

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Fenotipagem do CYP2D6 em idosos cardiopatas
classificados como metabolizadores extensivos ou lentos do
metoprolol**

DANIEL VALENTE NEVES

Ribeirão Preto
2009

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Fenotipagem do CYP2D6 em idosos cardiopatas
classificados como metabolizadores extensivos ou lentos do
metoprolol**

*Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Toxicologia para obtenção do título de Mestre
em Toxicologia.*

Área de Concentração: Toxicologia
Aluno: Daniel Valente Neves
Orientador: Prof. Dr. Evandro José Cesarino

Ribeirão Preto
2009

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Neves, Daniel Valente

Fenotipagem do CYP2D6 em idosos cardiopatas classificados como metabolizadores extensivos ou lentos do metoprolol, 2009.

83p.: il.; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentado à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Toxicologia.

Orientador: Cesarino, Evandro José.

1. Metoprolol. 2. Doenças Cardiovasculares. 3. Idosos. 4. Fenótipo
5. CYP2D6

FOLHA DE APROVAÇÃO

Fenotipagem do CYP2D6 em idosos cardiopatas classificados como metabolizadores extensivos ou lentos do metoprolol

Autor: Daniel Valente Neves

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia para obtenção do título de Mestre em Toxicologia.

Área de Concentração: Toxicologia

BANCA EXAMINADORA

Prof.(a) Dr.(a) _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Trabalho apresentado e aprovado pela Comissão Julgadora em ____/____/2009

Dedico esse trabalho

À meus queridos pais,
José Jamírio Neves (*in memoriam*) e Gerva Valente Neves

À minha irmã,
Ana Rita Neves

À minha namorada,
Amanda Oliveira

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao **Prof. Dr. Evandro José Cesarino** pela orientação deste trabalho e pelos ensinamentos não só acadêmicos, mas também pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Luiz de Souza** pela acessoria estatística do projeto.

Ao Dr. Sebastião José Ismael, presidente da **Associação dos Laboratórios de Patologia Clínica de Ribeirão Preto** – pela viabilização da realização gratuita dos exames de função hepática e renal dos pacientes envolvidos no projeto, disponibilizados pelos laboratórios de análises clínicas de Ribeirão Preto.

Aos Laboratórios de Análises Clínicas: **São Paulo, Instituto de Complementação Diagnósticos ICD, Baracchini, São Marcos, Behring e Ismael & Rojas** pela realização gratuita dos exames de função hepática e renal dos pacientes envolvidos na pesquisa.

Ao **Prof. Dr. Sérgio Akira Uyemura** pela doação de frascos plásticos para a coleta de urina de 0-8h.

À **Distribuidora Ely Martins** pela doação de frascos plásticos para a coleta e realização do exame de urina rotina.

À indústria farmacêutica **Astra Zeneca do Brasil LTDA**, pela doação dos comprimidos de tartarato de metoprolol de 100 mg (**Seloken®**).

Ao **Sindicato dos Servidores Municipais de Ribeirão Preto** pela disponibilização gratuita semanal de sala para reuniões com os pacientes envolvidos no estudo.

À **Sra. Vânia Claudia de Albuquerque** pela sua colaboração neste trabalho.

À **Maria Paula Marques** pelas instruções para utilização correta dos equipamentos do laboratório de toxicologia.

Ao **Natalino Bocado**, pela ajuda prestada em relação às análises dos exames dos pacientes do projeto.

Aos amigos do laboratório, **Ana Leonor, Bruno, Carolina Silva, Carolina Vieira, Estela, Fernanda, Flávia, Josiane, Juciane, Natália, Natalícia, Teresa e Vanessa**.

À **CAPES** pela concessão de bolsa de mestrado.

Aos pacientes membros da **Associação Ribeirãopretana de Ensino, Pesquisa e Assistência ao Hipertenso - AREPAH** pela participação voluntária, sendo que sem esta colaboração teria sido impossível a realização deste trabalho.

RESUMO

NEVES, D. V. **Fenotipagem do CYP2D6 em idosos cardiopatas classificados como metabolizadores extensivos ou lentos do metoprolol.** 2009. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Os idosos constituem a parcela da população, que mais cresce atualmente. Este segmento populacional requer cuidados médicos e terapêuticos frequentes e consomem cerca de três vezes mais medicamentos que indivíduos jovens. Deste modo necessitam de uma avaliação detalhada da farmacocinética e farmacodinâmica do fármaco a ser utilizado para uma menor ocorrência de efeitos adversos. O objetivo foi fenotipar o CYP2D6 em pacientes idosos cardiopatas classificados como metabolizadores extensivos ou lentos do metoprolol, desenvolver e validar o método de análise do tartarato de metoprolol e seu metabólito em urina utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e identificar possíveis correlações entre fatores antropométricos, raciais e comorbidades apresentadas com a razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol em urina. A casuística foi composta por 130 indivíduos idosos, considerados acima de 60 anos, voluntários, com algum tipo de cardiopatia previamente identificada, com função renal e hepática normais. Todos indivíduos foram submetidos a uma coleta de urina de 0-8h após a administração de um comprimido de 100 mg de tartarato de metoprolol para a determinação do metoprolol e α -OH metoprolol com a finalidade de estabelecer a sua razão metabólica e fenotipar esses indivíduos de acordo com os resultados da razão da concentração metoprolol/ α -OH metoprolol em urina utilizando a HPLC com detecção por fluorescência, sendo fenotipados como metabolizadores lentos os pacientes que tiveram resultados $> 12,6$ e como metabolizadores extensivos aqueles avaliados com resultados $\leq 12,6$. A maior porcentagem de pacientes estudados situou-se na faixa etária de 60 a 70 anos (média de $71,8 \pm 6,2$), mediana de 71,0, valor mínimo de 60 e máximo de 93 anos. Cento e quatro pacientes (80,0%) reportaram ser da raça branca, 13 (10,0%) da raça negra, 1 (0,8%) da raça amarela e 12 (9,2%) da raça parda. Cento e um pacientes (77,7%) eram do sexo feminino. Os pacientes investigados utilizavam em média $5,9 + 2,1$ tipos de medicamentos, variando de 1 a 11 fármacos utilizados concomitantemente. Observou-se uma média de $5,1 + 3,2$ comorbidades concomitantes, variando de 1 a 14 patologias associadas. Três pacientes (2,3%) foram fenotipados como metabolizadores lentos do metoprolol, diferenciando dos 7 a 10% de metabolizadores lentos existentes na população caucasiana. Foi detectada diferença estatisticamente significativa na razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol segundo a quantidade de medicamentos utilizada pelos idosos ($p=0,017$) e segundo a utilização de bebida alcoólica ($p=0,045$). Conclui-se que a maioria dos indivíduos estudados eram do sexo feminino, a proporção de metabolizadores de idosos cardiopatas classificados como PM foi menor do que a que é encontrada em caucasianos, a variável quantidade de medicamentos utilizados esteve relacionada de maneira significativa à taxa de metabolização do tartarato de metoprolol observada nestes idosos cardiopatas e a variável ingestão de bebida alcoólica mostrou correlação significativa com o valor da razão metoprolol/ α -OH metoprolol no presente estudo.

Palavras chave: metoprolol, doenças cardiovasculares, idosos, fenótipo, CYP2D6.

ABSTRACT

NEVES, D. V. **Phenotyping of CYP2D6 in elderly cardiopatic classified as extensive or poor metoprolol metabolizers.** 2009. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

These days, elderly people constitute the most important part of the increasing population. This population segment requires frequent medical and therapeutic cares, and spends three times more drugs than the young individuals. For that reason, a detailed pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of the administered drug must be accomplished aiming to avoid side effects. The objective of this study was to phenotype CYP2D6 in elderly cardiopatic patients classified as extensive or poor metoprolol metabolizers, aiming to develop and validate the method for analysis of metoprolol tartrate and its metabolite in urine using high performance liquid chromatography (HPLC), and to identify possible correlations between anthropometric, racial factors, and comorbidities presented with the urine metabolic ratio of metoprolol/ α -OH-metoprolol. The casuistry was composed by 130 elderly individuals over 60 years old, volunteer, carrying any type of pre identified cardiomyopathy, with normal renal and hepatic functions. Aiming the evaluation of the urine metabolic ratio of metoprolol/ α -OH-metoprolol, the individuals were submitted to a urine collection 0-8h after administration of tablets of 100 mg of metoprolol tartrate for phenotyping after the results of the concentration metoprolol/ α -OH-metoprolol using HPLC and fluorescence detection, being phenotyped as poor metabolizers the patients that presented ratio > 12.6 , and extensive metabolizers ≤ 12.6 . Mostly studied patients percentage age was 60-70 years old (mean of 71.8 ± 6.2) - median 71.0; the maximum value was 93, and the minimum value was 60 years old. One hundred and four patients (80.0%) reported being Caucasian, 13 (10.0%) Black, 1 (0.8%) Asian, and 12 (9.2%) Half-black. One hundred and one patients (77.7%) were female. The studied patients used approximately $5.9 + 2.1$ types of drugs, varying of 1 to 11 concomitant drugs used. We could observe the mean of concomitant comorbidities of $5.1 + 3.2$ varying of 1 to 14 associated pathologies. Three patients (2.3%) were phenotyped as poor metoprolol metabolizers differentiating of those 7 to 10% poor metabolizers existent in Caucasian population. A significant statistical difference was detected in the metabolic ratio metoprolol/ α -OH-metoprolol according to the quantity of drug used by elderly patients ($p=0.017$), and alcohol users ($p=0.045$). It could be concluded that mostly of studied individuals was female. The proportion of elderly cardiopatic metabolizers classified as PM was lower than the Caucasian ones. The quantity of drugs used was significantly related to the metabolism ratio of metoprolol tartare observed on those elderly cardiopatic patients, and the variable alcohol ingestion showed significant relation to the value of ratio metoprolol/ α -OH-metoprolol in the present study.

Key words: metoprolol, cardiovascular diseases, elderly, phenotype, CYP2D6.

LISTA DE ABREVIATURAS

AP	Angina pectoris
ASI	Atividade simpatomimética intrínseca
CV	Coefficiente de variação
DAC	Doença do aparelho circulatório
DCV	Doenças cardiovasculares
DM	<i>Diabetes mellitus</i>
DP	Desvio padrão
DRC	Doença renal crônica
FC	Frequência cardíaca
FG	Filtração glomerular
Fig	Figura
FRC	Fatores de risco cardiovasculares
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IC	Intervalo de confiança
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
IMC	Índice de massa corpórea
Kg	Quilogramas
m	Altura em metros
nm	Comprimento de onda em nanômetros
NYHA	New York Heart Association
p	Nível de significância
p.o	<i>Per oral</i>
PA	Pressão arterial

PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
r	Coefficiente de correlação linear
t	Tempo
Tab	Tabela
T3	Hormônio produzido pela tireóide chamado triiodotironina
T4	Hormônio produzido pela tireóide chamado tiroxina

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 - Fármacos metabolizados total ou parcialmente pelo CYP2D6	15
Tabela 2 - Características antropométricas de idosos cardiopatas segundo idade, altura e peso	22
Tabela 3 - Distribuição de idosos cardiopatas segundo o gênero	22
Tabela 4 – Medicamentos analisados como possíveis interferentes passíveis de serem administrados concomitantemente com o tartarato de metoprolol	29
Tabela 5 - Tempo de retenção do metoprolol e α -OH metoprolol	33
Tabela 6 - Curvas de calibração para a análise do metoprolol e α -OH metoprolol em urina	33
Tabela 7 - Limite de confiança do método de análise do metoprolol e α -OH metoprolol em urina	34
Tabela 8 - Valores referentes à razão metabólica de metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de idosos cardiopatas segundo o gênero	36
Tabela 9 - Frequência de idade, duração da Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), distribuição da pressão arterial e distribuição da frequência cardíaca em repouso de pacientes idosos cardiopatas	37
Tabela 10 – Média e desvio padrão das análises sanguíneas para verificação da normalidade da função renal e hepática dos idosos cardiopatas	39
Tabela 11 – Distribuição da razão metoprolol/ α -OH metoprolol em urina em idosos cardiopatas	40
Tabela 12 – Distribuição de medicamentos utilizados por idosos cardiopatas	42
Tabela 13 – Distribuição de idosos cardiopatas classificados através da razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de acordo com o gênero, faixa etária, raça e IMC	43
Tabela 14 - Distribuição de idosos cardiopatas classificados através da razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de acordo com duração da HAS, quantidade de medicamentos utilizados, presença de <i>Diabetes mellitus</i> e presença de Tireoidopatia	45
Tabela 15 - Distribuição de idosos cardiopatas classificados através da razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de acordo com a utilização de bebida alcoólica e quantidades de efeitos colaterais	46
Tabela 16 - Distribuição de idosos cardiopatas segundo a idade, gênero, raça e índice de massa corpórea (IMC) em relação aos percentis da razão metoprolol/ α -OH metoprolol	47
Tabela 17 - Distribuição de idosos cardiopatas segundo duração da Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), quantidade de medicamentos utilizados, efeitos colaterais, <i>Diabetes mellitus</i> (DM), Tireoidopatia e ingestão de álcool em relação aos percentis da razão metoprolol/ α -OH metoprolol	48
Tabela 18 – Frequência de metabolizadores lentos do citocromo CYP2D6 em diferentes populações de voluntários sadios, utilizando a debrisoquina para a fenotipagem	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Pirâmide populacional do ano de 1998 e estimativa para 2050 nos EUA segundo o sexo	2
Figura 2 - Metabolismo oxidativo do metoprolol no homem	12
Figura 3 - Fluxograma do procedimento de extração líquido-líquido do metoprolol e α -OH metoprolol em urina	26
Figura 4 - Cromatograma referente à análise do metoprolol e α -OH metoprolol em urina: (A) Urina branco; (B) Urina enriquecida com metoprolol, α -OH metoprolol e tramadol; (C) Urina de paciente idoso cardiopata tratado com metoprolol	35
Figura 5 – Frequência de distribuição segundo \log_{10} da razão metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de idosos cardiopatas após uma dose oral de 100 mg de tartarato de metoprolol	41

SUMÁRIO

Resumo	ix
Abstract	x
Lista de abreviaturas	xi
Lista de tabelas e quadros	xiii
Lista de figuras	xiv
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Envelhecimento e Sistema Cardiovascular	2
1.2 Importância das Doenças do Aparelho Circulatório do ponto de vista de Saúde Pública	5
1.3 Cardiogeriatría: uma evolução do conhecimento para melhoria assistencial ao idoso cardiopata	6
1.4 Farmacologia e terapêutica cardiovascular no idoso	7
1.5 Metoprolol	10
1.6 Conceito de fenótipo de metabolizador Extensivo e Lento e CYP450	13
1.7 Metoprolol como droga marcadora do sistema de metabolização oxidativa do CYP2D6	14
1.8 Justificativa	17
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivo específico	19
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS	20
3.1 Casuística	21
3.2 Aspectos Éticos	22
3.3 Protocolo Clínico	23
3.4 Quantificação do metoprolol e α -OH metoprolol em urina	24
3.4.1 Soluções-padrão e Reagentes	24

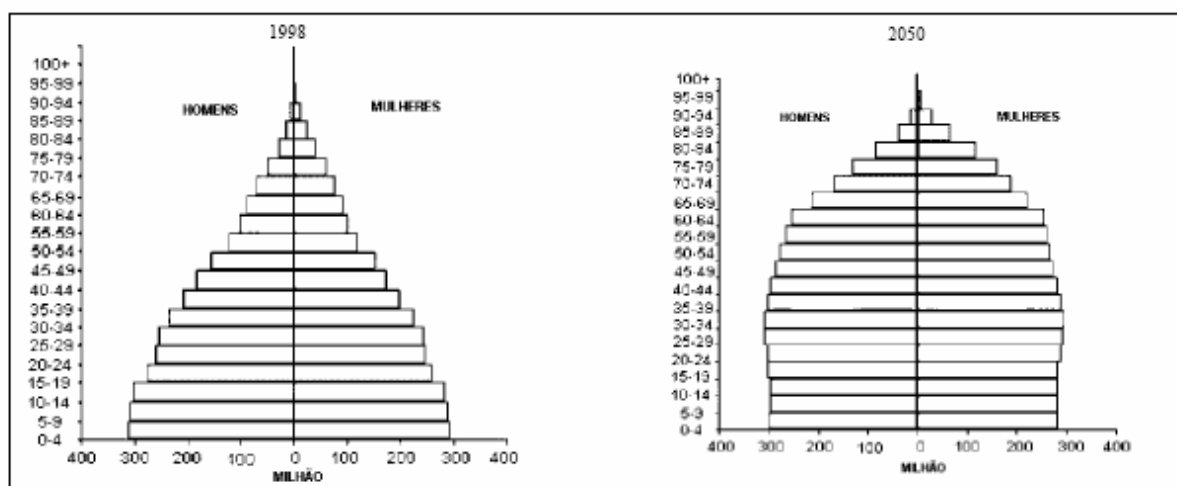
3.4.2 Cromatografia	24
3.4.3 Extração das Amostras	25
3.4.4 Curva de Calibração	25
3.5 Validação do Método Analítico	26
3.5.1 Recuperação Absoluta	26
3.5.2 Limite de quantificação e Linearidade	27
3.5.3 Precisão e Exatidão	27
3.5.4 Seletividade e Especificidade	28
3.5.5 Estabilidade do fármaco e seu metabólito em matriz biológica	29
3.6 Análise dos Resultados	30
3.7 Análise Estatística	31
4 RESULTADOS	32
5 DISCUSSÃO	49
6 CONCLUSÕES	63
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
ANEXO 1	80
ANEXO 2	83

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Envelhecimento e Sistema Cardiovascular

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define a população idosa como aquela a partir dos 60 anos de idade, mas para países desenvolvidos esse limite passa para 65 anos. No Brasil, considera-se idoso as pessoas com idade igual ou superior a sessenta anos (ESTATUTO DO IDOSO, 2003). Os idosos constituem a população que mais cresce, atualmente. De acordo com dados das Nações Unidas, em 1998 cerca de 66 milhões de pessoas tinham 80 anos ou mais. Esta faixa etária representa 1,1% da população mundial. De 1970 a 1998, enquanto a população mundial aumentou 60%, a população de 80 anos ou mais cresceu 147% (de 26,7 para 66 milhões). Numa projeção realizada para 2050, esses números tornam-se mais impressionantes, estimando-se uma população seis vezes maior que a atual nessa faixa etária (370 milhões de pessoas) (UNITED NATIONS, 1999).



