1799853 e rs1057910); *NOS3* (rs1799983 e rs2070744); *VKORC1* (rs9923231) e *ABCB1* (rs1045642) (Quadro 5).

Quadro 5. Descrição dos genes e polimorfismos de nucleotídeo único analisados de acordo com o número de identificação (rs), identificação da troca de base nitrogenada do DNA, código do ensaio da *AppliedByosistem*, fenótipo e genótipo.

Polimorfismo de nucleotídeo único	Genótipo
Gene <i>PTGS1</i>	
rs1330344 (C > T)	CC
Assay C_31956972_10	CT
	TT
rs3842787 (C > T)	CC
Assay C_30252576_20	CT
	TT
rs10306114 (A > G)	AA
Assay C_30090763_10	AG
	GG
rs5788 (C > A)	CC
Assay C_11722597_20	CA
	AA
Gene <i>NOS3</i>	
rs2070744 (C > T)	CC
Assay C_15903863_10	CT
	TT
rs1799983 (G > T)	GG
Assay C_3219460_20	GT
	TT
Gene <i>CYP2C9</i>	
CYP2C9*2: rs1057910 (A > C)	AA
Assay C_27104892_10	AC
	CC
CYP2C9*3: rs1799853 (C > T)	CC
Assay C_25625805_10	CT
	TT
Gene <i>VKORC1</i>	
rs9923231 (C > T)	CC
Assay C_30403261_20	CT
	TT
Gene <i>ABCB1</i>	
rs1045642 (A > G)	AA
Assay C_7586657_20	AG
	GG

Para a técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real foi padronizado um volume de reação final de 10 µL e os ensaios foram conduzidos em placas para PCR de 96 poços. Para a confecção das placas para reação da PCR, foi preparado previamente um *mix* e padronizou-se 8 µL de *mix* para cada amostra a ser analisada, sendo: 5 µL de *GoTaq Probe* recém preparado, 0,25 µL de *SNP assay* (*TermoFisher*) e 2,75 µL de água ultrapura.

Na placa da PCR, foi pipetado o controle negativo (*SNP assay*) no primeiro poço e 2 µL do DNA dos participantes diluído (uma amostra por poço) nos demais 95 poços. Posteriormente, foi adicionado 8µL do *mix* em todos os poços da placa qPCR. Ao final da pipetagem, a placa da PCR foi selada com selo óptico e centrifugada em uma centrifuga de placas e foi iniciado o ensaio de genotipagem em tempo real.

As seguintes condições de ciclagem foram propostas e validadas: 60°C por 1 minuto, 95°C por 10 minutos, quarenta ciclos de 95°C por 15 segundos, quarenta ciclos de 60°C por 1 minuto, e por fim, 60°C por 1 minuto.

Durante o processo de amplificação no ensaio de genotipagem, as sondas marcadas com corante são clivadas pela ação da enzima Taq polimerase e um sinal fluorescente é gerado. A detecção somente da fluorescência VIC representa homoziguidade para o alelo 1 (cor vermelha); detecção somente da fluorescência do corante FAM significa homoziguidade para o alelo 2 (azul); e a detecção da fluorescência de ambos corantes (VIC e FAM – presença do alelo 1 e 2) expressa heteroziguidade (cor verde).

Na figura 2 é possível ver a formação dos *clusters* de homoziguidade para alelo 1, homoziguidade para alelo 2 e heteroziguidade (alelos 1 e 2) obtidos durante um dos ensaios de genotipagem da variante rs1330344 do gene *PTGS1* (Figura 2).

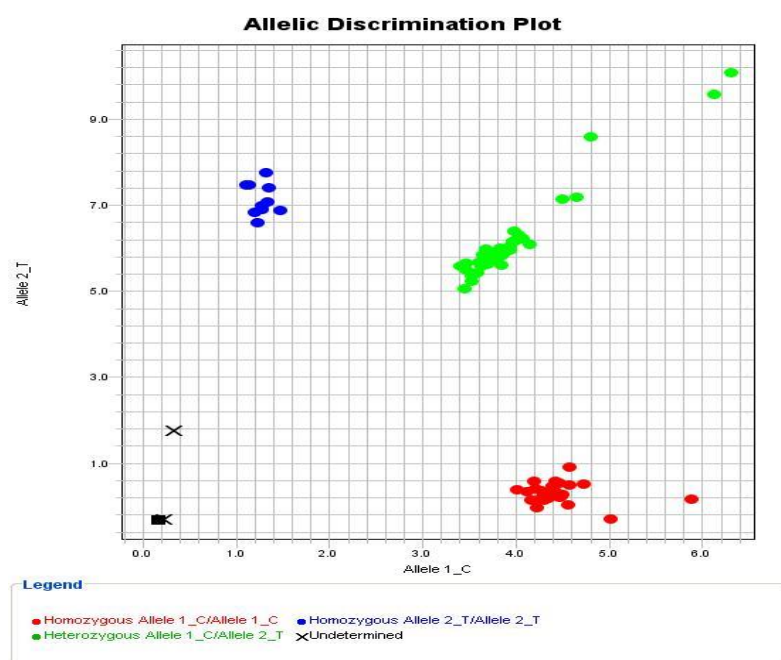


Figura 2. Plot de discriminação alélica da variante rs1330344 do gene *PTGS1*.

Fonte: Plot de discriminação alélica gerado no ensaio de genotipagem no equipamento *StepOne Plus*.
 Legenda: cor vermelha – homozigoto para alelo 1 (C/C); cor azul – homozigoto para alelo 2 (T/T); cor verde – heterozigoto (alelo 1/alelo 2: C/T); cor preta: indeterminado.

Para o controle de qualidade da genotipagem, foram selecionadas randomicamente 90 amostras (10%) para uma nova genotipagem.

Após cada ensaio, as análises de genotipagem foram salvas e adicionadas a uma nuvem (*Data connect – ThermoFisher*) para posterior análise das variantes genéticas.

4.2.8.2. Análise da repetição em série de número variável do íntron 4 do gene *eNOS*

As determinações das repetições em série de número variável do íntron 4 das *eNOS* foram conduzidas no laboratório de Biologia Molecular da UNESP por meio de reações da PCR utilizando iniciador com marcação fluorescente no termociclador (*Biometra TADVANCED*) e com posterior análise de fragmentos no equipamento ABI 3130 (*AppliedBiosystems, Foster City, USA*).

Validação do protocolo

Considerando que a amostra de cada participante do estudo possui uma concentração diferente de DNA, todas as amostras foram diluídas à uma concentração de trabalho de 50 nanogramas/50 µL.

Os pares de iniciadores utilizados nesta análise foram propostos por Wang *et al.* (WANG *et al.*, 1997): 5'AGGCCCTATGGTAGTGCCTTT3' (*forward*) marcado com fluorescência FAM e 5'TCTCTTAGTGCTGGTCAC3' (*reverse*) (*AppliedBiosystems, Foster City, USA*)

Foi preparada uma solução estoque e de trabalho dos iniciadores nas concentrações de 100 uM e 25 uM, respectivamente e, primeiramente foi conduzido um estudo piloto para identificar a melhor concentração de DNA para a reação, as condições ideais da PCR, assim como se o produto da PCR deveria ser diluído em água ultrapura e qual a quantidade de *ladder* a ser utilizada na eletroforese.

No piloto uma amostra foi testada em duplicata nas concentrações de DNA de 5, 10 e 20 nanogramas/µL com protocolo pré-definido como descrito na tabela 1 (Tabela 1).

Tabela 1. Preparação da reação em cadeia da polimerase para validação do protocolo de análise da repetição em série de número variável do íntron 4 do gene *eNOS*.

Mix	Volume de reação 30 uL (µL)		
	5ng/µL	10ng/µL	20ng/µL
Buffer (10x) (<i>Invitrogen</i>)	3,0	3,0	3,0
Cloreto de magnésio (MgCl ₂ 50 mM) (<i>Invitrogen</i>)	0,9	0,9	0,9
Iniciador (F) 25 uM (<i>AppliedBiosystems, Foster City, USA</i>)	0,6	0,6	0,6
Iniciador (R) 25 uM (<i>AppliedBiosystems, Foster City, USA</i>)	0,6	0,6	0,6
Desoxirribonucleotídeos fosfatados (dNTP) (<i>AppliedBiosystems, Foster City, USA</i>)	0,6	0,6	0,6
Taq polimerase (<i>Invitrogen</i>)	0,3	0,3	0,3
Água Milli-Q®	21,0	18,0	15,0
DNA genômico	3,0	6,0	9,0

µL microlitros; uM: micromol; ng: nanogramas. F: *forward*; R: *reverse*.

Para as condições da PCR testou-se: 95°C por cinco minutos; 35 ciclos de 95°C por 30 segundos, 56°C por 40 segundos e 72°C por um minuto e 30 segundos; e fase de extensão final a 72°C por dez minutos.

Após a PCR, o produto foi analisado em gel de agarose em uma concentração de 1,2%. Para tal, em um pequeno papel de parafilme foi aplicado 4 μL do tampão de carregamento (*Loading Buffer 5x*, *Sigma-Aldrich*) e dez microlitros de produto da PCR, homogeneizando com a ponteira. No primeiro poço do gel de agarose foi adicionado o *ladder* 1Kb (*GeneRuler 1 kb Plus DNA Ladder*, *AppliedBiosystems*, *Foster City*, *USA*) e nos demais poços cerca de 12 μL da “mistura” (tampão e produto da PCR).

As bandas no gel de agarose 1,2% foram observadas nos tempos 20, 30 e 42 minutos, observando as bandas na região de interesse e que ambas as concentrações de DNA testadas foram satisfatórias (Figura 3).

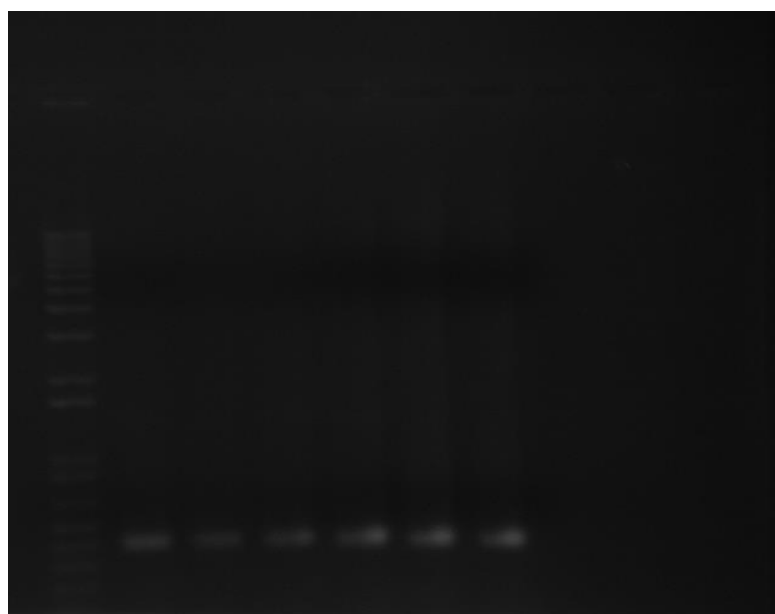


Figura 3. Análise do produto da reação em cadeia da polimerase de uma amostra em gel de agarose 1,2%.

Após análise do produto da PCR em gel de agarose foi preparada a amostra para análise dos fragmentos por meio de eletroforese capilar no sequenciador ABI 3130 (*AppliedBiosystems*, *Foster City*, *USA*).

Foram testadas seis condições para avaliar se seria necessária a diluição do produto da PCR e a quantidade a ser utilizada do *ladder* (*GeneScan™ 1000ROX™*, (*AppliedBiosystems*, *Foster City*, *USA*)).

Se recomenda 0,50 μL de *ladder* por reação, no entanto, durante o delineamento do protocolo das análises de polimorfismos de nucleotídeo único, foi possível otimizar a quantidade das sondas e neste protocolo a possibilidade de otimização também foi avaliada. Portanto, a quantidade de 0,25 μL do *ladder* por reação também foi testada.

As seis condições empregadas foram:

A: 5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de DNA sem diluição e 0,25 μL de *ladder*;

B: 5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de DNA diluído (10x) e 0,25 μL de *ladder*;

C: 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de DNA sem diluição e 0,25 μL de *ladder*;

D: 10 ug/ μ L de DNA diluído (10x) e 0,25 μ L de *ladder*;

E: 5 ug/ μ L de DNA sem diluição e 0,50 μ L de *ladder*;

F: 5 ug/ μ L de DNA diluído (10x) e 0,50 μ L de *ladder*.

Para o preparo da amostra para eletroforese capilar padronizou-se um volume de 20 μ L, sendo 19 μ L de mix e 1 μ L de amostra. O mix contendo formamida (*Hi-Di™ Formamide, Applied Biosystems*) e *ladder* foi preparado com as seguintes quantidades:

Mix A: 18,75 μ L de formamida + 0,25 μ L de *ladder*

Mix B: 18,50 μ L de formamida + 0,50 μ L de *ladder*

Após a pipetagem de 19 μ L do mix e 1 μ L da amostra na placa, a placa foi levada para incubação no termociclador a 95°C e por três minutos, com posterior banho de gelo na placa por também três minutos. Após homogenizador da placa, as amostras foram levadas ao sequenciador.

Os resultados da eletroforese capilar foram adicionados à nuvem *Data connect (Applied Biosystems)* para análise dos fragmentos. Ambas as concentrações de DNA testadas foram satisfatórias e para o protocolo a concentração de 10 nanogramas/ μ L diluída em dez vezes foi padronizada, assim como 0,25 μ L de *ladder*.

Em um segundo momento, também foi testado reduzir o volume de 20 para 10 μ L, a fim de otimizar o volume de formamida utilizado, reduzindo, portanto, o volume deste insumo de 18,75 μ L para 8,75 μ L. A otimização também foi satisfatória, contribuindo para redução de custos e também de trâmites burocráticos, considerando que a formamida é controlada pela polícia federal. No entanto, após a redução do volume da reação, foi necessário ajuste na diluição do produto da PCR, antes diluído dez vezes e agora passou a ser diluído apenas duas.

É importante comentar que devido ao uso do polímero POP7 (*Applied Biosystems*) para a eletroforese capilar no ABI 3130, o *ladder* se apresenta na forma desnaturada e os fragmentos apresentam 29, 33, 37, 64, 75, 81, 108, 118, 244, 274, 299, 421 e 539 pares de bases (Figura 4).

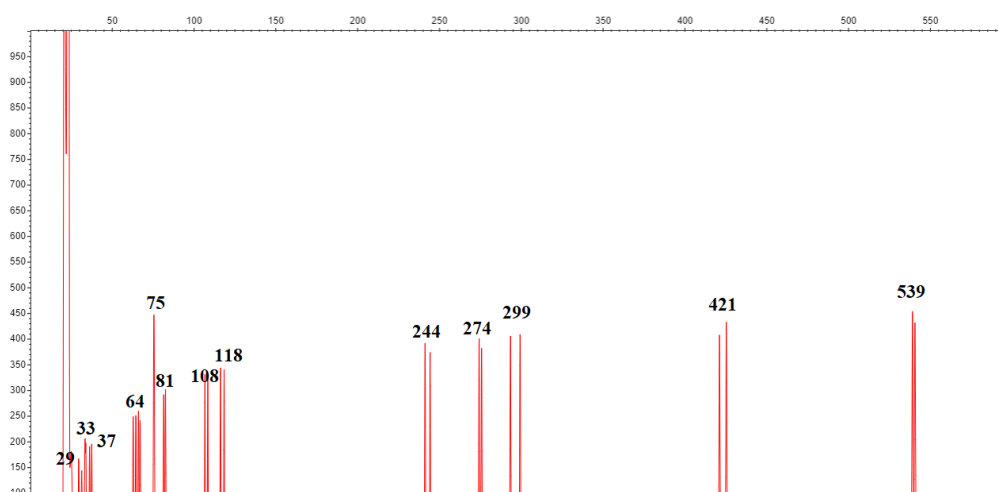


Figura 4. Perfil de eletroforese do *ladder GeneScan™ 1000ROX™* (*AppliedBiosystems, Foster City, USA*).

Protocolo de análise validado

O mix para a PCR foi preparado conforme as quantidades padronizadas durante o piloto e descritas na tabela 2, em adição de 2 µL da amostra de DNA genômico de cada participante, partindo das amostras já diluídas a uma concentração de trabalho de 50 nanogramas/50 µL (Tabela 2).

Tabela 2. Descrição do preparo dos mix para reação em cadeia da polimerase e para eletroforese capilar.

Mix para reação reação em cadeia da polimerase (PCR)	Volume de reação 10 µL (µL)
<i>Buffer (10x) (Invitrogen)</i>	1,00
<i>Cloreto de magnésio (MgCl₂ 50 mM) (Invitrogen)</i>	0,30
<i>Iniciador (F) 25 uM (AppliedBiosystems, Foster City, USA)</i>	0,20
<i>Iniciador (R) 25 uM (AppliedBiosystems, Foster City, USA)</i>	0,20
<i>Desoxirribonucleotídeos Fosfatados (dNTP) (AppliedBiosystems, Foster City, USA)</i>	0,20
<i>Taq polimerase (Invitrogen)</i>	0,10
<i>Água Milli-Q®</i>	6,00
<i>DNA genômico</i>	2,00
Mix para eletroforese capilar	
<i>Formamida (Hi-Di™ Formamide, (AppliedBiosystems, Foster City, USA)</i>	8,75
<i>Ladder GeneScan™ 1000ROX™ (AppliedBiosystems, Foster City, USA)</i>	0,25
<i>Produto da PCR</i>	1,00

µL microlitros; uM: micromol; ng: nanogramas. F: *forward*; R: *reverse*.

Após o preparo das amostras e da reação da PCR, o produto foi diluído em duas vezes, por meio da adição de 10 µL de água Milli-Q estéril, no fluxo laminar. Posteriormente, a placa para análise de fragmento em eletroforese capilar foi preparada, incubada no termociclador (três minutos por 95°C) e posterior banho de gelo (três minutos), estando pronta para a análise no ABI 3130.

A presença de um fragmento em 420 pares de base representou o genótipo do tipo selvagem (b/b; 5 repetições); dois fragmentos em 393 e 420 pares de base indicaram um genótipo heterozigótico (a/b); e um fragmento de 393 pares de bases representou um genótipo polimórfico (a/a, 4 repetições) (Figura 5).

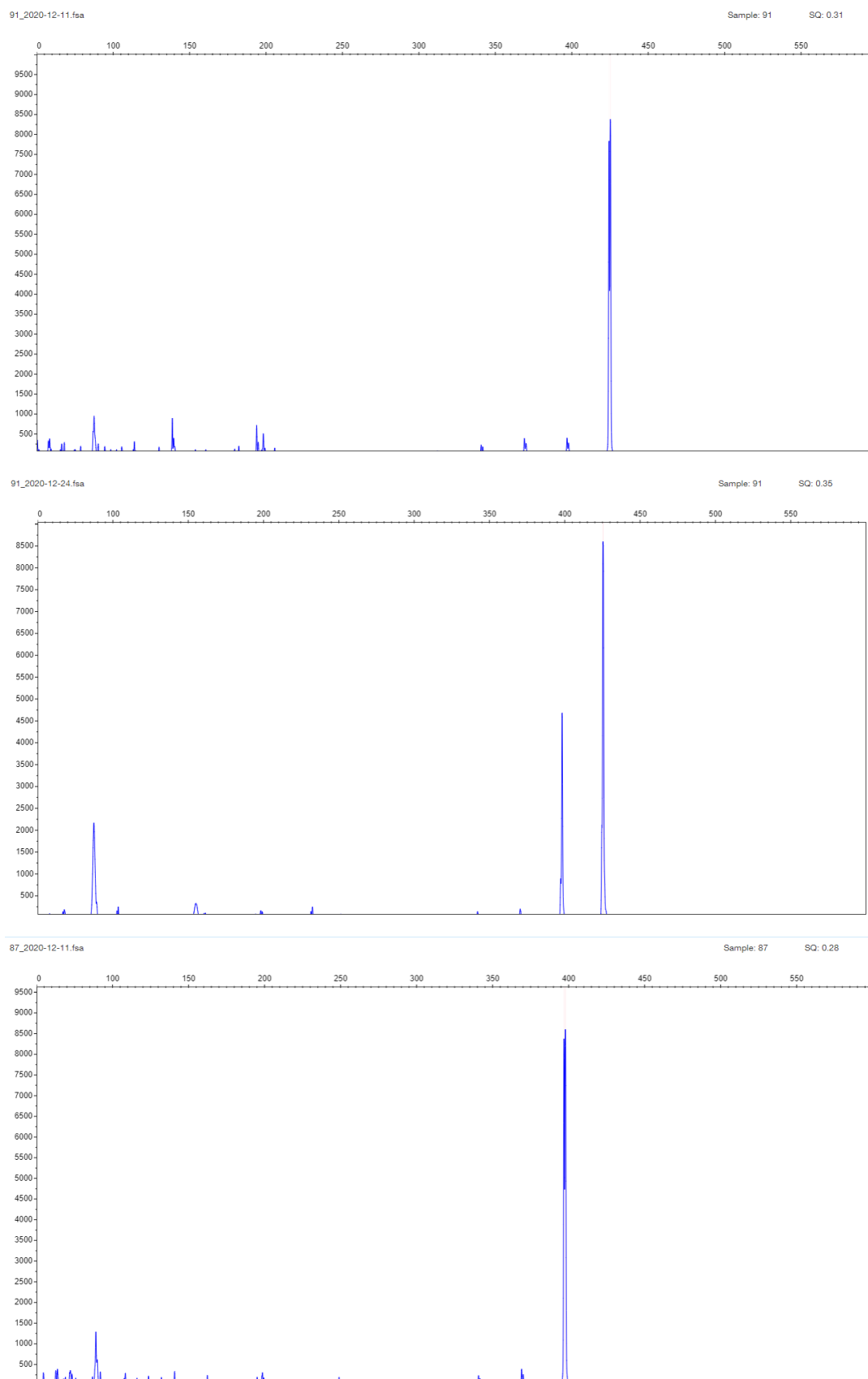


Figura 5. Análise de fragmentos no equipamento AB13130, sendo o primeiro gráfico referente ao genótipo selvagem (420 pares de base; b/b; 5 repetições), o segundo ao heterozigoto (393 e 420 pares de bases; a/b) e o homozigoto para o alelo variante (393 pares de bases; a/a; 4 repetições).

4.2.9. Análise laboratorial: sorologia para *Helicobacter pylori*

O sangue total coletado após as entrevistas foi centrifugado e o plasma obtido foi congelado a -80°C no Centro de Medicina Genômica do HC-RP. Considerando que o recrutamento dos participantes foi conduzido durante 44 meses, o plasma foi encaminhado em remessas anuais para o Núcleo de Atendimento a Comunidade (NAC) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista (UNESP). O NAC foi o setor responsável pelo envio das amostras de plasma dos participantes para o Laboratório de Apoio Álvaro para a análise laboratorial de determinação dos anticorpos IgG mediante a técnica de quimioluminescência.

Os resultados dos exames são estratificados em: reagente ($\geq 1,10$ U de IgG/mL), não reagente ($\leq 0,90$ U de IgG/mL) e inconclusivo (0,91 a 1,09 U de IgG/mL).

4.2.10. Tabulação de dados

As variáveis coletadas por meio das entrevistas foram digitadas semanalmente na *Research Electronic Data Capture* (RedCap). Nesta plataforma também foram inseridos os resultados das análises genéticas e os resultados dos exames laboratoriais de infecção por *Helicobacter pylori*.

Ao final de cada análise genética, os ensaios de genotipagem foram analisados e tabulados de acordo com o registro hospitalar de cada participante, em uma planilha do Excel®. Após finalização da tabulação, por meio do programa estatístico *R Studio*, foi cruzada a planilha do resultado das análises genéticas com uma segunda planilha contendo o código interno do participante no estudo, a fim de gerar uma planilha única. Tal passo foi realizado para permitir a importação direta dos ensaios de genotipagem para a RedCap, o que exige com que os participantes estejam identificados com o código interno do estudo. Em relação à pesquisa de anticorpos IgG para *Helicobacter pylori*, os laudos laboratoriais emitidos pelo NAC foram digitados na RedCap.

Cada seção do questionário utilizado durante a entrevista está estruturada na RedCap e possui três “status”: não verificado; incompleto e verificado. Após a digitação dos dados, foi conduzida uma dupla conferência das entrevistas e cada seção passou a ter o status de verificado. Essa dupla conferência foi conduzida por um segundo pesquisador, após treinamento prévio, para evitar viés na identificação de inconsistências. A cada quinze dias também foram selecionadas aleatoriamente dez entrevistas a fim de avaliar a consistência dos dados digitados na RedCap e a eficiência do processo de dupla conferência.

Considerando que foram digitadas cerca de 200 informações por participante, e o tempo mínimo e máximo de digitação de cada entrevista foi de 50 a 90 minutos, a depender do número de comorbidades e medicamentos em uso pelos participantes do estudo. A dupla conferência levou cerca de 30 minutos por entrevista.

4.2.11. Viés

Considerando que se trata de um estudo do tipo caso-controle, pode haver o viés de seleção e de memória.

Para evitar o viés de seleção:

- a) os participantes do grupo caso foram pareados por gênero e idade (± 5 anos) com três participantes do grupo controle;
- b) os participantes do grupo controle foram recrutados da unidade pré-operatória de cirurgias leves (e.g. plástica, correção de hérnia, facectomia) e não relacionadas a problemas gastrointestinais;
- c) foi questionado aos participantes do grupo controle a respeito do histórico pessoal de doenças gastrointestinais (dispepsia, úlcera e hemorragia) a fim de evitar a seleção de participantes com morbidades gástricas;
- d) foi realizada a análise de Equilíbrio de *Hardy-Weinberg* para todas as variantes genéticas avaliadas a fim de garantir a representatividade e homogeneidade da frequência genotípica entre os participantes do grupo caso e controle.

Para evitar o viés de memória:

- a) as entrevistas foram conduzidas, quando presente, em conjunto com o familiar; e
- b) foram consultadas fontes de dados secundárias (e.g. prontuário médico e prescrições).

4.2.12. Cálculo do tamanho amostral

Para o cálculo do tamanho amostral foi aplicada uma fórmula do tamanho da amostra para detectar interações aditivas (GARCÍA-CLOSAS; LUBIN, 1999) partindo do pressuposto de um nível de confiança bilateral de 95%, de um poder estatístico de 80% e de uma relação entre casos e controles de 1:3.

Foi realizado um cálculo amostral a partir dos dados de prevalência das variantes genéticas do gene *CYP2C9*3*, em pacientes sem diagnóstico e com diagnóstico de HDA, constantes no estudo de caso-controle conduzido por Figueiras et al (2016) (FIGUEIRAS et al., 2016).

Para tal, foi utilizada uma calculadora com as seguintes variáveis: prevalência de 13,1% para casos carreadores das variantes do *CYP2C9*3*; nível de significância de 5%; poder estatístico de 80% e um *odds ratio* de 2 (INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA, 1995). Portanto, durante o planejamento deste estudo, foi identificada uma amostra mínima de 194 participantes para o grupo caso e 582 participantes para o grupo controle.

4.2.13. Análises estatísticas

4.2.13.1. Equilíbrio de *Hardy-Weinberg*

Para avaliar a representatividade e homogeneidade dos participantes do grupo controle, a fim de garantir que as frequências genóticas são compatíveis e equilibradas aos do grupo caso, foi realizada a análise do Equilíbrio de *Hardy-Weinberg* para as variantes genéticas analisadas (CHEN; CHATTERJEE, 2007; WANG; SHETE, 2010). O princípio desta análise é o teste qui-quadrado, com um grau de liberdade e nível de significância de 0,05. O valor crítico definido foi de 3,841 para dois graus de liberdade e $\alpha = 0,05$.

O Equilíbrio de *Hardy-Weinberg* é calculado a partir da real frequência dos genótipos obtidos na população em estudo, ou seja, frequência de participantes selvagens, heterozigotos e homozigotos para cada uma das variantes genéticas avaliadas.

Considerando que o objetivo do Equilíbrio de *Hardy-Weinberg* é provar que há homogeneidade na frequência dos genótipos entre os participantes do grupo caso e controle, o desejável é a obtenção de valores de P maiores que 0,05, provando, portanto, que não há diferenças genéticas significativas entre os grupos. No grupo caso não é necessária a aplicação do equilíbrio pois a seleção, mesmo que não randomizada, é baseada no fenótipo de interesse (HDA secundária a doença péptica não complicada).