Fonte: United Nations Population Division, *World Population Prospects: The 1998 Revision*, forthcoming.

Figura 1 - Pirâmide populacional do ano de 1998 e estimativa para 2050 nos EUA segundo o sexo.

Independente de doenças associadas, o processo de envelhecimento associa-se a importantes alterações cardiovasculares (WEI, 1992). As artérias tendem a tornar-se rígidas com a idade, diminuindo a elasticidade e a complacência da aorta e grandes artérias (VAITKEVICIUS et al., 1993). Na média, as camadas musculares lisas se espessam, a

elastina fragmenta-se progressivamente, sendo substituída por colágeno com ligações cruzadas firmes, não distensíveis, e a calcificação aumenta. As artérias rígidas tornam-se menos distensíveis passivamente, e apresentam também menor capacidade para dilatar-se ativamente, resultando menor aumento do fluxo sanguíneo em resposta a maiores demandas ou estresse fisiológico (LIE & HAMMOND, 1988; FRANKLIN et al., 1997; YU & SANDERSON, 1997). Essas alterações físicas tendem a aumentar significativamente a sobrecarga mecânica no coração senescente, que necessita propulsionar o sangue através de artérias mais rígidas, não elásticas e menos distensíveis. A pressão arterial sistólica aumenta e a pressão diastólica cai uma vez que as artérias rígidas perdem a elasticidade necessária para manter a pressão intravascular durante a diástole (LIE & HAMMOND, 1988; LAKATTA, 1993; DAVIES, FERRARA, HARDING, 1996; FRANKLIN et al., 1997; YU & SANDERSON, 1997; CHEN et al., 1998).

A expectativa de vida média do brasileiro também tem aumentado significativamente nos últimos anos, proporcionando maior número de idosos na população em geral. Assim, neste início de século, o Brasil começa também a apresentar tendências de envelhecimento populacional (SAVIOLI NETO & MAGALHÃES, 2005). Estima-se que em 2025, o Brasil contará com cerca de 30 milhões de pessoas com 60 anos ou mais, o que corresponderá a 15% da população total (RAMOS, 1995). Dentre as patologias com maior incidência nessa população, as Doenças Cardiovasculares (DCV) são as mais frequentes. Aproximadamente 50% dos pacientes atendidos nos ambulatórios de cardiologia são idosos, cerca de 50% dos pacientes atendidos em ambulatório de geriatria apresentam pelo menos uma cardiopatia. Portanto, o conhecimento prévio das principais alterações das DCV associadas ao processo natural de envelhecimento é de fundamental importância para o manuseio do cardiopata idoso (SAVIOLI NETO & MAGALHÃES, 2005).

Estudos epidemiológicos brasileiros como o Estudo Multicêntrico do Idoso – E.M.I. demonstram que a prevalência de Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) entre idosos é bastante elevada. Cerca de 65% são hipertensos e, entre as mulheres com mais de 75 anos, a prevalência de HAS pode chegar a 80% (TADDEI et al., 1997; GESA, 1999).

O espessamento da parede ventricular associado à progressiva perda de miócitos, acúmulo de tecido conjuntivo e depósito amilóide aumenta a rigidez ventricular e diminui sua complacência. A diminuição da complacência dificulta o enchimento ventricular, aumenta a pressão diastólica do ventrículo esquerdo e dilata o átrio esquerdo (SAVIOLI NETO & MAGALHÃES, 2005).

Os níveis plasmáticos de adrenalina e noradrenalina aumentam com a idade. A hiperatividade simpática promove progressiva dessensibilização dos receptores beta-adrenérgicos cardíacos e vasculares, comprometendo os mecanismos contra-regulatórios. Assim, a estimulação simpática do receptor β_1 adrenérgico determina aumento tanto na frequência cardíaca como na fração de ejeção, porém com menor intensidade nos idosos que nos jovens. Do mesmo modo, a menor resposta do receptor β_2 adrenérgico limita a subsequente vasodilatação que, associada a maior rigidez vascular, eleva a pós-carga (PFEIFER, 1983).

As DCV associadas ao envelhecimento não afetam a função cardíaca na condição de repouso, mesmo em idades mais avançadas. Entretanto, quando associadas a processos patológicos (ex.: isquemia, HAS, taquicardias, infecções) ou estresse fisiológico (atividade física), podem comprometer a função cardíaca no paciente idoso (SAVIOLI NETO & MAGALHÃES, 2005).

1.2 Importância das Doenças do Aparelho Circulatório do ponto de vista de Saúde Pública

As DCV constituem a maior causa de mortalidade no Brasil, superando as causas externas, as neoplasias e as doenças pulmonares (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1997). As doenças do aparelho circulatório (DAC) representam 300.000 óbitos por ano ou 820 por dia, tornando assim evidentes as necessidades de ações para a detecção e prevenção relacionadas às afecções desse sistema (LOTUFO, 1996).

A prevalência das DCV aumenta consideravelmente com a idade e, tanto nos países desenvolvidos, como no Brasil é a primeira causa de mortalidade e a segunda de morbidade nos idosos, só suplantadas pelas doenças do sistema osteomuscular (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1995).

Além de serem responsáveis pela grande maioria das mortes, as DCV, particularmente a Cardiopatia Isquêmica, a HAS e a Insuficiência Cardíaca Congestiva (ICC), caracterizam-se por seu aspecto crônico, exigindo grande volume de recursos para seu tratamento (PORTO & COSTA, 1998).

Considerando-se a modificação dos perfis de saúde no Brasil, evidencia-se a importância da abordagem preventiva relativa às DCV. Assim é que em 1950, 40% dos óbitos no país eram decorrentes das doenças infecto-contagiosas e apenas 12% decorrentes de DCV, porém para o ano de 1990 os índices tornaram-se menores que 10% para as moléstias infecto-contagiosas e 34,5% para DCV, tornando aparente a inversão de suas proporções (SILVESTRE et al., 1996).

Nas próximas décadas os países menos desenvolvidos sofrerão uma verdadeira epidemia de DCV, resultado de um aumento dos fatores de risco cardiovasculares (FRC) decorrentes de melhores condições sócio-econômicas e do aumento da expectativa de vida. Embora isso pareça uma contradição, em um primeiro momento, condições sócio-econômicas

melhores levam a aumento de consumo de dietas ricas em gorduras e ao sedentarismo (HUSTEN, 1998).

Entre os idosos, as DCV são responsáveis por quase 50% das mortes, sendo 20% por Doença Arterial Coronariana, 13% por Doenças Cérebro-Vasculares e 15% por outras DCV (RAMOS et al., 1992).

1.3 Cardiogeriatría: uma evolução do conhecimento para melhoria assistencial ao idoso cardiopata

Cerca de metade dos indivíduos com mais de 60 anos apresentam evidências de comprometimento cardiovascular, compreendendo infarto do miocárdio prévio, angina pectoris, ICC, valvopatias, HAS, arritmias ou alterações eletrocardiográficas. O diagnóstico e o correto manuseio de pacientes idosos cardiopatas representam um grande desafio para o clínico, pois é necessário distinguir as alterações resultantes de um processo de envelhecimento daquelas causadas pelas doenças (PORTO & COSTA, 1998).

O Brasil possuirá, em 2020, a sexta população mundial de idosos. É necessário, por conseguinte, que o médico se familiarize cada vez mais com as modificações estruturais, funcionais, e hemodinâmicas relacionadas ao envelhecimento, e com as informações obtidas por meio da medicina baseada em evidências, a fim de melhor conduzir o tratamento destes idosos. O idoso apresenta características próprias na manifestação das doenças, na resposta à terapêutica e no efeito colateral dos medicamentos. Constitui um grupo de maior risco para o aparecimento das doenças degenerativas, em geral, e das DCV, em particular, além de apresentar maior número de comorbidades (FRANKEN & TADDEI, 2002).

O tratamento deve ser conduzido com cuidado. As alterações que ocorrem com o envelhecimento levam a modificações na farmacocinética e farmacodinâmica das drogas, com conseqüentes alterações em sua distribuição, metabolização e eliminação, além de

repercutirem em sua ação e efeito no organismo do idoso. Esses fatos demandam adequação das doses dos medicamentos (FRANKEN & TADDEI, 2002).

1.4 Farmacologia e terapêutica cardiovascular no idoso

Os idosos requerem cuidados médicos e terapêuticos mais freqüentes e consomem proporcionalmente cerca de três vezes mais medicamentos que indivíduos mais jovens. Fármacos cardiovasculares tais como digoxina, anti-hipertensivos, anti-isquêmicos, antiarrítmicos, antiplaquetários, anticoagulantes e psicotrópicos como ansiolíticos, antidepressivos, antipsicóticos e anticonvulsivantes são os mais prescritos e freqüentemente associados a reações adversas. A maioria destes fármacos apresenta índice terapêutico relativamente baixo (GODLOVITCH, 2003).

Alterações farmacológicas, intervalo dose-resposta amplo, reações atípicas, uso simultâneo de múltiplos agentes com potencial de interação farmacológica, prescrições inadequadas e não-observância dos esquemas posológicos são fatores que contribuem para uma maior toxicidade medicamentosa no idoso. Em virtude desses aspectos, os efeitos colaterais, reações adversas e interações medicamentosas são mais frequentes e importantes no idoso (WILLIAMSON & CHOPIN, 1980).

A utilização apropriada de medicamentos na população geriátrica requer o conhecimento das alterações fisiológicas do envelhecimento e dos efeitos das comorbidades que podem influenciar a farmacocinética e a farmacodinâmica, e a resposta terapêutica e tóxica aos fármacos, de forma clinicamente importante. Além disso, outros aspectos como condição socioeconômica, polifarmacia, esquemas posológicos complicados, constituem importante fator causal de falta de terapêutica adequada no idoso. À medida que o indivíduo envelhece surgem alterações graduais na farmacocinética e os efeitos dos medicamentos induzem a uma maior variação inter-individual das doses requeridas para obtenção de um

mesmo efeito terapêutico. Os idosos têm uma redução do metabolismo de primeira passagem no fígado, deste modo a biodisponibilidade de alguns fármacos pode ser aumentada tais como fármacos que sofrem elevada extração hepática como o propranolol e verapamil (BATLOUNI, 2005).

Nos idosos ocorrem diversas alterações fisiológicas no aparelho gastrintestinal, que podem modificar a absorção da droga. Como exemplos dessas modificações são: redução do fluxo salivar e do conteúdo de ptialina da saliva e alterações da mucosa bucal que poderiam comprometer a absorção de comprimidos bucais e sublinguais, alterações da atividade peristáltica do esôfago tornando mais lenta a absorção do fármaco, redução da acidez do suco gástrico que dificultaria a solubilização de drogas para a absorção no intestino, retardo no esvaziamento gástrico e redução generalizada da motilidade digestiva podendo aumentar ou diminuir a absorção de um determinado medicamento, comprometimento do fluxo sanguíneo mesentérico e esplâncnico, que pode reduzir-se em até 40% no idoso (TRIGGS et al.,1975; CROOKS, O'MALLEY, STEVENSON, 1976; VESTAL, 1978).

A distribuição do fármaco pode ser alterada devido a algumas mudanças fisiológicas como a redução da água corpórea total, tanto em termos absolutos como em porcentagem de peso corpóreo, em 10% a 15% entre os 20 e os 80 anos; a massa muscular e a massa celular média diminuem, e a proporção de gordura aumenta com a idade (GREENBLATT, 1989).

A concentração de albumina plasmática em idosos reduz-se de 15% a 20% em comparação com indivíduos abaixo dos 40 anos (WALLACE & WHITING, 1976). A implicação prática desta redução das concentrações plasmáticas de albumina e de outras proteínas decorre do fato de que o aumento da fração livre do fármaco surge em qualquer dose administrada (BATLOUNI, 2005).

Os fármacos são eliminados do organismo por dois mecanismos principais: metabolismo e excreção renal. A maioria dos fármacos sofre transformação metabólica mais

ou menos acentuada (biotransformação). O processo ocorre principalmente no fígado. O envelhecimento pode comprometer a atividade metabólica hepática em consequência da redução do fluxo sanguíneo, volume e massa hepáticos, e da atividade enzimática. O fluxo sanguíneo hepático diminui cerca de 40% dos 25 aos 70 anos (CASTLEDEN & GEORGE, 1979).

Embora algumas drogas possam ser excretadas através do suor, lágrimas e diversas secreções do tubo digestivo, o rim constitui a principal ou única via de eliminação para a maioria delas. Alterações da estrutura e da função renal ocorrem com o envelhecimento, mesmo na ausência de nefropatia prévia. Com o envelhecimento ocorre perda da massa renal, diminuição do número de glomérulos, de células tubulares e diminuição do fluxo sanguíneo renal. Entre a quarta e oitava décadas, os rins perdem aproximadamente 20 a 25% de sua massa, com maior comprometimento do córtex do que da medula. O fluxo sanguíneo renal declina progressivamente (cerca de 10% por década), após a quinta década em parte devido à redução e redistribuição do débito cardíaco. A velocidade de filtração glomerular também se reduz gradativamente em função do envelhecimento normal; de 100 a 120 ml/min aos 40 anos, para 60 a 70 ml/min aos 85 anos. Conseqüentemente ocorre diminuição da velocidade de filtração glomerular. Por tanto essas alterações nos rins elevam os níveis plasmáticos dos fármacos e seu acúmulo no idoso, podem transformá-los em indivíduos mais susceptíveis a intoxicação (BATLOUNI, 2005).

Além de todas essas mudanças fisiológicas ocorridas nos idosos afetarem a farmacocinética de determinados medicamentos, a presença de DCV também pode afetar a farmacocinética do medicamento, como por exemplo, o infarto agudo do miocárdio (IAM), que reduz o débito cardíaco causando variável redução do clearance da lidocaína, devido ao decréscimo do fluxo sanguíneo hepático, conduzindo esses pacientes a terem um acúmulo plasmático de lidocaína ao receberem este medicamento através de infusão contínua acima de

24 horas (PRESCOTT, ADJEPON-YAMOAHA, TALBOT, 1976; DENSON et al., 1988). Em outro estudo, foi comparada a área sobre a curva (AUC) do medicamento hidralazina, entre pacientes com ICC grau III e IV segundo a New York Heart Association (NYHA) e pacientes hipertensos. Após uma dose de 50 mg de hidralazina foi verificado um aumento significativamente maior na AUC de pacientes com ICC (HANSON et al., 1983). A ICC diminui o fluxo sanguíneo no fígado e, portanto, sua presença pode estar associada com a diminuição do clearance da droga e acúmulo do fármaco no organismo (BROUWER, DUKES, POWELL, 1992).

1.5 Metoprolol

O tartarato de metoprolol é um fármaco utilizado no tratamento da HAS, da angina pectoris (AP), arritmias cardíacas, isquemia silenciosa, IAM e cefaléia (HJALMARSON et al., 1996). O metoprolol é um antagonista β 1-adrenérgico seletivo, destituído de atividade simpatomimética intrínseca (ASI). O tartarato de metoprolol é quase totalmente absorvido após administração oral, todavia sua biodisponibilidade é relativamente baixa (cerca de 40%), devido ao metabolismo de primeira passagem. As concentrações plasmáticas do fármaco variam amplamente, devido a diferenças geneticamente determinadas na taxa de metabolismo (BENFIELD et al., 1986).

O metoprolol sofre metabolismo extenso pelo sistema de monooxigenase hepática, incluindo reações por hidroxilação alifática (α -hidroximetoprolol, $\cong 10\%$), desaminação oxidativa (N-desalquilmetoprolol, $< 10\%$) e O-desmetilação (O-desmetilmetoprolol, $\cong 65\%$) com subsequente oxidação (ácido O-desmetilmetoprolóico), e apenas 10% do fármaco administrado são recuperados de modo inalterado na urina. A meia-vida do metoprolol é de 3 a 4 horas (BORG, et al., 1975; HOFFMAN & LEFKOWITZ, 1996). A α -hidroxilação contribui para a eliminação de apenas 10% da dose, mas resulta na formação do α -

hidroximetoprolol que é farmacologicamente ativo, com 1/10 da potência do metoprolol em reduzir a frequência cardíaca (REGARDH & JOHNSSON, 1980; MURTHY et al., 1990).

A meia-vida do metoprolol em pacientes classificados como metabolizadores lentos é de 7,5h e em metabolizadores extensivos é de 2,8h em média (LENNARD et al., 1982). Portanto, a farmacocinética do metoprolol é influenciada pelo polimorfismo da enzima CYP2D6, levando a uma grande variabilidade da concentração do metoprolol no plasma quando é administrada a mesma dose (ISMAIL & TEH, 2006).

Pacientes classificados como metabolizadores lentos do CYP2D6 exibem uma concentração de metoprolol no plasma de 3 a 10 vezes maior e têm um risco cinco vezes maior de desenvolver efeitos adversos durante o tratamento com este fármaco do que metabolizadores extensivos (WUTTKE et al., 2002).

A Figura 2 mostra os metabólitos gerados na metabolização oxidativa do tartarato de metoprolol no homem.