4.2.13.2. Modelo de regressão logística binária

A variável dependente (desfecho) deste estudo foi a HDA secundária à doença péptica complicada, sendo esta uma variável binária do tipo caso ou controle.

Categorização das variáveis predictoras: variáveis dicotômicas e categóricas

Variável dicotômica (sim versus não)

Variáveis dicotômicas: gênero; idade; histórico familiar de úlcera; histórico pessoal de doenças gastrointestinais; diabetes *mellitus*; hipertensão arterial; dislipidemia; doenças cardiovasculares, sanguíneas, respiratórias e renal; depressão; artrite; artrose; infecção por *Helicobacter pylori*; uso de AAS, AINEs, inibidores da bomba de prótons, antagonistas dos receptores de H₂, anticoagulantes e antidepressivos; e AINEs metabolizados pelo CYP2C9.

A categoria de referência para as variáveis dicotômicas foi representada pela categoria “não”, e as variáveis gênero e idade não entraram no modelo estatístico por terem sido variáveis controladas no planejamento do estudo por meio do emparelhamento.

Variáveis com mais de duas categorias

Variáveis com mais de duas categorias: etnia; escolaridade; índice de massa corpórea; dose diária definida acumulada dos AINEs; tabagismo (quantidade de tabaco consumida); consumo de álcool (quantidade de álcool consumida); consumo de café (quantidade de café consumida); variantes genéticas nos genes *PTGS1*, *CYP2C9*, *NOS3*, *VKORC1* e *ABCB1* e consistência da entrevista.

Foi estabelecido um número mínimo de participantes em cada categoria (10% do tamanho amostral) a fim de aumentar o poder estatístico das análises. Quando essa porcentagem mínima não foi atingida, foram propostas variáveis com um número menor de categorias respeitando os pressupostos e relevância clínica.

As variáveis com mais de duas categorias foram definidas como:

- Etnia: branco, preto e oriental;
- Escolaridade foi estratificada em três categorias: 0 – 4 anos, 5 – 11 anos e > 12 anos. A categoria de referência foi definida como escolaridade 0 – 4 anos;
- Índice de massa corpórea foi estratificado em abaixo do peso, normal e acima do peso. A categoria “acima do peso” corresponde ao agrupamento das categorias de sobrepeso e obesidade do tipo I, II e III.
- Dose acumulada dos AINEs foi estratificada em $DDD = 0$; $0 > DDD \leq 1$; $1 > DDD \leq 5$ e $DDD > 5$;
- Quantidade de tabaco consumida/dia foi estratificada em sem consumo; “moderada” (1 a 15 cigarros/dia) e “pesada” (> 15 cigarros/dia);
- Quantidade média em gramas de álcool consumida/dia foi estratificada em sem consumo; $0 \leq 30$ gramas de álcool/dia e > 30 gramas de álcool/dia. Quatro participantes (um caso e três controles) fizeram o consumo de álcool superior à 90 gramas de álcool/dia, o que configuraria um consumo “pesado” de álcool, e foram agrupados na categoria > 30 gramas de álcool;
- Quantidade de café consumida/dia foi estratificada em sem consumo; $0 < mL \leq 100$; e > 100 mL, sendo que o não consumo foi considerado a categoria de referência;
- Variantes genéticas nos genes *PTGS1*, *CYP2C9*; *NOS3*, *VKORC1* e *ABCB1* foram categorizadas em homozigoto para o alelo selvagem, heterozigoto e homozigoto para alelo variante. Para aumentar o poder estatístico, essas mesmas variantes também foram estratificadas de maneira dicotômica, sendo as categorias homozigoto para o alelo selvagem e “variação genética” (genótipos heterozigoto e homozigoto para alelo variante). Para as variantes genéticas, a categoria de referência é o genótipo homozigoto para o alelo selvagem;
- Consistência de entrevista foi estratificada em três categorias de 6 e 7 pontos; 8 e 9 pontos e 10 pontos.

Seleção do modelo estatístico

A regressão logística condicional tem sido utilizada na análise de dados de estudos do tipo caso-controle emparelhados (HOSMER; LEMESHOW; STURDIVANT, 2013). Na condicional, o estrato, ou seja, o caso e seus respectivos controles, é considerado na construção do modelo e um método padronizado para esse tipo de análise é a regressão de COX. No entanto, a necessidade de uma análise de dados pareados, especialmente em estudos caso-controle com emparelhamento apenas por gênero e idade, é questionada (KUO; DUAN; GRADY, 2018; PEARCE, 2016).

Pearce discute que é um equívoco dizer que se o estudo é pareado, a análise deve ser pareada (PEARCE, 2016). O pesquisador realizou uma simulação de um caso-controle emparelhado por idade e as estimativas obtidas na regressão logística condicional foram semelhantes às da regressão logística não condicional, concluindo que uma análise pareada só é necessária quando há um pareamento “genuíno” no qual os casos sejam emparelhados com irmãos ou combinando muitas variáveis simultaneamente.

Essa questão de emparelhamento “genuíno” foi amplamente discutida por Schlesselman, que definiu os emparelhamentos ditos “grosseiros” e “finos” (SCHLESSELMAN, 1982). O emparelhamento por frequência (gênero e idade) foi definido como um emparelhamento “grosseiro”, visto que “qualquer controle” desde que do mesmo gênero e faixa etária, está apto a compor um par com o respectivo caso. Já o emparelhamento “fino” considera variáveis como “parentesco” ou “vizinhança”, o que irá restringir o emparelhamento à “indivíduos específicos” e é neste tipo de emparelhamento que a regressão condicional é recomendada (MORAES; SOUZA, 1998).

Kuo, Duan e Grady (2018) também fizeram uma simulação de caso-controle pareado por idade e demonstraram que os métodos de análise de dados pareados (regressão logística condicional) não se fazem necessários em estudos pareados por poucas variáveis demográficas, como gênero e idade (KUO; DUAN; GRADY, 2018). Os autores também reportaram que a regressão logística não condicional tem como vantagem estimativas semelhantes e intervalos de confiança mais precisos em estudos emparelhados por gênero e idade (KUO; DUAN; GRADY, 2018; PEARCE, 2016).

Portanto, apesar de terem sido testadas ambas as regressões (condicional e não condicional) neste estudo, as estimativas apresentadas foram obtidas pela regressão logística não condicional considerando as suas vantagens em um estudo caso-controle emparelhado por gênero e idade e a melhor precisão nas estimativas.

Seleção das variáveis

Os modelos de regressão logística foram delineados para variável dependente do tipo dicotômico (caso ou controle), adotando para a tomada de decisão um nível de significância estatística de 0,05, e construindo, quando necessário, intervalos de confiança de 95%.

Para a seleção das variáveis de confundimento para compor o modelo multivariado foi realizada uma análise bivariada com cada uma das variáveis em função da variável de desfecho (HDA secundária a doença péptica complicada). A análise bivariada foi realizada por meio da regressão logística binária e foram selecionadas as variáveis predictoras com $p\text{-valor} \leq 0,20$.

O modelo de regressão logística binária foi construído com todas as variáveis predictoras que atenderam ao critério de $p\text{-valor} \leq 0,20$ e as variantes genéticas (método INSERIR). Complementando a análise, também foram construídos outros dois modelos de regressão logística binária, sendo que o primeiro avaliou a interação multiplicativa de cada uma das variantes genéticas e o uso de AAS e o segundo, a interação multiplicativa de cada uma das variantes genéticas e o uso de AINEs.

Todas as análises estatísticas foram conduzidas no programa estatístico SPSS (versão 26).

Medidas de ajuste do modelo

Foi realizada a análise de multicolinearidade para identificar se havia uma relação linear entre as variáveis independentes a fim de evitar distorções das medidas de efeito do modelo e as medidas de resíduo estudentizado e influência de Cook também foram avaliadas a fim de identificar a presença de pontos influentes na análise.

O resíduo estudentizado foi definido como até 3,0 desvios padrão e influência de Cook $< 1,0$, e apenas um participante apresentou resíduo acima do estabelecido e foi removido da análise.

Para avaliação do ajuste do modelo foram adotados os critérios de razão de verossimilhança (2LL bloco zero – 2LL no bloco um) e o R^2 de Nagelkerke. Para avaliar a aderência dos dados ao modelo estatístico foi utilizado o teste de Hosmer e Lemeshow.

5) RESULTADOS

Para apresentação mais didática e clara, os resultados foram divididos em quatro seções, sendo: (I) revisão sistemática das variantes genéticas associadas ao risco de HDA; (II) perfil epidemiológico dos participantes do grupo caso e controle; (III) análise genética e sorologia para *Helicobacter pylori* dos participantes do estudo; e (IV) fatores associados à HDA.

(I) Revisão sistemática das variantes genéticas associadas ao risco de HDA

Foram elegíveis 17 estudos que avaliaram a influência da presença de variantes genéticas no risco de HDA e não foi identificado nenhum estudo conduzido com a população brasileira e apenas um estudo foi realizado em um país em desenvolvimento (Turquia) (UCAR et al., 2013).

Dentre os estudos incluídos, 13 avaliaram o risco de HDA associado ao uso de medicamentos (AAS, AINEs ou varfarina), mas apenas seis reportaram claramente que o desfecho avaliado foi a HDA de etiologia não varicosa (GROZA et al., 2017; MALLAH et al., 2020; NEGOVAN et al., 2015; PIAZUELO et al., 2008; PILOTTO et al., 2007; WANG, 2019).

Evidenciamos que a metodologia proposta para a identificação de participantes do grupo caso neste estudo possui o melhor delineamento para responder as hipóteses propostas e também identificamos novos genes e variantes que possuem potencial para serem analisados na próxima etapa desse estudo, a fim ampliar as avaliadas até o momento, tais como os genes *PTGS2* (MALLAH et al., 2020), *TNF-alfa* (WANG, 2019), *AGT* (SHIOTANI et al., 2011), *UGT* (VAN OIJEN et al., 2006), *CHST2* (SHIOTANI et al., 2014).

Dois estudos espanhóis avaliaram a repetição em série de número variável do íntron 4 do gene *eNOS*, também proposta nesse estudo, e não identificaram risco de HDA na presença da variante genética (PIAZUELO et al., 2008; SERRANO et al., 2002).

O artigo de revisão sistemática foi publicado no *The Pharmacogenomics Journal* (JCR: 2,910; doi: 10.1038/s41397-020-00185-6)

(II) Perfil epidemiológico dos participantes dos grupos caso e controle

Foram elegíveis a este estudo 200 participantes casos e 706 controles.

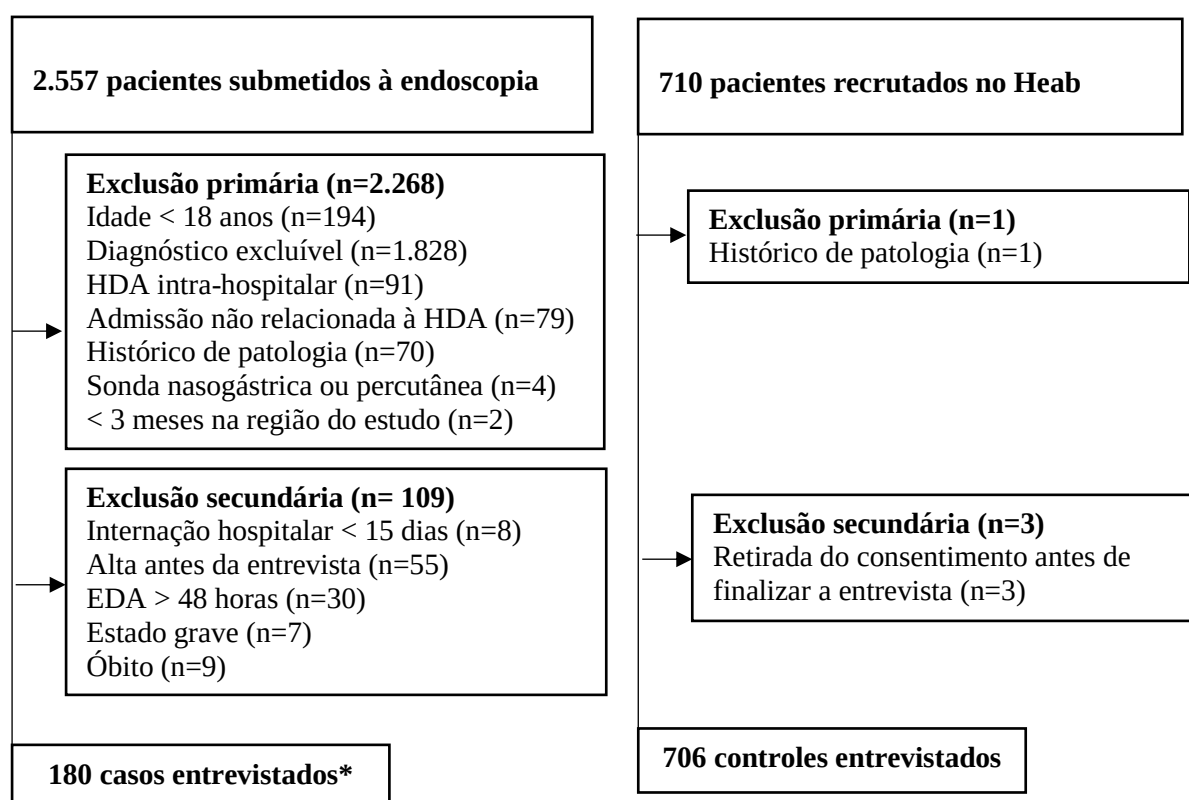
Para o rastreo e identificação de pacientes para o grupo caso, foram monitoradas diariamente todas as EDA dos pacientes admitidos na Unidade de Emergência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP). 2.883 EDA foram conduzidas no período de julho de 2016 a março de 2020, correspondendo a 2.557 pacientes, uma vez que um mesmo paciente pode ser submetido a mais de uma EDA durante a internação hospitalar.

Ao todo, foram analisados os laudos endoscópicos e prontuário médico eletrônico de 2.557 pacientes. Dos 2.557 pacientes analisados, 180 foram elegíveis para o grupo caso. Ademais, 20 pacientes que procuraram o serviço na Unidade de Urgência e Emergência e foram submetidos à intervenção cirúrgica (laparotomia exploratória) devido úlcera perforada e atenderam aos critérios de elegibilidade, foram incluídos, totalizando, portanto, 200 participantes no grupo caso. É importante destacar que os 20 participantes do grupo caso diagnosticados por meio de laparotomia exploratória não estão inseridos no universo de pacientes que foram submetidos a EDA.

Considerando que o rastreio e monitoramento diário dos laudos das EDA foi conduzido durante os 44 meses de estudo, foi possível estimar uma frequência de admissões hospitalares em decorrência de HDA secundária a doença péptica complicada em 7,1%. Durante os anos de 2017 e 2019, as frequências anuais de admissões hospitalares variaram de 9,3% a 5,7%. O artigo da frequência das admissões hospitalares relacionadas à HDA e o perfil epidemiológico dos participantes do grupo caso foi aceito nos *Arquivos de Gastroenterologia (Epidemiological profile of patients with non-variceal upper gastrointestinal bleeding secondary to peptic disease in a tertiary referral Brazilian hospital - Qualis B1)*.

Para cada caso coletado, foram recrutados os controles considerando o emparelhamento por gênero e idade. A maioria dos participantes controles era assistida pelas especialidades de oftalmologia e cirurgia geral, para cirurgias plásticas, de facectomia, pterígio e correção de hérnia. Os participantes também possuíam avaliação com anestesista para análise geral do estado de saúde e mediante alguma alteração dos parâmetros clínicos, o paciente era encaminhado ao endocrinologista para uma avaliação.

O processo de identificação, elegibilidade e recrutamento dos participantes para os grupos caso e controle, assim como os critérios de exclusão primária e secundária são apresentados no Fluxograma 1.



Legenda:

HDA: hemorragia digestiva alta;

EDA: endoscopia digestiva alta.

*180 participantes do grupo caso foram diagnosticados com HDA por meio de endoscopia digestiva alta. Os outros 20 participantes do grupo caso foram diagnosticados por laparotomia exploratória e, portanto, não estão no universo dos pacientes submetidos à endoscopia.

Fluxograma 1. Fluxograma de identificação e elegibilidade de casos diagnosticados com hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada mediante endoscopia digestiva alta (n= 180) e controles (n=706) recrutados no complexo hospitalar do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, no período de julho de 2016 a março de 2020.

Considerando o perfil epidemiológico dos participantes elegíveis neste estudo, a maioria era homem [grupo caso: 145 (72,5%) e grupo controle: 512 (72,5%)], autodeclarados brancos [grupo caso: 134 (67,3%) e grupo controle: 516 (73,5%)] e com média de idade de 60,2 ($\pm 16,3$) e 59,8 ($\pm 15,8$) anos, respectivamente. Foi observada homogeneidade, como esperado, no que concerne gênero e idade.

As comorbidades mais frequentes entre os participantes foram hipertensão arterial [grupo caso: 104 (52,0%) e grupo controle: 371 (52,5%)], diabetes *mellitus* [grupo caso: 38 (19,1%) e grupo controle: 158 (22,4%)] e dislipidemia [grupo caso: 22 (11,0%) e grupo controle: 165 (23,4%)]. Ainda, 142 casos (76,2%) e 388 controles (57,6%) eram reagentes para sorologia de *Helicobacter pylori*.

Cinquenta e um casos (25,5%) e 90 (12,7%) controles faziam o uso crônico de AAS na indicação antiagregante por pelo menos três meses e 43 (23,6%) casos e 71 (10,2%) controles fizeram o uso de AINEs nos sete dias anteriores a data índice estabelecida. Dentre os pacientes que fizeram uso de AINEs, a maior parte dos medicamentos era metabolizado pelo *CYP2C9* [29/43 (casos) e 50/71 (controles)].

Em relação aos hábitos de vida, a maioria dos participantes era abstêmio [grupo caso: 103 (51,5%) e grupo controle: 392 (55,5%)] e não tabagista [grupo caso: 136 (70,1%) e grupo controle: 580 (84,7%)]. O consumo de café foi reportado por 171 (85,5%) casos e 741 (90,8%) controles, sendo que a maioria consumia café diariamente, 79,5% e 84,8%, respectivamente.

A tabela 3 apresenta a descrição das variáveis demográficas e clínicas dos participantes casos e controles incluídos no estudo (Tabela 3).

Tabela 3. Descrição das variáveis demográficas e clínicas dos participantes casos (n=200) e controles (n=706) do complexo hospitalar do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, no período de julho de 2016 a março de 2020.

	Casos (%) n=200	Controles (%) n=706	Valor de p ^a
Variáveis demográficas			
Gênero (masculino)	145 (72,5)	512 (72,5)	0,933
Idade [média ($\pm$ DP)]	60,2 (16,3)	59,8 (15,8)	0,750
Etnia			0,104*
Branco	134 (67,0)	516 (73,1)	
Preto	65 (32,5)	186 (26,3)	
Oriental	1 (0,5)	4 (0,6)	
Consistência da entrevista			0,002*
Notas 6 e 7	91 (45,5)	223 (31,6)	

Notas 8 e 9	77 (38,5)	324 (45,9)	
Nota 10	32 (16,0)	159 (22,5)	
Escolaridade (ano)			0,237
Média (±DP)	6,3 (4,3)	6,2 (4,6)	
0 – 4	105 (52,5)	370 (52,4)	
5 – 11	67 (33,5)	248 (35,1)	
> 11	28 (14,0)	88 (12,5)	
Índice de massa corpórea kg/m² (IMC)			0,007*
IMC [média (±DP)]	24,49 (6,2)	28,21 (5,9)	
Abaixo do peso (<18)	10 (5,1)	15 (2,1)	
Normal (18-24)	80 (40,4)	197 (28,0)	
Sobrepeso (25-30)	60 (30,3)	263 (37,4)	
Obesidade I (30-35)	30 (15,2)	152 (21,6)	
Obesidade II (35-40)	13 (6,6)	55 (7,8)	
Obesidade III (>40)	5 (2,5)	21 (3,0)	
Sem conhecimento	2	3	
Histórico pessoal e familiar de doenças gastrointestinais			
Histórico familiar de úlcera	41 (21,8)	132 (22,3)	0,977
Úlcera	44 (22,1)	64 (9,1)	< 0,001*
Hemorragia	35 (17,6)	94 (13,3)	0,159*
Dispepsia	60 (30,2)	291 (41,2)	0,006*
Infecção por <i>Helicobacter pylori</i> (exame laboratorial)	142 (76,3)	388 (57,6)	< 0,001*
Infecção por <i>Helicobacter pylori</i> (auto-relato)	12 (6,0)	50 (7,0)	0,706
Morbidades			
Cardiovascular	62 (31,0)	133 (18,8)	< 0,001*
Sanguínea	3 (1,5)	41 (6,1)	0,017*
Renal	7 (3,5)	36 (5,2)	0,430
Respiratória	8 (4,0)	71 (10,1)	0,013*
Hipertensão arterial	104 (52,0)	371 (52,5)	0,954
Diabetes <i>mellitus</i>	38 (19,1)	158 (22,4)	0,370
Dislipidemia	22 (11,0)	165 (23,4)	0,001*
Depressão	20 (10,1)	81 (11,5)	0,663
Artrose	9 (4,5)	48 (6,9)	0,296
Artrite	3 (1,5)	22 (3,1)	0,364
Farmacoterapia (ATC)			
Antagonistas dos receptores de H ₂ (A02BA)	3 (1,5)	10 (1,4)	0,930
Inibidores da bomba de prótons (A02BC)	36 (18,0)	125 (17,7)	0,993
Antidepressivo (N06A)	19 (9,5)	70 (9,9)	0,968
Anticoagulante (B01A)	22 (11,0)	18 (2,5)	<0,001*
AAS na indicação antiagregante (B01AC06)	51 (25,5)	90 (12,7)	<0,001*
Dose acumulada de anti-inflamatório não esteroideal (M01A)			< 0,001*
DDD = 0	139 (76,4)	623 (89,8)	
0 > DDD ≤ 1	14 (7,7)	42 (6,1)	
1 > DDD ≤ 5	19 (10,4)	18 (2,6)	
DDD > 5	10 (5,5)	11 (1,6)	
Sem conhecimento	18	12	
Hábitos de vida			
Quantidade de tabaco consumida			< 0,001*
Sem consumo (0 cigarro)	136 (70,1)	580 (84,7)	
Consumo moderado (1 a 15 cigarros/dia)	23 (11,9)	52 (7,6)	
Consumo elevado (> 15 cigarros/dia)	35 (18,0)	53 (7,7)	
Sem conhecimento	6	21	
Quantidade de álcool consumida (média de gramas de álcool/dia)			< 0,001*

Sem consumo (0 grama)	103 (51,5)	392 (55,5)
Pouco (0 a $\leq$ 30 gramas de álcool/dia)	71 (35,5)	297 (42,1)
Moderado (30 a $\leq$ 90 gramas de álcool/dia)	25 (12,5)	14 (2,0)
Elevado (> 90 gramas/dia)	1 (0,5)	3 (0,4)
Quantidade de café consumida (média de mL de café/dia)		< 0,001*
mL=0	30 (15,0)	65 (9,2)
0 < mL $\leq$ 100	101 (50,5)	470 (66,6)
mL > 100	69 (34,5)	171 (24,2)

* Variáveis com valor de $p \leq 0,20$ e selecionadas para o modelo multivariado.

^a Valor de p representa a variável e foi obtido por meio dos testes de Qui-quadrado, com exceção da variável idade na qual foi aplicado o teste *T-student*.

AAS: ácido acetilsalicílico; ATC: *Anatomical Therapeutic Chemical*; DP: desvio padrão; DDD: dose diária definida; mL: mililitros.

Os sinais e sintomas clínicos mais relatados pelos participantes do grupo caso na admissão hospitalar foram melena [fezes escuras, pegajosas e malcheirosas (72,5%)]; hematêmese [vômitos escuros e sanguinolentos (52,0%)]; tontura (50,4%); dor epigástrica (46,5%) e queimação estomacal (40%) (Tabela 4).

Tabela 4. Frequência dos sinais e sintomas clínicos dos participantes do grupo caso (n=200) nos 30 dias anteriores a internação, complexo hospitalar do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, no período de julho de 2016 a março de 2020.

Sinais e sintomas	N [Casos (%)^a]
Fezes escuras, pegajosas e mal cheirosas	145 (72,5)
Vômitos escuros e sanguinolentos	104 (52,0)
Tontura	101 (50,5)
Dor epigástrica	93 (46,5)
Ardor/acidez/queimação estomacal	80 (40,0)
Cansaço	61 (30,5)
Palidez	47 (23,5)
Fezes com sangue	31 (15,5)
Sudorese intensa	30 (15,0)
Perda de consciência	19 (9,5)
Peso/digestão lenta	16 (8,0)

^a Pode haver sobreposição no número de pacientes no número de sinais e sintomas dos participantes do grupo controle, uma vez que um paciente pode ter mais de um sinal e sintoma simultaneamente.

N: número de participantes do grupo caso

Quanto aos achados endoscópicos dos participantes do grupo caso, 90% participantes apresentaram úlcera péptica (duodenal ou gástrica), sendo 6% de origem pré-pilórica, e 10% dos participantes tiveram apenas achados de pangastrite ou erosão gástrica. Considerando que um paciente pode ter mais de um tipo de úlcera simultaneamente, 200 achados ulcerosos foram identificados e maioria dos achados foram classificados como Forrest IIa (62 úlceras com sangramento recente) e III (86 úlceras sem sangramento recente).

39 participantes do grupo caso foram submetidos à hemostasia endoscópica, tendo sido realizado os procedimentos de escleroterapia (n = 38) e hemoclipe endoscópico (n = 1). Quinze

participantes tiveram episódio de ressangramento e quatro pacientes foram a óbito durante a hospitalização.

(III) Análise genética

Foi realizada a genotipagem de dez polimorfismos de nucleotídeo único propostos para os 200 casos e 706 controles incluídos no estudo, além da análise da repetição em série de número variável (VNTR) no íntron 4 da *eNOS* por meio da análise de fragmentos. Os resultados foram analisados, tabulados e digitados no RedCap.

Todas as variantes atenderam ao Equilíbrio de *Hardy-Weinberg*. A descrição das frequências genóticas das variantes analisadas e o p-valor do Equilíbrio de *Hardy-Weinberg* está descrito na tabela 5 (Tabela 5).

Tabela 5. Descrição da frequência dos genótipos dos polimorfismos de nucleotídeo único nos genes *PTGS1*, *NOS3*, *CYP2C9*, *ABCB1*, *VKORC1* e repetição em série de número variável (VNTR) do íntron 4 da *eNOS* e as respectivas análises de Equilíbrio de *Hardy-Weinberg* entre casos e controles recrutados no complexo hospitalar do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, no período de julho de 2016 a março de 2020.

	Caso Frequência n(%)	Controle Frequência n(%)
Gene <i>PTGS1</i>		
rs1330344 (C > T)		
CC	28 (14,2)	69 (9,8)
CT	82 (41,6)	274 (38,9)
TT	87 (44,2)	362 (51,3)
p-valor	0,2302	0,1088
rs3842787 (C > T)		
CC	157 (79,3)	577 (81,8)
CT	40 (20,2)	124 (17,6)
TT	1 (0,5)	4 (0,6)
p-valor	0,3576	0,3335
rs10306114 (A > G)		
AA	161 (83,9)	631 (91,2)
AG	30 (15,6)	60 (8,7)
GG	1 (0,5)	1 (0,1)
p-valor	0,7528	0,7298
rs5788 (C > A)		
CC	102 (52,3)	422 (60,4)
AC	76 (39,0)	235 (33,6)
CC	17 (8,7)	42 (6,0)
p-valor	0,5989	0,2287
Gene <i>CYP2C9</i>		
*1/*1	131 (66,8)	430 (62,6)
*1/*2	26 (37,7)	91 (13,2)
*2/*2	1 (0,8)	5 (0,7)
*1/*3	33 (15,6)	133 (19,4)
*3/*3	2 (1,0)	10 (1,5)
*2/*3	3 (1,4)	18 (2,6)

p-valor	0,9953	0,8353
Gene NOS3		
rs2070744 (C > T)		
CC	38 (19,5)	141 (20,2)
CT	88 (45,1)	321 (46,1)
TT	69 (35,4)	235 (33,7)
p-valor	0,3012	0,1025
rs1799983 (G > T)		
GG	92 (47,4)	359 (51,4)
GT	87 (44,8)	277 (39,6)
TT	15 (7,7)	63 (9,0)
p-valor	0,3681	0,3650
Gene ABCB1		
rs1045642 (A > G)		
AA	42 (21,2)	167 (23,8)
AG	96 (48,5)	323 (46,0)
GG	60 (30,3)	210 (30,2)
p-valor	0,7545	0,0514
Gene VKORC1		
rs9923231 (C > T)		
CC	85 (43,6)	259 (37,5)
CT	85 (43,6)	321 (46,5)
TT	25 (12,8)	110 (15,9)
p-valor	0,6050	0,5275
Repetição em série de número variável (VNTR) do íntron 4 da eNOS		
4b	132 (68,4)	473 (67,1)
4a	55 (28,5)	209 (29,6)
4b/4a	6 (3,1)	23 (3,3)
p-valor	0,9259	0,9881

N: número de participantes

O p-valor apresentado foi obtido por meio do teste de Equilíbrio de *Hardy-Weinberg*.

(IV) Fatores associados a HDA

Construção do modelo estatístico de regressão logística binária

Todas as variáveis de confundimento do estudo foram testadas por meio de uma análise bivariada para avaliar a influência isolada de cada uma delas no risco de HDA, seja positiva ou negativamente (fator de proteção ou risco), como apresentado na tabela 3.

As variáveis que apresentaram p-valor $\leq 0,20$ para serem incluídas na construção do modelo de regressão logística foram: etnia; índice de massa corpórea; consistência da entrevista; histórico prévio de úlcera, hemorragia e dispepsia; sorologia reagente para *Helicobacter pylori*; doenças cardiovasculares, sanguínea e respiratória; dislipidemia; uso de anticoagulantes, AAS, uso de AINEs; quantidade de tabaco, álcool e café consumida.

Considerando essas variáveis, foram delineados dois modelos de regressão logística binária considerando as dez variantes genéticas do tipo polimorfismo de nucleotídeo único estratificadas em homozigoto para o alelo selvagem, heterozigoto e homozigoto para o alelo variante, e em homozigoto

para o alelo selvagem e presença da variação genética agrupando heterozigoto e homozigoto para o alelo variante; e um terceiro modelo de regressão logística considerando apenas a repetição em série de número variável (VNTR) do íntron 4 da *eNOS*.

Apresentação dos modelos estatísticos de regressão logística binária

No modelo de regressão logística binária nenhuma das dez variantes do tipo polimorfismo de nucleotídeo único foi associada ao risco de HDA (Tabelas 6 e 7). No entanto, foram identificadas variáveis associadas ao risco e a proteção de HDA.

Foram identificadas as seguintes variáveis como fatores de risco para HDA: histórico pessoal prévio de úlcera (p-valor: < 0,001); sorologia reagente para *Helicobacter pylori* (p-valor: 0,029); uso de anticoagulantes (p-valor: < 0,001), AAS (p-valor: < 0,001) e AINEs (p-valor: < 0,001); consumo elevado de tabaco (> 15 tabacos/dia) (p-valor: < 0,001); e consumo > 30 gramas de álcool/dia (p-valor: < 0,001).

Como fatores de proteção para HDA foram identificadas as variáveis: índice de massa corpórea acima do peso (p-valor: 0,010); histórico pessoal prévio de dispepsia (p-valor: < 0,001); doença sanguínea (p-valor: 0,025) e respiratória (p-valor: 0,004); dislipidemia (p-valor <0,001); e consumo de até 100 mL de café (p-valor: 0,005).

Tabela 6. Razão de chances de hemorragia digestiva alta secundária à úlcera péptica complicada após modelo de regressão logística binária multivariado considerando as variantes genéticas estratificadas em homozigoto para o alelo selvagem, heterozigoto e homozigoto para o alelo variante.

Variável	REGRESSÃO LOGÍSTICA			
	OR	IC95%		p-valor
		Inferior	Superior	
Etnia				
Branco	1,000	-	-	-
Preto	1,170	0,673	2,033	0,579
Oriental	4,851	0,416	56,509	0,207
Índice de massa corpórea kg/m² (IMC)				
Normal (referência)	1,000	-	-	-
Abaixo do peso	1,090	0,292	4,068	0,898
Acima do peso	0,509	0,306	0,849	0,010*
Consistência da entrevista				
Notas 6 e 7 (referência)	1,000	-	-	0,325
Notas 8 e 9	0,667	0,397	1,121	0,127
Nota 10	0,694	0,343	1,402	0,308
Histórico pessoal de doenças gastrointestinais				
Úlcera	3,644	1,706	7,786	<0,001*
Hemorragia	1,469	0,732	2,948	0,279
Dispepsia	0,391	0,224	0,683	<0,001*

<i>Helicobacter pylori</i> (reagente)	1,780	1,061	2,986	0,029*
Comorbidades				
Doença cardiovascular	1,375	0,712	2,655	0,343
Doença sanguínea	0,125	0,020	0,774	0,025*
Doença respiratória	0,168	0,051	0,560	0,004*
Dislipidemia	0,205	0,094	0,447	< 0,001*
Consumo de tabaco				
Não tabagista (0 cigarros)	1,000	-	-	-
Consumo moderado (1 a 15 cigarros)	1,681	0,777	3,641	0,187
Consumo elevado (acima de 15 cigarros)	2,260	1,096	4,661	0,027*
Consumo de álcool				
Abstêmio (0 grama)	1,000	-	-	-
0 < gramas álcool/dia ≤ 30	0,801	0,483	1,328	0,389
> 30 gramas álcool/dia	6,647	2,410	18,331	< 0,001*
Consumo de café				
Sem consumo (mL=0)	1,000	-	-	-
0 < mL ≤ 100	0,339	0,159	0,720	0,005*
mL > 100	0,728	0,323	1,639	0,444
Farmacoterapia em uso				
Anticoagulante	11,193	3,571	35,084	< 0,001*
Ácido acetilsalicílico	4,100	2,035	8,259	< 0,001*
Anti-inflamatório não esteroideal				
DDD = 0	1,000	-	-	-
0 < DDD ≤ 1	9,891	3,839	25,485	< 0,001*
1 < DDD ≤ 5	5,716	1,824	17,911	0,003*
DDD > 5	11,193	3,571	35,084	< 0,001*
Polimorfismos de nucleotídeo único^a				
Gene <i>PTGS1</i>				
rs1330344 (C > T)				
CT	0,628	0,292	1,347	0,232
TT	0,528	0,242	1,151	0,108
rs3842787 (C > T)				
CT	0,783	0,359	1,709	0,540
TT	-	-	-	_b
rs10306114 (A > G)				
AG	2,194	0,921	5,229	0,076
GG	-	-	-	_c
rs5788 (C > A)				
CA	0,843	0,505	1,408	0,514
AA	0,563	0,204	1,548	0,265
Gene <i>NOS3</i>				
rs2070744 (C > T)				
CT	0,844	0,442	1,610	0,607
TT	0,981	0,489	1,966	0,956
rs1799983 (G > T)				
GT	1,298	0,750	2,249	0,352
TT	1,803	0,774	4,198	0,172
Gene <i>CY2PC9</i>				
*1/*1	1,000	-	-	-
*1/*2	0,451	0,186	1,092	0,077

*2/*2	1,140	0,086	15,106	0,921
*1/*3	1,049	0,574	1,917	0,876
*3/*3	1,169	0,129	10,624	0,890
*2/*3	0,302	0,030	3,091	0,313
Gene ABCB1				
rs1045642 (A > G)				
AG	1,113	0,598	2,073	0,736
GG	1,042	0,527	2,060	0,905
Gene VKORC1				
rs9923231 (C > T)				
CT	0,813	0,487	1,359	0,430
TT	0,623	0,294	1,320	0,217
Constante	0,819			0,796

OR: *odds ratio*, IC: intervalo de confiança

^a Para as variantes genéticas avaliadas, a categoria homozigoto para o alelo selvagem é a categoria de referência.

^b Não foi possível conduzir a análise com a categoria homozigoto para alelo variante devido ao reduzido número amostral (um participante caso e quatro participantes controle).

^c Não foi possível conduzir a análise com a categoria homozigoto para alelo variante devido ao reduzido número amostral (um participante caso e um participante controle).

*Significância estatística

Medidas de qualidade e de ajuste do modelo:

- 2log de verossimilhança: 499,352

R² de Nagelkerke: 0,420

Teste de Hosmer e Lemeshow: 0,825

Na tabela 7 é apresentado o modelo de regressão logística considerando as variantes genéticas categorizadas em homozigoto para o alelo selvagem e presença da variante genética (agrupamento dos participantes heterozigoto e homozigoto para o alelo variante). Não foi identificada alteração na significância estatística de nenhuma das variáveis analisadas quando comparado ao modelo com as variantes genéticas estratificadas em três categorias: homozigoto para o alelo selvagem, heterozigoto e homozigoto para o alelo variante (Tabela 7).

Tabela 7. Razão de chances de hemorragia digestiva alta secundária à úlcera péptica complicada após modelo de regressão logística binária multivariado considerando as variantes genéticas estratificadas em homozigoto para o alelo selvagem e presença da variação genética agrupando heterozigoto e homozigoto para o alelo variante.

Variável	REGRESSÃO LOGÍSTICA			
	OR	IC95%		p-valor
		Inferior	Superior	
Etnia				
Branco	1.000	-	-	-

Preto	1,207	0,700	2,081	0,499
Oriental	4,626	0,422	50,759	0,210
Índice de massa corpórea kg/m² (IMC)				
Normal (referência)	1,000	-	-	-
Abaixo do peso	0,956	0,258	3,536	0,946
Acima do peso	0,514	0,310	0,850	0,010*
Consistência da entrevista				
Notas 6 e 7 (referência)	1,000	-	-	0,325
Notas 8 e 9	0,684	0,410	1,142	0,147
Nota 10	0,712	0,355	1,428	0,339
Histórico pessoal de doenças gastrointestinais				
Úlcera	3,411	1,621	7,179	< 0,001*
Hemorragia	1,455	0,724	2,923	0,292
Dispepsia	0,415	0,241	0,714	< 0,001*
<i>Helicobacter pylori</i> (reagente)	1,776	1,068	2,954	0,027*
Comorbidades				
Doença cardiovascular	1,434	0,750	2,741	0,276
Doença sanguínea	0,117	0,019	0,733	0,022*
Doença respiratória	0,186	0,058	0,595	0,005*
Dislipidemia	0,205	0,095	0,441	< 0,001*
Consumo de tabaco				
Não tabagista (0 cigarros)	1,000	-	-	-
Consumo moderado (1 a 15 cigarros)	1,790	0,837	3,829	0,134
Consumo elevado (acima de 15 cigarros)	2,203	1,083	4,485	0,029*
Consumo de álcool				
Abstêmio (0 grama)	1,000	-	-	-
0 < gramas álcool/dia ≤ 30	0,797	0,483	1,317	0,377
> 30 gramas álcool/dia	6,001	2,223	16,203	< 0,001*
Consumo de café				
Sem consumo (mL=0)	1,000	-	-	-
0 < mL ≤ 100	0,358	0,171	0,750	0,006*
mL > 100	0,769	0,349	1,695	0,515
Farmacoterapia em uso				
Anticoagulante	10,962	3,587	33,502	< 0,001*
Ácido acetilsalicílico	3,925	1,974	7,806	< 0,001*
Anti-inflamatório não esteroideal				
DDD = 0	1,000	-	-	-
0 < DDD ≤ 1	2,872	1,159	7,117	0,023*
1 < DDD ≤ 5	10,065	3,932	25,763	< 0,001*
DDD > 5	5,882	1,897	18,237	0,002*
Polimorfismos de nucleotídeo único^a				
Gene PTGS1				
rs1330344 (CT + TT)	0,639	0,313	1,303	0,218
rs3842787 (CT + TT)	0,756	0,347	1,647	0,482
rs10306114 (AG + GG)	2,205	0,959	5,070	0,063
rs5788 (CA + AA)	0,804	0,494	1,307	0,378
Gene NOS3				
rs2070744 (CT + TT)	0,832	0,466	1,484	0,534
rs1799983 (GT + TT)	1,280	0,798	2,052	0,306
Gene CY2PC9				
*1/*1	1,000	-	-	-
*1/*2	0,486	0,206	1,148	0,100

*2/*2	1,344	0,098	18,404	0,825
*1/*3	1,064	0,587	1,930	0,838
*3/*3	0,548	0,053	5,621	0,613
*2/*3	0,329	0,034	3,202	0,338
Gene ABCB1				
rs1045642 (AG + GG)	1,053	0,589	1,884	0,861
Gene VKORC1				
rs9923231 (CT + TT)	0,780	0,482	1,262	0,311
Constante	0,764	-	-	-

OR: *odds ratio*, IC: intervalo de confiança

^a Para as variantes genéticas avaliadas, a categoria homozigoto para o alelo selvagem é a categoria de referência.

*Significância estatística

Medidas de qualidade e de ajuste do modelo:

- 2log de verossimilhança: 494,972

R² de Nagelkerke: 0,427

Teste de Hosmer e Lemeshow: 0,101

A presença da variante repetição em série de número variável (VNTR) do íntron 4 da *eNOS* também não foi associada ao risco de HDA (Tabela 8).

Tabela 8. Modelo de regressão logística para avaliar a influência da repetição em série de número variável (VNTR) do íntron 4 da *eNOS* e o risco de hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada.

Variável	REGRESSÃO LOGÍSTICA			
	OR	IC95%		p-valor
		Inferior	Superior	
Etnia				
Branco (referência)	1,000	-	-	-
Preto	1,211	0,745	1,967	0,440
Oriental	4,204	0,412	42,883	0,226
Índice de massa corpórea kg/m² (IMC)				
Normal (referência)	1,000	-	-	-
Abaixo do peso	1,149	0,347	3,802	0,820
Acima do peso	0,593	0,374	0,939	0,026*
Consistência da entrevista				
Notas 6 e 7 (referência)	1,000	-	-	0,325
Notas 8 e 9	0,696	0,434	1,118	0,134
Nota 10	0,755	0,412	1,382	0,361
Histórico pessoal de doenças gastrointestinais				
Úlcera	3,996	2,072	7,707	< 0,001*
Hemorragia	1,458	0,786	2,705	0,231
Dispepsia	0,402	0,244	0,662	< 0,001*
Helicobacter pylori (reagente)	2,025	1,272	3,225	0,003*
Comorbidades				
Doença cardiovascular	1,550	0,870	2,761	0,137
Doença sanguínea	0,161	0,031	0,832	0,029*
Doença respiratória	0,240	0,080	0,714	0,010*

Dislipidemia	0,238	0,119	0,476	< 0,001*
Consumo de tabaco				
Não tabagista (0 cigarros)	1,000	-	-	-
Consumo moderado (1 a 15 cigarros)	1,816	0,908	3,630	0,092
Consumo elevado (acima de 15 cigarros)	2,098	1,086	4,052	0,027*
Consumo de álcool				
Abstêmio (0 grama)	1,000	-	-	-
0 < gramas álcool/dia ≤ 30	0,910	0,581	1,425	0,680
> 30 gramas álcool/dia	5,222	2,195	12,424	< 0,001*
Consumo de café				
Sem consumo (mL=0)	1,000	-	-	-
0 < mL ≤ 100	0,440	0,229	0,845	0,014*
mL > 100	0,800	0,395	1,620	0,535
Farmacoterapia em uso				
Anticoagulante	7,285	2,805	18,919	< 0,001*
Ácido acetilsalicílico	3,713	1,990	6,930	< 0,001*
Anti-inflamatório não esteroideal				
DDD = 0	1,000	-	-	-
0 < DDD ≤ 1	2,873	1,159	7,122	0,023*
1 < DDD ≤ 5	10,070	3,934	25,778	< 0,001*
DDD > 5	5,880	1,896	18,242	0,002*
Repetição em série de número variável (VNTR) do íntron 4 da eNOS^a				
4b/b	1,000	-	-	-
4 b/4a	1,127	0,708	1,794	0,615
4 a/a	0,896	0,262	3,066	0,861
4 b/4a + 4 a/a	1,103	0,702	1,734	0,670

^a Para a variante genéticas avaliada, a categoria homozigoto para o alelo selvagem é a categoria de referência (4b/b).

OR: *odds ratio*, IC: intervalo de confiança

Medidas de qualidade e de ajuste do modelo:

- 2log de verossimilhança: 580,723

R² de Nagelkerke: 0,368

Teste de Hosmer e Lemeshow: 0,610

Considerando as análises de interação multiplicativa entre a presença das variantes genéticas e o uso de AAS, as variantes rs3842787, rs5788 e alelos *2 e *3 do gene *CYP2C9* não foram associadas ao risco de HDA (Tabela 9).

Tabela 9. Modelo de regressão logística para as variantes genéticas localizadas nos genes *PTGS1*, *NOS3*, *CYP2C9*, *ABCB1* e *VKORC1* considerando interação multiplicativa com o uso de usuários de ácido acetilsalicílico (AAS) e o risco de hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada.

N		OR	IC95%		p-valor ^{a,b}
Caso/Controle			Inferior	Superior	
Gene <i>PTGS1</i>					
rs1330344					
CT	22/31	5,763	2,509	13,236	< 0,001*
TT	26/52	2,714	1,279	5,758	0,009*
genótipos CT + TT	48/83	3,733	2,003	6,956	< 0,001*
rs3842787					
CT	10/15	2,429	0,817	7,219	0,110

TT	1/0	-	-	-	- ^c
genótipos CT + TT	11/15	2,561	0,882	7,442	0,084
rs10306114					
AG	8/10	3,959	1,199	13,079	0,024*
GG	1/0	-	-	-	- ^c
genótipos AG + GG	9/10	4,158	1,281	13,497	0,018*
rs5788					
CA	18/33	1,831	0,763	4,397	0,176
AA	3/8	1,586	0,339	7,420	0,558
genótipos CA + AA	21/41	1,771	0,811	3,866	0,151
Gene NOS3					
rs2070744 (C > T)					
CT	27/39	4,008	1,843	8,717	< 0,001*
TT	16/30	3,203	1,295	7,921	0,012*
genótipos CT + TT	43/69	3,661	1,904	7,040	< 0,001*
rs1799983 (G > T)					
GT	26/29	4,547	2,106	9,820	< 0,001*
TT	2/9	2,154	0,300	15,434	0,445
genótipos GT + TT	28/38	4,218	2,000	8,895	< 0,001*
Gene CYP2C9					
*1/*1	34/54	1,000	-	-	-
*1/*2	7/11	0,959	0,242	3,802	0,953
*2/*2	0/1	-	-	-	- ^d
*1/*3	10/19	1,742	0,636	4,769	0,280
*3/*3	0/2	-	-	-	- ^d
*2/*3	0/3	-	-	-	- ^c
Gene ABCB1					
rs1045642 (A > G)					
AG	21/48	2,536	1,159	5,549	0,020*
GG	18/25	3,761	1,498	9,446	0,005*
genótipos AG + GG	39/73	2,958	1,539	5,685	< 0,001*
Gene VKORC1					
rs9923231 (C > T)					
CT	17/38	2,931	1,328	6,468	0,008*
TT	5/14	0,788	0,135	4,599	0,792
genótipos CT + TT	22/52	2,370	1,114	5,045	0,025*
Repetição em série de número variável (VNTR) do íntron 4 da eNOS					
4 b/b	33/57	1,000	-	-	-
4 a/b	16/29	2,789	1,202	6,473	0,017*
4 a/a	0/4	-	-	-	- ^e
Genótipos 4 a/b + 4a/a	16/33	2,441	1,068	5,578	0,034*

^a Para as variantes genéticas avaliadas, a categoria homozigoto para o alelo selvagem é a categoria de referência.

^b Análise ajustada para etnia; índice de massa corpórea; consistência da entrevista; histórico prévio de úlcera, hemorragia e dispepsia; sorologia reagente para *Helicobacter pylori*; doenças cardiovasculares, sanguínea e respiratória; dislipidemia; uso de anticoagulantes e AINEs; quantidade de tabaco consumida; quantidade de álcool consumida e quantidade de café consumida.

^c Não foi possível conduzir a análise com a categoria homozigoto para alelo variante devido ao reduzido número amostral (um participante caso).

^d Não foi possível conduzir a análise de interação multiplicativa com os carreadores dos alelos *2/*2, *2/*3 e *3/*3 e uso de AAS devido ao reduzido número amostral dessas categorias.

^e Não foi possível conduzir a análise de interação multiplicativa com os carreadores dos alelos 4 a/a da repetição em série de número variável (VNTR) do íntron 4 da *eNOS* e uso de AAS devido ao reduzido número amostral dessa categoria (quatro participantes controle).

N: número; OR: *odds ratio*, IC: intervalo de confiança.

Considerando as análises de interação multiplicativa entre a presença das variantes genéticas e o uso de AINEs, todas as variantes avaliadas neste estudo foram associadas ao risco de HDA (Tabela 10).

Tabela 10. Modelo de regressão logística para as variantes genéticas localizadas nos genes *PTGS1*, *NOS3*, *CYP2C9*, *ABCB1* e *VKORC1* considerando interação multiplicativa com o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e o risco de hemorragia digestiva alta secundária à doença péptica complicada.

	N	OR	IC95%		p-valor ^{a,b}
	Caso/Controle		Inferior	Superior	
Gene <i>PTGS1</i>					
rs1330344 (C > T)					
CT	17/30	5,743	2,567	12,851	0,024*
TT	15/35	2,472	1,110	5,505	0,027*
genótipos CT + TT	32/65	3,703	2,059	6,663	< 0,001*
rs3842787 (C > T)					
CT	8/13	5,690	1,861	17,393	0,002*
TT	0/0	-	-	-	- ^c
genótipos CT + TT	8/13	5,690	1,861	17,393	0,002*
rs10306114 (A > G)					
AG	5/8	5,695	1,469	22,073	0,012*
GG	0/0	-	-	-	- ^c
genótipos AG + GG	5/8	5,695	1,469	22,073	0,012*
rs5788 (C > A)					
CA	12/23	2,383	0,983	5,777	0,055
AA	4/5	4,216	0,845	21,037	0,079
genótipos CA + AA	16/28	2,714	1,251	5,888	0,012*
Gene <i>NOS3</i>					
rs2070744 (C > T)					
CT	15/35	2,503	1,131	5,540	0,024*
TT	16/15	10,988	4,254	28,381	< 0,001*
genótipos CT + TT	31/50	4,430	2,375	8,267	< 0,001*
rs1799983 (G > T)					
GT	17/23	4,571	2,014	10,373	< 0,001*
TT	5/4	37,069	5,673	242,218	< 0,001*
genótipos GT + TT	22/27	6,532	3,103	13,747	< 0,001*
Gene <i>CYP2C9</i>					
*1/*1	22/41	1,000	-	-	-
*1/*2	9/11	6,563	2,071	20,804	0,001*
*2/*2	0/1	-	-	-	- ^d
*1/*3	10/13	5,597	1,910	16,404	0,002*
*3/*3	0/1	-	-	-	- ^d

*2/*3	0/2	-	-	-	- ^d
Gene ABCB1					
rs1045642 (A > G)					
AG	21/28	5,030	2,413	10,484	< 0,001*
GG	12/23	3,887	1,641	9,204	0,002*
(genótipos AG + GG)	33/51	4,520	2,508	8,145	< 0,001*
Gene VKORC1					
rs9923231 (C > T)					
CT	16/31	5,207	2,410	11,250	< 0,001*
TT	5/12	4,521	1,356	15,068	0,014*
genótipos CT + TT	21/43	5,009	2,549	9,842	< 0,001*
Repetição em série de número variável (VNTR) do íntron 4 da eNOS					
4 b/b	26/40				
4 a/b	12/26	3,878	1,621	9,281	0,002*
4 a/a	1/5	2,172	0,219	21,505	0,507
Genótipos 4 a/b + 4a/a	13/31	3,600	1,579	8,208	< 0,001*

^a Para as variantes genéticas avaliadas, a categoria homozigoto para o alelo selvagem é a categoria de referência.

^b Análise ajustada para etnia; índice de massa corpórea; consistência da entrevista; histórico prévio de úlcera, hemorragia e dispepsia; sorologia reagentes para *Helicobacter pylori*; doenças cardiovasculares, sanguínea e respiratória; dislipidemia; uso de anticoagulantes e AAS; quantidade de tabaco consumida; quantidade de álcool consumida e quantidade de café consumida.

^c Não foi possível conduzir a análise com a categoria homozigoto para alelo variante devido à ausência de participantes.

^d Não foi possível conduzir a análise de interação multiplicativa com os carreadores dos alelos *2/*2, *2/*3 e *3/*3 e uso de AINEs devido ao reduzido número amostral dessas categorias.

N: número; OR: odds ratio, IC: intervalo de confiança.

Foi redigido um artigo incluindo as variantes genéticas do gene *PTGS1* e *NOS3* e o manuscrito foi aceito para publicação na *Frontiers in Pharmacology* (JCR: 4,225) (doi: 10.3389/fphar.2021.671835).

6) DISCUSSÃO

A discussão está apresentada em quatro seções, sendo: (I) revisão sistemática das variantes genéticas envolvidas no risco de HDA; (II) perfil epidemiológico dos participantes do grupo caso; e (III) variáveis epidemiológicas, clínicas e hábitos de vida associadas ao risco de HDA e (IV) variáveis genéticas associadas ao risco de HDA.

(I) Revisão sistemática das variantes genéticas envolvidas no risco de HDA

Foram elegíveis 17 estudos que avaliaram a influência das variantes genéticas no risco de HDA, sendo que apenas um estudo foi conduzido em um país em desenvolvimento (Túquia). Nesse contexto, é necessário refletir o porquê apenas um estudo foi conduzido em país em desenvolvimento e fatores como falta de estrutura, alto custo das análises e até mesmo a miscigenação da população podem ser barreiras importantes na implementação e manutenção da farmacogenética (KLEIN; PARVEZ; SHIN, 2017; VERBELEN; WEALE; LEWIS, 2017).

Apenas seis estudos definiram claramente o desfecho como HDA de etiologia não varicosa e esses estudos identificaram associação do risco de HDA na presença de variantes genéticas nos genes *NOS3*, *PTGS1*; *PTGS2*; *PLA2G7*; *GP1BA*; *GRS*; *IL1RN*; *F13A1*; *CDKN2B-AS1*; *DPP6*; *TBXA2R*; *TNF-alfa*; *VKORC1*; *CYP2C9*; e *AGT*; e o risco de HDA (FORGERINI et al., 2021a).

A heterogeneidade na definição do desfecho é importante, uma vez que a maioria dos estudos identificados se propôs avaliar o risco de HDA em usuários de medicamentos (13/17) e se sabe que a etiologia varicosa muitas vezes está associada à doenças hepáticas crônicas e hipertensão portal e não à úlcera péptica (LANAS et al., 2018).

Oito estudos (8/17) apresentaram ao menos uma falha metodológica no que se refere a falta de reporte claro a respeito do processo de recrutamento e emparelhamento dos participantes, a não identificação de variáveis de confusão importantes assim como o ajuste dessas variáveis durante as análises estatísticas; e como foi mensurado o uso de AAS e AINEs entre os estudos que propuseram avaliar HDA em usuários de medicamentos.

As variantes genéticas associadas ao risco de HDA identificadas na revisão são localizadas em genes que desempenham um importante papel na ativação e agregação plaquetária, angiogênese, processos inflamatórios e metabolismo de medicamentos, o que pode explicar como essas variantes genéticas podem estar envolvidas na fisiopatologia da HDA.

Variantes localizadas nos genes *TXBA2R*, *PLA2G7*, *DPP6* e *GRS*, por exemplo, foram associadas às diferenças interindividuais na ativação plaquetária em diabéticos usuários de AAS (POSTULA et al., 2011), enquanto que variantes nos genes *F13A1* e *GP1BA* foram associadas à diferentes respostas idiossincráticas em usuários de AAS (GOODMAN; FERRO; SHARMA, 2008).