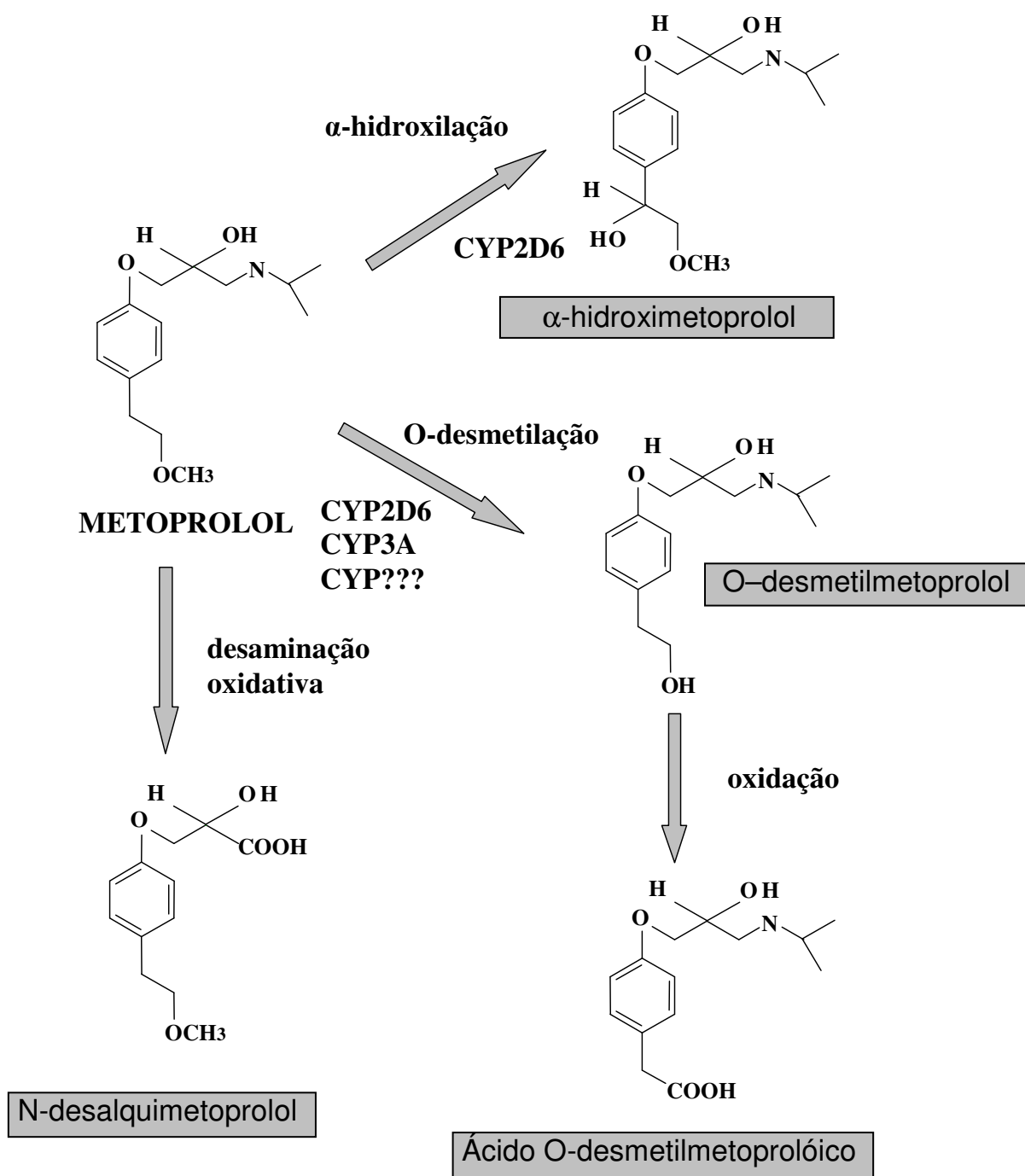


Figura 2 - Metabolismo oxidativo do metoprolol no homem (BORG, et al., 1975; LEEMANN; DEVI; DAYER, 1993).

1.6 Conceito de CYP450, fenótipo de metabolizador ultra-rápido, extensivo e lento

Metabolização é a transformação da droga pelo organismo em substâncias mais polares, solúveis na água, para serem facilmente eliminadas pelo rim, sendo sua principal via de eliminação (MELLO, 1998).

As enzimas que metabolizam as drogas apresentam uma multiplicidade de formas e diferenças inter-individuais na sua expressão genética podendo contribuir para diferentes respostas no metabolismo da drogas. Mutações gênicas podem resultar em deficiência ou ausência de expressão de uma enzima em particular (metabolizador lento) e uma toxicidade inesperada pode ocorrer pela administração de uma dose de um fármaco. Por outro lado, alterações do código genético podem resultar em múltiplas cópias de uma determinada enzima metabolizadora da droga (metabolizador ultra-rápido), resultando provavelmente em resistência a doses tipicamente consideradas terapêuticas. A atividade das enzimas metabolizadoras das drogas pode ser potencializada (induzida) ou inibida pela utilização de determinados fármacos (SITAR, 1999).

Enzimas do CYP450 são essenciais para a produção de colesterol, esteróides, prostaciclina e tromboxano A₂. Existem mais de 50 enzimas, mas a CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 e CYP3A5 metabolizam 90% das drogas. Essas enzimas são expressas predominantemente no fígado, mas existem também no intestino delgado, placenta, rins e pulmão (SLAUGHTER & EDWARDS, 1995; WILKINSON, 2005).

As enzimas do CYP450, família de 1 a 3 medeiam 70-80% de todo processo metabolização de fase 1 das drogas usadas clinicamente (BERTZ & GRANNEMAN, 1997; EVANS & RELLING, 1999), e participam do metabolismo de um enorme número de xenobióticos. As formas polimórficas do CYP450 são responsáveis pelo desenvolvimento de um número significativo de reações adversas às drogas, 56% das drogas que são citadas em

reações adversas são metabolizadas por enzimas polimórficas de Fase 1, na qual 86% são P450 (PHILLIPS et al., 2001).

O paciente caracterizado como metabolizador ultra-rápido do metoprolol (UM) tem um aumento de duas vezes no clearance do metoprolol quando comparados com metabolizadores extensivos (EM) (KIRCHHEINER et al., 2004). Em 30% da população norte africana e 1% dos caucasianos da Suécia apresentam um ou mais gene(s) extra-ativo(s) do CYP2D6 levando à metabolização ultra-rápida do metoprolol e outros substratos com metabolismo dependente desta enzima (JOHANSSON et al., 1993; DAHL et al., 1995; AKLILLU et al., 1996).

A população em geral é considerada normal para efeito do estudo da enzima CYP2D6 classificada como metabolizador extensivo (CUPP & TRACY, 1998; INGELMAN-SUNDBERG, 2004).

O paciente caracterizado como metabolizador lento do metoprolol apresenta um clearance do metoprolol cinco vezes menor do que EM (KIRCHHEINER et al., 2004). Aproximadamente 7% da população caucasiana e 1% da população chinesa não expressam ou expressam baixa atividade do CYP2D6 (metabolizador lento, PM) e, conseqüentemente manifestam altas concentrações plasmáticas do metoprolol nas doses terapêuticas (BERTILSSON, 1995).

1.7 Metoprolol como droga marcadora do sistema de metabolização oxidativa do CYP2D6

O CYP2D6 está envolvido no metabolismo oxidativo de aproximadamente 25% de todas as drogas prescritas (BERTZ & GRANNEMAN, 1997), incluindo antieméticos antagonistas do receptor 5-HT₃, analgésicos, antiarrítmicos, antidepressivos, anti-

histamínicos, antipsicóticos, supressores do apetite, agentes β -bloqueadores e vasodilatadores (TOUW, 1997; PHILLIPS et al., 2001; ZANGER; RAIMUNDO; EICHELBAUM, 2004).

A Tabela 1 apresenta um resumo dos fármacos que são metabolizados total ou parcialmente pelo CYP2D6 (JANICK, 2005).

Tabela 1: Fármacos metabolizados total ou parcialmente pelo CYP2D6.

CLASSE	FÁRMACOS
Antagonista de 5-HT ₃	Dolasetrona, ondasetrona, palonosetrona, tropisetrona
Antiarrítmicos	Amiodarona, aprindina, flecainida, mexiletina, procainamida, propafenona, quinidina, esparteina
Beta-bloqueadores	Carvedilol, metoprolol, propranolol, timolol
Antipsicóticos	Clozapina, flufenazina, haloperidol, perfenazina, risperidona, tioridazina, zuclopentixol
Antidepressivos	Amitriptilina, citalopram, clomipramina, desipramina, fluoxetina, fluvoxamine, imipramina, maprotilina, mianserina, maprotilina, mirtazapina, nortriptilina, paroxetina, sertralina, venlafaxina
Anti-histamínicos	Mequitazina, prometazina
Analgésicos	Codeína (conversão para morfina), dextrometorfano, dihidrocodeína, hidrocodone, oxicodone, tramadol
Diversos	Atomoxetina, captopril, cinarizina, diltiazem, flunarizina, galantamina, lignocaína, loratadina, metilenedioximetanfetamina (“ecstasy”), nicergolina, ritonavir, tamoxifeno, teofilina, vimblastina

Esta enzima (CYP2D6) é caracterizada pela alta taxa de variabilidade inter-individual e inter-étnica na sua atividade, principalmente causada pelo polimorfismo genético. Este polimorfismo pode resultar em um clearance da droga, de 30 a 40 vezes de diferença, entre

pacientes. Pode-se desta forma resultar em graves efeitos colaterais dos medicamentos ou perda de eficácia terapêutica da droga utilizada (KIRCHHEINER, et al., 2004).

A debrisoquina foi utilizada inicialmente como marcadora da atividade do CYP2D6 desde que esta enzima foi identificada como polimórfica (TUCKER, 1977).

A debrisoquina é um anti-hipertensivo eliminado, no homem, essencialmente por metabolismo oxidativo com a formação da 4-hidroxi-debrisoquina, uma via dependente da isoforma CYP2D6. A atividade hidroxilase dependente do CYP2D6 pode ser estudada in vivo determinando a razão entre a recuperação urinária da debrisoquina e da 4-hidroxi-debrisoquina após dose única oral da debrisoquina (BERTILSSON, 1995; CERQUEIRA, et al., 2000).

O tartarato de metoprolol também é eliminado por metabolismo oxidativo, sendo o CYP2D6 responsável por biotransformar aproximadamente 70% do metoprolol in vivo (JOHNSON & BURLEW, 1996). A α -hidroxilação é exclusivamente mediada pelo CYP2D6, como mostram estudos com microssomas do fígado humano, enquanto a O-desmetilação depende de outras enzimas (OTTON et al., 1988; JOHNSON & BURLEW, 1996; STREETMEN; BERTINO; NAFZIGER, 2000).

Foi relatada uma forte correlação existente entre a α -hidroxilação do metoprolol e a 4-hidroxilação da debrisoquina (CERQUEIRA, 2003), e entre a razão metoprolol/ α -hidroximetoprolol e debrisoquina/hidroxi-debrisoquina em urina de 0-8h, na população caucasiana hipertensa na faixa etária de 22 a 77 anos de idade, tornando assim possível a utilização do metoprolol também como marcador da atividade do CYP2D6 (MCGOURTY et al., 1985).

O metoprolol pode ser escolhido para o estudo do polimorfismo oxidativo do CYP2D6, devido a sua correlação com a debrisoquina, por ser comercializado e prescrito na prática clínica e ser de baixa toxicidade (SOHN et al., 1992).

1.8 Justificativa

A importância da realização deste estudo justifica-se pelo fato de que os idosos cardiopatas têm um alto risco de intoxicações e efeitos adversos de fármacos devido às modificações ocorridas no organismo decorrente da idade avançada, que modificam o seu sistema de metabolização e excreção de fármacos, além do uso freqüente da polifarmácia.

Após extenso levantamento bibliográfico realizado não foi detectado nenhum estudo que identificasse a porcentagem de metabolizadores extensivos ou lentos do metoprolol em pacientes idosos cardiopatas.

Um teste simples e factível como o proposto com o metoprolol, poderia quando realizado previamente neste segmento populacional identificar os indivíduos de maior risco para a ocorrência de complicações com a utilização de fármacos.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Fenotipar o CYP2D6 em pacientes idosos cardiopatas classificados como metabolizadores extensivos ou lentos do metoprolol.

2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver e validar o método de análise do metoprolol e α -OH metoprolol em urina humana com aplicação em estudo de fenotipagem.

- Identificar possíveis correlações entre características antropométricas (idade, sexo, cor, índice de massa corpórea (IMC)) e outros fatores (comorbidades, duração da HAS, efeitos colaterais, ingestão de bebida alcoólica e quantidade de medicamentos utilizados) com a razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol em pacientes idosos cardiopatas.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Casuística

Foram investigados 130 pacientes idosos (idade \geq 60 anos), com algum tipo de cardiopatia previamente identificada, com função renal e hepática normais.

Foram excluídos os pacientes diagnosticados com bradicardia importante devido ao efeito do metoprolol sobre a frequência cardíaca, ICC descompensada grau funcional IV da NYHA que impossibilitaria a utilização de betabloqueadores, doença arterial periférica obstrutiva devido ao efeito redutor do metoprolol sobre o débito cardíaco comprometendo o fluxo sanguíneo periférico, bloqueio átrio-ventriculares de segundo e terceiro graus devido à ação do betabloqueador no sistema de condução cardíaco havendo nesse caso o risco de implante de marca-passo cardíaco e pacientes que necessitavam de utilização contínua de medicamentos que poderiam inibir a atividade do CYP2D6 (fluoxetina, paroxetina, sertralina, quinidina, cimetidina, amiodarona, difenidramina, clorfeniramina, prometazina, ranitidina) (HERSH & MOORE, 2004; LYNCH & PRICE, 2007)

Os pacientes selecionados (Tabela 2) foram informados em detalhes sobre a proposta e duração da investigação assim como quanto aos possíveis riscos envolvidos. Após a obtenção, por escrito, do *Termo de Consentimento Livre e Esclarecido* (Anexo 1), os pacientes foram submetidos a um exame clínico e testes laboratoriais para a comprovação da normalidade das funções hepática (TGO, TGP, γ GT, fosfatase alcalina, bilirrubina total e frações), renal (uréia, creatinina, estimativa da filtração glomerular (Cockcroft-Gault), urina I) e outros exames como potássio, hemograma e proteínas totais e frações. Foi garantida a liberdade do paciente de recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem prejuízo ao seu cuidado e tratamento onde faz seguimento.

3.2 Aspectos Éticos

O projeto foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FCFRP-USP, credenciada pelo CONEP - Conselho Nacional de Ética em Pesquisa, Protocolo CEP/FCFRP n° 91, na 59ª reunião deste CEP, realizada no dia 1º de agosto de 2007 e considerado aprovado (Anexo 2).

Tabela 2 – Características antropométricas de idosos cardiopatas segundo idade, altura e peso (n = 130).

Variável	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
Idade (anos)	60,0	93,0	71,8	6,2
Altura (m)	1,32	1,79	1,56	0,08
Peso (Kg)	39,8	123,0	69,3	13,9

Tabela 3 – Distribuição de idosos cardiopatas segundo o gênero (n = 130).

Gênero	Masculino	Feminino	Total
n (%)	29 (22,3%)	101 (77,7%)	130 (100%)

3.3 Protocolo Clínico

- Avaliação da função renal e hepática

As amostras de sangue, aproximadamente 10 mL, foram coletadas em tubo vacutainer, sem anticoagulante para a realização de exames bioquímicos e com EDTA para realização do hemograma. Os analisadores utilizados para cada exame foram os seguintes:

- Transaminase Glutâmico Pirúvica (TGP), Transaminase Glutâmico Oxalacética (TGO), Gama Glutamiltransferase (γ -GT), Fosfatase Alcalina, Bilirrubina total e frações, Potássio, Proteínas totais e frações, Uréia e Creatinina: utilizando o analisador bioquímico automático BT 3000 Plus – Wiener.

- Hemograma: utilizando o analisador Cell-dyn – 3500.

As amostras de urina, aproximadamente 30 mL, foram coletadas em frasco plástico para a análise do seguinte exame:

- Exame de Urina I: a análise foi feita com a imersão de fita na urina e análise química pelo aparelho Clinitek 500 da Bayer e exame microscópico (por campo e microscopia por contraste de face).

Foi realizada a estimativa da filtração glomerular em adultos através da utilização da equação de Cockcroft-Gault: $FG \text{ (mL/min)} = \frac{(140 - \text{idade}) \times \text{peso} \times (0,85 \text{ se mulher})}{72 \times \text{creatinina sérica}}$

- Avaliação do fenótipo oxidativo do CYP2D6

Para a investigação do fenótipo oxidativo do CYP2D6, os pacientes, após esvaziamento da bexiga, tomaram um comprimido de 100 mg de tartarato de metoprolol (Seloken® comprimidos, Astra Zeneca, Brasil, lote nº 70971) com água. A urina destes pacientes foi colhida durante 8 horas após a administração do fármaco, o volume medido e uma alíquota de 10 mL foi armazenada a -20°C até a análise.

3.4 Quantificação do metoprolol e α -OH metoprolol em urina

3.4.1 Soluções-padrão e Reagentes

As soluções estoque de metoprolol (tartarato de metoprolol 97%, Sigma, St. Louis, MO, EUA) e α -OH metoprolol (α -OH metoprolol 100%, Toronto Research Chemicals Inc., Toronto, Canadá) foram preparadas na concentração de 1,0 mg/mL de metanol. A partir destas soluções foram realizadas diluições para a obtenção das soluções de uso nas concentrações de 0,4; 0,8; 2,0; 4,0; 20,0; 32,0; 40,0 e 80,0 μ g de metoprolol/mL de metanol e de α -OH metoprolol/mL de metanol.

A solução do padrão interno (PI), tramadol (cloridrato de tramadol 99%, Globe Química, Janssen-Cilag, Alemanha) foi preparada na concentração de 1,0 mg/mL de metanol. A partir desta solução foi realizada diluição para a obtenção da solução de uso na concentração de 50 μ g/mL de metanol.

O cloreto de sódio e a solução de hidróxido de sódio 1M foram lavados duas vezes com o solvente de extração éter di-isopropílico: diclorometano (1:1, v/v).

Os solventes empregados nos procedimentos de extração e como fase móvel dos sistemas cromatográficos (grau cromatografia) foram obtidos da Merck (Darmstadt, Alemanha).