Considerando a angiogênese e a resposta inflamatória, o gene *AGT* desempenha um papel importante na vasoconstrição, regulação do equilíbrio de eletrólitos e remodelação vascular, e o gene *TNF-alfa* e *IL1RN* possuem atividade pró-inflamatória e regulam a acidez gástrica e mantém a integridade da mucosa gástrica (ROBERT et al., 1991; SERRANO et al., 1997).

No que concerne o metabolismo de medicamentos, o gene *CYP2C9* é o mais estudado por ser um fator preditivo na dose de manutenção da varfarina e por ser responsável por metabolizar uma gama de AINEs (INTERNATIONAL WARFARIN PHARMACOGENETICS CONSORTIUM, 2009; KRISHNA KUMAR et al., 2014). De fato, a presença dos alelos *2 e *3 foi associada ao risco de HDA em usuários de AINEs, por configurarem variantes de metabolismo lento (FIGUEIRAS et al., 2016; PILOTTO et al., 2007).

O gene *VKORC1* também desempenha um papel importante na resistência ou sensibilidade a varfarina, pois codifica a enzima alvo desse medicamento (RIEDER et al., 2005), e a presença de homozigose para o alelo variante em usuários de AAS/AINEs foi associada a um aumento no risco de HDA em cerca de oito vezes (GROZA et al., 2017).

Nesse contexto, alguns *guidelines* internacionais incorporaram a análise de variantes genéticas nos genes *CYP2C9* e *VKORC1* em usuários de varfarina e AINEs, o que pode reduzir a incidência de sangramentos e promover a segurança do paciente (JOHNSON et al., 2011; SWEN et al., 2011). No entanto, esses *guidelines* não são realidade em muitos países e além de variantes nesses dois genes em questão, se sabe de outras potenciais variantes a serem analisadas a depender da farmacoterapia em uso pelo paciente.

Além dos aspectos de qualidade metodológica serem importantes, a inferência dos achados também deve ser levada em consideração. Primeiramente, a maioria dos estudos incluídos foi conduzida nos continentes Europeu e Asiático e a influência da etnia na frequência das variantes genéticas é bem documentada (LI et al., 2011; RAMOS et al., 2014); e se sabe a dificuldade de extrapolação desses achados para populações miscigenadas como o Brasil.

(II) Perfil epidemiológico dos participantes do grupo caso

Considerando o processo de identificação dos participantes do grupo caso por meio do rastreio e monitoramento das EDA ao longo de 44 meses, foi possível estimar que sete a cada cem pacientes hospitalizados e submetidos à EDA foram diagnosticados com HDA secundária à doença péptica complicada (FORGERINI et al., 2021c). No entanto, os nossos dados não podem ser extrapolados para um cálculo de incidência pois os participantes do grupo caso foram recrutados de um único complexo hospitalar.

A comparação desse achado com os da literatura é dificultosa, pois os estudos que avaliaram a frequência de admissões hospitalares e/ou incidência de HDA não varicosa são limitados, uma vez que a maioria dos estudos inclui pacientes com a etiologia varicosa (DANIS et al., 2019; LEERDAM et

al., 2003; VAN LEERDAM, 2008). Entretanto, ainda que esses estudos estimaram a incidência de HDA incluindo outras etiologias, se observa que a doença péptica é a etiologia mais prevalente.

Quan *et al.* (2014) conduziram um estudo populacional no Canadá utilizando bases de dados do sistema de saúde público e identificaram 7.079 hospitalizações em decorrência de HDA secundária à doença péptica complicada durante os anos de 2004 a 2010. Apesar de não ser possível comparar o número de hospitalizações reportado com o identificado em nosso estudo, a maioria dos participantes diagnosticados com HDA era do gênero masculino (61,0%), idoso (60,8%) e possuía pelo menos uma comorbidade (57,4%) (QUAN *et al.*, 2014), o que corrobora com o perfil epidemiológico dos participantes elegíveis para o grupo caso. De fato, a literatura internacional tem reportado a influência do gênero masculino e da idade avançada no risco de HDA de etiologia não varicosa (GROZA *et al.*, 2017; LANAS *et al.*, 2018; WANG, 2019).

Identificamos somente um estudo nacional que reportou admissões hospitalares em decorrência de HDA de etiologia não varicosa. O estudo foi conduzido em uma unidade de emergência durante 12 meses e 65 pacientes foram diagnosticados com HDA durante esse período (HARO; FEY, 2010). No entanto, apesar da relevante discussão clínica dos autores, não está claro qual é o universo da pesquisa, o processo de identificação dos pacientes com diagnóstico de HDA e foram incluídos participantes com neoplasia, síndrome de *Mallory Weiss* e outras etiologias que não caracterizam HDA secundária à doença péptica complicada, o que também inviabiliza a comparação do número de internações reportado com o identificado em nosso estudo.

A maioria dos participantes incluídos no estudo nacional conduzido por Haro e Fey também era do gênero masculino, idoso (> 60 anos) e branco, corroborando com os dados demográficos identificados em nosso estudo (HARO; FEY, 2010). Vale ressaltar que não foram reportadas outras variáveis epidemiológicas e clínicas importantes, como histórico prévio de doenças gastrointestinais, comorbidades coexistentes e uso de medicamentos.

Nesse contexto, a avaliação detalhada do perfil epidemiológico dos pacientes com diagnóstico de HDA é um dado epidemiológico relevante, pois pode subsidiar o planejamento e a operacionalização dos serviços de saúde, uma vez que a HDA está associada ao aumento da procura do serviço e custos (e.g., hospitalizações e readmissões hospitalares), necessidade de intervenções cirúrgicas, além de alta morbidade e mortalidade intra-hospitalar (JAIRATH *et al.*, 2012b; QUAN *et al.*, 2014).

Tendo em vista que o processo de cuidado e de tomada de decisão no manejo dos pacientes com diagnóstico de HDA é complexo (FRANCO *et al.*, 2015), conhecer o perfil epidemiológico desses pacientes também pode colaborar na tomada de decisão para a prevenção desse problema de saúde. Durante a anamnese do paciente em um serviço de saúde a nível ambulatorial, por exemplo, podem ser implementadas estratégias para identificar pacientes com maior risco de desenvolver HDA. Nessa anamnese poderiam ser avaliadas variáveis epidemiológicas, clínicas e hábitos de vida, tais como uso

histórico pessoal de úlcera e hemorragia gastrointestinal; uso de medicamentos especialmente os de caráter gastroerosivo; e o consumo de álcool e tabaco.

Em relação à frequência de admissões por HDA secundária à doença péptica complicada identificada ao longo do estudo, se observa uma redução da frequência de admissões (9,3% - 5,7%). Essa redução pode ser justificada pela decréscimo da incidência de úlcera péptica por infecção por *Helicobacter pylori* (MCJUNKIN et al., 2011), assim como os avanços no tratamento e erradicação da infecção (GROENEN et al., 2009); avanços no diagnóstico e tratamento por meio de endoscopia (TARGOWNIK; NABALAMBA, 2006) e pelo uso profilático dos inibidores da bomba de prótons e outros antiácidos (LANAS et al., 2018). Sob outra perspectiva, a redução na frequência de admissões em decorrência de HDA também pode configurar um problema de acesso ao serviço de saúde, o que leva a um pior prognóstico do paciente (ZALTMAN et al., 2002).

No escopo dos avanços no diagnóstico e tratamento de HDA, foi proposto um fluxo clínico de cuidado para os pacientes admitidos com HDA a fim de reduzir o tempo de hospitalização, custos hospitalares e também a mortalidade intra-hospitalar (FRANCO et al., 2015). Aspectos como avaliação da história clínica do paciente; identificação de potenciais fatores de risco para o sangramento gastrointestinal; realização da EDA durante as primeiras horas de admissão; pesquisa por *Helicobacter pylori*; e avaliação da necessidade do tratamento por meio da endoscopia são recomendados (BARKUN et al., 2019; FRANCO et al., 2015; LAU et al., 2020).

A realização da EDA durante as primeiras horas de admissão diminui a mortalidade do paciente, especialmente naqueles que possuem alto risco (LIM et al., 2011), assim como o tratamento por meio da endoscopia, que quando realizado precocemente, reduz o risco de sangramento, cirurgias e mortalidade (BARKUN et al., 2009).

Em suma, o presente estudo contribui com dados inéditos da população brasileira, pois pouco se sabia a respeito da frequência de admissões relacionadas à HDA secundária à doença péptica complicada, o perfil epidemiológico desses pacientes, assim como a influência de variáveis epidemiológicas, clínicas e genéticas, as quais estão abordados na próxima seção.

(III) Variáveis epidemiológicas, clínicas e hábitos de vida associadas ao risco de HDA

Considerando as variáveis epidemiológicas, clínicas e hábitos de vida, o histórico pessoal prévio de úlcera; sorologia reagente para *Helicobacter pylori*; uso de anticoagulantes, AAS e AINEs; consumo de mais de 15 cigarros/dia e consumo de álcool > 30 gramas de álcool/dia foram observados como variáveis independentes para o risco de HDA.

O histórico pessoal prévio de úlcera tem sido reportado como fator de risco independente para HDA em diversos estudos (FIGUEIRAS et al., 2016; GROZA et al., 2017; PIAZUELO et al., 2008), assim como a infecção por *Helicobacter pylori* (MALLAH et al., 2020; PIAZUELO et al., 2008).

A infecção por *Helicobacter pylori* possui alta prevalência nos países em desenvolvimento (SOSTRES; LANAS, 2011) e pacientes reagentes apresentam até sete vezes mais risco de desenvolver úlcera péptica e complicações (LI et al., 2010). Apesar da infecção por *Helicobacter pylori* ter sido altamente prevalente entre os participantes do grupo caso (76,3%), apenas doze pacientes relataram infecção prévia, o que é subestimado quando consideramos os laudos dos exames laboratoriais. Essa subestimação pode ser justificada pelo fato de que muitas vezes a infecção por *Helicobacter pylori* é assintomática, além do acesso desigual ao serviço de saúde e aos testes de diagnóstico, os quais possuem custo relativamente elevado (BURKITT et al., 2017).

Em relação aos medicamentos identificados como fatores de risco para HDA, os usuários crônicos de AAS apresentaram um risco de HDA quatro vezes maior quando comparado aos não usuários e um risco nove vezes maior em usuários de AINEs e anticoagulantes, o que pode ser justificado pelo próprio mecanismo de ação desses medicamentos.

Esses medicamentos são considerados gastroerosivos pois estão associados ao dano da mucosa gástrica, o que acarreta na exposição da mucosa ao baixo pH estomacal e pepsina e ocasiona o rompimento de vasos e, conseqüentemente, o sangramento gástrico (LANAS et al., 2018). O mecanismo de ação dos AINEs e AAS, que compreende na inibição irreversível das isoenzimas COX-1 e COX-2, também está associado à inibição da produção de plaquetas e ao comprometimento da cascata de agregação plaquetária e de processos fisiológicos de proteção gástrica (BRZOWSKI et al., 2005). Ainda, o risco de HDA em usuários de AAS parece ser maior nos primeiros seis meses de tratamento (GUO et al., 2020).

Este achado é relevante, pois esses medicamentos são amplamente utilizados. O AAS é um medicamento de baixo custo e amplamente prescrito na prevenção primária e secundária de eventos cardiovasculares (VIANNA; GONZÁLEZ; MATIJASEVICH, 2012) e os anticoagulantes, além da indicação para a prevenção de eventos cardiovasculares, também atuam na prevenção de eventos tromboembólicos (AGENO et al., 2012). Já os AINEs são prescritos no tratamento de doenças inflamatórias (GUPTA; BAH, 2016), e apesar da maioria dos AINEs não ser isenta de prescrição médica, a venda livre é frequente, o que pode configurar um uso irracional.

Ainda, foi observado um sinergismo no potencial do dano gástrico em usuários de medicamentos com potencial gastroerosivo e reagentes à *Helicobacter pylori* (HUANG; SRIDHAR; HUNT, 2002) e/ou carreadores de variantes genéticas de metabolismo lento de medicamentos (FIGUEIRAS et al., 2016; GROZA et al., 2017; PILOTTO et al., 2007). Portanto, pode ocorrer um aumento sinérgico do risco de HDA em decorrência da presença concomitante do uso de medicamentos com potencial de dano gástrico e de outras variáveis de risco.

Outro fator a ser considerado é o hábito de vida, uma vez que o consumo de álcool e tabaco foi associado ao aumento do risco de HDA, corroborando com os achados de outros estudos (CROOKS; WEST; CARD, 2013; GALLERANI et al., 2004; LANGSTED; NORDESTGAARD, 2019).

Considerando que essas variáveis foram identificadas como fatores de risco independentes para HDA e associadas ao aumento significativo deste risco, os nossos dados podem apoiar na prevenção desse problema de saúde.

Uma estratégia para a prevenção seria a estratificação do paciente de acordo com o risco de desenvolver HDA que o indivíduo possui. Alternativas interessantes para esse processo seria o emprego de *scores* preditivos de risco de sangramento; análise da sorologia para *Helicobacter pylori*; avaliação de alternativas farmacoterapêuticas mais seguras para o AINEs, AAS e anticoagulantes orais; monitoramento do uso de medicamento e possíveis reações adversas a medicamento associadas; além da educação em saúde e incentivo para mudanças de estilo de vida para pacientes etilistas ou tabagistas.

(IV) Variáveis genéticas associadas ao risco de HDA

Foram avaliadas quatro variantes genéticas no gene *PTGS1* (rs10306114, rs1330344, rs3842787, rs5788), sendo que a análise do rs10306114 é inédita e a análise das variantes rs1330344, rs3842787, rs5788 foi realizada por três estudos (MALLAH et al., 2020; VAN OIJEN et al., 2006; WU et al., 2016).

Os autores reportaram o risco de HDA apenas na presença da variante rs1330344, sendo que Wu et al. (2016) identificaram risco de HDA em chineses usuários de AAS e carreadores do genótipo TT (OR: 2,17; IC95%: 1,01 – 4,66) (WU et al., 2016) e Mallah et al. (2020) em espanhóis usuários de AAS carreadores dos genótipos CT + TT (OR: 4,20; IC95%: 1,11 – 14,54) (MALLAH et al., 2020). No estudo conduzido por Wu et al. (2016), o grupo caso foi composto apenas por 13 participantes e o estudo não considerou o pareamento dos participantes caso e controle, nem ajustou as análises para as variáveis de confusão, o que pode limitar a inferência dos achados dos autores (WU et al., 2016); enquanto Mallah et al. restringiram a inclusão apenas para participantes caucasianos descendentes de europeus (MALLAH et al., 2020).

No presente estudo, nenhuma das quatro variantes genéticas localizados no gene *PTGS1* foram associadas ao risco de HDA quando o uso de AAS e AINEs não foi considerado. De fato, uma ampla revisão clínica reportou que a presença de variantes genéticas no gene *PTGS1* têm sido mais associada ao prognóstico de uma doença do que ao risco de desenvolvê-la (AGÚNDEZ et al., 2015), o que corrobora com os nossos achados em participantes brasileiros.

No entanto, quando foi considerado o uso de AAS e AINEs, foram identificadas associações significativas. Em usuários de AAS, as variantes rs1330344 e rs10306114 foram associadas a um risco cerca de HDA cerca de quatro vezes maior em carreadores dos genótipos CT + TT (OR: 3,733; IC95%: 2,003 – 6,956) e AG + GG (OR: 4,158; IC95%: 1,280 – 13,497), respectivamente. Em usuários de AINEs, as quatro variantes avaliadas foram associadas ao risco de HDA (rs1330344, rs3842787, rs10306114 e rs5788) e esse risco variou de 2,714 em carreadores dos genótipos CA + AA de rs788

(IC95%: 1,251 – 5,888) a 5,690 em carreadores dos genótipos AG + GG de rs10306114 (IC95%: 1,469 – 22,073).

Na literatura foi sugerido que os carreadores das variantes genéticas rs10306114 e rs3842787 podem possuir uma *COX-1* com uma menor capacidade de produzir prostaglandinas, o que também pode aumentar a sensibilidade ao AAS e aos AINEs (HALUSHKA; WALKER; HALUSHKA, 2003); enquanto os carreadores das variantes rs1330344 e rs5788 podem apresentar redução da agregação plaquetária e, conseqüentemente, um maior risco de sangramento (MAREE et al., 2005).

Em relação as variantes localizadas no gene *NOS3*, foi identificado um maior de HDA em usuários de AAS e em usuários de AINEs na presença das variantes rs2070744, rs1799983 e VNTR no íntron 4 da *eNOS*. Vale ressaltar que a análise de rs2070744 (gene *NOS3*) é inédita no escopo da HDA.

As variantes rs2070744 e rs1799983, assim como outras variantes no gene *NOS3*, tem sido estudados como um possível fator de risco para doenças cardiovasculares (NAWAZ et al., 2015; ZHANG et al., 2012) e também como um possível biomarcador genético de doença arterial coronariana (LI; LIN; ZHANG, 2019). Entretanto, pouco se sabe sobre a presença desses genótipos na fisiopatologia da HDA.

Apesar de vários estudos terem avaliado a influência das variantes genéticas na resposta idiossincrática ao tratamento com AAS (SHIOTANI et al., 2011; SHIOTANI; FUJITA; NISHIO, 2015; WANG, 2019), bem como nas diferenças interindividuais na ativação plaquetária (POSTULA et al., 2011), é de nosso conhecimento apenas um estudo que avaliou o rs1799983 no escopo da HDA (FORGERINI et al., 2021a). Trata-se de um estudo realizado na população espanhola e a presença da variante rs1799983 em usuários de AAS também foi associada ao risco de HDA (OR: 7,69; IC95%: 2,40 - 23,7; valor de p: <0,001) (MALLAH et al., 2020).

Uma hipótese para o risco aumentado de HDA observado nesses indivíduos seria de que a presença das variantes rs2070744 e rs1799983 influenciam nos níveis séricos de óxido nítrico, o que pode comprometer mecanismos fisiológicos importantes, como a proteção gástrica e agregação plaquetária (LANAS, 2008; VECOLI, 2014). Logo, o comprometimento desses mecanismos fisiológicos somado ao dano gástrico provocado pelo uso de AAS/AINEs, fatores de risco identificados como independentes para HDA, poderia justificar clinicamente o aumento do risco de sangramento gastrointestinal.

Ainda, foi identificado que carreadores da variante rs2070744 possuem uma redução nas concentrações de óxido nítrico (NAGASSAKI et al., 2006), o que pode, portanto, comprometer os processos fisiológicos de proteção gástrica e agregação plaquetária e acarretar em sangramentos maiores.

E por fim, dois estudos espanhóis avaliaram o VNTR no íntron 4 da *eNOS* (PIAZUELO et al., 2008; SERRANO et al., 2002). Serrano *et al.* (2002) incluíram 188 participantes com doença péptica e 120 controles e identificaram uma redução no risco de HDA em carreadores do alelo “a” (OR: 0,490;

IC95%: 0,250 – 0,950) (SERRANO et al., 2002), corroborando com os achados de Piazuolo *et al.* (2008) que incluíram 89 participantes com diagnóstico de HDA e 266 controles (OR: 0,390; IC95%: 0,180 – 0,850) (PIAZUELO et al., 2008). No entanto, no primeiro estudo não está claro o processo de recrutamento e pareamento dos participantes e em ambos os estudos não foi reportado se foi realizado o ajuste da análise estatística considerando as variáveis de confusão. Tais aspectos consistem em limitações metodológicas importantes e que podem fragilizar os achados dos autores.

Considerando os nossos achados, não foi identificada associação entre a variante VNTR no íntron 4 da *eNOS* e o risco de HDA. No entanto, foi identificado um risco de HDA de cerca de 2,4 vezes em usuários de AAS (IC95%: 1,068 – 5,578) e de 3,6 vezes em usuários de AINEs carreadores dos genótipos 4a/b e 4a/a (IC95%: 1,579 – 8,208).

A respeito das variantes *CYP2C9*2* e *CYP2C9*3* (*CYP2C9*), foi identificado risco de HDA em usuários de AINEs o que corrobora com os achados de outros três espanhóis (BLANCO et al., 2008; FIGUEIRAS et al., 2016; PILOTTO et al., 2007). Apenas Figueiras *et al.* (2016) e Pilotto *et al.* (2007) reportaram claramente que o desfecho avaliado foi HDA de etiologia não varicosa (FIGUEIRAS et al., 2016; PILOTTO et al., 2007).

Enquanto no primeiro estudo o uso de AINEs foi estratificado considerando a via principal de metabolismo do medicamento (*CYP2C9* ou outro gene) e a dose consumida na semana anterior à data índice de interesse, no segundo estudo não está claro como o uso de AINEs foi avaliado. No caso-controle conduzido por Figueiras *et al.* foi reportado um aumento no risco de HDA de acordo com o aumento da dose de AINEs consumida e a raridade do alelo variante (FIGUEIRAS et al., 2016). Em nosso estudo, a avaliação dos alelos **2/*2*, **2/*3* e **3/*3* não foi viável devido ao reduzido número de participantes nesses estratos, sendo uma limitação.

Vale ressaltar que os estudos conduzidos por Pilotto *et al.* (2007) e Blanco *et al.* (2008) restringiram a inclusão de participantes usuários de AINEs para o grupo caso; enquanto Figueiras *et al.* (2016) e o presente estudo não restringiram o recrutamento dos participantes apenas para usuários de medicamento. Uma vantagem é a possibilidade de investigar a influência da variante genética no risco de HDA, independente do uso de medicamentos (ESTANY-GESTAL et al., 2011).

A variante rs99232331 (gene *VKORC1*) foi avaliada em um estudo romeno que incluiu 163 casos e 178 controles e identificou risco de HDA no subgrupo de usuários de AAS/AINEs homozigotos para o alelo variante (OR: 7,646, IC95%: 3,12 – 18,74) (GROZA et al., 2017) e em um estudo espanhol que incluiu 89 casos e 178 controles em uso de acenocumarol e identificou risco de HDA em usuários de acenocumarol concomitantemente com AAS (OR: 8,97; IC: 1,66 – 48,34) (MONTES et al., 2008). No entanto, esse subgrupo de uso de acenocumarol e AAS compreende apenas seis casos e dois controles, o que pode explicar o intervalo de confiança não ser preciso.

Em carreadores dos genótipos CT + TT foi identificado um risco duas vezes maior de HDA em usuários de AAS (2,370; IC95%: 1,114 - 5,045) e de cerca de cinco vezes em usuários de AINEs (2,549; IC95%: 2,549 – 9,842). Uma possível justificativa para esse risco de HDA seria que a presença

do genótipo homozigoto para o alelo variante (TT) está associada a uma redução da atividade enzimática do gene *VKORC* em 50% quando comparada ao genótipo homozigoto para o alelo comum (WIDDERSHOVEN et al., 1987).

A atividade enzimática reduzida desse gene pode acarretar em espécies subcarboxiladas de proteínas dependentes de vitamina K e de proteínas induzidas pela ausência de vitamina K que passam a não participar de forma eficiente na cascata de coagulação, o que pode contribuir com o aumento do risco de sangramento (LAINE, 2002).

A variante rs1045642 (gene *ABCB1*) é uma análise inédita no escopo da HDA. Em carreadores dos genótipos AG + GG foi identificado um risco de cerca de três vezes em usuários de AAS (OR: 2,958; IC95%: 1,539 – 5,685) e cerca de 4,5 em usuários de AINEs (OR: 4,520; IC95%: 2,508 – 8,145). Essa variante foi reportada na resistência a alguns medicamentos (e.g., quimioterápicos e antivirais) (COELHO et al., 2013; LEPPER et al., 2005; MEGA et al., 2010), mas não há evidências dessa variante influenciando na sensibilidade ao AAS ou no aumento do risco de HDA. Uma possível explicação para esse risco identificado seria em decorrência de uma alteração na farmacocinética do AAS/AINEs, uma vez que o gene *ABCB1* está envolvido no efluxo de uma gama de medicamentos.

Após esse amplo panorama, se observa uma ampla heterogeneidade a respeito da real influência da presença de variantes genéticas no risco de HDA. Essa heterogeneidade pode ser justificada pelos diferentes aspectos metodológicos empregados, tais como desenho de estudo, critérios de diagnóstico de HDA e processo de elegibilidade dos participantes; e pelos aspectos populacionais, uma vez que há uma alta variabilidade intra e interpopulacional.

A respeito da variabilidade populacional, se sabe que a etnia e a ancestralidade são fatores que influenciam diretamente na variabilidade genética entre as diferentes populações (LI et al., 2011; RAMOS et al., 2014), e a etnia, além de influenciar na presença da variante genética, também está associada à frequência com que essa variante ocorre em uma população (RAMOS et al., 2014). Algumas variantes genéticas, por exemplo, têm sido mais prevalentes em indivíduos brancos do que pretos (RODRIGUES-SOARES, F. et al., 2018).

Para amenizar a influência da etnia em estudos conduzidos na área de farmacogenética, alguns autores têm restringido os critérios de inclusão de participantes para etnias específicas, mas essas restrições não são válidas no Brasil, considerando a miscigenação da população. A maioria dos estudos incluídos na revisão sistemática que conduzimos, utilizaram a estratégia de não incluir participantes de diferentes etnias (BLANCO et al., 2008; FIGUEIRAS et al., 2016; GARCIA-GONZALEZ et al., 2003, 2005; MALLAH et al., 2020; MUSUMBA et al., 2013; PIAZUELO et al., 2008; PILOTTO et al., 2007; SERRANO et al., 2002; SHIOTANI et al., 2014; VAN OIJEN et al., 2009). Nesse contexto, um aspecto que tem sido amplamente discutido na literatura é a análise de marcadores de ancestralidade em estudos genéticos.

Estudos brasileiros tem reportado a necessidade de considerar não apenas a cor autodeclarada do indivíduo, mas também a presença de marcadores de ancestralidade, pois apenas considerar a auto

declaração de cor pode não ser suficiente em países mais miscigenados, como o Brasil. (PENA et al., 2011; RODRIGUES-SOARES; SUAREZ-KURTZ, 2019; SCOTT et al., 2010).

Como uma perspectiva futura para este estudo, vislumbra-se a avaliação de marcadores de ancestralidade, em conjunto com as variáveis epidemiológicas, clínicas, genéticas e hábitos de vida identificadas nesse estudo, o que consistiria em uma análise inédita no escopo da HDA e forneceria um arcabouço de evidências para esse problema de saúde.

7) FORTALEZAS E LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Fortalezas

- Primeiro estudo brasileiro a identificar o perfil epidemiológico de participantes com diagnóstico de HDA secundária à doença péptica complicada e os fatores de risco envolvidos;
- Análise inédita de três variantes no escopo da HDA: rs10306114 (gene *PTGS1*), rs1045642 (gene *ABCB1*) e rs2070744 (gene *NOS3*);
- Critérios de inclusão e exclusão bem delineados para garantir que apenas a HDA de etiologia secundária à doença péptica complicada fosse incluída;
- Condução de entrevistas *face-to-face* em detrimento à consulta de bases de dados que podem possuir vieses de informação por serem fontes secundárias;
- Análise estatística ajustada de variáveis amplamente documentados como fatores de risco para HDA (e.g., uso de AAS, AINEs e anticoagulante; infecção por *Helicobacter pylori* e hábitos de vida);
- Análise do Equilíbrio de *Hardy-Weinberg* a fim de garantir o equilíbrio das frequências genótípicas dos participantes;
- Biorrepositório contendo DNA de 906 participantes, o que viabiliza a continuidade deste estudo e a análise de novas variantes genéticas no escopo da HDA;

Limitações

- Viés de memória que pode caracterizar qualquer estudo observacional, mas que foi amenizado pela condução das entrevistas na presença de um familiar e/ou cuidador do participante e por meio de consultas ao prontuário eletrônico e prescrições médicas;
- Impossibilidade de conduzir uma análise da influência das variantes genéticas em usuários concomitantes de AAS e AINEs devido ao número baixo de participantes nesse subgrupo.
- Não realização do controle da ancestralidade genômica.

8) CONCLUSÃO

Estudo 1. Revisão sistemática

Essa revisão sistemática forneceu um mapeamento de evidências das variantes genéticas associadas ao risco de HDA e não foi identificado nenhum estudo conduzido na população brasileira.