3.4.2 Cromatografia

Para a análise do metoprolol e α -hidroximetoprolol foi empregado o cromatógrafo Shimadzu (Kyoto, Japão) constituído por bomba LC-10 AD, auto-injetor SIL-10ADVP Shimadzu com controlador de temperatura regulado a 5°C e detector por fluorescência RF – 10AXL Shimadzu, operando em 229 nm (excitação) e 298 nm (emissão). A eluição foi obtida em coluna Rp-Select B (LiChrospher® 60, Merck), com partículas de 5 μ m de diâmetro interno, (125 x 4 mm) protegida por pré-coluna RP-18 (Lichrospher® 100, Merck, Darmstadt, Alemanha), empregando a fase móvel constituída de tampão fosfato (KH₂PO₄) 0,05 M pH

3,5: acetonitrila (90:10 v/v). Para o registro e integração dos picos do metoprolol e α -OH metoprolol foi empregado o integrador Shimadzu modelo CR 6A.

3.4.3 Extração das Amostras

A uma alíquota de 100 μ L de urina foram adicionados 25 μ L da solução aquosa de hidróxido de sódio 1M, 10 mg de cloreto de sódio e 2mL do solvente extrator diclorometano: éter di-isopropílico (1:1, v/v). A extração foi realizada através de agitação durante 30 min em agitador horizontal (220 ± 10 ciclos/min), seguida de centrifugação a 1800g durante 5 min, separação da fase orgânica (1,6 mL) e concentração à vácuo (Evaporador modelo RCT.90 e RC 10.22 da Jouan AS, St. Herblain, França). A dissolução do resíduo obtido na extração foi realizada através de adição de 100 μ L de fase móvel e 20 μ L foram submetidos à análise cromatográfica (Figura 3).

3.4.4 Curva de Calibração

As curvas de calibração para a análise do metoprolol e α -OH metoprolol foram construídas com dados obtidos após a análise de alíquotas de 100 μ L de urina branco (obtido de voluntário sadio não tratado com medicamentos nas ultimas 72h) enriquecidas de 25 μ L de cada solução de uso do metoprolol e α -OH metoprolol. Assim, as concentrações correspondem a 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 5,0; 8,0; 10,0 e 20,0 μ g/mL de urina. Para a construção das curvas de calibração, as concentrações foram relacionadas no eixo x, e as alturas dos picos no eixo y. Foram determinadas as equações de regressão linear e os seus respectivos coeficientes de correlação.

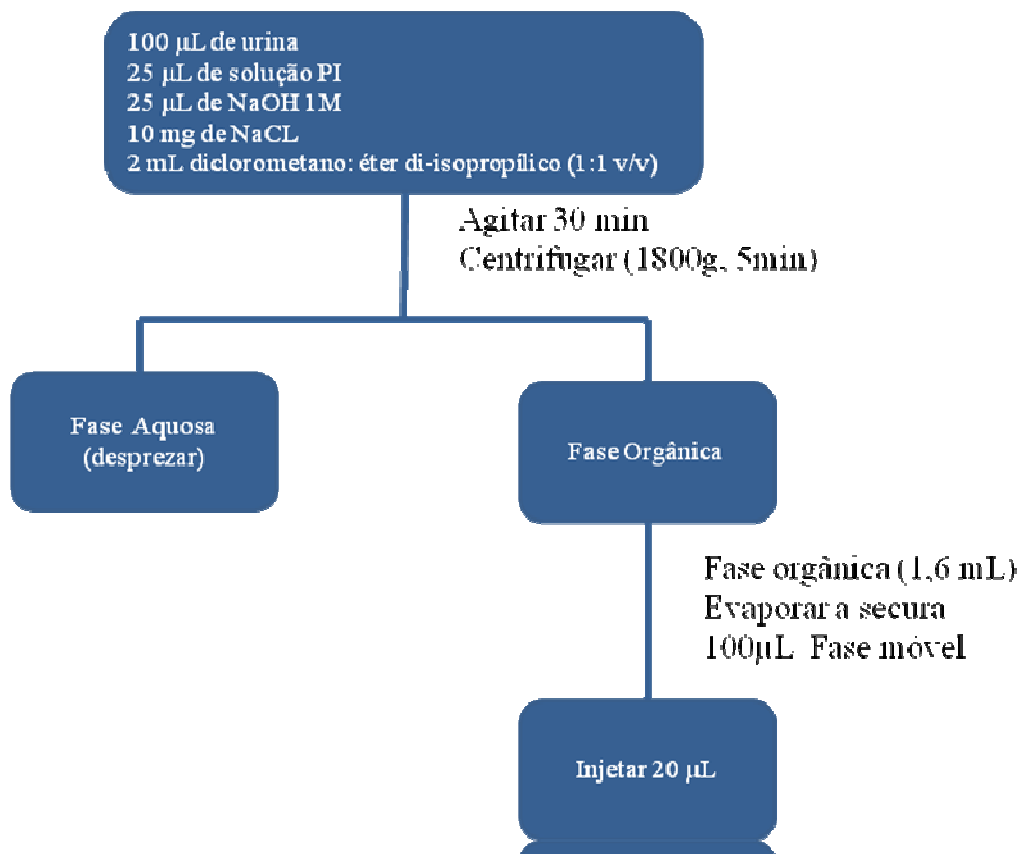


Figura 3 - Fluxograma do procedimento de extração líquido-líquido do metoprolol e α -OH metoprolol em urina.

3.5 Validação do Método Analítico

O processo de validação inclui todos os procedimentos requeridos para demonstrar que os métodos desenvolvidos para análise do metoprolol e α -OH metoprolol são compatíveis com a aplicação em estudos de disposição cinética (ANVISA, 2003; KARNES; SHIU; SHAH, 1991).

3.5.1 Recuperação Absoluta

A recuperação absoluta avalia a eficiência do procedimento de extração das amostras de matrizes biológicas (ANVISA, 2003; KARNES; SHIU; SHAH, 1991).

As amostras de urina enriquecidas com soluções padrão de metoprolol e α -OH metoprolol, respectivamente nas concentrações de 0,6; 8,0 e 16,0 $\mu\text{g/mL}$ e 0,2; 4,0 e 8,0 foram submetidas, em duplicata, ao procedimento de extração descrito anteriormente.

As áreas dos picos obtidas na análise das amostras extraídas foram comparadas com as áreas obtidas na análise das soluções padrão injetadas diretamente na fase móvel.

3.5.2 Limite de quantificação e Linearidade

O limite de quantificação foi definido como a menor concentração de metoprolol e α -OH metoprolol quantificada com precisão de 20% e com porcentagem de exatidão de 80-120%. Assim, foram analisadas alíquotas de urina enriquecidas com metoprolol e α -OH metoprolol (quintuplicatas) em concentrações decrescentes àquelas empregadas na construção das curvas de calibração.

A linearidade do método foi estudada com alíquotas de urina enriquecidas com concentrações de metoprolol e α -OH metoprolol, crescentes em relação àquelas empregadas nas curvas de calibração, ou seja, para o metoprolol até 20 $\mu\text{g/mL}$ de urina (0,2; 0,5; 1,0; 5,0; 8,0; 10,0 e 20,0 $\mu\text{g/mL}$) e para o α -OH metoprolol até 10 $\mu\text{g/mL}$ de urina (0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 5,0; 8,0; 10,0 $\mu\text{g/mL}$). A seguir, as amostras foram submetidas ao procedimento de extração e análise cromatográfica. O método foi considerado linear até a maior concentração que apresentou desvio menor ou igual a 15% em relação à concentração nominal.

3.5.3 Precisão e Exatidão

A precisão e a exatidão do método foram avaliadas através de estudos intra e interensaios. As amostras enriquecidas de metoprolol foram preparadas nas concentrações de 0,6; 8,0 e 16 $\mu\text{g/mL}$ de urina. As amostras enriquecidas de α -OH metoprolol foram preparadas

nas concentrações de 0,2; 4,0 e 8,0 µg/mL de urina. Essas amostras foram separadas em alíquotas e armazenadas a - 20° C até a análise.

Para a avaliação da precisão e da exatidão intra-ensaio foram analisadas cinco alíquotas dessas amostras em um mesmo dia, ou seja, através de uma única curva de calibração.

Na avaliação da precisão e da exatidão interensaios foram analisadas alíquotas, em duplicata, das amostras enriquecidas de metoprolol e α -OH metoprolol durante 5 dias consecutivos.

A avaliação da precisão intra e interensaios foram realizadas através do cálculo do coeficiente de variação dos resultados obtidos. Para que o método possa ser referido como preciso, o coeficiente de variação deve ser igual ou inferior a 15%.

A exatidão é a diferença entre o valor real presente na amostra e o valor obtido na análise. A exatidão é expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente. O desvio não deve exceder 15%.

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{concentração média experimental}}{\text{concentração teórica}} \times 100$$

3.5.4 Seletividade e Especificidade

Foram avaliados diferentes medicamentos passíveis de administração concomitante com o metoprolol. As soluções padrão dos fármacos foram preparadas em metanol e submetidas à análise cromatográfica. Os fármacos mais utilizados pelos pacientes que foram avaliados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 – Medicamentos analisados como possíveis interferentes passíveis de serem administrados concomitantemente com o metoprolol.

Fármacos	Concentração mg/mL	Tempo de retenção (min.)
metoprolol	1,00	20.59
α -OH metoprolol	1,00	4.13
tramadol (padrão interno)	1,00	17.58
propranolol	1,00	ND
enalapril	1,00	ND
clonidina	1,00	ND
captopril	1,00	ND
diltiazem	1,00	ND
hidroclorotiazida	1,00	ND
sinvastatina	1,00	ND
isossorbida	1,00	ND
ácido acetil salicílico	1,00	ND
atenolol	1,00	ND
furosemida	1,00	ND
carvedilol	1,00	ND
digoxina	1,00	ND
metildopa	1,00	ND

ND – não detectado até 30 minutos.

3.5.5 Estabilidade do fármaco e seu metabólito em matriz biológica

Foram avaliadas as estabilidades de curta duração (12 horas em temperatura ambiente), 3 ciclos de congelamento e descongelamento e estabilidade de longa duração (101 dias a -20 °C).

Para a avaliação da estabilidade, foram preparadas amostras enriquecidas com concentrações baixa e alta do fármaco e seu metabólito na urina. As amostras foram analisadas imediatamente e os resultados comparados com aqueles obtidos após os diferentes testes.

Para a avaliação da estabilidade de curta duração, as amostras enriquecidas foram extraídas após 12h de armazenamento à temperatura ambiente. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos após a análise imediata das amostras enriquecidas.

Para a avaliação da estabilidade de 3 ciclos de congelamento e descongelamento, as amostras enriquecidas foram congeladas por pelo menos 24 horas, após esse período, foram descongeladas e congeladas novamente por 12 horas, repetindo-se esse processo até o terceiro ciclo de congelamento, quando foram extraídas e analisadas. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos com as amostras recém-preparadas.

Para a avaliação da estabilidade de longa duração, as amostras enriquecidas foram congeladas à -20 °C e mantidas por um período de 101 dias. Após esse período, as amostras foram descongeladas, extraídas e analisadas, sendo os resultados comparados com aqueles obtidos com as amostras recém-preparadas.

3.6 Análise dos Resultados

Os pacientes que apresentaram valores igual ou abaixo de 12,6 para a razão da concentração do metoprolol sobre a concentração do α -OH metoprolol na urina foram considerados metabolizadores extensivos e os pacientes que apresentaram valores acima de 12,6 foram considerados metabolizadores lentos, de acordo com MCGOURTY et al., 1985, que analisou os fenótipos de 143 pacientes hipertensos, sendo 81 homens e 62 mulheres, com média de idade de 50 anos, na faixa etária de 22 a 77 anos. Dentre os pacientes deste estudo 24 pacientes não estavam utilizando nenhuma medicação, 20 pacientes estavam recebendo somente um diurético e 99 pacientes estavam utilizando o atenolol com ou sem diurético associado.

3.7 Análise Estatística

Tendo conhecimento que a população brasileira é composta de 49,9% de raça branca (IBGE, 2006) e que a porcentagem, relatada na literatura, de metabolizadores lentos em populações caucasianas é de 7 a 10 % da população (FUX, R. et al., 2005; FRANK, D.; JAEHDE, U.; FUHR, U., 2007) e considerando um intervalo de confiança de 95%, o tamanho necessário para a amostra é de 130 pacientes. Isto implica em um erro de amostragem de 0,051.

Foram determinadas as razões metabólicas do metoprolol/ α -OH metoprolol nos percentis P25, P50 e P75 segundo as características antropométricas (idade, gênero, raça e índice de massa corpórea (IMC)) e outras como a quantidade de medicamentos utilizados, presença ou ausência de efeitos colaterais, DM, Tireoidopatia e ingestão de álcool. Suas distribuições foram comparadas pelo teste de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

O estudo da fenotipagem do CYP2D6 através da quantificação do metoprolol e α -OH metoprolol em urina exige o desenvolvimento de método de análise com limites de quantificação e seletividade compatíveis com a administração de dose única de 100 mg de tartarato de metoprolol sob forma racêmica.

A Tabela 5 mostra os tempos de retenção do metoprolol, α -OH metoprolol e padrão interno nas condições estabelecidas para análise.

Tabela 5 - Tempo de retenção do metoprolol e α -OH metoprolol.

Fármacos	Tempo de retenção (min)
metoprolol	20.59
α -OH metoprolol	4.13
tramadol (padrão interno)	17.58

A Tabela 6 mostra as equações das curvas de calibração e os coeficientes de correlação linear obtidos na análise do metoprolol e α -OH metoprolol em urina. Os coeficientes de correlação obtidos mostram relação linear entre as alturas dos picos e as concentrações do metoprolol e α -OH metoprolol.

Tabela 6 - Curvas de calibração para a análise do metoprolol e α -OH metoprolol em urina.

	metoprolol		α -OH metoprolol	
	equação	r	equação	r
Urina	$y = 0,1634x - 0,0435$	0,996	$y = 0,9453x - 0,0118$	0,999

r = coeficiente de correlação linear

Os dados apresentados na Tabela 7 mostram os limites de confiança obtidos na validação do método de análise do metoprolol e α -OH metoprolol em urina. Os

cromatogramas apresentados na Figura 4 mostram que os componentes endógenos da urina não interferem no método analítico.

Tabela 7 - Limite de confiança do método de análise do metoprolol e α -OH metoprolol em urina.

	Metoprolol		α -OH Metoprolol	
Linearidade ($\mu\text{g/mL}$)	0,2 a 20		0,1 a 10	
r	0,996		0,999	
Recuperação absoluta (%)	0,6 $\mu\text{g/mL}$	79,09	0,2 $\mu\text{g/mL}$	99,61
	8,0 $\mu\text{g/mL}$	74,96	4,0 $\mu\text{g/mL}$	97,09
	16,0 $\mu\text{g/mL}$	76,13	8,0 $\mu\text{g/mL}$	97,33
Limite de Quantificação ($\mu\text{g/mL}$)	0,2		0,1	
Precisão (n=5, CV %)	11,89		4,27	
Exatidão (%)	109,46		85,62	
Precisão	0,6 $\mu\text{g/mL}$	5,75	0,2 $\mu\text{g/mL}$	4,58
Intra-ensaios	8,0 $\mu\text{g/mL}$	2,95	4,0 $\mu\text{g/mL}$	2,9
(n=5, CV%)	16,0 $\mu\text{g/mL}$	5,28	8,0 $\mu\text{g/mL}$	4,53
Precisão	0,6 $\mu\text{g/mL}$	8,59	0,2 $\mu\text{g/mL}$	10,49
Interensaios	8,0 $\mu\text{g/mL}$	6,75	4,0 $\mu\text{g/mL}$	11,97
(n=5, CV%)	16,0 $\mu\text{g/mL}$	3,35	8,0 $\mu\text{g/mL}$	11,82
Exatidão	0,6 $\mu\text{g/mL}$	94,94	0,2 $\mu\text{g/mL}$	96,49
Intra-ensaios	8,0 $\mu\text{g/mL}$	95,77	4,0 $\mu\text{g/mL}$	114,19
(n=5, %)	16,0 $\mu\text{g/mL}$	91,70	8,0 $\mu\text{g/mL}$	112,74
Exatidão	0,6 $\mu\text{g/mL}$	88,82	0,2 $\mu\text{g/mL}$	103,14
Interensaios	8,0 $\mu\text{g/mL}$	89,60	4,0 $\mu\text{g/mL}$	107,23
(n=5, %)	16,0 $\mu\text{g/mL}$	89,61	8,0 $\mu\text{g/mL}$	107,19
Estabilidade Curta Duração	0,6 $\mu\text{g/mL}$	2,99	0,2 $\mu\text{g/mL}$	-1,28
Temperatura ambiente - 12h	16,0 $\mu\text{g/mL}$	-0,76	8,0 $\mu\text{g/mL}$	-10,61
(desvio%)				
Estabilidade 3 Ciclos	0,6 $\mu\text{g/mL}$	8,6	0,2 $\mu\text{g/mL}$	-13,96
de Congelamento	16,0 $\mu\text{g/mL}$	-0,21	8,0 $\mu\text{g/mL}$	-12,94
(desvio%)				
Estabilidade Longa Duração	0,6 $\mu\text{g/mL}$	-14,89	0,2 $\mu\text{g/mL}$	-2,86
(desvio%)	16,0 $\mu\text{g/mL}$	-13,78	8,0 $\mu\text{g/mL}$	-13,54