Foram identificados 17 estudos e o risco de HDA de etiologia não varicosa foi reportado na presença de variantes genéticas nos genes *NOS3*, *PTGS1*; *PTGS2*; *PLA2G7*; *GP1BA*; *GRS*; *IL1RN*; *F13A1*; *CDKN2B-AS1*; *DPP6*; *TBXA2R*; *TNF-alfa*; *VKORC1*; *CYP2C9*; e *AGT*; e o risco de HDA provavelmente incluindo a etiologia varicosa de variantes genéticas nos genes *CHST2*; *UGT*; *TBXA2R*; *GP1BA*; e *CYP2C8* (alelo *CYP2C8* * 3).

Estudo 2. Estudo observacional do tipo caso-controle

Trata-se de um estudo inédito no Brasil e que fornece um arcabouço de evidências a respeito da frequência de admissões hospitalares por HDA secundária à úlcera péptica complicada, o perfil epidemiológico desses pacientes, além de uma análise do risco de HDA incluindo variáveis epidemiológicas, clínicas, genéticas e hábitos de vida.

A frequência de admissões hospitalares por HDA secundária à doença péptica complicada foi de 7,1% e sete a cada cem pacientes submetidos a EDA foram diagnosticados com HDA. Também foi identificada uma redução na frequência de admissões por HDA ao longo do estudo (9,3% – 5,7).

Considerando o perfil epidemiológico dos participantes elegíveis neste estudo, a maioria era homem [grupo caso: 145 (72,5%) e grupo controle: 512 (72,5%)] e autodeclarados brancos [grupo caso: 134 (67,3%) e grupo controle: 516 (73,5%)] e com média de idade de 60,2 ($\pm 16,3$) e 59,8 ($\pm 15,8$) anos, respectivamente. As comorbidades mais frequentes entre os participantes foram hipertensão arterial [grupo caso: 104 (52,0%) e grupo controle: 371 (52,5%)], diabetes *mellitus* [grupo caso: 38 (19,1%) e grupo controle: 158 (22,4%)] e dislipidemia [grupo caso: 22 (11,0%) e grupo controle: 165 (23,4%)]. Ainda, 142 casos (76,2%) e 388 controles (57,6%) eram reagentes para sorologia de *Helicobacter pylori* e a maioria dos participantes era abstinência [grupo caso: 103 (51,5%) e grupo controle: 392 (55,5%)] e não tabagista [grupo caso: 136 (70,1%) e grupo controle: 580 (84,7%)].

Foram identificados como fatores de risco independentes para HDA as seguintes variáveis: histórico prévio de úlcera (p-valor: $< 0,001$); sorologia reagente para *Helicobacter pylori* (p-valor: 0,029); uso de anticoagulantes (p-valor: $< 0,001$), AAS (p-valor: $< 0,001$) e AINEs (p-valor: $< 0,001$); consumo superior a 15 cigarros/dia (p-valor: $< 0,001$) e consumo > 30 gramas de álcool/dia (p-valor: $< 0,001$).

Quando o uso de AAS e AINEs foi avaliado apenas como uma variável de confundimento, nenhuma das variantes genéticas avaliadas neste estudo foi associado ao risco de HDA.

Foram associadas ao risco de HDA as onze variantes genéticas avaliadas neste estudo em usuários de AINEs (rs1330344, rs3842787, rs10306114, rs5788, rs2070744, rs1799983, VNTR no íntron 4 da *eNOS*; alelos *2 e *3 do gene *CYP2C9*; rs1045642 e rs9923231) e as variantes rs1330344, rs10306114, rs2070744, rs1799983, rs1045642, rs9923231 e VNTR no íntron 4 da *eNOS* em usuários de AAS.

Para a promoção da segurança do paciente, os nossos achados sugerem a necessidade de uma terapia personalizada, especialmente para usuários de AAS e AINEs, além do monitoramento do uso desses medicamentos e de possíveis reações adversas a medicamento relacionadas. Ademais, é essencial a identificação de pacientes com alto risco de sangramento, considerando não apenas os aspectos genéticas, mas as demais variáveis identificadas como fatores de risco para HDA nesse estudo.

9) REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, N. S. Prevention of Gastrointestinal Bleeding in Patients Receiving Direct Oral Anticoagulants. **The American Journal of Gastroenterology Supplements**, v. 3, n. 1, p. 2–12, 2016.
- ABRAHAM, N. S.; SINGH, S.; ALEXANDER, G. C.; HEIEN, H.; HAAS, L. R.; CROWN, W.; SHAH, N. D. Comparative risk of gastrointestinal bleeding with dabigatran, rivaroxaban, and warfarin: population based cohort study. **BMJ**, v. 350, n. apr24 2, p. h1857–h1857, 2015.
- AGENO, W.; GALLUS, A. S.; WITTKOWSKY, A.; CROWTHER, M.; HYLEK, E. M.; PALARETI, G. Oral Anticoagulant Therapy. **Chest**, v. 141, n. 2, p. e44S–e88S, 2012.
- AGÚNDEZ, J. A.; BLANCA, M.; CORNEJO-GARCÍA, J. A.; GARCÍA-MARTÍN, E. Pharmacogenomics of cyclooxygenases. **Pharmacogenomics**, v. 16, n. 5, p. 501–522, 2015.
- AL-MAHAYRI, Z. N.; AL JAIBEJI, H. S.; SAAB, Y.; SOLIMAN, K.; AL-GAZALI, L.; PATRINOS, G. P.; ALI, B. R. VKORC1 variants as significant predictors of warfarin dose in Emiratis. **Pharmacogenomics and Personalized Medicine**, v. 12, p. 47–57, 2019.
- ALMEIDA, V. C. O.; RIBEIRO, D. D.; GOMES, K. B.; GODARD, A. L. B. Polymorphisms of CYP2C9, VKORC1, MDR1, APOE and UGT1A1 Genes and the Therapeutic Warfarin Dose in Brazilian Patients with Thrombosis: A Prospective Cohort Study. **Molecular Diagnosis & Therapy**, v. 18, n. 6, p. 675–683, 2014.
- AWTRY, E. H.; LOSCALZO, J. Aspirin. **Circulation**, v. 101, n. 10, p. 1206–1218, 2000.
- BAHAR, M. A.; SETIAWAN, D.; HAK, E.; WILFFERT, B. **Pharmacogenetics of drug-drug interaction and drug-drug-gene interaction: A systematic review on CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6**, 2017.
- BAJPAI, M.; ROSKOS, L. K.; SHEN, D. D.; LEVY, R. H. Roles of cytochrome P450C9 and cytochrome P450C19 in the stereoselective metabolism of phenytoin to its major metabolite. **Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals**, v. 24, n. 12, p. 1401–3, 1996.
- BARKUN, A. N.; ALMADI, M.; KUIPERS, E. J.; LAINE, L.; SUNG, J.; TSE, F.; LEONTIADIS, G. I.; ABRAHAM, N. S.; CALVET, X.; CHAN, F. K. L.; DOUKETIS, J.; ENNS, R.; GRALNEK, I. M.; JAIRATH, V.; JENSEN, D.; LAU, J.; LIP, G. Y. H.; LOFFROY, R.; MALUF-FILHO, F.; MELTZER, A. C.; REDDY, N.; SALTZMAN, J. R.; MARSHALL, J. K.; BARDOU, M. Management of Nonvariceal Upper Gastrointestinal Bleeding: Guideline Recommendations From the International Consensus Group. **Annals of Internal Medicine**, v. 171, n. 11, p. 805, 2019.
- BARKUN, A. N.; MARTEL, M.; TOUBOUTI, Y.; RAHME, E.; BARDOU, M. Endoscopic hemostasis in peptic ulcer bleeding for patients with high-risk lesions: a series of meta-analyses. **Gastrointestinal Endoscopy**, v. 69, n. 4, p. 786–799, 2009.
- BERGER, J. S.; RONCAGLIONI, M. C.; AVANZINI, F.; PANGRAZZI, I.; TOGNONI, G.; BROWN, D. L. **Aspirin for the primary prevention of cardiovascular events in women and men: A sex-specific meta-analysis of randomized controlled trials**, American Medical Association, 2006.
- BHASKER, C. R.; MINERS, J. O.; COULTER, S.; BIRKETT, D. J. Allelic and functional variability of cytochrome P450C9. **Pharmacogenetics**, v. 7, n. 1, p. 51–58, 1997.
- BINDU, S.; MAZUMDER, S.; BANDYOPADHYAY, U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. **Biochemical Pharmacology**, v. 180, p. 114147, 2020.

BLANCO, G.; MARTÍNEZ, C.; LADERO, J. M.; GARCIA-MARTIN, E.; TAXONERA, C.; GAMITO, F. G.; DIAZ-RUBIO, M.; AGUNDEZ, J. A. G. Interaction of CYP2C8 and CYP2C9 genotypes modifies the risk for nonsteroidal anti-inflammatory drugs-related acute gastrointestinal bleeding. **Pharmacogenetics and Genomics**, v. 18, n. 1, p. 37–43, 2008.

BOWMAN, L.; MAFHAM, M.; STEVENS, W.; HAYNES, R.; AUNG, T.; CHEN, F.; BUCK, G.; COLLINS, R.; ARMITAGE, J. ASCEND: A Study of Cardiovascular Events in Diabetes: Characteristics of a randomized trial of aspirin and of omega-3 fatty acid supplementation in 15,480 people with diabetes. **American Heart Journal**, v. 198, p. 135–144, 2018.

BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, P. C.; KONTUREK, S. J.; BRZOZOWSKA, I.; PAWLIK, T. Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. **Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society**, v. 56 Suppl 5, p. 33–55, 2005.

BURKITT, M. D.; DUCKWORTH, C. A.; WILLIAMS, J. M.; PRITCHARD, D. M. Helicobacter pylori -induced gastric pathology: insights from in vivo and ex vivo models. **Disease Models & Mechanisms**, v. 10, n. 2, p. 89–104, 2017.

CALLEN, D. F.; BAKER, E.; SIMMERS, R. N.; SESHADRI, R.; RONINSON, I. B. Localization of the human multiple drug resistance gene, MDR1, to 7q21.1. **Human Genetics**, v. 77, n. 2, p. 142–144, 1987.

CARLI, D. M. De; PIRES, R. C.; ROHDE, S. L.; KAVALCO, C. M.; FAGUNDES, R. B. PEPTIC ULCER FREQUENCY DIFFERENCES RELATED TO H. PYLORI OR AINES. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 52, n. 1, p. 46–49, 2015.

CARVAJAL, A.; ORTEGA, S.; DEL OLMO, L.; VIDAL, X.; AGUIRRE, C.; RUIZ, B.; CONFORTI, A.; LEONE, R.; LÓPEZ-VÁZQUEZ, P.; FIGUEIRAS, A.; IBÁÑEZ, L. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors and Gastrointestinal Bleeding: A Case-Control Study. **PLoS ONE**, v. 6, n. 5, p. e19819, 2011.

CHANDRASEKHARAN, N. V; SIMMONS, D. L. The cyclooxygenases. **Genome biology**, v. 5, n. 9, p. 241, 2004.

CHATTERJEE, S.; DUREJA, G. P.; KADHE, G.; MANE, A.; PHANSALKAR, A. A.; SAWANT, S.; KAPATKAR, V. Cross-Sectional Study for Prevalence of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced Gastrointestinal, Cardiac and Renal Complications in India: Interim Report. **Gastroenterology Research**, v. 8, n. 3–4, p. 216–221, 2015.

CHEN, C. J.; CLARK, D.; UEDA, K.; PASTAN, I.; GOTTESMAN, M. M.; RONINSON, I. B. Genomic organization of the human multidrug resistance (MDR1) gene and origin of P-glycoproteins. **The Journal of biological chemistry**, v. 265, n. 1, p. 506–14, 1990.

CHEN, J.; CHATTERJEE, N. Exploiting Hardy-Weinberg equilibrium for efficient screening of single SNP associations from case-control studies. **Human heredity**, v. 63, n. 3–4, p. 196–204, 2007.

CHEY, W. D.; LEONTIADIS, G. I.; HOWDEN, C. W.; MOSS, S. F. Correction: ACG Clinical Guideline: Treatment of Helicobacter pylori Infection. **American Journal of Gastroenterology**, v. 113, n. 7, p. 1102, 2018.

CHO, C. . Current roles of nitric oxide in gastrointestinal disorders. **Journal of Physiology-Paris**, v. 95, n. 1–6, p. 253–256, 2001.

CHUBAK, J.; WHITLOCK, E. P.; WILLIAMS, S. B.; KAMINENI, A.; BURDA, B. U.; BUIST, D.

S. M.; ANDERSON, M. L. Aspirin for the Prevention of Cancer Incidence and Mortality: Systematic Evidence Reviews for the U.S. Preventive Services Task Force. **Annals of Internal Medicine**, v. 164, n. 12, p. 814, 2016.

COELHO, A. V. C.; SILVA, S. P. S.; DE ALENCAR, L. C. A.; STOCCO, G.; CROVELLA, S.; BRANDÃO, L. A. C.; GUIMARÃES, R. L. ABCB1 and ABCC1 variants associated with virological failure of first-line protease inhibitors antiretroviral regimens in Northeast Brazil patients. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 53, n. 12, p. 1286–1293, 2013.

COLLINS, R.; PETO, R.; HENNEKENS, C.; DOLL, R.; BUBES, V.; BURING, J.; DUSHKESAS, R.; GAZIANO, M.; BRENNAN, P.; MEADE, T.; RUDNICKA, A.; HANSSON, L.; WARNOLD, I.; ZANCHETTI, A.; AVANZINI, F.; RONCAGLIONI, M. C.; TOGNONI, G.; CHOWN, M.; BAIGENT, C.; BARTON, I.; BAXTER, A.; BHALLA, N.; BLACKWELL, L.; BOREHAM, J.; BOWMAN, L.; BUCK, G.; EMBERSON, J.; GODWIN, J.; HALLS, H.; HOLLAND, L.; KEARNEY, P.; REITH, C.; WILSON, K.; PATRONO, C. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials. **The Lancet**, v. 373, n. 9678, p. 1849–1860, 2009.

COOKE, G. E.; DOSHI, A.; BINKLEY, P. F. Endothelial nitric oxide synthase gene: prospects for treatment of heart disease. **Pharmacogenomics**, v. 8, n. 12, p. 1723–1734, 2007.

CROOKS, C. J.; WEST, J.; CARD, T. R. Comorbidities Affect Risk of Nonvariceal Upper Gastrointestinal Bleeding. **Gastroenterology**, v. 144, n. 7, p. 1384–1393.e2, 2013.

CRYER, B.; FELDMAN, M. Cyclooxygenase-1 and Cyclooxygenase-2 Selectivity of Widely Used Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. **The American Journal of Medicine**, v. 104, n. 5, p. 413–421, 1998.

DANIS, N.; TEKIN, F.; AKARCA, U. S.; UNAL, N. G.; ERDOGAN, E. I.; AKAT, K.; DEMIRKOPARAN, U.; KARASU, Z.; TURAN, I.; ORUC, N.; AYDIN, A.; ERSOZ, G.; VARDAR, R.; OZUTEMIZ, O.; GUNSAR, F. Changing patterns of upper gastrointestinal bleeding over 23 years in Turkey. **The Turkish Journal of Gastroenterology**, v. 30, n. 10, p. 877–882, 2019.

DE ABAJO, F. J.; MONTERO, D.; GARCIA RODRIGUEZ, L. A.; MADURGA, M. Antidepressants and Risk of Upper Gastrointestinal Bleeding. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, v. 98, n. 3, p. 304–310, 2006.

DE MARTEL, C.; PARSONNET, J. Helicobacter pylori Infection and Gender: A Meta-Analysis of Population-Based Prevalence Surveys. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 51, n. 12, p. 2292–2301, 2006.

DOÑA, I.; BLANCA-LÓPEZ, N.; CORNEJO-GARCÍA, J. A.; TORRES, M. J.; LAGUNA, J. J.; FERNÁNDEZ, J.; ROSADO, A.; RONDÓN, C.; CAMPO, P.; AGÚNDEZ, J. A.; BLANCA, M.; CANTO, G. Characteristics of subjects experiencing hypersensitivity to non-steroidal anti-inflammatory drugs: patterns of response. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 41, n. 1, p. 86–95, 2011.

DUBOIS, R. W.; MELMED, G. Y.; HENNING, J. M.; LAINE, L. Guidelines for the appropriate use of non-steroidal anti-inflammatory drugs, cyclo-oxygenase-2-specific inhibitors and proton pump inhibitors in patients requiring chronic anti-inflammatory therapy. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 19, n. 2, p. 197–208, 2004.

EPPLEIN, M.; SIGNORELLO, L. B.; ZHENG, W.; PEEK, R. M.; MICHEL, A.; WILLIAMS, S. M.; PAWLITA, M.; CORREA, P.; CAI, Q.; BLOT, W. J. Race, African Ancestry, and Helicobacter pylori Infection in a Low-Income United States Population. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 20, n. 5, p. 826–834, 2011.

ESTANY-GESTAL, A.; SALGADO-BARREIRA, A.; SÁNCHEZ-DIZ, P.; FIGUEIRAS, A. Influence of CYP2C9 genetic variants on gastrointestinal bleeding associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Pharmacogenetics and Genomics**, v. 21, n. 7, p. 357–364, 2011.

EVERHART, J. E.; KRUSZON-MORAN, D.; PEREZ-PEREZ, G. I.; TRALKA, T. S.; MCQUILLAN, G. Seroprevalence and Ethnic Differences in *Helicobacter pylori* Infection among Adults in the United States. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 181, n. 4, p. 1359–1363, 2000.

FEINMAN, M.; HAUT, E. R. Upper Gastrointestinal Bleeding. **Surgical Clinics of North America**, v. 94, n. 1, p. 43–53, 2014.

FIGUEIRAS, A.; ESTANY-GESTAL, A.; AGUIRRE, C.; RUIZ, B.; VIDAL, X.; CARVAJAL, A.; SALADO, I.; SALGADO-BARREIRA, A.; RODELLA, L.; MORETTI, U.; IBÁÑEZ, L.; LÓPEZ, P.; SÁNCHEZ-DIZ, P.; RUANO, A.; DOMÍNGUEZ, E.; ORTEGA, S.; DE PANCORBO, M. M.; RUIZ, P.; CONFORTI, A.; LEONE, R. CYP2C9 variants as a risk modifier of NSAID-related gastrointestinal bleeding. **Pharmacogenetics and Genomics**, v. 26, n. 2, p. 66–73, 2016.

FISCHBACH, L.; EVANS, E. L. Meta-analysis: the effect of antibiotic resistance status on the efficacy of triple and quadruple first-line therapies for *Helicobacter pylori*. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 26, n. 3, p. 343–357, 2007.

FLOCKHART, D. A.; O’KANE, D.; WILLIAMS, M. S.; WATSON, M. S.; FLOCKHART, D. A.; GAGE, B.; GANDOLFI, R.; KING, R.; LYON, E.; NUSSBAUM, R.; O’KANE, D.; SCHULMAN, K.; VEENSTRA, D.; WILLIAMS, M. S.; WATSON, M. S. Pharmacogenetic testing of CYP2C9 and VKORC1 alleles for warfarin. **Genetics in Medicine**, v. 10, n. 2, p. 139–150, 2008.

FORGERINI, M.; LUCCHETTA, R. C.; MASTROIANNI, P. de C. Genetic polymorphisms associated with upper gastrointestinal bleeding: a systematic review protocol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 40, n. 40:e626, 2019.

FORGERINI, M.; LUCCHETTA, R. C.; URBANO, G.; DE NADAI, T. R.; DE CARVALHO MASTROIANNI, P. Genetic polymorphisms associated with upper gastrointestinal bleeding: a systematic review. **The Pharmacogenomics Journal**, v. 21, n. 1, p. 20–36, 2021. a.

FORGERINI, M.; URBANO, G.; NADAI, T. R. De; MASTROIANNI, P. de C. Genetic variants of upper gastrointestinal bleeding secondary to complicated peptic disease: a case-control study. **Open Science Framework (OSF)**, 2021. b.

FORGERINI, M.; URBANO, G.; NADAI, T. R. De; ZAPATA-CACHAFEIRO, M.; KEMP, R.; MASTROIANNI, P. de C. Epidemiological profile of patients with non-variceal upper gastrointestinal bleeding secondary to peptic disease in a tertiary referral Brazilian hospital. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 2, 2021. c.

FORREST, J. . A. H.; FINLAYSON, N. D. . D. C.; SHEARMAN, D. J. . J. C. Endoscopy in gastrointestinal bleeding. **The Lancet**, v. 304, n. 7877, p. 394–397, 1974.

FRANCO, M. C.; NAKAO, F. S.; RODRIGUES, R.; MALUF-FILHO, F.; PAULO, G. A. De; LIBERA, E. Della. Proposal of a clinical care pathway for the management of acute upper gastrointestinal bleeding. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 52, n. 4, p. 283–292, 2015.

GABRIEL, S. E. Risk for Serious Gastrointestinal Complications Related to Use of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. **Annals of Internal Medicine**, v. 115, n. 10, p. 787, 1991.

GALLERANI, M.; SIMONATO, M.; MANFREDINI, R.; VOLPATO, S.; VIGNA, G. .; FELLIN, R.

- Risk of hospitalization for upper gastrointestinal tract bleeding. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 57, n. 1, p. 103–110, 2004.
- GARCÍA-CLOSAS, M.; LUBIN, J. H. Power and sample size calculations in case-control studies of gene-environment interactions: comments on different approaches. **American journal of epidemiology**, v. 149, n. 8, p. 689–92, 1999.
- GARCIA-GONZALEZ, M. A.; LANAS, A.; SAVELKOUL, P. H. M.; SANTOLARIA, S.; BENITO, R.; CRUSIUS, J. B. A.; PEÑA, A. S. Association of interleukin 1 gene family polymorphisms with duodenal ulcer disease. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 134, n. 3, p. 525–531, 2003.
- GARCIA-GONZALEZ, M. A.; SAVELKOUL, P. H. M.; BENITO, R.; SANTOLARIA, S.; CRUSIUS, J. B. A.; PENA, A. S.; LANAS, A. No allelic variant associations of the IL-1 and TNF gene polymorphisms in the susceptibility to duodenal ulcer disease. **International Journal of Immunogenetics**, v. 32, n. 5, p. 299–306, 2005.
- GARCÍA RODRÍGUEZ, L. A.; BARREALES TOLOSA, L. Risk of Upper Gastrointestinal Complications Among Users of Traditional NSAIDs and COXIBs in the General Population. **Gastroenterology**, v. 132, n. 2, p. 498–506, 2007.
- GAZIANO, J. M.; BROTONS, C.; COPPOLECCHIA, R.; CRICELLI, C.; DARIUS, H.; GORELICK, P. B.; HOWARD, G.; PEARSON, T. A.; ROTHWELL, P. M.; RUILOPE, L. M.; TENDERA, M.; TOGNONI, G. Use of aspirin to reduce risk of initial vascular events in patients at moderate risk of cardiovascular disease (ARRIVE): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **The Lancet**, v. 392, n. 10152, p. 1036–1046, 2018.
- GOODMAN, T.; FERRO, A.; SHARMA, P. Pharmacogenetics of aspirin resistance: a comprehensive systematic review. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 66, n. 2, p. 222–232, 2008.
- GRAHAM, D. Y.; SMITH, J. L.; SPJUT, H. J.; TORRES, E. Gastric adaptation. Studies in humans during continuous aspirin administration. **Gastroenterology**, v. 95, n. 2, p. 327–33, 1988.
- GRALNEK, I. M.; NEEMAN, Z.; STRATE, L. L. Acute Lower Gastrointestinal Bleeding. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 11, p. 1054–1063, 2017.
- GROENEN, M. J.; KUIPERS, E. J.; HANSEN, B. E.; OUWENDIJK, R. J. T. Incidence of Duodenal Ulcers and Gastric Ulcers in a Western Population: Back to Where It Started. **Canadian Journal of Gastroenterology**, v. 23, n. 9, p. 604–608, 2009.
- GROZA, I.; MATEI, D.; TANȚĂU, M.; TRIFA, A. P.; CRIȘAN, S.; VESA, Ș. C.; BOCȘAN, C.; BUZOIANU, A. D.; ACALOVSCI, M. VKORC1-1639 G>A Polymorphism and the Risk of Non-Variceal Upper Gastrointestinal Bleeding. **Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases**, v. 26, n. 1, p. 13–18, 2017.
- GUAN, Z.; WU, K.; LI, R.; YIN, Y.; LI, X.; ZHANG, S.; LI, Y. Pharmacogenetics of statins treatment: Efficacy and safety. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 44, n. 6, p. 858–867, 2019.
- GUO, C.-G.; CHEUNG, K. S.; ZHANG, F.; CHAN, E. W.; CHEN, L.; WONG, I. C.; LEUNG, W. K. Incidences, temporal trends and risks of hospitalisation for gastrointestinal bleeding in new or chronic low-dose aspirin users after treatment for *Helicobacter pylori*: a territory-wide cohort study. **Gut**, v. 69, n. 3, p. 445–452, 2020.
- GUPTA, A.; BAH, M. NSAIDs in the Treatment of Postoperative Pain. **Current Pain and Headache Reports**, v. 20, n. 11, p. 62, 2016.

HALUSHKA, M. K.; WALKER, L. P.; HALUSHKA, P. V. Genetic variation in cyclooxygenase 1: Effects on response to aspirin. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 73, n. 1, p. 122–30, 2003.

HARO, C. P.; FEY, A. Análise do perfil epidemiológico , tratamento e evolução dos pacientes com hemorragia digestiva alta atendidos no pronto socorro do Hospital Regional Alto Vale. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 39, n. 3, p. 51–56, 2010.

HEARNSHAW, S. A.; LOGAN, R. F. A. A.; LOWE, D.; TRAVIS, S. P. L. L.; MURPHY, M. F.; PALMER, K. R. Acute upper gastrointestinal bleeding in the UK: patient characteristics, diagnoses and outcomes in the 2007 UK audit. **Gut**, v. 60, n. 10, p. 1327–1335, 2011.

HIROTA, T.; EGUCHI, S.; IEIRI, I. Impact of Genetic Polymorphisms in CYP2C9 and CYP2C19 on the Pharmacokinetics of Clinically Used Drugs. **Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 28, n. 1, p. 28–37, 2013.

HOLSTER, I. L.; VALKHOFF, V. E.; KUIPERS, E. J.; TJWA, E. T. T. L. New Oral Anticoagulants Increase Risk for Gastrointestinal Bleeding: A Systematic Review and Meta-analysis. **Gastroenterology**, v. 145, n. 1, p. 105–112.e15, 2013.

HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S.; STURDIVANT, R. X. **Applied Logistic Regression**. [s.l.] : Wiley, 2013. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781118548387>>
HREINSSON, J. P.; GUMUNDSSON, S.; KALAITZAKIS, E.; BJÖRNSSON, E. S. Lower gastrointestinal bleeding: Incidence, etiology, and outcomes in a population-based setting. **European Journal of Gastroenterology and Hepatology**, 2013.

HUANG, J. Q.; SRIDHAR, S.; HUNT, R. H. Role of Helicobacter pylori infection and non-steroidal anti-inflammatory drugs in peptic-ulcer disease: a meta-analysis. **The Lancet**, v. 359, n. 9300, p. 14–22, 2002.

INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA. **Amostra: Estudo caso-controle**. 1995.

INTERNATIONAL WARFARIN PHARMACOGENETICS CONSORTIUM. Estimation of the Warfarin Dose with Clinical and Pharmacogenetic Data. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 8, p. 753–764, 2009.

JAIRATH, V.; KAHAN, B.; LOGAN, R.; HEARNSHAW, S.; DORÉ, C.; TRAVIS, S.; MURPHY, M.; PALMER, K. Outcomes following acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding in relation to time to endoscopy: results from a nationwide study. **Endoscopy**, v. 44, n. 08, p. 723–730, 2012. a.

JAIRATH, V.; MARTEL, M.; LOGAN, R. F. A.; BARKUN, A. N. Why Do Mortality Rates for Nonvariceal Upper Gastrointestinal Bleeding Differ around the World? A Systematic Review of Cohort Studies. **Canadian Journal of Gastroenterology**, v. 26, n. 8, p. 537–543, 2012. b.

JOHNSON, J. A.; GONG, L.; WHIRL-CARRILLO, M.; GAGE, B. F.; SCOTT, S. A.; STEIN, C. M.; ANDERSON, J. L.; KIMMEL, S. E.; LEE, M. T. M.; PIRMOHAMED, M.; WADELIUS, M.; KLEIN, T. E.; ALTMAN, R. B. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for CYP2C9 and VKORC1 Genotypes and Warfarin Dosing. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 90, n. 4, p. 625–629, 2011.