CV = coeficiente de variação; r = coeficiente de correlação linear

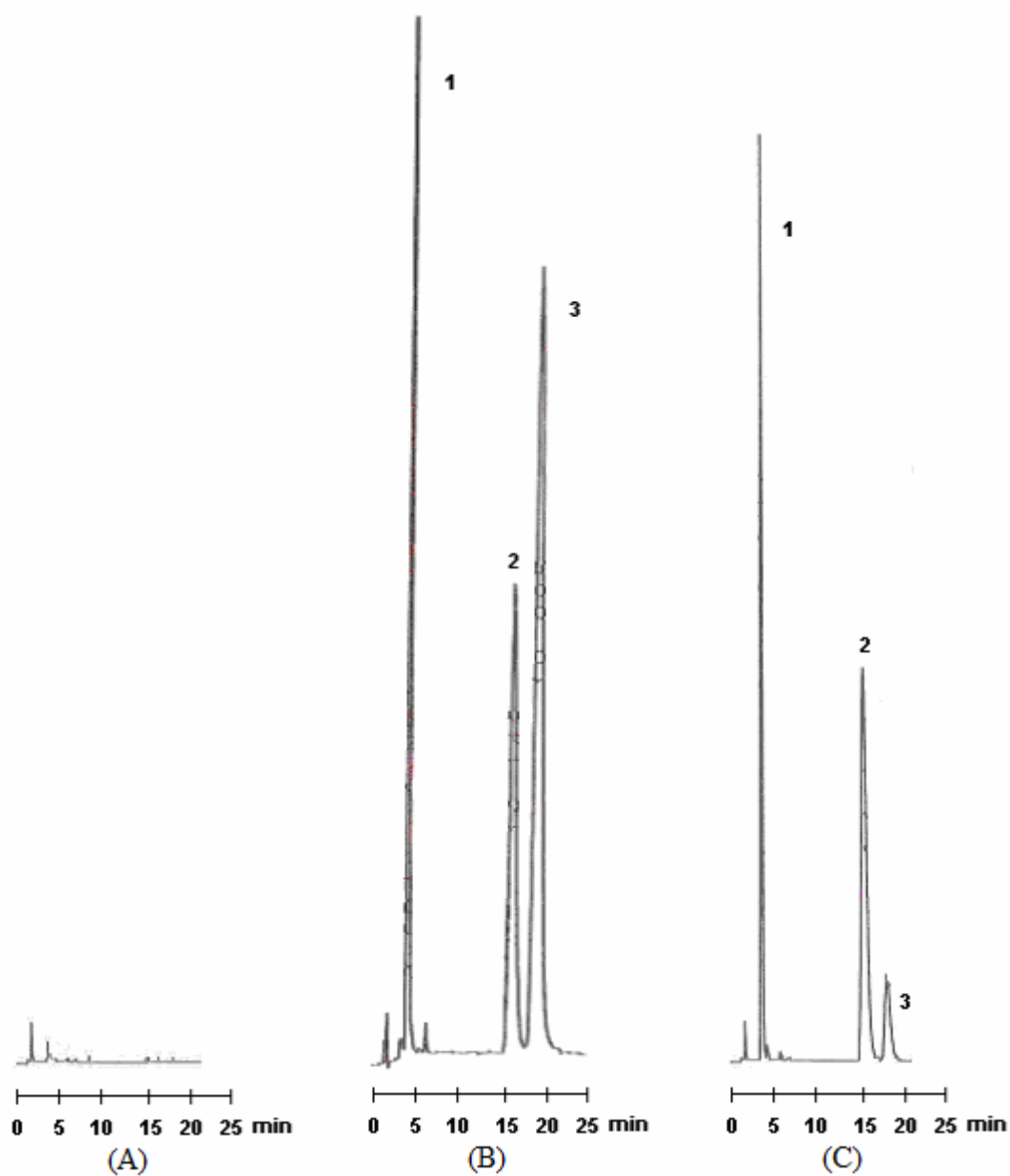


Figura 04 - Cromatograma referente à análise do metoprolol e α -OH metoprolol em urina. (A) Urina branco; (B) Urina enriquecida com metoprolol, α -OH metoprolol e tramadol; (C) Urina de paciente idoso cardiopata tratado com tartarato de metoprolol. 1 – metoprolol, 2 – tramadol e 3 - α -OH metoprolol.

A Tabela 8 mostra a mediana, o valor mínimo e máximo dos resultados da razão da concentração do metoprolol/ α -OH metoprolol em urina.

Tabela 8 – Valores referentes à razão metabólica de metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de idosos cardiopatas segundo o gênero.

Gênero	Mínimo	Máximo	Mediana
Masculino	0,17	3,63	1,00
Feminino	0,10	212,65	1,06
Ambos	0,10	212,65	0,99

Ao analisar os pacientes, identificou-se que 104 pacientes (80,0%) auto reportaram ser de raça branca, 13 pacientes (10,0%) de raça negra, 1 paciente (0,8%) de raça amarela e 12 pacientes (9,2%) de raça parda.

A Tabela 9 mostra os dados da frequência de idosos cardiopatas de acordo com a faixa etária dos pacientes, e os dados referentes à duração da HAS nos idosos cardiopatas, indicando o início do diagnóstico de acordo com o que foi relatado pelos pacientes no momento da entrevista envolvidos no estudo, a distribuição da pressão arterial e a frequência cardíaca encontrada nestes pacientes. Os dados obtidos revelam que a maior porcentagem de pacientes situava-se na faixa etária de 60 a 70 anos de idade, média de $71,8 \pm 6,2$, mediana de 71,0, valor mínimo de 60 e máximo de 93 anos. A maior proporção de idosos cardiopatas tem mais do que 6 anos do início do diagnóstico da HAS, média de $15,4 \pm 10,9$ anos, mediana de 14,5, valor mínimo de 1 anos e valor máximo de 46 anos. Em relação à pressão arterial, a média foi de $135,5 \pm 22,3$ mmHg para PAS e $78,8 \pm 13,8$ mmHg para PAD, a mediana foi de 130,0 mmHg para PAS e 80,0 mmHg para PAD, com valor mínimo de 90 mmHg para PAS e 50 mmHg para PAD, e valor máximo de 220 mmHg para PAS e 140 mmHg para PAD. Na maioria dos pacientes a frequência cardíaca variou entre 60 a 89 batimentos por minuto (bpm), com uma média de $68,3 \pm 11,5$ bpm, mediana de 68,0 bpm, valor mínimo de 46 bpm e valor máximo de 100 bpm.

Tabela 9 - Frequência de idade, duração da Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), distribuição da pressão arterial e distribuição da frequência cardíaca em repouso de pacientes idosos cardiopatas.

Idade (anos)	Nº Pacientes	%
60 a 70	63	48,5
71 a 80	54	41,5
≥ 81	13	10,0
Total	130	100
HAS (anos)	Nº Pacientes	%
0 a 1	2	1,5
2 a 5	23	17,7
> 6	105	80,8
Total	130	100
PA (mm Hg)	Nº Pacientes	%
PAS<140 e PAD<90	67	51,5
PAS≥140 e PAD≥90	22	16,9
PAS≥140 e PAD<90	37	28,5
PAS<140 e PAD≥90	4	3,1
Total	130	100
FC (bpm)	Nº Pacientes	%
< 60	32	24,6
60-89	93	71,5
≥ 90	5	3,9
Total	130	100

Os pacientes investigados utilizavam em média $6 \pm 2,0$ tipos de medicamentos, variando de 1 a 11 fármacos utilizados concomitantemente à realização da classificação fenotípica feita com o metoprolol em urina. Sendo que 53 pacientes (40,8%) não apresentavam efeitos colaterais, 36 pacientes (27,7%) apresentavam 1 efeito colateral, 26 pacientes (20,0%) apresentavam 2 efeitos colaterais, 12 pacientes (9,2%) apresentavam 3 efeitos colaterais e 3 paciente (2,3%) apresentavam 4 efeitos colaterais, com uma média de $1 \pm 1,00$ efeito colateral por paciente.

Nesta população, 21 pacientes (16,2%) eram portadores de Doença de Chagas, 29 pacientes (22,3%) tinham DM e 14 pacientes (10,8%) tinham Asma Brônquica.

Observou-se uma média de $5,1 \pm 3,2$ comorbidades concomitantes, variando de 1 a 14 patologias associadas.

As 4 comorbidades mais encontradas nesses pacientes idosos cardiopatas em ordem decrescente são: 125 pacientes (96,2%) com HAS, 93 pacientes (71,5%) com Dislipidemia, 46 pacientes (35,8%) obesos, 29 pacientes (22,3%) com DM e 23 pacientes (17,7%) com disfunção diastólica do ventrículo esquerdo.

A Tabela 10 apresenta os resultados dos exames de sangue realizados para a verificação da normalidade da função renal e hepática dos pacientes idosos cardiopatas. Devido à utilização de metodologias diferentes para a realização do exame fosfatase alcalina, não foi possível analisar a média e o desvio padrão desta variável.

Tabela 10 – Média e desvio padrão das análises sanguíneas para verificação da normalidade da função renal e hepática dos idosos cardiopatas

Tipo de exame realizado	Valor de referência	Média ± DP
TGP (U/L)	3,0 – 50,0	20,79 ± 8,72
TGO (U/L)	12,0 – 46,0	23,64 ± 8,21
γ-GT (U/L)	11 – 50 H 7 – 32 M	25,49 ± 13,70
Bilirrubina total (mg/dL)	Até 1,2	0,83 ± 0,23
Bilirrubina direta (mg/dL)	Até 0,2	0,18 ± 0,06
Bilirrubina indireta (mg/dL)	Até 0,8	0,65 ± 0,21
Potássio (mEq/L)	3,5 – 5,4	4,24 ± 0,33
Proteínas totais (g/dL)	6,1 – 7,9	6,88 ± 0,53
Albumina (g/dL)	3,5 – 4,8	3,98 ± 0,46
Globulina	2,3 – 3,5	2,90 ± 0,50
Relação Albumina/Globulina	1,2 – 2,2	1,39 ± 0,24
Uréia (mg/dL)	10,0 – 50,0	40,00 ± 12,44
Creatinina (mg/dL)	0,6 – 1,4	1,08 ± 0,33
Filtração Glomerular (Cockroft-Gault)	> 60 mL/min/1,73m ²	66,80 ± 28,74
Hematócrito (%)	40 – 52 H 35 – 47 M	39,18 ± 4,09
Hemoglobina (g/dL)	13,3 – 17,7 H 11,7 – 15,7 M	12,98 ± 1,74
Leucócitos (n°/mm³)	4.000 – 11.000	6.018,56 ± 1.619,69
Plaquetas (n°/mm³)	140.000 – 400.000	200.717,95 ± 55.864,94

A Tabela 11 mostra a frequência da razão metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de acordo com o valor da razão metabólica de 12,6 que separa os metabolizadores extensivos e lentos do tartarato de metoprolol, revelando que foram detectados apenas três metabolizadores fenotipados como lento do tartarato de metoprolol (2,3%), de acordo com o critério usado para esta classificação (MCGOURTY et al., 1985), com uma média de $4,7 \pm 23,1$, mediana de 1,00, valor mínimo de 0,10 e valor máximo de 212,6.

Tabela 11 – Distribuição da razão metoprolol/ α -OH metoprolol em urina em idosos cardiopatas.

Razão metoprolol/ α-OH metoprolol	Nº Pacientes	%
$\leq 12,6$	127	97,7
$> 12,6$	3	2,3
Total	130	100

A figura 5 mostra a distribuição de idosos cardiopatas segundo log 10 da razão metoprolol/ α -OH metoprolol em urina.

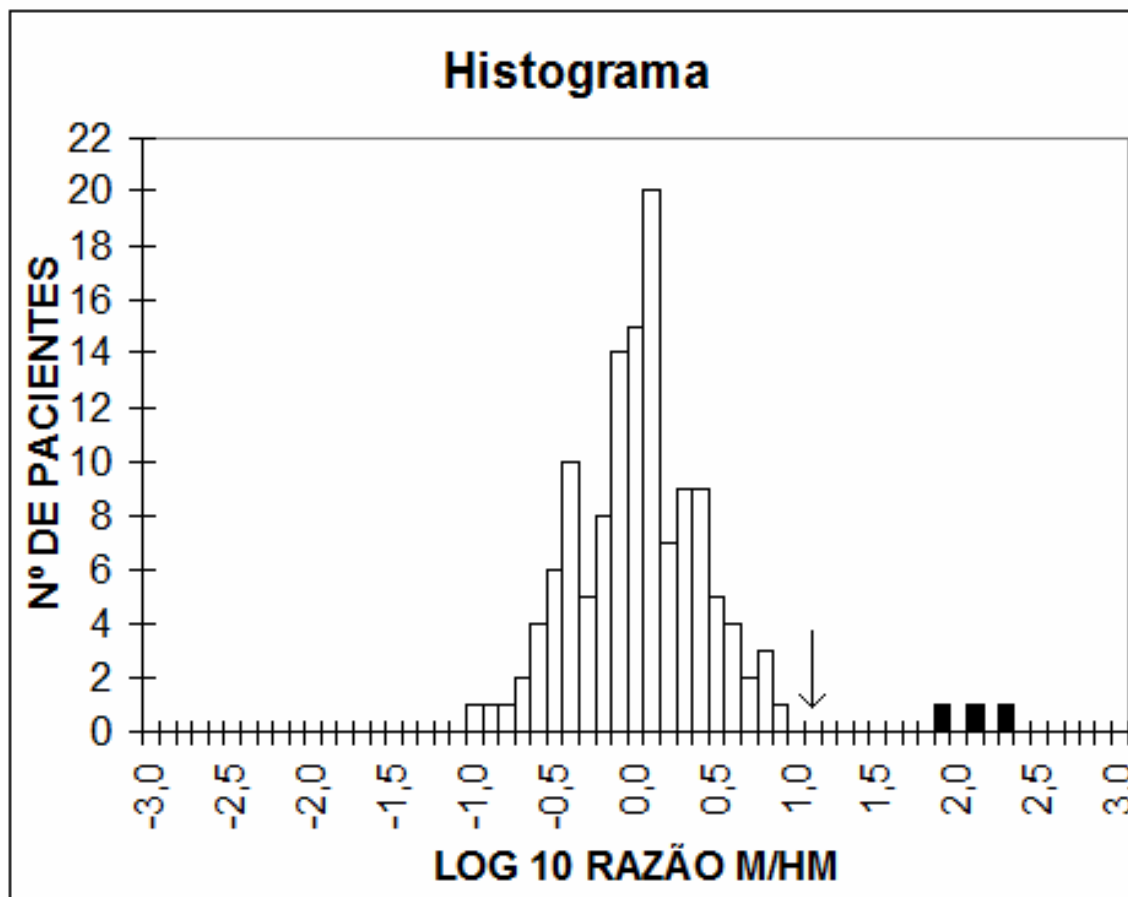


Figura 5 – Frequência de distribuição segundo \log_{10} da razão metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de idosos cardiopatas após uma dose oral de 100 mg de tartarato de metoprolol. A seta indica o \log_{10} da razão metabólica de 1,10 que separa metabolizadores lentos e extensivos (MCGOURTY et al., 1985). As colunas preenchidas de preto indicam os metabolizadores lentos do metoprolol.

Em 74,6% dos casos (97 pacientes), os idosos relataram que tinham antecedentes familiares, incluindo pai, mãe, irmãos e filhos, com algum tipo de cardiopatia. 45 pacientes (34,6%) referiram que o pai tinha HAS, 52 pacientes (40,0%) que a mãe tinha HAS e 83 pacientes (63,8%) que os irmãos tinham HAS, 64 pacientes (49,2%) relataram acidente vascular cerebral na família, 56 pacientes (43,1%) indicaram que houve IAM na família e 37 pacientes (28,5%) relataram que familiares apresentavam ICC e 66 pacientes (50,8%) morte súbita em familiares.

A Tabela 12 apresenta a distribuição de idosos cardiopatas de acordo com o tipo de medicamento utilizado. A maior proporção de pacientes utiliza diuréticos e o segundo grupo

de medicamentos mais utilizados é dos inibidores da ECA, sendo que os cinco medicamentos mais frequentemente utilizados em ordem decrescente são: hidroclorotiazida (48,25%), enalapril (37,72%), propranolol (25,44%), captopril (15,79%) e furosemida (14,91%).

Tabela 12 - Distribuição de medicamentos utilizados por idosos cardiopatas.

Classe Farmacológica	Nº Pacientes	%
Diuréticos	86	66,2
Inibidores da ECA	68	52,3
Beta-bloqueadores	52	40,0
Antagonistas de cálcio	37	28,5
Inibidores Adrenérgicos de ação central	27	20,8
Antagonistas do receptor AT1 da angiotensina II	11	8,5

A Tabela 13 apresenta a distribuição de idosos cardiopatas classificados através da razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de acordo com o gênero, faixa etária, raça e IMC. A tabela apresenta que 100% dos pacientes masculinos obtiveram uma razão abaixo de 12,6, sendo classificados como metabolizadores extensivos do metoprolol. Não foi observado nenhum paciente classificado como metabolizador lento do metoprolol na faixa etária de 71 a 80 anos. Nenhum paciente da raça negra ou amarela foi classificado como metabolizador lento do metoprolol. Apesar do número pequeno de pacientes caracterizados como metabolizadores lentos do metoprolol observa-se que todos estavam com algum grau de sobrepeso ou obesidade.

Tabela 13 - Distribuição de idosos cardiopatas classificados através da razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de acordo com o gênero, faixa etária, raça e IMC.

Gênero	Razão metoprolol/α-OH metoprolol	
	$\leq 12,6$	$> 12,6$
masculino	29	0
feminino	98	3
Idade (anos)	$\leq 12,6$	$> 12,6$
60 a 70	61	2
71 a 80	54	0
≥ 81	12	1
Raça	$\leq 12,6$	$> 12,6$
Branca	102	2
Negra	13	0
Parda	11	1
Amarela	1	0
IMC (Kg/m²)	$\leq 12,6$	$> 12,6$
$< 18,5$	1	0
18,5 a 24,99	34	0
25,0 a 29,99	48	1
30,0 a 34,99	31	1
35,0 a 39,99	10	0
≥ 40	3	1
Total	130	3

A Tabela 14 mostra a distribuição de idosos cardiopatas classificados através da razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de acordo com duração da HAS,

quantidade de medicamentos utilizados, presença de *Diabetes mellitus* e presença de Tireoidopatia. Os dados revelam uma proporção maior de pacientes, que têm duração de HAS acima de 6 anos, em ambos os grupos (metabolizadores extensivos e lentos do metoprolol). Observa-se que não ocorreu nenhum paciente classificado como metabolizador lento do metoprolol que utilizava apenas um medicamento. Os dados mostram que a maioria dos pacientes estudados em ambos os grupos (metabolizador extensivo e lento) não apresentavam DM. De acordo com esta tabela, nenhum paciente caracterizado como metabolizador lento do metoprolol era portador de Tireoidopatia.

De acordo com a informação fornecida pelos pacientes, observou-se que 37 pacientes (28,5%) relataram beber algum tipo de bebida alcoólica pelo menos uma vez na semana. Os dados apresentados na Tabela 15 indicam que nenhum paciente que utilizou bebida alcoólica foi classificado como metabolizador lento do metoprolol, e indicam também que todos os pacientes caracterizados como metabolizadores lentos do metoprolol, não referiram efeitos colaterais.

Tabela 14 - Distribuição de idosos cardiopatas classificados através da razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de acordo com duração da HAS, quantidade de medicamentos utilizados, presença de *Diabetes mellitus* e presença de Tireoidopatia.

HAS (anos)	Razão metoprolol/ α -OH metoprolol	
	$\leq 12,6$	$> 12,6$
< 2	2	0
2 a 5	22	1
> 6	103	2
Quantidade de medicamentos utilizados	$\leq 12,6$	$> 12,6$
1	2	0
2 - 5	51	1
≥ 6	74	2
Diagnóstico de DM	$\leq 12,6$	$> 12,6$
presente	28	1
ausente	99	2
Diagnóstico de Tireoidopatia	$\leq 12,6$	$> 12,6$
presente	35	0
ausente	92	3

Tabela 15 - Distribuição de idosos cardiopatas classificados através da razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de acordo com a utilização de bebida alcoólica e quantidades de efeitos colaterais.

Utilização de bebida alcoólica	Razão metoprolol/ α -OH metoprolol	
	$\leq 12,6$	$> 12,6$
presente	37	0
ausente	90	3
Nº de efeitos colaterais	$\leq 12,6$	$> 12,6$
	0	3
	1 a 3	0
	> 3	0

A Tabela 16 apresenta distribuição dos idosos cardiopatas segundo as características antropométricas em relação aos percentis da razão metoprolol/ α -OH metoprolol em urina, utilizando o teste de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis.

A Tabela 17 apresenta a distribuição dos idosos cardiopatas segundo a duração da HAS, quantidade de medicamentos utilizados, presença ou ausência de efeitos colaterais, DM, Tireoidopatia e ingestão de álcool em relação aos percentis da razão metoprolol/ α -OH metoprolol em urina, utilizando o teste de Mann-Whitney demonstrando que a variável quantidade de medicamentos utilizados teve significância estatística em relação aos percentis da razão metabólica ($p < 0,017$) e a variável ingestão de álcool também teve significância estatística em relação aos percentis da razão metabólica ($p < 0,045$).

Tabela 16 - Distribuição de idosos cardiopatas segundo a idade, gênero, raça e índice de massa corpórea (IMC) em relação aos percentis da razão metoprolol/ α -OH metoprolol

	Razão metoprolol/ α -OH metoprolol			p
	P25	P50	P75	
Idade (anos)				
≤ 70 (n=63)	0,53	1,08	1,85	0,423
> 70 (n=67)	0,61	0,94	1,39	
Gênero				
Masculino (n=29)	0,49	0,81	1,21	0,189
Feminino (n=101)	0,61	1,06	1,84	
Raça				
branca (n=104)	0,54	0,97	1,63	0,133
negra (n=13)	0,44	0,66	1,70	
parda (n=12)	1,07	1,44	2,21	
IMC				
<25 (n=35)	0,62	0,95	1,22	0,850
25 a 29,9 (n=49)	0,56	0,99	1,70	
≥ 30 (n=46)	0,44	1,03	2,02	

P25: percentil 25%; P50: percentil 50%; P75: percentil 75% * $p < 0,05$; teste de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis; n= numero de pacientes.

Tabela 17 - Distribuição de idosos cardiopatas segundo duração da Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), quantidade de medicamentos utilizados, efeitos colaterais, *Diabetes mellitus* (DM), Tireoidopatia e ingestão de álcool em relação aos percentis da razão metoprolol/ α -OH metoprolol.

	Razão metoprolol/ α -OH metoprolol			p
	P25	P50	P75	
Duração da HAS (anos)				
≤ 5 (n=25)	0,54	0,89	1,22	0,284
> 5 (n=105)	0,56	0,99	1,73	
Quantidade de medicamentos utilizados				
≤ 5 (n=54)	0,40	0,83	1,22	0,017
> 5 (n=76)	0,65	1,08	2,08	
Efeitos colaterais				
presente (n=53)	0,61	0,99	1,39	0,791
ausente (n=77)	0,53	1,03	1,73	
DM				
presente (n=29)	0,72	1,09	1,36	0,504
ausente (n=101)	0,53	0,94	1,70	
Tireoidopatia				
presente (n=35)	0,39	0,81	1,39	0,114
ausente (n=95)	0,62	1,03	1,73	
Ingestão de álcool				
presente (n=37)	0,40	0,85	1,22	0,045
ausente (n=93)	0,63	1,06	2,02	

P25: percentil 25%; P50: percentil 50%; P75: percentil 75% *p<0,05; teste de Mann-Whitney; n= numero de pacientes.

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

O estudo investigou a proporção de metabolizadores lentos do metoprolol em pacientes idosos cardiopatas, ou seja, pacientes com ≥ 60 anos de idade e que tem algum tipo de cardiopatia previamente diagnosticada. A presente investigação utilizou a disponibilidade de métodos analíticos para a quantificação do fármaco em urina, validado com base nas normas nacionais e internacionais requeridas para a aplicação em estudo de farmacocinética.

A identificação de pacientes idosos cardiopatas como metabolizadores lentos ou extensivos do metoprolol foi avaliada após a administração por via oral de 100 mg do tartarato de metoprolol racêmico, coletando a urina de 0-8h, medindo-se o volume, separando uma alíquota e analisando em HPLC.

Escolhemos este fármaco para a determinação do fenótipo dos idosos cardiopatas devido à fácil disponibilidade, baixo custo, baixa incidência de efeitos adversos com a sua utilização, cardiosseletividade e a existência de grande número de estudos científicos publicados atestando a sua larga utilização em idosos portadores de HAS, insuficiência coronária e ICC. Fizemos a fenotipagem através da urina devido à correlação deste fármaco em urina de 8h com o fármaco de referência descrito para a fenotipagem do CYP2D6 existente na literatura que é a debrisoquina, entretanto este fármaco não está disponível no mercado atualmente (MCGOURTY et al., 1985).

O metoprolol, quantificado em urina, pode ser usado para fenotipar o CYP2D6 conforme demonstram diversos estudos existentes na literatura (FRANK, D.; JAEHDE, U.; FUHR, U., 2007).

A análise do metoprolol em urina pode ser realizada por HPLC com detecção por fluorescência utilizando colunas de fase reversa, apresentando limites de quantificação de 0,01 $\mu\text{g/mL}$ de urina para o metoprolol e α -OH metoprolol (LI & WANG, 2006).

Embora o método desenvolvido para a análise do metoprolol e α -OH metoprolol por LI & WANG, 2006 apresente menor limite de quantificação (0,01 $\mu\text{g/mL}$ de urina para metoprolol e α -OH metoprolol *versus* 0,2 $\mu\text{g/mL}$ de urina para metoprolol e 0,1 $\mu\text{g/mL}$ de urina para α -OH metoprolol), o presente estudo apresenta uma metodologia analítica simples e rápida para a análise do metoprolol e seu metabólito em urina e os limites de quantificação obtidos são suficientes para a determinação das concentrações encontradas até 8 h após a administração do tartarato de metoprolol racêmico a pacientes idosos cardiopatas.

Os dados apresentados na validação do método de análise do metoprolol e α -OH metoprolol em urina (Tabela 7) mostram que o método é preciso, exato, sensível e seletivo devido ao fato de que o processo de validação incluiu todos os procedimentos requeridos para demonstrar que os métodos desenvolvidos para análise do metoprolol e α -OH metoprolol, sendo compatíveis com a aplicação em estudos de disposição cinética (KARNES; SHIU; SHAH, 1991; ANVISA, 2003).

Os coeficientes de variação obtidos no estudo de precisão e o desvio da exatidão inter e intra-ensaios foram inferiores a 15%, assegurando a reprodutibilidade e repetibilidade dos resultados.

Os testes de estabilidade em urina (Tabela 7) indicam que o metoprolol e o α -OH metoprolol foram estáveis nos procedimentos de armazenamento e condições de análise por até 101 dias.

As curvas de calibração altura dos picos do metoprolol e α -OH metoprolol *versus* concentração em urina do tartarato de metoprolol e seu metabólito (0,2-20 μg de metoprolol/mL de urina e 0,1-10 μg de α -OH metoprolol/mL de urina) mostraram linearidade nesses intervalos, com coeficiente de correlação superior a 0,99.

A maioria da população estudada, (127 pacientes, 97,7%) obteve uma razão metabólica abaixo de 12,6, sendo classificados como metabolizadores extensivos do

metoprolol e 3 pacientes (2,3% dos idosos cardiopatas) obtiveram razão acima de 12,6, sendo classificados como metabolizadores lentos.

Os três pacientes classificados como metabolizadores lentos do metoprolol obtiveram razão metabólica de 91,13; 132,72 e 212,65, indicando uma grande diferença no resultado da razão se comparado com os resultados dos pacientes classificados como metabolizadores extensivos. Esta porcentagem encontrada difere dos 7 a 10% da população geral referida como caucasianas, caracterizadas como metabolizadores lentos (FUX, R. et al., 2005; FRANK, D.; JAEHDE, U.; FUHR, U., 2007), dos 0,5% de coreanos, 0,5 a 0,7% de japoneses, 0% de chineses metabolizadores lentos do metoprolol (HORAI et al., 1989, SOHN et al., 1991) e 6,1% de americanos negros (MARINA; FOXWORTH; WILLSIE, 1995). De acordo com a revisão de KIM, K.; JOHNSON, J.A.; DERENDORF, H., 2004, a população asiática em geral tem uma proporção aproximadamente de 1% de metabolizadores lentos e a população caucasiana de 5 a 10%. Apesar de diversos trabalhos mostrarem que de 7 a 10% da população caucasiana é PM, um dos primeiros trabalhos relatando o polimorfismo genético do CYP2D6 utilizando a debrisoquina relatou que entre os 94 voluntários ingleses estudantes saudáveis participantes desse estudo, 3 foram fenotipados como PM, indicando uma proporção de aproximadamente 3% de PM. Este primeiro estudo obteve um resultado mais próximo com o observado neste trabalho realizado com idosos cardiopatas, onde 2,3% dos pacientes foram fenotipados como PM. Neste mesmo estudo com voluntários ingleses essas diferenças de sexo ou raça entre os investigados não apresentaram diferenças na atuação do CYP2D6, estando de acordo com o encontrado em idosos cardiopatas, onde não se observou nenhuma diferença estatisticamente significativa em relação ao sexo e a raça (MAHGOUB et al., 1977). Já em outro estudo a proporção de PM encontrados na população caucasiana hipertensa inglesa foi de 8,4%, ou seja, em 131 pacientes, sendo identificados 12 pacientes fenotipados como PM (MCGOURTY et al., 1985), ou seja aproximadamente 4 vezes superior

a porcentagem encontrada em idosos cardiopatas. Outro estudo sobre o fenótipo CYP2D6 da população branca espanhola mostrou que 6,6% são metabolizadores lentos utilizando como marcador fenotípico a debrisoquina. A razão metabólica deste estudo variou de 0,03 nos EM até 93,5 nos PM, diferentemente do observado em idosos cardiopatas, em que o valor mínimo da razão metabólica do metoprolol/ α -OH metoprolol foi de 0,10, sendo 3 vezes superior a aquele observado no estudo espanhol e o valor máximo foi de 212,65, sendo aproximadamente 2,27 vezes maior do que o observado no estudo da população espanhola (BENITEZ; LERENA; COBALEDA, 1988). De acordo com o estudo de BELTISSON, 1992, há uma grande diferença entre a frequência de PM da debrisoquina entre indivíduos chineses e suecos. A frequência de PM da debrisoquina de um total de 695 chineses foi de 1,01%, um percentual muito menor do que o observado ao analisar 1011 indivíduos brancos saudáveis suecos, onde foi verificado a ocorrência de 6,82% de PM. Comparando os dados deste estudo com aqueles encontrados em idosos cardiopatas, verificamos que apesar da raça branca ser a maioria dos pacientes incluídos neste estudo, a porcentagem encontrada de PM foi bem menor do que a encontrada na população sueca. Entretanto o percentual observado em idosos cardiopatas está um pouco superior ao que foi encontrado de PM na população chinesa. Já a população caucasiana alemã apresenta uma porcentagem de PM em torno de 7,3% (RAU, et al., 2008), revelando que esta população também possui uma porcentagem de PM muito superior ao que foi observado em idosos cardiopatas. O estudo feito para determinar a proporção de PM na população italiana, utilizou o medicamento dextrometorfano que de acordo com FRANK, D.; JAEHDE, U.; FUHR, U., 2007, também pode ser utilizado para fenotipar o CYP2D6, utilizando amostras de urina de 246 italianos saudáveis, sendo classificados como PM 11 indivíduos, dando uma porcentagem de 4,5% de PM, aproximadamente 2 vezes superior ao valor encontrado em idosos cardiopatas (SPINA, et al., 1994). A comparação do resultado do observado em idosos cardiopatas com a porcentagem de

PM na população turca indica que nesta população (3,4% de PM, em 326 indivíduos turcos) os valores encontrados de PM estão próximos àqueles observados em idosos cardiopatas (BOZKURT, et al., 1994). Na população japonesa, em Tóquio, foram fenotipados 292 indivíduos saudáveis, sendo encontrado apenas 1 indivíduo (0,34%) que foi classificado como PM, portanto, se observa que indivíduos japoneses, assim como chineses e coreanos, possuem uma percentagem muito baixa de PM. Comparando-se ao estudo realizado em idosos cardiopatas, verifica-se que a porcentagem encontrada foi mais do que 6 vezes superior a porcentagem de PM observada em japoneses (HORAI et al., 1990). De acordo com a Tabela 18 há diferenças significativas na proporção de PM de acordo com a etnia de cada população, demonstrando a grande influência do genótipo na classificação do CYP2D6. Estas diferenças na proporção de metabolização mediada pelo CYP2D6 demonstram uma alta taxa de variabilidade inter-individual e inter-étnica desta enzima, causada principalmente pelo polimorfismo genético (FRANK, D.; JAEHDE, U.; FUHR, U., 2007). Portanto, o conhecimento prévio sobre a variabilidade inter-individual e inter-étnica é de extrema importância para uma ótima dosagem do fármaco visando uma administração segura e efetiva de drogas que são substratos para esta enzima, diminuindo os possíveis efeitos colaterais e aumentando a eficácia do tratamento (RAU et al., 2004).

Tabela 18 – Freqüência de metabolizadores lentos do citocromo CYP2D6 em diferentes populações de voluntários sadios, utilizando a debrisoquina para a fenotipagem.

Continente	País	População	Número de indivíduos	Metabolizadores Lentos (%)
Europa	Itália	Caucasiana	137	7,3
	Finlândia	Caucasiana	211	5,2
	Espanha	Caucasiana	925	4,9
	Suécia	Caucasiana	205	8,8
Ásia	Japão	Asiática	100	0,0
	China	Asiática	269	0,7
	Coréia	Asiática	152	0,0
	Polinésia	Asiática	100	0,0
África	Egito	Árabe	72	1,4
	Gana	Negra	201	3,0
	Tanzânia	Negra	106	7,0
	Zimbábue	Negra	103	2,0
América do Norte	EUA	Caucasiana	183	8,7
Oceania	Austrália	Caucasiana	100	6,0

Fonte: GONZÁLEZ et al., 2007.

A idade dos pacientes idosos cardiopatas variou de 60 a 93 anos (média $71,8 \pm 6,2$ anos), sendo 29 pacientes do sexo masculino (23,3%) e 101 do sexo feminino (77,7%), exclusivamente idosos sendo que a maioria deles são usuários do Sistema Único de Saúde (SUS) onde ocorre maior freqüência do sexo feminino nos ambulatórios e consultórios de uma maneira geral (TADDEI et al., 1997). A faixa etária dos 60 a 70 anos de idade apresenta a maior proporção de pacientes incluídos no estudo (48,5%). Duas pacientes fenotipadas como metabolizadoras lentas do metoprolol estavam entre 60 e 70 anos, e a terceira paciente metabolizadora lenta estava na faixa etária entre 81 a 90 anos (Tabela 13). De acordo com o teste de Mann Whitney pode-se afirmar que não ocorreram diferenças estatisticamente significativas nesta faixa etária relacionada com a taxa de metabolização do tartarato de metoprolol administrado em dose única por via *p.o.* na concentração de 100 mg, ($p=0,423$) (Tabela 16).

Os pacientes idosos cardiopatas do sexo masculino obtiveram razão metoprolol/ α -OH metoprolol abaixo de 12,6, revelando que todos eles foram classificados como

metabolizadores extensivos do metoprolol (Tabela 16). Com a utilização do teste de Mann Whitney pode-se afirmar que não ocorreram diferenças estatisticamente significativas entre o sexo masculino e feminino na taxa de metabolização do tartarato de metoprolol administrado em dose única por via *p.o.* na concentração de 100 mg ($p=0,189$) (Tabela 16). Esses dados estão de acordo com outro trabalho da literatura, que demonstrou não ocorrer diferenças estatisticamente significativas da razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol entre o sexo masculino e o feminino (TU, 1995).

A maior proporção de idosos incluídos no estudo (105 pacientes, 80,8%) apresentaram duração da HAS superior a 6 anos. Estes pacientes apresentaram varias comorbidades detectadas durante a realização do estudo, sendo a HAS (125 pacientes, 96,2%) a mais freqüentemente encontrada. Este dado é de grande importância, já que a HAS pode aumentar em 4 vezes, a chance do paciente em desenvolver ICC, por promover alterações estruturais no ventrículo esquerdo, acompanhadas ou não por isquemia miocárdica, com função sistólica preservada ou não (VERDECCHIA e cols., 1998). A distribuição de idosos cardiopatas de acordo com a taxa de metabolização do tartarato de metoprolol administrado em dose única por via *p.o.* na concentração de 100 mg em relação à duração da HAS, não apresentou diferenças estatisticamente significativas (teste de Mann Whitney $p=0,284$) (Tabela 17).

O controle terapêutico da HAS nos indivíduos estudados foi de 51,5%, presente em 67 idosos cardiopatas que apresentavam a PAS<140 mmHg e PAD<90mmHg.