JOSHI, M. S.; MINEO, C.; SHAUL, P. W.; BAUER, J. A. Biochemical consequences of the NOS3 Glu298Asp variation in human endothelium: altered caveolar localization and impaired response to shear. **The FASEB Journal**, v. 21, n. 11, p. 2655–2663, 2007.

KIM, H.-S.; HWANG, K.-Y.; CHUNG, I.-K.; PARK, S.-H.; LEE, M.-H.; KIM, S.-J.; HONG, S.-Y.

Tissue Plasminogen Activator and Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 Gene Polymorphism in Patients with Gastric Ulcer Complicated with Bleeding. **Journal of Korean Medical Science**, v. 18, n. 1, p. 58, 2003.

KIRCHHOF, P. et al. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. **European Heart Journal**, v. 37, n. 38, p. 2893–2962, 2016.

KLEIN, M. E.; PARVEZ, M. M.; SHIN, J.-G. Clinical Implementation of Pharmacogenomics for Personalized Precision Medicine: Barriers and Solutions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 106, n. 9, p. 2368–2379, 2017.

KRISHNA KUMAR, D.; SHEWADE, D. G.; LORIOT, M.-A.; BEAUNE, P.; BALACHANDER, J.; SAI CHANDRAN, B. V.; ADITHAN, C. Effect of CYP2C9, VKORC1, CYP4F2 and GGCX genetic variants on warfarin maintenance dose and explicating a new pharmacogenetic algorithm in South Indian population. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 70, n. 1, p. 47–56, 2014.

KUGAI, M.; UCHIYAMA, K.; TSUJI, T.; YORIKI, H.; FUKUI, A.; QIN, Y.; HIGASHIMURA, Y.; MIZUSHIMA, K.; YOSHIDA, N.; KATADA, K.; KAMADA, K.; HANDA, O.; TAKAGI, T.; KONISHI, H.; YAGI, N.; YOSHIKAWA, T.; SHIRASAKA, Y.; TAMAI, I.; NAITO, Y.; ITOH, Y. MDR1 is related to intestinal epithelial injury induced by acetylsalicylic acid. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 32, n. 4, p. 942–950, 2013.

KUO, C.-L.; DUAN, Y.; GRADY, J. Unconditional or Conditional Logistic Regression Model for Age-Matched Case–Control Data? **Frontiers in Public Health**, v. 6, 2018.

LADEIRA, M. S. P.; SALVADORI, D. M. F.; RODRIGUES, M. A. M. Biopatologia do *Helicobacter pylori*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 4, p. 335–342, 2003.

LAINE, L. The gastrointestinal effects of nonselective NSAIDs and COX-2–selective inhibitors☆. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 32, n. 3, p. 25–32, 2002.

LAINE, L. Upper Gastrointestinal Bleeding Due to a Peptic Ulcer. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 24, p. 2367–2376, 2016.

LAINE, L.; MCQUAID, K. R. Endoscopic Therapy for Bleeding Ulcers: An Evidence-Based Approach Based on Meta-Analyses of Randomized Controlled Trials. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 7, n. 1, p. 33–47, 2009.

LANAS-GIMENO, A.; LANAS, A. Risk of gastrointestinal bleeding during anticoagulant treatment. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 16, n. 6, p. 673–685, 2017.

LANAS, A. Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract. **Arthritis Research & Therapy**, v. 10, n. Suppl 2, p. S4, 2008.

LANAS, A.; BAJADOR, E.; SERRANO, P.; ARROYO, M.; FUENTES, J.; SANTOLARIA, S. Effects of Nitrate and Prophylactic Aspirin on Upper Gastrointestinal Bleeding: A Retrospective Case–Control Study. **Journal of International Medical Research**, v. 26, n. 3, p. 120–128, 1998.

LANAS, Á.; CARRERA-LASFUENTES, P.; ARGUEDAS, Y.; GARCÍA, S.; BUJANDA, L.; CALVET, X.; PONCE, J.; PEREZ-AÍSA, Á.; CASTRO, M.; MUÑOZ, M.; SOSTRES, C.; GARCÍA-RODRÍGUEZ, L. A. Risk of Upper and Lower Gastrointestinal Bleeding in Patients Taking Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs, Antiplatelet Agents, or Anticoagulants. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 13, n. 5, p. 906–912.e2, 2015.

LANAS, A.; CHAN, F. K. L. Peptic ulcer disease. **The Lancet**, v. 390, n. 10094, p. 613–624, 2017.

LANAS, A.; DUMONCEAU, J.-M. M.; HUNT, R. H.; FUJISHIRO, M.; SCHEIMAN, J. M.; GRALNEK, I. M.; CAMPBELL, H. E.; ROSTOM, A.; VILLANUEVA, C. C.; SUNG, J. J. Y. Y. Non-variceal upper gastrointestinal bleeding. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 18020, 2018.

LANAS, A.; WU, P.; MEDIN, J.; MILLS, E. J. Low Doses of Acetylsalicylic Acid Increase Risk of Gastrointestinal Bleeding in a Meta-Analysis. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 9, n. 9, p. 762- 768.e6, 2011.

LANGSTED, A.; NORDESTGAARD, B. Smoking is Associated with Increased Risk of Major Bleeding: A Prospective Cohort Study. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 119, n. 01, p. 039–047, 2019.

LAPORTE, J. R.; CARNÉ, X.; VIDAL, X.; MORENO, V.; JUAN, J. Upper gastrointestinal bleeding in relation to previous use of analgesics and non-steroidal anti-inflammatory drugs. **The Lancet**, v. 337, n. 8733, p. 85–89, 1991.

LAU, J. Y. W.; CHUNG, S. C. S.; LEUNG, J. W.; LO, K. K.; YUNG, M. Y.; LI, A. K. C. The Evolution of Stigmata of Hemorrhage in Bleeding Peptic Ulcers: A Sequential Endoscopic Study. **Endoscopy**, v. 30, n. 06, p. 513–518, 1998.

LAU, J. Y. W.; YU, Y.; TANG, R. S. Y.; CHAN, H. C. H.; YIP, H.-C.; CHAN, S. M.; LUK, S. W. Y.; WONG, S. H.; LAU, L. H. S.; LUI, R. N.; CHAN, T. T.; MAK, J. W. Y.; CHAN, F. K. L.; SUNG, J. J. Y. Timing of Endoscopy for Acute Upper Gastrointestinal Bleeding. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 14, p. 1299–1308, 2020.

LEE, C. R.; GOLDSTEIN, J. A.; PIEPER, J. A. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. **Pharmacogenetics**, v. 12, n. 3, p. 251–263, 2002.

LEE, Y.-C.; CHIANG, T.-H.; CHOU, C.-K.; TU, Y.-K.; LIAO, W.-C.; WU, M.-S.; GRAHAM, D. Y. Association Between Helicobacter pylori Eradication and Gastric Cancer Incidence: A Systematic Review and Meta-analysis. **Gastroenterology**, v. 150, n. 5, p. 1113- 1124.e5, 2016.

LEERDAM, M. E.; VREEBURG, E. M.; RAUWS, E. A. J.; GERAEDTS, A. A. M.; TIJSSEN, J. G. P.; REITSMA, J. B.; TYTGAT, G. N. J. Acute upper GI bleeding: did anything change?. Time trend analysis of incidence and outcome of acute upper GI bleeding between 1993/1994 and 2000. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 98, n. 7, p. 1494–1499, 2003.

LEPPER, E. R.; NOOTER, K.; VERWEIJ, J.; ACHARYA, M. R.; FIGG, W. D.; SPARREBOOM, A. Mechanisms of resistance to anticancer drugs: the role of the polymorphic ABC transporters ABCB1 and ABCG2. **Pharmacogenomics**, v. 6, n. 2, p. 115–138, 2005.

LI, J.; ZHANG, L.; ZHOU, H.; STONEKING, M.; TANG, K. Global patterns of genetic diversity and signals of natural selection for human ADME genes. **Human Molecular Genetics**, v. 20, n. 3, p. 528–540, 2011.

LI, X.; CAO, J.; FAN, L.; WANG, Q.; YE, L.; CUI, C.-P.; WANG, Y.-Z.; LIU, L.; LI, B.; WU, R.; ZHOU, F.; ZHANG, J. Genetic Polymorphisms of HO-1 and COX-1 Are Associated With Aspirin Resistance Defined by Light Transmittance Aggregation in Chinese Han Patients. **Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis**, v. 19, n. 5, p. 513–521, 2013.

LI, X.; LIN, Y.; ZHANG, R. Associations between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of coronary artery disease: A systematic review and meta-analysis of 132

case-control studies. **European Journal of Preventive Cardiology**, v. 26, n. 2, p. 160–170, 2019.

LI, X.; ZHAO, K.; MA, N.; SUN, S.; MIAO, Z.; ZHAO, Z. Association of ABCB1 promoter methylation with aspirin exposure, platelet function, and clinical outcomes in Chinese intracranial artery stenosis patients. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 73, n. 10, p. 1261–1269, 2017.

LI, Z.; ZOU, D.; MA, X.; CHEN, J.; SHI, X.; GONG, Y.; MAN, X.; GAO, L.; ZHAO, Y.; WANG, R.; YAN, X.; DENT, J.; SUNG, J. J.; WERNERSSON, B.; JOHANSSON, S.; LIU, W.; HE, J. Epidemiology of Peptic Ulcer Disease: Endoscopic Results of the Systematic Investigation of Gastrointestinal Disease in China. **American Journal of Gastroenterology**, v. 105, n. 12, p. 2570–2577, 2010.

LIM, L.; HO, K.; CHAN, Y.; TEOH, P.; KHOR, C.; LIM, L.; RAJNAKOVA, A.; ONG, T.; YEOH, K. Urgent endoscopy is associated with lower mortality in high-risk but not low-risk nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. **Endoscopy**, v. 43, n. 04, p. 300–306, 2011.

LIPPI, G.; DANESE, E.; FAVALORO, E. Harms and Benefits of Using Aspirin for Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Narrative Overview. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 45, n. 02, p. 157–163, 2019.

MACÍAS, Y.; GÓMEZ TABALES, J.; GARCÍA-MARTÍN, E.; AGÚNDEZ, J. A. G. An update on the pharmacogenomics of NSAID metabolism and the risk of gastrointestinal bleeding. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 16, n. 4, p. 319–332, 2020.

MALLAH, N.; ZAPATA-CACHAFEIRO, M.; AGUIRRE, C.; IBARRA-GARCÍA, E.; PALACIOS-ZABALZA, I.; MACÍAS-GARCÍA, F.; DOMÍNGUEZ-MUÑOZ, J. E.; PIÑEIRO-LAMAS, M.; IBÁÑEZ, L.; VIDAL, X.; VENDRELL, L.; MARTIN-ARIAS, L.; SÁINZ-GIL, M.; VELASCO-GONZÁLEZ, V.; FIGUEIRAS, A. Influence of Polymorphisms Involved in Platelet Activation and Inflammatory Response on Aspirin-Related Upper Gastrointestinal Bleeding: A Case-Control Study. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, 2020.

MAREE, A. O.; CURTIN, R. J.; CHUBB, A.; DOLAN, C.; COX, D.; O'BRIEN, J.; CREAN, P.; SHIELDS, D. C.; FITZGERALD, D. J. Cyclooxygenase-1 haplotype modulates platelet response to aspirin. **Journal of thrombosis and haemostasis : JTH**, v. 3, n. 10, p. 2340–5, 2005.

MARSDEN, P. A.; HENG, H. H.; SCHERER, S. W.; STEWART, R. J.; HALL, A. V.; SHI, X. M.; TSUI, L. C.; SCHAPPERT, K. T. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. **The Journal of biological chemistry**, v. 268, n. 23, p. 17478–88, 1993.

MARTÍNEZ, C.; BLANCO, G.; LADERO, J. M.; GARCÍA-MARTÍN, E.; TAXONERA, C.; GAMITO, F. G.; DIAZ-RUBIO, M.; AGÚNDEZ, J. A. G. Genetic predisposition to acute gastrointestinal bleeding after NSAIDs use. **British Journal of Pharmacology**, v. 141, n. 2, p. 205–208, 2004.

MCJUNKIN, B.; SISSOKO, M.; LEVIEN, J.; UPCHURCH, J.; AHMED, A. Dramatic Decline in Prevalence of Helicobacter pylori and Peptic Ulcer Disease in an Endoscopy-referral Population. **The American Journal of Medicine**, v. 124, n. 3, p. 260–264, 2011.

MCNEIL, J. J.; NELSON, M. R.; WOODS, R. L.; LOCKERY, J. E.; WOLFE, R.; REID, C. M.; KIRPACH, B.; et al. Effect of Aspirin on All-Cause Mortality in the Healthy Elderly. **New England Journal of Medicine**, v. 379, n. 16, p. 1519–1528, 2018.

MEGA, J. L.; CLOSE, S. L.; WIVIOTT, S. D.; SHEN, L.; WALKER, J. R.; SIMON, T.; ANTMAN, E. M.; BRAUNWALD, E.; SABATINE, M. S. Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and

cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON–TIMI 38 trial: a pharmacogenetic analysis. **The Lancet**, v. 376, n. 9749, p. 1312–1319, 2010.

MIYAMOTO, Y. Replication protein A1 reduces transcription of the endothelial nitric oxide synthase gene containing a -786T->C mutation associated with coronary spastic angina. **Human Molecular Genetics**, v. 9, n. 18, p. 2629–2637, 2000.

MONTES, R.; NANTES, Ó.; ALONSO, Á.; ZOZAYA, J. M.; HERMIDA, J. The influence of polymorphisms of VKORC1 and CYP2C9 on major gastrointestinal bleeding risk in anticoagulated patients. **British Journal of Haematology**, v. 143, n. 5, p. 727–733, 2008.

MORAES, S. A. De; SOUZA, J. M. P. De. Metodologia caso-controle em epidemiologia de doenças cardiovasculares: II - Análise de dados. **Revista de Saúde Pública**, v. 32, n. 1, p. 82–88, 1998.

MUSUMBA, C. O.; JORGENSEN, A.; SUTTON, L.; VAN EKER, D.; ZHANG, E.; O'HARA, N.; CARR, D. F.; PRITCHARD, D. M.; PIRMOHAMED, M.; O'HARA, N.; CARR, D. F.; PRITCHARD, D. M.; PIRMOHAMED, M. CYP2C19*17 gain-of-function polymorphism is associated with peptic ulcer disease. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 93, n. 2, p. 195–203, 2013.

NAGASSAKI, S.; SERTÓRIO, J. T. C.; METZGER, I. F.; BEM, A. F.; ROCHA, J. B. T.; TANUS-SANTOS, J. E. eNOS gene T-786C polymorphism modulates atorvastatin-induced increase in blood nitrite. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 41, n. 7, p. 1044–1049, 2006.

NAGATA, N.; NIIKURA, R.; SEKINE, K.; SAKURAI, T.; SHIMBO, T.; KISHIDA, Y.; TANAKA, S.; AOKI, T.; OKUBO, H.; WATANABE, K.; YOKOI, C.; AKIYAMA, J.; YANASE, M.; MIZOKAMI, M.; UEMURA, N. Risk of peptic ulcer bleeding associated with Helicobacter pylori infection, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, low-dose aspirin, and antihypertensive drugs: A case-control study. **Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)**, v. 30, n. 2, p. 292–298, 2015.

NAKAYAMA, M.; YASUE, H.; YOSHIMURA, M.; SHIMASAKI, Y.; KUGIYAMA, K.; OGAWA, H.; MOTOYAMA, T.; SAITO, Y.; OGAWA, Y.; MIYAMOTO, Y.; NAKAO, K. T -786 →C Mutation in the 5'-Flanking Region of the Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Is Associated With Coronary Spasm. **Circulation**, v. 99, n. 22, p. 2864–2870, 1999.

NARAYANAN, M.; REDDY, K. M.; MARSICANO, E. Peptic Ulcer Disease and Helicobacter pylori infection. **Missouri medicine**, v. 115, n. 3, p. 219–224, 2018.

NAWAZ, S. K.; RANI, A.; YOUSAF, M.; NOREEN, A.; ARSHAD, M. Genetic etiology of coronary artery disease considering NOS 3 gene variant rs1799983. **Vascular**, v. 23, n. 3, p. 270–276, 2015.

NEGOVAN, A.; VOIDĂZAN, S.; PANTEA, M.; MOLDOVAN, V.; BATAGA, S.; COZLEA, L.; MOCAN, S.; BANESCU, C. AGT A-20C (rs5050) gene polymorphism and ulcer occurrence in patients treated with low-dose aspirin: a case-control study / Polimorfismul AGT A-20C și ulcerele gastro-duodenale la pacienții sub tratament cu aspirină în doze antiagregante: studiu caz-contr. **Romanian Review of Laboratory Medicine**, v. 23, n. 2, 2015.

OAKLAND, K. Changing epidemiology and etiology of upper and lower gastrointestinal bleeding. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 42–43, p. 101610, 2019.

OAKLAND, K.; GUY, R.; UBEROI, R.; HOGG, R.; MORTENSEN, N.; MURPHY, M. F.; JAIRATH, V. Acute lower GI bleeding in the UK: Patient characteristics, interventions and outcomes in the first nationwide audit. **Gut**, 2018.

OLDENBURG, J.; WATZKA, M.; ROST, S.; MÜLLER, C. R. VKORC1: Molecular target of

coumarins. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 5, n. SUPPL. 1, p. 1–6, 2007.

OLIVEIRA-PAULA, G. H.; LACCHINI, R.; TANUS-SANTOS, J. E. Endothelial nitric oxide synthase: From biochemistry and gene structure to clinical implications of NOS3 polymorphisms. **Gene**, v. 575, n. 2, p. 584–599, 2016.

PALMA-BARQUEROS, V.; BOHDAN, N.; REVILLA, N.; VICENTE, V.; BASTIDA, J. M.; RIVERA, J. PTGS1 gene variations associated with bleeding and platelet dysfunction. **Platelets**, p. 1–7, 2020.

PANCHENKO, E.; KROPACHEVA, E.; DOBROVOLSKY, A.; TITAEVA, E.; ZEMLYANSKAYA, O.; TROFIMOV, D.; GALKINA, I.; LIFSHITS, G.; VEREINA, N.; SINITSIN, S.; VOROBYEVA, N.; GREHOVA, L.; ZATEYSHCHIKOV, D.; ZOTOVA, I.; VAVILOVA, T.; SIROTKINA, O.; GRONTKOVSKAYA, A. CYP2C9 and VKORC1 genotyping for the quality of long-standing warfarin treatment in Russian patients. **The Pharmacogenomics Journal**, v. 20, n. 5, p. 687–694, 2020.

PANNACH, S.; GOETZE, J.; MARTEN, S.; SCHREIER, T.; TITTL, L.; BEYER-WESTENDORF, J. Management and outcome of gastrointestinal bleeding in patients taking oral anticoagulants or antiplatelet drugs. **Journal of Gastroenterology**, v. 52, n. 12, p. 1211–1220, 2017.

PEARCE, N. Analysis of matched case-control studies. **BMJ**, p. i969, 2016.

PELETEIRO, B.; BASTOS, A.; FERRO, A.; LUNET, N. Prevalence of Helicobacter pylori Infection Worldwide: A Systematic Review of Studies with National Coverage. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 59, n. 8, p. 1698–1709, 2014.

PENA, S. D. J.; DI PIETRO, G.; FUCHSHUBER-MORAES, M.; GENRO, J. P.; HUTZ, M. H.; KEHDY, F. de S. G.; KOHLRAUSCH, F.; MAGNO, L. A. V.; MONTENEGRO, R. C.; MORAES, M. O.; MORAES, M. E. A. De; MORAES, M. R. De; OJOPI, É. B.; PERINI, J. A.; RACCIOPI, C.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, Â. K. C.; RIOS-SANTOS, F.; ROMANO-SILVA, M. A.; SORTICA, V. A.; SUAREZ-KURTZ, G. The Genomic Ancestry of Individuals from Different Geographical Regions of Brazil Is More Uniform Than Expected. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, p. e17063, 2011.

PERINI, J.; STRUCHINER, C.; SILVA-ASSUNÇÃO, E.; SANTANA, I.; RANGEL, F.; OJOPI, E.; DIAS-NETO, E.; SUAREZ-KURTZ, G. Pharmacogenetics of Warfarin: Development of a Dosing Algorithm for Brazilian Patients. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 84, n. 6, p. 722–728, 2008.

PIAZUELO, E.; FUENTES, J.; GARCÍA-GONZÁLEZ, M. A.; JIMÉNEZ, P.; LANAS, A.; GARCÍA-GONZÁLEZ, M. A.; JIMÉNEZ, P.; LANAS, A. A case-control study of the association between polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase and glycoprotein IIIa genes and upper gastrointestinal bleeding in users of low-dose aspirin. **Clinical therapeutics**, v. 30, n. 1, p. 121–30, 2008.

PILOTTO, A.; SERIPA, D.; FRANCESCHI, M.; SCARCELLI, C.; COLAIZZO, D.; GRANDONE, E.; NIRO, V.; ANDRIULLI, A.; LEANDRO, G.; DI MARIO, F.; DALLAPICCOLA, B. Genetic Susceptibility to Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug-Related Gastroduodenal Bleeding: Role of Cytochrome P450 2C9 Polymorphisms. **Gastroenterology**, v. 133, n. 2, p. 465–471, 2007.

PIQUE, J. M.; WHITTLE, B. J. R.; ESPLUGUES, J. V. The vasodilator role of endogenous nitric oxide in the rat gastric microcirculation. **European Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 2–3, p. 293–6, 1989.

PIRMOHAMED, M.; JAMES, S.; MEAKIN, S.; GREEN, C.; SCOTT, A. K.; WALLEY, T. J.;

- FARRAR, K.; PARK, B. K.; BRECKENRIDGE, A. M. Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: prospective analysis of 18 820 patients. **BMJ**, v. 329, n. 7456, p. 15–19, 2004.
- POSTULA, M.; KAPLON-CIESLICKA, A.; ROSIAK, M.; KONDRACKA, A.; SERAFIN, A.; FILIPIAK, K. J.; CZLONKOWSKI, A.; OPOLSKI, G.; JANICKI, P. K. Genetic determinants of platelet reactivity during acetylsalicylic acid therapy in diabetic patients: Evaluation of 27 polymorphisms within candidate genes. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 9, n. 11, p. 2291–2301, 2011.
- PRAXEDES, M. F. S.; MARTINS, M. A. P.; MOURÃO, A. O. M.; GOMES, K. B.; REIS, E. A.; SOUZA, R. P.; CAMPOS, E. I. F.; RIBEIRO, D. D.; ROCHA, M. O. C. Non-genetic factors and polymorphisms in genes CYP2C9 and VKORC1: predictive algorithms for TTR in Brazilian patients on warfarin. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 76, n. 2, p. 199–209, 2020.
- QUAN, S.; FROLKIS, A.; MILNE, K.; MOLODECKY, N.; YANG, H.; DIXON, E.; BALL, C. G.; MYERS, R. P.; GHOSH, S.; HILSDEN, R.; VAN ZANTEN, S. V.; KAPLAN, G. G. Upper-gastrointestinal bleeding secondary to peptic ulcer disease: Incidence and outcomes. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 46, p. 17568, 2014.
- RADOMSKI, M. W.; PALMER, R. M.; MONCADA, S. The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide. **British journal of pharmacology**, v. 92, n. 3, p. 639–46, 1987.
- RAMOS, E.; DOUMATEY, A.; ELKAHLOUN, A. G.; SHRINER, D.; HUANG, H.; CHEN, G.; ZHOU, J.; MCLEOD, H.; ADEYEMO, A.; ROTIMI, C. N. Pharmacogenomics, ancestry and clinical decision making for global populations. **The Pharmacogenomics Journal**, v. 14, n. 3, p. 217–222, 2014.
- RAO, P.; KNAUS, E. E. Evolution of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) Inhibition and Beyond. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 2, p. 81, 2008.
- RENDIC, S. Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data. **Drug Metabolism Reviews**, v. 34, n. 1–2, p. 83–448, 2002.
- RENDIC, S.; CARLO, F. J. Di. Human Cytochrome P450 Enzymes: A Status Report Summarizing Their Reactions, Substrates, Inducers, and Inhibitors. **Drug Metabolism Reviews**, v. 29, n. 1–2, p. 413–580, 1997.
- RETTIE, A. E.; KORZEKWA, K. R.; KUNZE, K. L.; LAWRENCE, R. F.; EDDY, A. C.; AOYAMA, T.; GELBOIN, H. V.; GONZALEZ, F. J.; TRAGER, W. F. Hydroxylation of warfarin by human cDNA-expressed cytochrome P-450: a role for P-4502C9 in the etiology of (S)-warfarin-drug interactions. **Chemical Research in Toxicology**, v. 5, n. 1, p. 54–59, 1992.
- RIEDER, M. J.; REINER, A. P.; GAGE, B. F.; NICKERSON, D. A.; EBY, C. S.; MCLEOD, H. L.; BLOUGH, D. K.; THUMMEL, K. E.; VEENSTRA, D. L.; RETTIE, A. E. Effect of VKORC1 Haplotypes on Transcriptional Regulation and Warfarin Dose. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 22, p. 2285–2293, 2005.
- ROBERT, A.; OLAFSSON, A. S.; LANCASTER, C.; WEI-RONG ZHANG. Interleukin-1 is cytoprotective, antisecretory, stimulates PGE2 synthesis by the stomach, and retards gastric emptying. **Life Sciences**, v. 48, n. 2, p. 123–134, 1991.
- RODRIGUES-SOARES, F.; KEHDY, F. S. G.; SAMPAIO-COELHO, J.; ANDRADE, P. X. C.; CÉSPEDES-GARRO, C.; ZOLINI, C.; AQUINO, M. M.; BARRETO, M. L.; HORTA, B. L.; LIMA-

COSTA, M. F.; PEREIRA, A. C.; LLERENA, A.; TARAZONA-SANTOS, E. Genetic structure of pharmacogenetic biomarkers in Brazil inferred from a systematic review and population-based cohorts: a RIBEF/EPIGEN-Brazil initiative. **The Pharmacogenomics Journal**, v. 18, n. 6, p. 749–759, 2018.

RODRIGUES-SOARES, F.; SUAREZ-KURTZ, G. Pharmacogenomics research and clinical implementation in Brazil. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 124, n. 5, p. 538–549, 2019.

ROTHWELL, P. M.; COOK, N. R.; GAZIANO, J. M.; PRICE, J. F.; BELCH, J. F. F.; RONCAGLIONI, M. C.; MORIMOTO, T.; MEHTA, Z. Effects of aspirin on risks of vascular events and cancer according to bodyweight and dose: analysis of individual patient data from randomised trials. **The Lancet**, v. 392, n. 10145, p. 387–399, 2018.

ROZHKOV, A.; SYCHEV, D. A.; KAZAKOV, R. E. ABCB1 polymorphism and acenocoumarol safety in patients with valvular atrial fibrillation. **International Journal of Risk & Safety in Medicine**, v. 27, n. s1, p. S15–S16, 2015.

SAIZ-RODRÍGUEZ, M.; BELMONTE, C.; ROMÁN, M.; OCHOA, D.; JIANG-ZHENG, C.; KOLLER, D.; MEJÍA, G.; ZUBIAUR, P.; WOJNICZ, A.; ABAD-SANTOS, F. Effect of ABCB1 C3435T Polymorphism on Pharmacokinetics of Antipsychotics and Antidepressants. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 123, n. 4, p. 474–485, 2018.

SAKITA, T. Endoscopy in diagnosis of early gastric cancer. **Clin Gastroenterol.**, v. 2, p. 345–60, 1973.

SARIN, N.; MONGA, N.; ADAMS, P. C. Time to Endoscopy and Outcomes in Upper Gastrointestinal Bleeding. **Canadian Journal of Gastroenterology**, v. 23, n. 7, p. 489–493, 2009.

SCHEINER, M. A. M.; DAMASCENO, A. M.; MAIA, R. C. ABCB1 single nucleotide polymorphisms in the Brazilian population. **Molecular Biology Reports**, v. 37, n. 1, p. 111–118, 2010.

SCHLESSELMAN, J. **Case-Control Studies: Design, Conduct, Analysis**. [s.l.] : Oxford University Press, 1982.

SCOTT, S. A.; EDELMANN, L.; KORNREICH, R.; ERAZO, M.; DESNICK, R. J. CYP2C9 , CYP2C19 and CYP2D6 allele frequencies in the Ashkenazi Jewish population. **Pharmacogenomics**, v. 8, n. 7, p. 721–730, 2007.

SCOTT, S. A.; KHASAWNEH, R.; PETER, I.; KORNREICH, R.; DESNICK, R. J. Combined CYP2C9 , VKORC1 and CYP4F2 frequencies among racial and ethnic groups. **Pharmacogenomics**, v. 11, n. 6, p. 781–791, 2010.

SERRANO, M. T.; LANAS, A. I.; LORENTE, S.; SAINZ, R. Cytokine effects on pepsinogen secretion from human peptic cells. **Gut**, v. 40, n. 1, p. 42–48, 1997.

SERRANO, T.; PIAZUELO, E.; BENITO, R.; SANTOLARIA, S.; LANAS, A. Bleeding duodenal ulcer and association with polymorphism of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 47, n. 05, p. 996–1000, 2002.

SETIA, M. Methodology series module 2: Case-control studies. **Indian Journal of Dermatology**, v. 61, n. 2, p. 146, 2016.

SHIOTANI, A.; FUJITA, Y.; NISHIO, K. Low-Dose Aspirin-Associated Upper and Mid Gastrointestinal Tract Damage and Gene Polymorphism. **Current Pharmaceutical Design**, v. 21, n. 35, p. 5066–72, 2015.

SHIOTANI, A.; MURAO, T.; FUJITA, Y.; FUJIMURA, Y.; SAKAKIBARA, T.; NISHIO, K.; HARUMA, K. Single nucleotide polymorphism markers for low-dose aspirin-associated peptic ulcer and ulcer bleeding. **Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)**, v. 29, n. S4, p. 47–52, 2014.

SHIOTANI, A.; NISHI, R.; YAMANAKA, Y.; MURAO, T.; MATSUMOTO, H.; TARUMI, K. I.; KAMADA, T.; SAKAKIBARA, T.; HARUMA, K. Renin-angiotensin system associated with risk of upper GI mucosal injury induced by low dose aspirin: Renin angiotensin system genes' polymorphism. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 56, n. 2, p. 465–471, 2011.

SIMMONS, D. L.; BOTTING, R. M.; HLA, T. Cyclooxygenase Isozymes: The Biology of Prostaglandin Synthesis and Inhibition. **Pharmacological Reviews**, v. 56, n. 3, p. 387–437, 2004.

SMITH, D. K.; DEMETRIOU, T.; WEBER, C. Aspirin for primary prevention: USPSTF recommendations for CVD and colorectal cancer. **The Journal of family practice**, v. 68, n. 3, p. 146–151, 2019.

SOLTANI BANAVANDI, M. J.; SATARZADEH, N. Association between VKORC1 gene polymorphism and warfarin dose requirement and frequency of VKORC1 gene polymorphism in patients from Kerman province. **The Pharmacogenomics Journal**, v. 20, n. 4, p. 574–578, 2020.

SOSTRES, C.; LANAS, A. Epidemiology and Demographics of Upper Gastrointestinal Bleeding: Prevalence, Incidence, and Mortality. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America**, v. 21, n. 4, p. 567–581, 2011.

STANLEY, A. J.; LAINE, L.; DALTON, H. R.; NGU, J. H.; SCHULTZ, M.; ABAZI, R.; ZAKKO, L.; THORNTON, S.; WILKINSON, K.; KHOR, C. J. L.; MURRAY, I. A.; LAURSEN, S. B. Comparison of risk scoring systems for patients presenting with upper gastrointestinal bleeding: international multicentre prospective study. **BMJ**, p. i6432, 2017.

STRATE, L. L.; SINGH, P.; BOYLAN, M. R.; PIAWAH, S.; CAO, Y.; CHAN, A. T. A Prospective Study of Alcohol Consumption and Smoking and the Risk of Major Gastrointestinal Bleeding in Men. **PLOS ONE**, v. 11, n. 11, p. e0165278, 2016.

SUAREZ-KURTZ, G.; AMORIM, A.; DAMASCENO, A.; HUTZ, M. H.; MORAES, M. O. De; OJOPI, É. B.; PENA, S. D.; PERINI, J. A.; PRATA, M. J.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, Â.; ROMANO-SILVA, M. A.; TEIXEIRA, D.; STRUCHINER, C. J. VKORC1 polymorphisms in Brazilians: comparison with the Portuguese and Portuguese-speaking Africans and pharmacogenetic implications. **Pharmacogenomics**, v. 11, n. 9, p. 1257–1267, 2010.

SUAREZ-KURTZ, G.; GENRO, J. P.; DE MORAES, M. O.; OJOPI, E. B.; PENA, S. D. J.; PERINI, J. A.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A.; ROMANO-SILVA, M. A.; SANTANA, I.; STRUCHINER, C. J. 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. 267–276, 2012.

SUISSA, S.; BOURGAULT, C.; BARKUN, A.; SHEEHY, O.; ERNST, P. Antihypertensive drugs and the risk of gastrointestinal bleeding. **American Journal of Medicine**, v. 105, n. 3, p. 230–235, 1998.

SWEN, J. J.; NIJENHUIS, M.; DE BOER, A.; GRANDIA, L.; MAITLAND-VAN DER ZEE, A. H.; MULDER, H.; RONGEN, G. A. P. J. M.; VAN SCHAIK, R. H. N.; SCHALEKAMP, T.; TOUW, D. J.; VAN DER WEIDE, J.; WILFFERT, B.; DENEER, V. H. M.; GUCHELAAR, H.-J. Pharmacogenetics: From Bench to Byte— An Update of Guidelines. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 89, n. 5, p. 662–673, 2011.

TANG, H.-L.; LI, Y.; HU, Y.-F.; XIE, H.-G.; ZHAI, S.-D. Effects of CYP2C19 Loss-of-Function Variants on the Eradication of *H. pylori* Infection in Patients Treated with Proton Pump Inhibitor-Based Triple Therapy Regimens: A Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, p. e62162, 2013.

TARGOWNIK, L. E.; NABALAMBA, A. Trends in Management and Outcomes of Acute Nonvariceal Upper Gastrointestinal Bleeding: 1993–2003. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 4, n. 12, p. 1459–1466.e1, 2006.

TAVARES, L. C.; MARCATTO, L. R.; SOARES, R. A. G.; KRIEGER, J. E.; PEREIRA, A. C.; SANTOS, P. C. J. L. Association Between ABCB1 Polymorphism and Stable Warfarin Dose Requirements in Brazilian Patients. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, 2018.

TORRES, M. J.; BARRIONUEVO, E.; KOWALSKI, M.; BLANCA, M. Hypersensitivity Reactions to Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. **Immunology and Allergy Clinics of North America**, v. 34, n. 3, p. 507–524, 2014.

TSUJIMOTO, S.; MOKUDA, S.; MATOBA, K.; YAMADA, A.; JOUYAMA, K.; MURATA, Y.; OZAKI, Y.; ITO, T.; NOMURA, S.; OKUDA, Y. The prevalence of endoscopic gastric mucosal damage in patients with rheumatoid arthritis. **PLOS ONE**, v. 13, n. 7, p. e0200023, 2018.

UCAR, M.; ALAGOZLU, H.; SAHIN, S.; OZDEMIR, O. The relationship between CYP2C9 gene polymorphisms and upper gastrointestinal bleeding in patients who used warfarin. **Medicinski Glasnik**, v. Feb;10, n. 1, p. 50–4, 2013.

ULEHLOVA, J.; SLAVIK, L.; KUCEROVA, J.; KRCOVA, V.; VACLAVIK, J.; INDRAK, K. Genetic Polymorphisms of Platelet Receptors in Patients with Acute Myocardial Infarction and Resistance to Antiplatelet Therapy. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers**, v. 18, n. 9, p. 599–604, 2014.

VAN LEERDAM, M. E. E. Epidemiology of acute upper gastrointestinal bleeding. v. 22, n. 2, p. 209–224, 2008.

VAN OIJEN, M. G. H.; LAHEIJ, R. J. F.; KOETSIER, M.; DE KLEINE, E.; TE MORSCHE, R. H. M.; VAN KERKHOVEN, L. A. S.; JANSEN, J. B. M. J.; DRENT, J. P. H. Effect of a Specific Cyclooxygenase-Gene Polymorphism (A-842G/C50T) on the Occurrence of Peptic Ulcer Hemorrhage. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 51, n. 12, p. 2348–2352, 2006.

VAN OIJEN, M.; KOETSIER, M.; LAHEIJ, R.; ROELOFS, H.; TE MORSCHE, R.; PETERS, W.; VERHEUGT, F.; JANSEN, J.; DRENT, J. Genetic Polymorphisms in UDP-Glucuronosyltransferase 1A6 Are Not Associated with NSAIDs-Related Peptic Ulcer Haemorrhage. **Drug Metabolism Letters**, v. 3, n. 3, p. 199–204, 2009.

VANE, J. R.; BAKHLE, Y. S.; BOTTING, R. M. CYCLOOXYGENASES 1 AND 2. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 38, n. 1, p. 97–120, 1998.

VANHOUTTE, P. M.; SHIMOKAWA, H.; FELETOU, M.; TANG, E. H. C. Endothelial dysfunction and vascular disease - a 30th anniversary update. **Acta Physiologica**, v. 219, n. 1, p. 22–96, 2017.

VECOLI, C. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms in Cardiovascular Disease. In: **Vitamins and Hormones**. [s.l.: s.n.]. p. 387–406.

VERBELEN, M.; WEALE, M. E.; LEWIS, C. M. Cost-effectiveness of pharmacogenetic-guided treatment: are we there yet? **The Pharmacogenomics Journal**, v. 17, n. 5, p. 395–402, 2017.

VIANNA-JORGE, R.; PERINI, J.; RONDINELLI, E.; SUAREZ-KURTZ, G. CYP2C9 genotypes and the pharmacokinetics of tenoxicam in Brazilians. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 76, n. 1, p. 18–26, 2004.

VIANNA, C. A.; GONZÁLEZ, D. A.; MATIJASEVICH, A. Utilização de ácido acetilsalicílico (AAS) na prevenção de doenças cardiovasculares: um estudo de base populacional. v. 28, n. 6, p. 1122–1132, 2012.

VOGEL, L. K.; SÆBØ, M.; HØYER, H.; KOPP, T. I.; VOGEL, U.; GODIKSEN, S.; FRENZEL, F. B.; HAMFJORD, J.; BOWITZ-LOTHE, I. M.; JOHNSON, E.; KURE, E. H.; ANDERSEN, V. Intestinal PTGS2 mRNA Levels, PTGS2 Gene Polymorphisms, and Colorectal Carcinogenesis. **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, p. e105254, 2014.

VON ELM, E.; ALTMAN, D. G.; EGGER, M.; POCKOCK, S. J.; GÖTZSCHE, P. C.; VANDENBROUCKE, J. P. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 61, n. 4, p. 344–349, 2008.

WACHOLDER, S.; MCLAUGHLIN, J. K.; SILVERMAN, D. T.; MANDEL, J. S. Selection of controls in case-control studies: I. Principles. **American Journal of Epidemiology**, 1992.

WADELIUS, M.; CHEN, L. Y.; DOWNES, K.; GHORI, J.; HUNT, S.; ERIKSSON, N.; WALLERMAN, O.; MELHUS, H.; WADELIUS, C.; BENTLEY, D.; DELOUKAS, P. Common VKORC1 and GGCX polymorphisms associated with warfarin dose. **The Pharmacogenomics Journal**, v. 5, n. 4, p. 262–270, 2005.

WALLACE, J. L.; MILLER, M. J. S. Nitric oxide in mucosal defense: A little goes a long way. **Gastroenterology**, v. 119, n. 2, p. 512–520, 2000.

WANG, F.; MENG, W.; WANG, B.; QIAO, L. Helicobacter pylori-induced gastric inflammation and gastric cancer. **Cancer Letters**, v. 345, n. 2, p. 196–202, 2014.

WANG, J.; DUDLEY, D.; WANG, X. L. Haplotype-Specific Effects on Endothelial NO Synthase Promoter Efficiency. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 22, n. 5, 2002.

WANG, J.; SHETE, S. Using Both Cases and Controls for Testing Hardy-Weinberg Proportions in a Genetic Association Study. **Human Heredity**, v. 69, n. 3, p. 212–218, 2010.

WANG, T. Association between TNF- α polymorphisms and the risk of upper gastrointestinal bleeding induced by aspirin in patients with coronary heart disease. **Annals of Human Genetics**, v. 83, n. 3, p. 124–133, 2019.

WANG, X. L.; MAHANEY, M. C.; SIM, A. S.; WANG, J.; WANG, J.; BLANGERO, J.; ALMASY, L.; BADENHOP, R. B.; WILCKEN, D. E. Genetic contribution of the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide levels. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 17, n. 11, p. 3147–53, 1997.

WHITLOCK, E. P.; BURDA, B. U.; WILLIAMS, S. B.; GUIRGUIS-BLAKE, J. M.; EVANS, C. V. Bleeding Risks With Aspirin Use for Primary Prevention in Adults: A Systematic Review for the U.S. Preventive Services Task Force. **Annals of Internal Medicine**, v. 164, n. 12, p. 826, 2016.

WIDDERSHOVEN, J.; VAN MUNSTER, P.; DE ABREU, R.; BOSMAN, H.; VAN LITH, T.; VAN DER PUTTEN-VAN MEYEL, M.; MOTOHARA, K.; MATSUDA, I. Four methods compared for measuring des-carboxy-prothrombin (PIVKA-II). **Clinical chemistry**, v. 33, n. 11, p. 2074–8, 1987.

WOODAHL, E.; HO, R. (Section A: Molecular, Structural, and Cellular Biology of Drug Transporters) The Role of MDR1 Genetic Polymorphisms in Interindividual Variability in P-glycoprotein Expression and Function. **Current Drug Metabolism**, v. 5, n. 1, p. 11–19, 2004.

WU, Y.; HU, Y.; YOU, P.; CHI, Y.-J. J.; ZHOU, J.-H. H.; ZHANG, Y.-Y. Y.; LIU, Y.-L. L. Study of Clinical and Genetic Risk Factors for Aspirin-induced Gastric Mucosal Injury. **Chinese medical journal**, v. 129, n. 2, p. 174–80, 2016.

WYATT, J. E.; PETTIT, W. L.; HARIRFOROOSH, S. Pharmacogenetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **The Pharmacogenomics Journal**, v. 12, n. 6, p. 462–467, 2012.

YANG, W.; ZILOV, A.; SOEWONDO, P.; BECH, O. M.; SEKKAL, F.; HOME, P. D. Observational studies: going beyond the boundaries of randomized controlled trials. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 88, p. S3–S9, 2010.

ZALTMAN, C.; DE SOUZA, H. S. P.; CASTRO, M. E. C.; SOBRAL, M. de F. S.; DIAS, P. C. P.; LEMOS, V. Upper gastrointestinal bleeding in a Brazilian hospital: A retrospective study of endoscopic records. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 39, n. 2, p. 74–80, 2002.

ZHANG, K.; BAI, P.; SHI, S.; ZHOU, B.; WANG, Y.; SONG, Y.; RAO, L.; ZHANG, L. The G894T polymorphism on endothelial nitric oxide synthase gene is associated with increased coronary heart disease among Asia population: Evidence from a Meta analysis. **Thrombosis Research**, 2012.

ZHANG, M.-X.; OU, H.; SHEN, Y. H.; WANG, J.; WANG, J.; COSELLI, J.; LI WANG, X. Regulation of endothelial nitric oxide synthase by small RNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 47, p. 16967–16972, 2005.

ZHANG, M.-X.; ZHANG, C.; SHEN, Y. H.; WANG, J.; LI, X.-N.; CHEN, L.; ZHANG, Y.; COSELLI, J. S.; WANG, X. L. Effect of 27nt Small RNA on Endothelial Nitric-Oxide Synthase Expression. **Molecular Biology of the Cell**, v. 19, n. 9, p. 3997–4005, 2008.

ZHOU, S.-F.; MING DI, Y.; CHAN, E.; DU, Y.-M.; CHOW, V.; XUE, C.; LAI, X.; WANG, J.-C.; LI, C.; TIAN, M.; DUAN, W. Clinical Pharmacogenetics and Potential Application in Personalized Medicine. **Current Drug Metabolism**, v. 9, n. 8, p. 738–784, 2008.

10) LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1: Registro da revisão sistemática no *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO) (CRD42020167658).

08/04/2021

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=167658

ANEXO A



PROSPERO

International prospective register of systematic reviews

Genetic polymorphisms associated with upper gastrointestinal bleeding: a systematic review and meta-analysis

Marcela Forgerini, Rosa Camila Lucchetta, Tales Rubens de Nadai, Patrícia de Carvalho Mastroianni

To enable PROSPERO to focus on COVID-19 registrations during the 2020 pandemic, this registration record was automatically published exactly as submitted. The PROSPERO team has not checked eligibility.

Citation

Marcela Forgerini, Rosa Camila Lucchetta, Tales Rubens de Nadai, Patrícia de Carvalho Mastroianni. Genetic polymorphisms associated with upper gastrointestinal bleeding: a systematic review and meta-analysis. PROSPERO 2020 CRD42020167658 Available from: https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42020167658

Review question

What are the genetic polymorphisms associated with upper gastrointestinal bleeding?

Searches

The searches will be conducted in PubMed, Scopus and Cochrane Central databases (from inception to February 2020). In addition, lists of references from reviews retrieved from PubMed, Scopus, Cochrane Central and Joanna Briggs Institute Database of Systematic Reviews and Implementation Reports databases will be read to identify primary studies of interest. Searches will be re-run prior to the final analysis. Registers written in non-Roman characters will be excluded. There will be no restriction of publication time for the studies.

Types of study to be included

Observational studies (including case-control and cohort studies). Abstracts of scientific events, comments, letters, theses, and dissertations will be excluded.

Condition or domain being studied

Upper gastrointestinal bleeding is gastrointestinal bleeding resulting from lesions proximal to the Treitz ligament and is classified as either varicose or non-varicose. Non-varicose etiology is the most frequent and the focus of this review.

Participants/population

Inclusion: Individuals with upper gastrointestinal bleeding (as diagnosed using any recognised diagnostic criteria);
Exclusion: Individuals with upper gastrointestinal bleeding varicose.

Intervention(s), exposure(s)

This review will consider studies that evaluated genetic polymorphisms (etiology or exposure) associated with the diagnosis of upper gastrointestinal bleeding.

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=167658

1/4

08/04/2021

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=167658**Comparator(s)/control**

Absence of genetic polymorphism.

Context

There will be no restrictions for context.

Main outcome(s)

Development of non-varicose upper digestive bleeding.

Measures of effect

Not applicable

Additional outcome(s)

Not applicable

Measures of effect

Not applicable

Data extraction (selection and coding)

Study selection: Two reviewers, independently, will do the selection process of the studies. The screening will be done through the reading of titles and abstracts, and recording decisions will be done using the Microsoft Office Excel spreadsheet. After this step, the selected studies will be read in full and evaluated according to the inclusion and exclusion criteria defined by the same two reviewers. Any disagreements that arise between the reviewers at each stage of the selection process will be resolved through discussion, or with a third reviewer.

Data extraction: Data will be extracted from papers included in the systematic review by two independent reviewers using a data extraction tool developed by the reviewers in Microsoft Office Excel (Microsoft, USA). The extracted data will include specific details about (i) study characteristics (authors' names, year of publication, country, sample size, setting), (ii) patient demographics and baseline characteristics (sex, ethnicity, age, comorbidities, reactivity to *Helicobacter pylori*, history of gastrointestinal disease, consumption of alcohol, caffeine, and tobacco, exposure to drugs), (iii) methodological aspects (i.e. study design and methodology, inclusion and exclusion criteria, definition of upper gastrointestinal bleeding); (iv) genetic polymorphisms (gene and allele evaluated, the technique for the identification of genetic polymorphism, justification of the evaluated polymorphism, frequency in the population studied), (v) the number of events (i.e. upper gastrointestinal bleeding and diagnostic criteria) or odds ratio, risk relative or hazard ratio for adjusted and non-adjusted analysis for confounding factors. The draft data extraction tool will be modified and revised as necessary during the process of extracting data pilot from each included paper. Modifications will be detailed in the full systematic review. Any disagreements that arise between the reviewers will be resolved through discussion, or with a third reviewer. Authors of papers will be contacted to request missing or additional data, where required.

Risk of bias (quality) assessment

Risk of bias assessment will be done by two independent reviewers using JBI's critical appraisals for cohort studies, and case-control studies. The assessment will be done at the outcome level. Any disagreements that arise between the reviewers will be resolved through discussion, or with a third reviewer.

Strategy for data synthesis

Statistical analyses will be performed using the R v. 3.4.1/ R studio 1.0.153 software – packages READR, META and METAFOR. A meta-analysis of the main analyses will be conducted using a random model by Hartung-Knapp and the τ^2 estimator from the Sidik-Jonjman, due to the high expected heterogeneity for observational studies, and Higgins inconsistency test (I^2) being used for the evaluation of heterogeneity. The results will be summarized according to the odds ratio (OR), 95% confidence interval (95% CI) and prediction interval (PI). In cases of meta-analyses containing 10 or more studies, the probability of publication bias will be evaluated, with a statistical test based on the Harbor test and visual analysis of the

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=167658

2/4

08/04/2021

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=167658

presence of asymmetry in the funnel plot. The main analysis will consider adjusted estimates for confounding variables, when available. Sensitivity analyses will be performed to validate the conclusions, using the adjustment of the random effects model Mantel-Haenszel method, with DerSimonian-Laird estimator for τ^2 , presence of adjustment for confounding factors, as well as modification of the effect estimation (relative risk instead of OR). In addition, arbitrary exclusion from studies will be performed. A diagrammatic, tabular and narrative summary will accompany the meta-analyses.

Analysis of subgroups or subsets

The subgroup analyses will consider the following: genetic polymorphism, study design, risk of bias, ethnicity, and therapeutic class or drug.

Contact details for further information

Marcela Forgerini
marcelaforgerini@gmail.com

Organisational affiliation of the review

São Paulo State University (UNESP)
<https://www2.fcfar.unesp.br/>

Review team members and their organisational affiliations

Miss Marcela Forgerini. São Paulo State University
Dr Rosa Camila Lucchetta. Federal University of Paraná
Professor Tales Rubens de Nadai. University of São Paulo
Assistant/Associate Professor Patrícia de Carvalho Mastroianni. São Paulo State University

Type and method of review

Meta-analysis, Systematic review, Other

Anticipated or actual start date

01 February 2020

Anticipated completion date

01 May 2020

Funding sources/sponsors

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo [grant number 2018/07501-9] and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - finance Code 001.

Conflicts of interest

Language

English

Country

Brazil

Stage of review

Review Ongoing

Subject index terms status

Subject indexing assigned by CRD

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=167658

3/4

08/04/2021

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=167658**Subject index terms**

MeSH headings have not been applied to this record

Date of registration in PROSPERO

28 April 2020

Date of first submission

11 February 2020

Stage of review at time of this submission

Stage	Started	Completed
Preliminary searches	Yes	No
Piloting of the study selection process	Yes	No
Formal screening of search results against eligibility criteria	No	No
Data extraction	No	No
Risk of bias (quality) assessment	No	No
Data analysis	No	No

The record owner confirms that the information they have supplied for this submission is accurate and complete and they understand that deliberate provision of inaccurate information or omission of data may be construed as scientific misconduct.

The record owner confirms that they will update the status of the review when it is completed and will add publication details in due course.

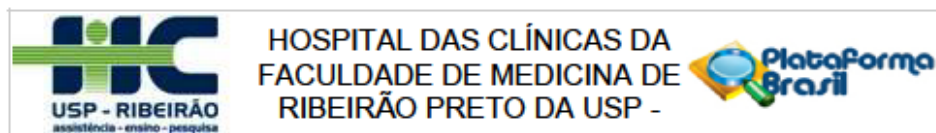
Versions

28 April 2020

PROSPERO

This information has been provided by the named contact for this review. CRD has accepted this information in good faith and registered the review in PROSPERO. The registrant confirms that the information supplied for this submission is accurate and complete. CRD bears no responsibility or liability for the content of this registration record, any associated files or external websites.

ANEXO 2: Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Determinantes Genéticos da hemorragia gastrointestinal associada ao uso de ácido acetilsalicílico como agente antiplaquetário: um Estudo de Caso-Controlle

Pesquisador: Tales Rubens de Nadai

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 53753115.4.0000.5440

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO
Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.538.886

Apresentação do Projeto:

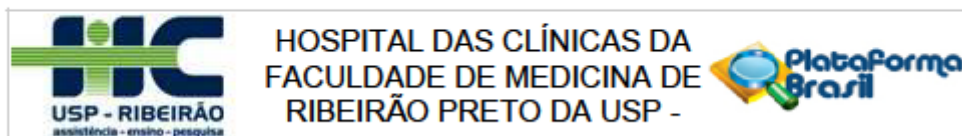
As hemorragias gastrointestinais (HGI) são uma das reações adversas mais frequentes e com consequências negativas. As diferentes respostas idiossincráticas observadas relacionadas às HGI em indivíduos que consomem ácido acetilsalicílico (AAS) como agente antiplaquetário pode ser devido à presença de variantes genéticas nos genes para ciclo-oxigenase 1 (COX-1) e da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS). O projeto proposto é um estudo caso-controlle incidente. Serão considerados como casos (n = 400) indivíduos com diagnóstico de perfuração de úlcera ou hemorragia gastrointestinal superior diagnosticada por endoscopia. Como controle, serão recrutados 1.600 sujeitos que buscarem a unidade de pré-operatório para qualquer processo cirúrgico indolor. Será realizada uma análise em conjunto (agrupada) com os dados de outros centros de pesquisa que compreendem os hospitais da região da Galícia, na Espanha, e Aveiro, em Portugal.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral: Identificar os determinantes genéticos das HGI associados ao consumo de AAS em doses antiagregantes.

Objetivos principais: (a) Identificar os haplótipos de COX-1 associados ao incremento do risco de

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 1.536.886

HGI em consumidores de AAS em doses antiagregantes. (b) Identificar os haplótipos da eNOS associados a um incremento do risco de HGI em consumidores de AAS em doses antiagregantes.

Objetivos secundários: (a) Determinar quais são os haplótipos de COX-1 associados a um incremento de HGI em consumidores de AAS em doses antiagregantes. (b) Identificar os genótipos do CYP2C9 associados a um incremento do risco de HGI em consumidores de AINEs metabolizados por esta enzima. (c) Analisar o risco de HGI em consumidores de AINEs e portadores simultaneamente de CYP2C9*3 e de haplótipos de risco de COX-1. (d) Analisar o risco de HGI em consumidores de AAS e portadores simultaneamente de haplótipos de risco de COX-1 e de eNOS.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os pesquisadores argumentam que o questionário apresenta riscos mínimos e inerentes ao estudo, mas todos os participantes serão orientados a desistirem em caso de qualquer desconforto durante o desenvolvimento do trabalho. A análise das endoscopias será feita sem prejuízos ao diagnóstico da doença e nem mesmo ao tempo de tratamento. A coleta de sangue apresentará riscos ou desconfortos mínimos. Uma pequena quantidade será recolhida durante a coleta de sangue, que será feita pelo próprio hospital antes ou depois da endoscopia. Esse procedimento também não aumentará o tempo dentro do hospital.

Benefícios:

Os pesquisadores esperam que os resultados deste estudo beneficiarão os pacientes que apresentam risco de hemorragia pelas suas características genéticas, que será informado para aqueles que manifestarem interesse. Argumentam que se o paciente aceitar o armazenamento do seu material para outras correlações genéticas ou análise de novos genes, novas informações serão fornecidas.