Em 71,5% (93 pacientes) dos idosos envolvidos no estudo a FC situou-se entre 60 a 89 bpm.

De acordo com os resultados dos exames bioquímicos (Tabela 10), todos os pacientes envolvidos no estudo revelaram ter a função renal e hepática normais. Em relação aos dados observados relativos à estimativa da FG com a utilização da equação de Cockcroft-Gault,

segundo as Diretrizes Brasileiras de Doença Renal Crônica (DRC) elaboradas pela Sociedade Brasileira de Nefrologia, o diagnóstico de DRC em idosos deve ser estabelecido com base na presença de outro marcador de doença renal além da FG como alterações do sedimento urinário, pelo fato de que esta pode diminuir como parte do processo de envelhecimento do organismo, sendo difícil diferenciar diminuição da FG relacionada à idade com aquela relacionada à DRC no idoso (PECOITS-FILHO, 2004).

Os dados obtidos mostram que 95 pacientes (73,1%) estavam com IMC acima de 25 Kg/m² (Tabela 13). Este dado sugere que a maioria dos idosos cardiopatas incluídos no estudo apresentava sobrepeso ou algum grau de obesidade, sendo que este fato constitui-se num importante fator de risco cardiovascular, podendo ser responsável por 20% a 30% dos casos de HAS (WHO, 1997). Sabe-se que 75% dos homens e 65% das mulheres apresentam HAS diretamente atribuível ao sobrepeso e obesidade (CARNEIRO, 2003; NISKANEN, 2004). As diferenças entre os valores do IMC dos idosos cardiopatas em relação à taxa de metabolização do tartarato de metoprolol administrado em dose única por via *p.o.* na concentração de 100 mg não foi estatisticamente significativa, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis ($p=0,850$) (Tabela 16). Através desses resultados pode-se afirmar que a diferença dos valores do IMC dos idosos cardiopatas não influenciou na taxa de metabolização do metoprolol racêmico administrado em dose única.

Esta população utilizava diversos medicamentos concomitantemente à realização da fenotipagem de metabolização do metoprolol, apresentando uma média de $5,9 \pm 2,1$ fármacos utilizados, entretanto foram excluídos os pacientes que necessitavam da utilização contínua de medicamentos que poderiam influenciar na análise da via metabólica relacionada ao CYP2D6. O medicamento mais utilizado pela população estudada foi o diurético hidroclorotiazida, estando de acordo com o fato de que baixas doses de diuréticos utilizados

ao longo dos anos constituem-se em medicamentos eficazes para redução da morbimortalidade por DCV, particularmente aquela relacionada à HAS (PSATY, et al., 2003).

Todos os pacientes que faziam uso de fármacos inibidores do CYP2D6 foram orientados a interromper o tratamento durante 5 meias-vidas (wash out) e 8h após a administração do metoprolol foram orientados a reintroduzirem os medicamentos.

Os pacientes classificados neste estudo como metabolizadores lentos do metoprolol utilizavam pelo menos 2 classes de medicamentos (Tabela 17), de acordo com os dados obtidos ocorreram diferenças estatisticamente significativas entre a quantidade de medicamentos utilizados em relação à taxa de metabolização do tartarato de metoprolol administrado em dose única por via *p.o.* na concentração de 100 mg ($p=0,017$) (Tabela 16). Os idosos geralmente utilizam uma quantidade superior de medicamentos quando comparado com os adultos jovens, desta forma a ocorrência de interações medicamentosas e efeitos adversos tendem a ser maiores neste segmento da população (GODLOVITCH, 2003). Portanto, o maior problema relacionado à prática da polifarmácia é o potencial de interações entre as várias drogas utilizadas por estes pacientes (DAVIES, et al., 2004). Todos os pacientes envolvidos no estudo, não estavam tomando nenhum medicamento que fosse um inibidor do CYP2D6. A diferença de valores da razão metabólica do metoprolol/ α -OH metoprolol entre os pacientes que utilizavam quantidade igual ou inferior a 5 medicamentos e os pacientes que utilizavam quantidade superior a 5 medicamentos poderia ser decorrente da utilização concomitante de um número superior de medicamentos que são substratos para o CYP2D6, como de fato ocorreu com estes pacientes que utilizavam mais medicamentos, por exemplo a utilização concomitante de amitriptilina, propranolol e captopril, ou carvedilol e nortriptilina, sendo estes medicamentos substratos para o CYP2D6. Este fato já não ocorreu com os pacientes que utilizavam menos medicamentos, já que a maioria deles utilizavam no máximo um medicamento descrito na literatura como substrato do CYP2D6. Desta forma os

pacientes que utilizavam mais do que 5 medicamentos tiveram percentis da razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol superiores aos percentis dos idosos cardiopatas que utilizavam menos medicamentos, demonstrando uma menor taxa de metabolização do metoprolol através do CYP2D6. Esta menor taxa de metabolização poderia estar relacionada com a saturação da enzima CYP2D6, já que os pacientes que utilizam mais medicamentos ingerem quantidades maiores de substratos para que ocorra a metabolização destes diversos fármacos pelo CYP2D6. O processo de saturação da enzima CYP2D6 foi descrito em um estudo realizado com o antidepressivo paroxetina (SINDRUP; BROSEN; GRAM, 1992).

Apesar dos idosos serem a parcela da população que mais utiliza medicamentos, 53 pacientes (40,8%) não relataram presença de efeitos colaterais. Entre estes pacientes os três idosos cardiopatas que apresentaram fenótipo de metabolizador lento do metoprolol não relataram apresentar efeitos colaterais com nenhum dos medicamentos utilizados (Tabela 17). Seria esperado que estes pacientes tivessem mais efeitos colaterais do que os idosos classificados como metabolizadores extensivos, já que dois deles tomavam o medicamento propranolol que é substrato do CYP2D6 (FRANK, D.; JAEHDE, U.; FUHR, U., 2007). Como o CYP2D6 não tem atividade de metabolização normal nestes pacientes, seria esperado um aumento da concentração do propranolol no sangue e desta forma poderia ocorrer um aumento dos efeitos colaterais provenientes de uma maior concentração deste fármaco no organismo. Não ocorreram diferenças estatisticamente significantes entre a presença ou ausência de efeitos colaterais em relação à taxa de metabolização do tartarato de metoprolol administrado em dose única por via p.o. na concentração de 100 mg ($p=0,791$) (Tabela 17).

A maioria dos pacientes idosos cardiopatas era da raça branca (80,0%). Este predomínio da raça branca está de acordo com o senso feito pelo IBGE, 2006, onde relata que 49,90% da população brasileira é composta de raça branca. Das três pacientes fenotipadas como metabolizadoras lentas do metoprolol, duas eram da raça branca e uma da raça parda

(Tabela 13). Através do teste de Kruskal-Wallis pode-se concluir que as diferenças entre estas raças em relação à taxa de metabolização do tartarato de metoprolol administrado em dose única por via *p.o.* na concentração de 100 mg não foi estatisticamente significativa ($p=0,133$) (Tabela 16).

Houve relato da presença de algum tipo de cardiopatia em antecedentes familiares dos idosos cardiopatas (97 pacientes, 74,6%), sendo que 45 pacientes (34,6%) tinham pai com HAS, (52 pacientes, 40,0%) mãe com HAS, (83 pacientes, 63,8%) irmãos com HAS, (64 pacientes, 49,2%) apresentavam algum caso de AVC na família, (56 pacientes, 43,1%) familiares com IAM, (37 pacientes, 28,5%) casos de ICC na família e 66 pacientes (50,8%) referiram ter ocorrido morte súbita na família. Pacientes com antecedentes familiares de HAS tem maior probabilidade de desenvolver HAS do que aqueles que não apresentam história familiar desta patologia. Indivíduos com historia familiar de HAS apresentam níveis significativamente mais elevados da atividade da renina plasmática, podendo se constituir num possível marcador biológico para estabelecimento prognóstico de um futuro desenvolvimento de HAS (SILVA et al., 1998).

A Tabela 14 apresenta a distribuição de idosos cardiopatas classificados através da razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol em urina de acordo com a presença de DM. Utilizando o teste de Mann Whitney pode-se concluir que não houve diferença estatisticamente significativa entre a presença ou ausência de DM na taxa de metabolização do tartarato de metoprolol administrado em dose única por via *p.o.* na concentração de 100 mg ($p=0,504$) (Tabela 17). Porém, há relato na literatura de que ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina tiveram o CYP1B1 e CYP1A2 com atividade aumentada nos microssomas hepáticos e o CYP2B1 e 2E1 foram fortemente induzidos também no grupo de ratos diabéticos. Ao contrario destas enzimas, o CYP2C11 teve um decréscimo em sua atividade

nestes mesmos ratos. Estas enzimas tiveram sua atividade mais próxima do normal, quando foi administrada insulina nos ratos diabéticos (SINDHU et al., 2006).

Trinta e cinco idosos cardiopatas com a presença de Tireoidopatia, classificados através da razão metabólica metoprolol/ α -OH metoprolol em urina, apresentaram razão metabólica abaixo de 12,6 (Tabela 14). Com a realização do teste de Mann Whitney pode-se afirmar que não houve diferença estatisticamente significativa entre a presença de Tireoidopatia em relação à taxa de metabolização do tartarato de metoprolol administrado em dose única por via *p.o.* na concentração de 100 mg ($p=0,114$) (Tabela 17). Os dados obtidos neste estudo indicam que não houve nenhuma alteração na taxa de metabolização do tartarato de metoprolol pelo CYP2D6 em idosos cardiopatas, embora alguns estudos indiquem uma alteração na taxa de expressão de algumas isoformas do CYP450 podendo influenciar na taxa de metabolização de alguns medicamentos, como por exemplo o estudo realizado por LIDDLE et al., 1998, que revelou que o hormônio triiodotironina (T3) foi um potente inibidor da expressão do CYP3A4 em cultura de hepatócitos humanos, indicando que uma menor produção deste hormônio poderia aumentar a capacidade de metabolização do CYP3A4.

Outro estudo revelou que os hormônios tireoidianos afetam a expressão do CYP. Um aumento das isoformas CYP, 1A2, 2A1, 2A2, 2B1, 2B2, 3A1 e 3A2 ocorrem em ratos com hipotireóide, hipófisectomizados e tiróidectomizados. Quando estes tipos de ratos recebem hormônios T3 ou tiroxina (T4), este efeito desaparece (OINONEN, 1998).

De acordo com o que foi relatado pelos idosos cardiopatas, nenhum paciente que utilizou bebida alcoólica pelo menos uma vez na semana, foi classificado como metabolizador lento do metoprolol (Tabela 15). De acordo com o teste de Mann-Whitney ocorreram diferenças estatisticamente significantes entre a presença ou ausência de utilização de bebida alcoólica em relação à taxa de metabolização do tartarato de metoprolol administrado em dose única por via *p.o.* na concentração de 100 mg ($p=0,045$) (Tabela 17). A análise realizada junto

à literatura pertinente ao assunto não evidenciou atuação do etanol no CYP2D6. A maioria dos estudos existentes reporta sobre a indução do CYP2E1 pelo uso crônico do álcool (CEDERBAUM, 2003). Entretanto, o consumo de bebidas alcoólicas também está associado com aumento da atividade do CYP3A (HOSHINO & KAWASAKI, 1995; NIEMELA et al., 1998; WOLF et al., 2007), como o CYP3A também faz parte do metabolismo do metoprolol, mais especificamente da O-desmetilação, os pacientes que relataram beber algum tipo de bebida alcoólica pelo menos uma vez na semana, poderiam ter a atividade do CYP3A induzida em relação aos pacientes que relatam não utilizar nenhum tipo de bebida alcoólica. Deste modo seria esperado que os pacientes que utilizam bebidas alcoólicas tivessem uma razão metoprolol/ α -OH metoprolol menor do que os pacientes que não utilizam bebidas alcoólicas, como foi observado nos resultados deste estudo. Portanto mesmo o CYP3A não participando da formação do α -OH metoprolol, a quantidade disponível do metoprolol para que ocorresse a α -hidroxilação poderia ter sido menor, com uma quantidade menor de substrato para ser metabolizado pela enzima CYP2D6, sendo mais rápida a metabolização deste substrato.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

1. Os resultados indicam que 2,3% dos pacientes idosos cardiopatas foram classificados como metabolizadores lentos do tartarato de metoprolol racêmico administrado em dose única por via *p.o.* na concentração de 100 mg.
2. O método desenvolvido e validado para a análise do metoprolol e α -OH metoprolol em urina, empregando HPLC com detecção por fluorescência e coluna RP-Select B é sensível (limites de quantificação de 0,2 $\mu\text{g/mL}$ de metoprolol e 0,1 $\mu\text{g/mL}$ de α -OH metoprolol), preciso e exato (coeficiente de variação e erros relativos $< 15\%$), podendo ser aplicado em estudos de caracterização fenotípica de metabolizador lento ou extensivo.
3. Ocorreu maior freqüência de pacientes do sexo feminino situados principalmente na faixa etária de 60 a 70 anos, sendo que a comorbidade mais prevalente na população estudada foi HAS.
4. As variáveis idade, gênero, raça, IMC, duração da HAS, presença de efeitos colaterais, *Diabetes mellitus* e tireoidopatia em relação à razão metoprolol/ α -OH metoprolol em urina não foram estatisticamente significantes em relação à taxa de metabolização do tartarato de metoprolol em idosos cardiopatas de acordo com os testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis.

5. A quantidade de medicamentos utilizados pelos idosos sugere uma influência na taxa de metabolização do tartarato de metoprolol, visto que os pacientes idosos cardiopatas que utilizavam mais do que 5 medicamentos obtiveram valores maiores de percentis e mediana da razão metoprolol/ α -OH metoprolol em urina do que os idosos que utilizavam até cinco medicamentos concomitantemente.

6. A ingestão de álcool relatada pelos pacientes idosos poderia ter influencia na taxa de metabolização do tartarato de metoprolol, visto que os pacientes idosos cardiopatas que relataram ingerir algum tipo de bebida alcoólica pelo menos uma vez na semana obtiveram valores menores de percentis e mediana da razão metoprolol/ α -OH metoprolol em urina do que os idosos que relataram não ingerir nenhum tipo de bebida alcoólica.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKLILLU, E. PERSSON, I. BERTILSSON, L. JOHANSSON, I., RODRIGUES, F. ILGELMAN-SUNDBERG, M. Frequent distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an ethiopian population carrying duplicated and multiduplicated functional CYP2D6 alleles. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, Baltimore, v. 278, n.1, p. 441-446, 1996.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. RESOLUÇÃO – RE nº 899 – Guia de validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Brasília, 2003.

BATLOUNI, M. Farmacologia e terapêutica cardiovascular no idoso. In: BORGES, J. L. **Manual de Cardiogeriatría**. 2. ed. São Paulo: BBS, 2005, cap. 19, p.219-228.

BENFIELD, P., CLISSOLD, S.P., and BROGDEN, R.N. Metoprolol. An updated review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy, in hypertension, ischaemic heart disease and related cardiovascular disorders. **Drugs**, New York, v. 31, n.5, p. 376-429, 1986.

BENITEZ, J.; LERENA, A.; COBALEDA, J. Debrisoquin oxidation polymorphism in a Spanish population. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, v.44, n.1, p.74-77, 1988.

BERTILSSON, L. Geographical/interracial differences in polymorphic drug oxidation. Current state of knowledge of cytochromes P450 (CYP) 2D6 and 2C19. **Clin. Pharmacokinet.**, New York, v.29, n.3, p. 192-209, 1995.

BERTILSSON, L.; LOU, Y.Q.; DU, Y.L.; LIU, Y.; KUANG, T.Y.; LIAO, X.M.; WANG, K.Y.; REVIRIEGO, J.; ISELIUS, L.; SJÖQVIST, F. Pronounced differences between native Chinese and Swedish populations in the polymorphic hydroxylations of debrisoquin and S-mephenytoin. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, v.51, n.4, p. 388-397, 1992.

BERTZ, R. J.;GRANNEMAN, G. R. Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions. **Clin. Pharmacokinet.**, New York, v. 32, n.3, p. 210-258, 1997.

BORG, K.O.; CARLSSON, E.; HOFFMANN, K.J.; JÖNSSON, T.E.; THORIN, H.; WALLIN, B. Metabolism of metoprolol-(H³) in man, the dog and rat. **Acta. Pharmacol. Toxicol. (Copenh)**, Kobenhavn, v.36, (Supl. V), p.125-135, 1975.

BOZKURT, A.; BASCI, N.E.; ISIMER, A.; SAYAL, A.; KAYAALP, S.O. Polymorphic debrisoquine metabolism in a Turkish population. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, v.55, n.1, p.399-401, 1994.

BROUWER, K. L. R.;DUKES, G. E.;POWELL, J. R. Influence of liver function on drug disposition. In: EVANS, W. E.; SCHENTAG, J. J.; JUSKO, W. J.: **Applied pharmacokinetics: Principles of Therapeutic Drug Monitoring**, 3. ed, Vancouver, W.A: Applied Therapeutics, 1992, cap. 6, p.1-59.

CARNEIRO, G.; FARIA, A.N.; RIBEIRO FILHO, F.F.; GUIMARAES, A.; LERARIO, D.; FERREIRA, S.R.; ZANELLA, M.T. Influência da distribuição da gordura corporal sobre a prevalência de hipertensão arterial e outros fatores de risco cardiovascular em indivíduos obesos. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 49, n.3, p.306-311, 2003.

CATLEDEN, C.M.; GEORGE, C. F. The effect of ageing on the hepatic clearance of propranolol. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, London, v. 7, n.1, p.49-54,1979.

CEDERBAUM, A.I. Iron and CYP2E1-dependent oxidative stress and toxicity. **Alcohol**, Fayetteville, v.30, n.2, p.115-120, 2003.

CERQUEIRA, P.M. **Estereosseletividade no metabolismo do metoprolol em pacientes hipertensos portadores ou não de insuficiência renal crônica**. Ribeirão Preto, 95p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2003.