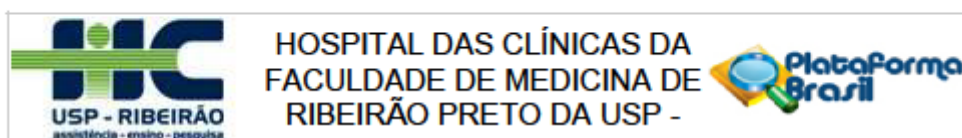
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Considerando que os pesquisadores responderam adequadamente aos pontos abordados no parecer anterior, considera-se o projeto de pesquisa e os respectivos TCLEs aptos à aprovação.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os pesquisadores apresentam TCLE para casos e controles, lista das instituições participantes,

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
 Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
 UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
 Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 1.536.886

documentação dos biorrepositórios e TCLE para biorrepositório, folha de rosto e outros documentos.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto e à luz da Resolução CNS 466/2012, o projeto de pesquisa Versão 2 – 31 de março de 2016, assim como a criação do biorrepositório e os Termos de Consentimento Livres e Esclarecido Versão 2 – 31 de março de 2016, podem ser enquadrados na categoria APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_452784.pdf	05/04/2016 15:17:20		Aceito
Outros	OficioHEABBiorrepositoriohospital.pdf	05/04/2016 15:16:43	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorrepositório / Biobanco	CRIACAOBIORREPOSITORIO.pdf	05/04/2016 15:16:14	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDetalhadoABRIL.pdf	05/04/2016 15:12:34	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorrepositório / Biobanco	TERMODECONSENTIMENTOPARABIORREPOSITORIO.pdf	01/04/2016 12:17:12	Tales Rubens de Nadai	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	NovoTCLEControles.pdf	01/04/2016 12:16:49	Tales Rubens de Nadai	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	NovoTCLECasos.pdf	01/04/2016 12:16:40	Tales Rubens de Nadai	Aceito

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900

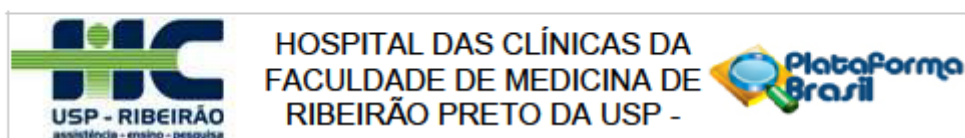
UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 1.536.886

Justificativa de Ausência	NovoTCLECasos.pdf	01/04/2016 12:16:40	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Outros	CartaderespostaaaoCEP.pdf	01/04/2016 12:16:28	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDetalhadoMar.pdf	02/03/2016 16:41:09	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Outros	Listadasinstituicoesparticipantes.pdf	18/02/2016 16:04:29	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Orçamento	PlanejamentoOrcamentario.pdf	18/02/2016 16:02:08	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Orçamento	FormularioUPC.pdf	18/02/2016 16:01:12	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.pdf	18/02/2016 15:24:54	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Outros	medicamento.pdf	29/01/2016 18:37:23	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Outros	Exclusaocontrole.pdf	29/01/2016 18:35:51	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Outros	Exclusaosecundaria.pdf	29/01/2016 18:35:17	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Outros	Exclusao primaria.pdf	29/01/2016 18:34:47	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Outros	Questionario.pdf	29/01/2016 18:34:24	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Declaração do Patrocinador	TERMO_FARMACOVIGILANCIA.pdf	29/01/2016 18:33:24	Tales Rubens de Nadai	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	29/01/2016 18:32:27	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declara_figueiras.pdf	29/01/2016 16:25:47	Tales Rubens de Nadai	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

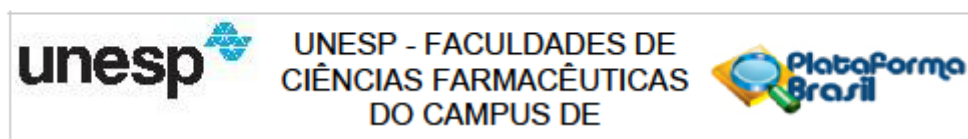
Não

RIBEIRAO PRETO, 10 de Maio de 2016

Assinado por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
(Coordenador)

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br

ANEXO 3: Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Determinantes Genéticos da hemorragia gastrointestinal associada ao uso de ácido acetilsalicílico como agente antiplaquetário: um Estudo de Caso-Controlle

Pesquisador: Tales Rubens de Nadai

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 53753115.4.3001.5426

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO
Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.857.615

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo de caso-controlle para avaliar determinantes genéticos da hemorragia gastrointestinal associada ao uso de ácido acetilsalicílico como agente antiplaquetário.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivos do proponente e equipe é identificar os determinantes genéticos de hemorragia gastrointestinal associados ao consumo de AAS em doses antiagregantes. Há objetivos secundários que dependerão de amostras informações do participante. Segundo os autores, os objetivos secundários são:

1. Determinar quais são os haplótipos de COX-1 associados a um incremento de HGI em consumidores de AAS em doses antiagregantes.
2. Identificar os genótipos do CYP2C9 associados a um incremento do risco de HGI em consumidores de AINEs metabolizados por esta enzima.
3. Analisar o risco de HGI em consumidores de AINEs e portadores simultaneamente de CYP2C9*3e de haplótipos de risco de COX-1.
4. Analisar o risco de HGI em consumidores de AAS e portadores simultaneamente de haplótipos de risco de COX-1 e de eNOS.

Endereço: Rodovia Araraquara Jau, km 1
Bairro: Campus Universitário
UF: SP **Município:** ARARAQUARA
Telefone: (16)3301-6897 **CEP:** 14.801-902
E-mail: sta@fctar.unesp.br



UNESP - FACULDADES DE
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DO CAMPUS DE



Continuação do Parecer: 1.657.615

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os autores:

O estudo apresentará riscos e desconfortos mínimos ao sujeito. A aplicação do questionário prolongará por 30 minutos sua permanência no hospital e causará desconfortos mínimos inerentes à pesquisa. A coleta de sangue, por sua vez, ocorrerá durante a coleta para a realização de exames de rotina, evitando a necessidade de realizar uma nova punção; sendo assim, essa etapa da coleta de dados não gerará desconforto adicional ao paciente, tampouco causará prejuízos à rotina da equipe hospitalar.

Os dados e o material biológico de cada paciente serão identificados por um código que não permite identificá-lo diretamente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo multicêntrico, com participação de 50 municípios, 1600 casos e 400 controles. Haverá coleta de material biológico através de punção venal (8 ml) e aplicação de questionário e entrevista durante internação para coleta de informações sociodemográficas e anamnese farmacológica. Caso houver necessidade, contato telefônico posterior.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta um termo de Biorrepositório, sob a responsabilidade de Profa. Dra. Patrícia Mastroiani, que será locado no Hospital Estadual de Américo Brasiliense. No entanto, para a criação de um Biorrepositório, é necessário haver autorização da Instituição Proponente e as participantes. Além disso, deve estar de acordo com a resolução CNS 411/2011, como prazo de manutenção do biorrepositório, de 10 anos, e a necessidade de trazer explicitamente que as amostras poderão ser utilizadas em estudos futuros, o que não ocorre com o atual TCLE.

Segundo a resolução CNS 411/2011:

"4. No caso de Biorrepositório, as condições associadas ao armazenamento de material biológico humano devem estar explicitadas no Projeto de Pesquisa respectivo, devendo seu Regulamento ser apreciado pelo CEP institucional ou por CEP indicado pela CONEP e, quando for o caso, pela CONEP, segundo atribuições definidas na Resolução CNS no 196/96 e complementares.

6. O consentimento livre e esclarecido referente à coleta, depósito, armazenamento, utilização e descarte de material biológico humano em Biorrepositório é formalizado por meio de TCLE específico para cada pesquisa, conforme preconizado nas resoluções do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

13. No caso de pesquisa envolvendo mais de uma instituição deve haver acordo firmado entre as instituições participantes, contemplando formas de operacionalização, compartilhamento e

Endereço: Rodovia Araraquara Jd0, km 1

Bairro: Campus Universitário

CEP: 14.801-902

UF: SP

Município: ARARAQUARA

Telefone: (16)3301-6897

E-mail: sta@fctar.unesp.br



UNESP - FACULDADES DE
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DO CAMPUS DE



Continuação do Parecer: 1.657.615

utilização do material biológico humano armazenado em Biobanco ou Biorrepositório, inclusive a possibilidade de dissolução futura da parceria e a consequente partilha e destinação dos dados e materiais armazenados, conforme previsto no TCLE.

I - É necessário explicitar o tipo e a quantidade dos materiais compartilhados, informando sua destinação após a utilização."

Recomendações:

Envio do pedido de Biorrepositórios para o CONEP, já que há necessidade de regulamento específico para sua manutenção, além de TCLE específico para armazenamento da amostra e uso futuro em outros estudos.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

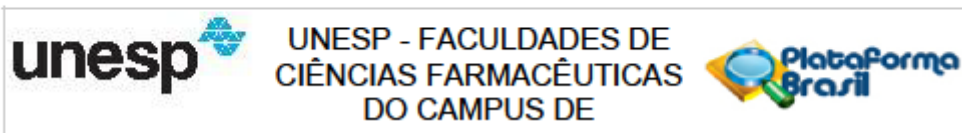
O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, reunido no dia 05 de maio de 2016, analisou e aprovou o projeto de pesquisa em questão. Contudo, cabe destacar a necessidade de apresentar aos participantes da pesquisa TCLE específico para armazenamento da amostra e uso futuro em outros estudos, uma vez que será criado biorrepositório para manutenção das amostras coletadas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_452784.pdf	05/04/2016 15:17:20		Aceito
Outros	OficioHEABBiorrepositorionohospital.pdf	05/04/2016 15:16:43	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorrepositório / Biobanco	CRIACAOBIORREPOSITORIO.pdf	05/04/2016 15:16:14	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDetalhadoABRIL.pdf	05/04/2016 15:12:34	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_452784.pdf	01/04/2016 12:18:30		Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorrepositório /	TERMODECONSENTIMENTOPARABIORREPOSITORIO.pdf	01/04/2016 12:17:12	Tales Rubens de Nadai	Aceito

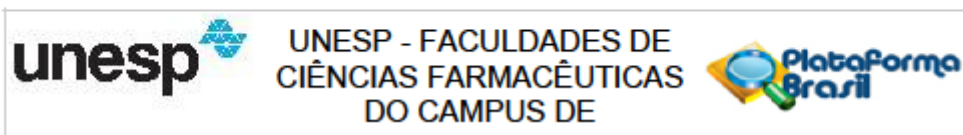
Endereço: Rodovia Araraquara Jaú, km 1
Bairro: Campus Universitário CEP: 14.801-902
UF: SP Município: ARARAQUARA
Telefone: (16)3301-6897 E-mail: sta@fctar.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.657.615

Biobanco	TERMODECONSENTIMENTOPARABI ORREPOSITORIO.pdf	01/04/2016 12:17:12	Tales Rubens de Nadai	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	NovoTCLEControles.pdf	01/04/2016 12:16:49	Tales Rubens de Nadai	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	NovoTCLECasos.pdf	01/04/2016 12:16:40	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Outros	CartaderespostaaoCEP.pdf	01/04/2016 12:16:26	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_452784.pdf	02/03/2016 16:41:31		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDetalhadoMar.pdf	02/03/2016 16:41:09	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_452784.pdf	18/02/2016 16:06:42		Aceito
Outros	Listadasinstituicoesparticipantes.pdf	18/02/2016 16:04:29	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Orçamento	PlanejamentoOrcamentario.pdf	18/02/2016 16:02:06	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Orçamento	FormularioUPC.pdf	18/02/2016 16:01:12	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDetalhado.pdf	18/02/2016 15:25:51	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.pdf	18/02/2016 15:24:54	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Outros	medicamento.pdf	29/01/2016 18:37:23	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Outros	Exclusaocontrole.pdf	29/01/2016 18:35:51	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Outros	Exclusaosecundaria.pdf	29/01/2016 18:35:17	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Outros	Exclusao primaria.pdf	29/01/2016 18:34:47	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Outros	Questionario.pdf	29/01/2016 18:34:24	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Declaração do Patrocinador	TERMO_FARMACOVIGILANCIA.pdf	29/01/2016 18:33:24	Tales Rubens de Nadai	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	29/01/2016 18:32:27	Tales Rubens de Nadai	Aceito
Declaração de	declara_figueiras.pdf	29/01/2016	Tales Rubens de	Aceito

Endereço: Rodovia Araraquara Jaú, km 1
 Bairro: Campus Universitário CEP: 14.801-902
 UF: SP Município: ARARAQUARA
 Telefone: (16)3301-6897 E-mail: sta@fctar.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.657.615

Pesquisadores	declara_figueiras.pdf	16:25:47	Nadai	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_452784.pdf	06/12/2015 18:48:39		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARARAQUARA, 02 de Agosto de 2016

Assinado por:
Adriano Mondini
(Coordenador)

Endereço: Rodovia Araraquara Jd0, km 1
 Bairro: Campus Universitário CEP: 14.801-902
 UF: SP Município: ARARAQUARA
 Telefone: (16)3301-6897 E-mail: sta@fctar.unesp.br

ANEXO 4. Termo de consentimento livre e esclarecido para participantes do grupo caso.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) - CASOS

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M ☐ F ☐
 DATA DE NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO Nº.....
 APTO:BAIRRO:
 CIDADE CEP:.....
 TELEFONE:(.....)

2.
 RESPONSÁVEL LEGAL
 NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M ☐ F ☐
 DATA DE NASCIMENTO.:/...../.....
 ENDEREÇO: Nº APTO:
 BAIRRO: CIDADE:
 CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

Título do Projeto: Determinantes Genéticos da hemorragia gastrointestinal associada ao uso de ácido acetilsalicílico como agente antiplaquetário: um Estudo de Caso-Controlle.

Prezado(a) senhor(a),

Este documento tem por objetivo fornecer informações sobre um estudo de pesquisa na qual você está sendo convidado a participar. Se você decidir participar, você deve ler este documento e fazer todas as perguntas que precisar para entender os detalhes.

A participação neste estudo é completamente voluntária. Você pode optar por não participar ou, se você concordar em participar, pode mudar de ideia e retirar consentimento a qualquer momento, sem precisar explicar. Nós garantimos que esta decisão não afetará o seu relacionamento com o seu médico ou seu serviço de saúde ao qual você tem direito.

1) Introdução

Você está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa que determinará o risco de hemorragia digestiva alta (sangramento gastrointestinal) associada ao consumo de AAS (ácido acetilsalicílico ou Aspirina) e sua relação com diferenças genéticas. Você foi selecionado porque procurou o serviço de endoscopia do Hospital com perfuração de úlcera ou hemorragia gastrointestinal superior recente diagnosticada por endoscopia (o que o classifica no grupo “caso”).

2) Procedimentos do Estudo

A sua participação no estudo envolve a realização de uma entrevista de cerca de meia hora, em que serão coletadas as informações dos medicamentos que você toma e doenças que você pode ter tido. Em alguns casos, desde que você

nos dê seu contato, nós poderemos entrar em contato telefone com você para coletar os dados que não foram abordados na entrevista.

Também serão extraídos 5-6 mL de sangue para estudar os genes relacionados ao ácido acetilsalicílico (Aspirina), entre outros medicamentos. Essa pequena amostra de sangue será coletada durante os seus exames de rotina para endoscopia, ou seja, você não precisará ser punccionado novamente.

3) Riscos e desconfortos

O questionário apresenta riscos mínimos e inerentes ao estudo, mas todos os participantes serão orientados a desistirem em caso de qualquer desconforto durante o desenvolvimento do trabalho.

A análise das endoscopias será feita sem prejuízos ao diagnóstico da doença e nem mesmo ao tempo de tratamento. Você não terá despesas ao participar deste estudo, nem aumentará o seu tempo no hospital.

A coleta de sangue apresentará riscos ou desconfortos mínimos para você. Uma pequena quantidade será recolhida durante a coleta de sangue, que será feita pelo próprio hospital antes ou depois de sua endoscopia. Esse procedimento também não aumentará seu tempo dentro do hospital.

4) Benefícios

Espera-se que os resultados deste estudo permitirão beneficiar os pacientes que apresentam risco de hemorragia pelas suas características genéticas, que será informado para aqueles que manifestarem interesse. Ademais, se aceitar que armazenemos o seu material para outras correlações genéticas ou análise de novos genes, novas informações serão fornecidas.

5) Garantia de Esclarecimento

Você será acompanhado pelo pesquisador durante toda a resolução do questionário e que terá todas as suas dúvidas esclarecidas. O pesquisador também se colocará à disposição caso surjam dúvidas no futuro.

6) Participação

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária. Você tem o direito de não querer participar ou de sair deste estudo a qualquer momento, sem penalidades ou perda de qualquer benefício ou cuidados a que tenha direito nesta instituição.

Você também pode ser desligado do estudo a qualquer momento, sem o seu consentimento, nas seguintes situações: (a) você não use ou siga adequadamente as orientações/tratamento em estudo; (b) o estudo termine. Se você for desligado do por algum desses motivos, você não terá nenhum prejuízo em relação ao seu tratamento ou à prestação de esclarecimentos sobre a pesquisa.

No caso de você decidir se retirar do estudo, por favor, notifique o profissional e/ou pesquisador que o esteja atendendo. Os pesquisadores responsáveis pelo estudo poderão fornecer qualquer esclarecimento sobre o estudo, assim como tirar dúvidas, por meio dos seguintes e-mails:

Nome do Pesquisador Principal: Dr. Tales de Nadai

E-mail do Pesquisador: talesusp@yahoo.com.br

Nome do Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Patrícia de Carvalho Mastroianni

E-mail do Pesquisador: pmastro@fcfar.unesp.br

Nome do Pesquisador colaborador: Carolina Dagli Hernandez

E-mail do Pesquisador: carolina.dagli@gmail.com

Para notificação de qualquer situação relacionada à ética e que não puder ser resolvida pelos pesquisadores, você deve entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, pelo telefone (016) 3602-2228.

7) Caráter Confidencial dos Registros

A sua identidade será mantida em sigilo. Seus dados e suas amostras serão identificados por um código, que não permite que você seja identificado diretamente. A relação entre o código e sua identidade será de conhecimento apenas dos pesquisadores do estudo. As informações obtidas a partir deste estudo serão publicadas no futuro, mas nenhum dado que possa levar à identificação dos participantes será transmitido. Os resultados serão sempre apresentados como o retrato de um grupo e não de uma pessoa. Dessa forma, você não será identificado quando o material de seu registro for utilizado, seja para propósitos de publicação científica ou educativa.

8) Declaração de Consentimento

Li ou alguém leu para mim as informações contidas neste documento antes de assinar este termo de consentimento. Declaro que toda a linguagem técnica utilizada na descrição de estudo de pesquisa foi satisfatoriamente explicada e que recebi respostas para todas as minhas dúvidas. Confirmando também que recebi uma via deste termo de consentimento livre e esclarecido, assinado e rubricado em todas as páginas pelo participante e pelo pesquisador. Compreendo que sou livre para me retirar do estudo em qualquer momento, sem perda de benefícios ou qualquer outra penalidade. Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade para participar deste estudo.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto.

_____	_____
Local e data	Assinatura do Voluntário
_____	_____
Local e data	Assinatura do Pesquisador

ANEXO 5. Termo de consentimento livre e esclarecido para participantes do grupo controle.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) - CONTROLES

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO: .M ☐ F ☐
 DATA DE NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO Nº
 APTO:BAIRRO:
 CIDADE CEP:
 TELEFONE:(.....)
 2.
 RESPONSÁVEL LEGAL
 NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐
 DATA DE NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO: Nº APTO:
 BAIRRO: CIDADE:
 CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

Título do Projeto: Determinantes Genéticos da hemorragia gastrointestinal associada ao uso de ácido acetilsalicílico como agente antiplaquetário: um Estudo de Caso-Controlle.

Prezado(a) senhor(a),

Este documento tem por objetivo fornecer informações sobre um estudo de pesquisa na qual você está sendo convidado a participar. Se você decidir participar, você deve ler este documento e fazer todas as perguntas que precisar para entender os detalhes.

A participação neste estudo é completamente voluntária. Você pode optar por não participar ou, se você concordar em participar, pode mudar de ideia e retirar consentimento a qualquer momento, sem precisar explicar. Nós garantimos que esta decisão não afetará o seu relacionamento com o seu médico ou seu serviço de saúde ao qual você tem direito.

1) Introdução

Você está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa que determinará o risco de hemorragia digestiva alta (sangramento gastrointestinal) associada ao consumo de AAS (ácido acetilsalicílico ou Aspirina) e sua relação com diferenças genéticas. Você foi selecionado porque procurou a unidade de pré-operatório para um processo cirúrgico indolor (o que o classifica como "controle").

2) Procedimentos do Estudo

A sua participação no estudo envolve a realização de uma entrevista de cerca de meia hora, em que serão coletadas as informações dos medicamentos que você toma e doenças que você pode ter tido. Em alguns casos, desde que você

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (controles)

Versão 2 – 31 de março de 2016

nos dê seu contato, nós poderemos entrar em contato telefone com você para coletar os dados que não foram abordados na entrevista.

Também serão extraídos 5-6 mL de sangue para estudar os genes relacionados ao ácido acetilsalicílico (Aspirina), entre outros medicamentos. Essa pequena amostra de sangue será coletada durante os seus exames pré-operatórios ou de rotina, ou seja, você não precisará ser punccionado novamente.

3) Riscos e desconfortos

O questionário apresenta riscos mínimos e inerentes ao estudo, mas todos os participantes serão orientados a desistirem em caso de qualquer desconforto durante o desenvolvimento do trabalho. Você não terá despesas ao participar deste estudo, nem aumentará o seu tempo no hospital.

A coleta de sangue apresentará riscos ou desconfortos mínimos para você. Uma pequena quantidade será recolhida durante a coleta de sangue, que será feita pelo próprio hospital durante a rotina do seu atendimento para realização dos exames pré-operatórios. Esse procedimento também não aumentará seu tempo dentro do hospital.

4) Benefícios

Espera-se que os resultados deste estudo permitirão beneficiar os pacientes que apresentam risco de hemorragia pelas suas características genéticas, que será informado para aqueles que manifestarem interesse. Ademais, se aceitar que armazenemos o seu material para outras correlações genéticas ou análise de novos genes, novas informações serão fornecidas.

5) Garantia de Esclarecimento

Você será acompanhado pelo pesquisador durante toda a resolução do questionário e que terá todas as suas dúvidas esclarecidas. O pesquisador também se colocará à disposição caso surjam dúvidas no futuro.

6) Participação

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária. Você tem o direito de não querer participar ou de sair deste estudo a qualquer momento, sem penalidades ou perda de qualquer benefício ou cuidados a que tenha direito nesta instituição.

Você também pode ser desligado do estudo a qualquer momento, sem o seu consentimento, nas seguintes situações: (a) você não use ou siga adequadamente as orientações/tratamento em estudo; (b) o estudo termine. Se você for desligado por algum desses motivos, você não terá nenhum prejuízo em relação ao seu tratamento ou à prestação de esclarecimentos sobre a pesquisa.

No caso de você decidir se retirar do estudo, por favor, notifique o profissional e/ou pesquisador que o esteja atendendo. Os pesquisadores responsáveis pelo estudo poderão fornecer qualquer esclarecimento sobre o estudo, assim como tirar dúvidas, por meio dos seguintes e-mails:

Nome do Pesquisador Principal: Dr. Tales de Nadai

E-mail do Pesquisador: talesusp@yahoo.com.br

Nome do Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Patrícia de Carvalho Mastroianni

E-mail do Pesquisador: pmastro@fcfar.unesp.br

Nome do Pesquisador colaborador: Carolina Dagli Hernandez

E-mail do Pesquisador: carolina.dagli@gmail.com

Para notificação de qualquer situação relacionada à ética e que não puder ser resolvida pelos pesquisadores, você deve entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, pelo telefone (0XX16) 3602-2228.

7) Caráter Confidencial dos Registros

A sua identidade será mantida em sigilo. Seus dados e suas amostras serão identificados por um código, que não permite que você seja identificado diretamente. A relação entre o código e sua identidade será de conhecimento apenas dos pesquisadores do estudo. As informações obtidas a partir deste estudo serão publicadas no futuro, mas nenhum dado que possa levar à identificação dos participantes será transmitido. Os resultados serão sempre apresentados como o retrato de um grupo e não de uma pessoa. Dessa forma, você não será identificado quando o material de seu registro for utilizado, seja para propósitos de publicação científica ou educativa.

8) Declaração de Consentimento

Li ou alguém leu para mim as informações contidas neste documento antes de assinar este termo de consentimento. Declaro que toda a linguagem técnica utilizada na descrição de estudo de pesquisa foi satisfatoriamente explicada e que recebi respostas para todas as minhas dúvidas. Confirmando também que recebi uma via deste termo de consentimento livre e esclarecido, assinado e rubricado em todas as páginas pelo participante e pelo pesquisador. Compreendo que sou livre para me retirar do estudo em qualquer momento, sem perda de benefícios ou qualquer outra penalidade. Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade para participar deste estudo.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto.

Local e data

Assinatura do Voluntário

Local e data

Assinatura do Pesquisador

ANEXO 6. Termo de consentimento para guarda para guarda de material biológico

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA GUARDA DE MATERIAL BIOLÓGICO

Eu, Patrícia Mastroianni, responsável pelo biorrepositório Determinantes Genéticos da Hemorragia Digestiva Alta criado no Hospital Estadual Américo Brasiliense, unidade do complexo acadêmico do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto com o objetivo de guardar amostras de Leucócitos (que são as células brancas do seu sangue) para estudar os genes relacionados ao ácido acetilsalicílico (Aspirina), entre outros medicamentos referente ao Projeto de pesquisa **Determinantes Genéticos da hemorragia gastrointestinal associada ao uso de ácido acetilsalicílico como agente antiplaquetário: um Estudo de Caso Controle**, gostaria de convidá-lo (a) para guardar amostra de 5-6ml de sangue seu para fins de pesquisa e análise científica. Sua participação é voluntária, tendo liberdade de aceitar ou não que sua amostra seja guardada, sem risco de qualquer penalização ou prejuízo no atendimento que lhe for prestado. O (A) Sr. (a) também tem o direito de retirar seu consentimento a qualquer momento.

Este material será coletado durante a coleta de sangue de rotina, que será feita pelo próprio hospital antes ou depois de sua endoscopia ou antes da cirurgia agendada. Após coletado será guardado num freezer de -70oC no Biorepositório no Hospital Estadual Américo Brasiliense.

Eu, como responsável pela pesquisa, me comprometo a identificar as amostras e os dados coletados de modo que garanta o seu sigilo e a sua confidencialidade, para isso a sua amostra de sangue será identificada por meio de por meio de um código alfa numérico que identifica as amostras segundo o sujeito ser caso ou controle seguido de uma sequência numérica na ordem da entrevista.

Quanto à coleta de material, será coletado 5 a 6 ml de sangue equivalente a uma colher de chá. Em decorrência da coleta esta pesquisa não acrescentará nenhum risco ou desconforto para você, porque você não precisará ser puncionado novamente. Esse procedimento também não aumentará seu tempo dentro do hospital.

Solicitamos também os dados de contato do(a) senhor (a), para que seja possível encontrá-lo(a) posteriormente. Através dos contatos, garantimos fornecer as informações de seu interesse, além de receber eventuais benefícios provenientes do estudo com seu material biológico. Também solicitaremos autorização, caso seja

necessário, para o descarte do material armazenado caso você desista de participar do estudo ou seja desligado pelo pesquisador.

Dados do doador:

Nome: _____, RG: _____,
Endereço: _____, nº _____, bairro _____, cidade _____,
telefone _____

Solicitamos sua assinatura, tendo recebido as informações acima, para confirmação de aceitação de que sua amostra de material biológico seja armazenada no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, sob a responsabilidade _____ Prof. Dra Patrícia Mastroianni, para fins de pesquisa e análise científica. **Também afirmamos que uma via deste documento, devidamente assinada será entregue ao senhor (a).**

Abaixo também seguem os dados de contato do pesquisador responsável, caso o(a) senhor(a) tenha alguma dúvida posteriormente. Para esclarecimentos de questões éticas, o(a) senhor(a) também pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP, que aprovou este biorrepositório, pelo telefone (16) 3602-2228.

Dados do pesquisador responsável:

Nome legível: _____
Telefone para contato: _____
Assinatura: _____
Data: _____

Dados do participante (doador):

Nome legível: _____
Assinatura: _____
Data: _____

Dados do responsável legal pelo doador ou testemunha (caso aplicável):

Nome legível: _____
Assinatura: _____
Data: _____

11) LISTA DE APÊNDICE

APÊNDICE 1: Flowchart do processo de análise e monitoramento das endoscopias digestivas alta dos pacientes admitidos na Unidade de Urgência e Emergência do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