CERQUEIRA, P.M.; MATEUS, F.H.; CESARINO, E.J.; BONATO, P.S.; LANCHOTE, V.L. Enantioselectivity of debrisoquina 4-hydroxylation in Brazilian Caucasian hipertensive patients phenotyped as extensive metabolizers. **J. Chromatogr. B.**, Amsterdam, v. 749, n.2, p. 153-161, 2000.

CHEN, C.H.; NAKAYAMA, M.; NEVO, E.; FETICS, B.J.; MAUGHAN, W.L.; KASS, D.A. Coupled systolic ventricular and ventricular stiffening with age: Implications for pressure regulation and cardiac reserve in the elderly. **J. Am. Coll. Cardiol.**, New York, v. 32, n.5, p. 1221-1227, 1998.

CROOKS, J.; O'MALLEY, K.; STEVENSON, I.H. Pharmacokinetics in the elderly. **Clin. Pharmacokinet.**, New York, v.1, n.4, p. 280-296, 1976.

CUPP, M.J.; TRACY, T.S. Cytochrome P450: new nomenclature and clinical implications. **Am. Fam. Physician**, Kansas City, v.57, n.1, p. 107-116, 1998.

DAHL, M.-L.; JOHANSSON, I.; BERTLSSON, L. et al. Ultrarapid hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population. Analysis of the molecular genetic basis. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, Baltimore, v. 274, n.1, p.516-520, 1995.

DAVIES, C.H.; FERRARA, N.; HARDING, S.E. Beta-adrenoceptor function changes with age of subject in myocytes from non-failing human ventricle. **Cardiovasc. Res.**, London, v. 31, n.1, p. 152-156, 1996.

DAVIES, S.J.; EAYRS, S.; PRATT, P.; LENNARD, M.S. Potential for drug interactions involving cytochromes P450 2D6 and 3A4 on general adult psychiatric and functional elderly psychiatric wards. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, London, v. 57, n.4, p.464-472, 2004.

DENSON, D.D.; TOLTZIS, R.J.; ERNST, T.F.; YOUNGS, C.H.; THOMAS, R.L.; GRUMMICH, K.W. Rapid estimation of unbound lidocaine clearance in cardiac patients: implications for reducing toxicity. **J. Clin. Pharmacol.**, Stamford, v.28, n.11, p. 995-1000, 1988.

ESTATUTO DO IDOSO. Lei Federal nº10741 de 1º de outubro de 2003. Disponível em <http://www.planalto.gov.br/ccivil/LEIS/2003/L10.741.htm>.

EVANS, W.E. & RELLING, M.V. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. **Science**, New York, v.286, n.5439, p.487-491, 1999.

FRANK, D.; JAEHDE, U.; FUHR, U. Evaluation of probe drugs and pharmacokinetic metrics for CYP2D6 phenotyping. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, Berlin, v. 63, n.4, p.321-333, 2007.

FRANKEN, R. A.; TADDEI, C.F.G. I Diretriz do Grupo de Estudos em Cardiogeriatría da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, Rio de Janeiro, v.79, Supl. I, p. 3-11, 2002.

FRANKLIN, S.S.; GUSTIN, W. ; WONG, N.D.; LARSON, M.G.; WEBER, M.A.; KANNEL, W.B; LEVY, D. Hemodynamic patterns of age-related changes in blood pressure. The Framingham Heart Study. **Circulation**, Dallas, v. 96, n. 1, p.308-315, 1997.

FUX, R.; MÖRIKE, K.; PRÖHMER, A.M.; DELABAR, U.; SCHWAB, M.; SCHAEFFELER, E.; LORENZ, G.; GLEITER, C.H.; EICHELBAUM, M.; KIVISTÖ, K.T. Impact of CYP2D6 genotype on adverse effects during treatment with metoprolol: a prospective clinical study. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, v. 78, n. 4, p. 378-387, 2005.

GESA, S. Hypertension in the elderly. In: **Clinical Cardiology in the Elderly**, 2. ed., New York, Ed. Eliot Chesler, Futura Corporation, 1999, p.503-535.

GODLOVITCH, G. Age discrimination in trials and treatment: old dogs and new tricks. **Monash. Bioeth. Rev.**, Victoria, v.22, n.3, p. 66-77, 2003.

GONZÁLEZ, I.; PÉREZ, B.; ALVAREZ, M.; DORADO, P.; LLERENA, A. Study of debrisoquine hydroxylation polymorphism (CYP2D6) in the Cuban population compared to Spaniards. **Med. Clin. (Barc)**., Barcelona, v.128, n.20, p.772-774, 2007.

GREENBLATT, D. J. Disposition of cardiovascular drugs in the elderly. **Med. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 73, n. 2, p.487-494, 1989.

HANSON, A.; JOHANSSON, B.W.; WERNERSSON, B.; WAHLANDER, L.A. Pharmacokinetics of oral hydralazine in chronic heart failure. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, Berlin, v.25, n.4, p. 467-473, 1983.

HERSH, E.V.; MOORE, P.A. Drug interactions in dentistry: the importance of knowing your CYPs. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.135, n.3, p.298-311, 2004.

HJALMARSON, A.; OLSSON, G.; BONDJERS, G.; DAHLÖF, C.; SANDBERG, A.; ÅBLAD, B.; WIKLUND, I.; WIKSTRAND, J. Cardioselective β -Adrenoreceptor Blockers. In: MESSERLI, F. H. **Cardiovascular Drug Therapy**, 2. ed, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996, cap. 56, p.522-540.

HOFFMAN, B.B.; LEFKOWITZ, R.J. Catecolaminas, drogas simpaticomiméticas e antagonistas dos receptores adrenérgicos. In: GOODMAN & GILMAN. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 9º ed., McGraw-Hill, 1996, cap. 10, p.146-182.

HORAI, Y.; NAKANO, M.; ISHIZAKI, T.; ISHIKAWA, K.; ZHOU, H.H.; ZHOU, B.I.; LIAO, C.L.; ZHANG, L.M. Metoprolol and mephenytoin oxidation polymorphisms in Far Eastern Oriental subjects: Japanese versus mainland Chinese. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, v.46, n.2, p. 198-207, 1989.

HORAI, Y.; TAGA, J.; ISHIZAKI, T.; ISHIKAWA, K. Correlations among the metabolic ratios of three test probes (metoprolol, debrisoquine, and sparteine) for genetically determined oxidation polymorphism in a Japanese population. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, London, v.29, n.1, p.111-115, 1990.

HOSHINO, U.; KAWASAKI, H. Urinary 6 β -hydroxycortisol excretion in patients with alcoholic liver disease. **Res. Commun. Alcohol Sub. Abuse**, Westbury, v.16, n.3, p.115-124, 1995.

HUSTEN, L. Global epidemic of cardiovascular diseases predicted. **Lancet.**, London, v.352, n.9139, p.1530-1542, 1998.

INGELMAN-SUNDBERG, M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. **Trends Pharmacol. Sci.**, Amsterdam, v.25, n.4, p.193-200, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Informações demográfica e socioeconômicas. Síntese de indicadores sociais, 2006. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/indicadoresminimos/sinteseindicadores2006/indic_sociais2006.pdf. Acessado em 15/04/08.

ISMAIL, R.; TEH, L.K., 2006 The relevance of CYP2D6 genetic polymorphism on chronic metoprolol therapy in cardiovascular patients. **J. Clin. Pharm. Ther.**, Oxford, v. 31, n.1, p. 99–109, 2006.

JANICK, P. K. Cytochrome P450 2D6 metabolism and 5-hydroxytryptamine type 3 receptor antagonists for postoperative nausea and vomiting. **Med. Sci. Monit.**, Warsaw, v.11, n.10, p.322-328, 2005.

JOHANSSON, I.; LUNDQVIST, E.; BERTILSSON, L.; DAHL, M-L.; SJÖQVIST, F.; INGELMAN-SUNDBERG, M. Inherited amplification of an active gene in the cytochrome P450CYP2D locus as a cause of ultra rapid metabolism of debrisoquine. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, Washington, v. 90, n.24, p. 11825-11829, 1993.

JONHSON, J.A. & BURLEW, B.S. Metoprolol metabolism via cytochrome P4502D6 in ethnic populations. **Drug Metab. Dispos.**, Bethesda, v. 24, n.3, p.350-355, 1996.

KARNES, H. T.; SHIU, G.; SHAH, V. P. Validation of bioanalytical methods. **Pharm. Res.**, Stuttgart, v. 8, n. 4, p. 421-426. 1991.

KIM, K.; JOHNSON, J.A.; DERENDORF, H. Differences in drug pharmacokinetics between East Asians and Caucasians and the role of genetic polymorphisms. **J. Clin. Pharmacol.**, Stamford, v.44, n.10, p. 1083-1105, 2004.

KIRCHHEINER, J.; HEESCH, C.; BAUER, S.; MEISEL, C.; SERINGER, A.; GOLDAMMER, M.; TZVETKOV, M.; MEINEKE, I.; ROOTS, I.; BROCKMÖLLER, J. Impact of the ultrarapid metabolizer genotype of cytochrome P450 2D6 on metoprolol pharmacokinetics and pharmacodynamics. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, v. 76, n.4, p.302-312, 2004.

KIRCHHEINER, J.; NICKCHEN, K.; BAUER, M.; WONG, M. L.; LICINIO, J.; ROOTS, I.; BROCKMOLLER, J. Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. **Mol. Psychiatry**, Houndmills, v. 9, n.5, p. 442-473, 2004.

LAKATTA, E.G. Cardiovascular regulatory mechanisms in advanced age. **Physiol. Rev.**, Washington, v.73, n.2, p. 413-467, 1993.

LEEMANN, T.D.; DEVI, K.P.; DAYER, P. Similar effect of oxidation deficiency (debrisoquine polymorphism) and quinidine on the apparent volume of distribution of (+/-)-metoprolol. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, Berlin, v.45, n.1, p. 65-71, 1993.

LENNARD, M.S.; SILAS, J.H.; FREESTONE, S.; RAMSAY, L.E.; TUCKER, G.T.; WOODS, H.F. Oxidation phenotype: a major determinant of metoprolol metabolism and response. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 307, n.25, p. 1558-1560, 1982.

LI, Q.; WANG, R.. Simultaneous analysis of tramadol, metoprolol and their metabolites in human plasma and urine by high performance liquid chromatography. **Chin. Med. J.**, Peking, v.119, n.23, p.2013-2017, 2006.

LIDDLE, C.; GOODWIN, B.J.; GEORGE, J.; TAPNER, M.; FARRELL, G.C. Separate and interactive regulation of cytochrome P450 3A4 by triiodothyronine, dexamethasone, and growth hormone in cultured hepatocytes. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Springfield, v.83, n.7, p.2411-2416, 1998.

LIE, J.T.; HAMMOND, P.I. Pathology of the senescent heart: anatomic observations on 237 autopsy studies of patients 90 to 105 years old. **Mayo Clin. Proc.**, Rochester, v.63, n.6, p.552-564, 1988.

LOTUFO P.A. Epidemiologia da Hipertensão Arterial Sistêmica no Brasil. In: **SOCESP II - Cardiologia: Atualização e Reciclagem**. São Paulo: Atheneu, 1996, p. 327-331.

LYNCH, T.; PRICE, A. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. **Am. Fam. Physician.**, Kansas City, v.76, n.3, p.391-396, 2007.

MAHGOUB, A.; IDLE, J.R.; DRING, L.G.; LANCASTER, R.; SMITH, R.L. Polymorphic hydroxylation of Debrisoquine in man. **Lancet**, London, v.2, n.8038, p.584-586, 1977.

MARINAC, J.S.; FOXWORTH, J.W.; WILLSIE, S.K. Dextromethorphan polymorphic hepatic oxidation (CYP2D6) in healthy black American adult subjects. **Ther. Drug Monit.**, New York, v.17, n.2, p.120-124, 1995.

MCGOURTY, J.C.; SILAS, J.H.; LENNARD, M.S.; TUCKER, G.T.; WOODS, H.F. Metoprolol metabolism and debrisoquine oxidation polymorphism: population and family studies. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, London, v.20, n.6, p.555-566, 1985.

MEHTA, R. H.; RATHORE, S.S.; RADFORD, M.J.; WANG, Y.; KRUMHOLZ, H.M. Acute myocardial infarction in the elderly: differences by age. **J. Am. Coll. Cardiol.**, New York, v.38, n.3, p.736-741, 2001.

MELLO, A. C. de. Biotransformações das Drogas. In: SILVA, P. **Farmacologia**. 5.ed., Rio de Janeiro, RJ, Guanabara Koogan, 1998, cap. 10, p . 51-52.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1995. **Estatísticas de Mortalidade**: Brasil, Brasília.

MINISTERIO DA SAÚDE, 1997. **Óbitos por residência segundo a causa para todo o território brasileiro**, Brasília.

MURTHY, S.S.; SHETTY,H.U.; NELSON, W.L., JACKSON, P.R.; LENNARD, M.S. Enantioselective and diastereoselective aspects of the oxidative metabolism of metoprolol . **Biochem. Pharmacol.**, Oxford ,v. 40, n.7, p.1637-1644, 1990.

NIEMELÄ O, PARKKILA S, PASANEN M, IIMURO Y, BRADFORD B, THURMAN RG. Early alcoholic liver injury: formation of protein adducts with acetaldehyde and lipid peroxidation products, and expression of CYP2E1 and CYP3A. **Alcohol Clin. Exp. Res.**, New York, v.22, n.9, p.2118-2124, 1998.

NISKANEN, L.; LAAKSONEN, D.E.; NYSSONEN, K.; PUNNONEN, K.; VALKONEN, V.P.; FUENTES, R.; TUOMAINEN, T.P.; SALONEN, R.; SALONEN, J.T. Inflammation, abdominal obesity, and smoking as predictors of hipertensión. **Hypertension**, Dallas, v.44, n.6, p.859-865, 2004.

OINONEN, T.; LINDROS, K.O. Zonation of hepatic cytochrome P-450 expression and regulation. **Biochem. J.**, London, v. 329, n.1, p.17-35, 1998.

OTTON, S.V.; CREWE, H.K.;LENNARD, M.S.; TUCKER, G.T.; WOODS, H.F. Use of quinidine inhibition to define the role of the sparteine/debrisoquine cytochrome P450 in metoprolol oxidation by human liver microsomes. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, Baltimore, v. 247, n.1, p.242-247, 1988.

PECOITS-FILHO, R. Diagnóstico de Doença Renal Crônica: Avaliação da Função Renal. In: ABENSUR, H. et al. Guia prático para condução da Doença Renal Crônica baseado nas Diretrizes Brasileiras de Doença Renal Crônica da Sociedade Brasileira de Nefrologia. **J. Bras. Nefro.**, São Paulo, 2004, p.15-16.

PFEIFER, M. A.; WEINBERG, C.R.; COOK, D.; BEST, J.D.; REENAN, A.; HALTER, J.B. Differential changes of autonomic nervous system function with age in man. **Am. J. Med.**, New York, 75, n.2, p.249-258, 1983.

PHILLIPS, K.A.; VEENSTRA, D.L.; OREN, E.; LEE, J.K.; SADEE, W. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. **JAMA**, Chicago, v. 286, n.18, p.2270-2279, 2001.

PORTO, C. C.; COSTA, E. F. A. Envelhecimento do sistema cardiovascular. In:_____. **Doenças do coração. Prevenção e tratamento**, Rio de Janeiro. RJ, Guanabara Koogan, 1998, cap 222, p. 1049-1054.

PRESCOTT, L.F.; ADJEPON-YAMOA, K.K.; TALBOT, R.G. Impaired lignocaine metabolism in patients with myocardial infarction and cardiac failure. **Br. Med. J.**, London, v. 1, n.6015, p. 939-941, 1976.

PSATY, B.M.; LUMLEY, T.; FURBERG, C.D.; SCHELLENBAUM, G.; PAHOR, M.; ALDERMAN, M.H.; WEISS, N.S. Health outcomes associated with various antihypertensive therapies used as first-line agents: a network meta-analysis. **JAMA**, Chicago v.289, n.19, p. 2534-44, 2003.

RAMOS, L. R. O país do futuro não pensa no futuro. **Gerontologia**, São Paulo, v.3, n. 1, p. 52-54, 1995.

RAMOS, L. R.; SANTOS, F.R.G.; SCHOUERI, R.; CENDOROGLIO, M.S.; MARTINEZ, T. L. R. Doenças cardiovasculares no idoso: implicações clínicas dos dados epidemiológicos. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, São Paulo, v.1, n.3, p.6-11, 1992.

RAU, T.; WOHLLEBEN, G.; WUTTKE, H.; THUERAU, N.; LUNKENHEIMER, J.; LANCZIK, M.; ESCHENHAGEN, T. CYP2D6 genotype: impact on adverse effects and nonresponse during treatment with antidepressants-a pilot study. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, v.75, n.5, p.386-393, 2004.

RAU, T.; WUTTKE, H.; MICHELS, L.; WERNER, U.; BERGMANN, K.; KREFT, M.; FROMM, M.; ESCHENHAGEN, T. Impact of the CYP2D6 Genotype on the Clinical Effects of Metoprolol: A Prospective Longitudinal Study. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, 2008.

REGARDH, C.G.; JOHNSON, G. Clinical pharmacokinetics of metoprolol. **Clin. Pharmacokinet.**, New York, v.5, n.6, p.557-569, 1980.

SAVIOLI NETO, F.; MAGALHÃES, H, M. Envelhecimento e o sistema cardiovascular. In: BORGES, J. L. **Manual de Cardiogeriatría**. 2. ed. São Paulo: BBS, 2005, cap. 1, p. 17-20.

SILVA, A.P.; NEVES, J.; BICHO, M.C.; BICHO, M.P. Significance of family assessment and biological markers in the prevention of arterial hypertension. **Rev. Port. Cardiol.**, Lisboa, v.17, n.4, p.345-351, 1998.

SILVESTRE, J.A.; KALACHE, A.; RAMOS, L.R.; VERAS, R.P. O envelhecimento populacional brasileiro e o setor da saúde. **Arq. Geriatr. Gerontol.**, v.0, n.1, p. 81-89, 1996.

SINDHU, R.K.; KOO, J.R.; SINDHU, K.K.; EHDAIE, A.; FARMAND, F.; ROBERTS, C.K. Differential regulation of hepatic cytochrome P450 monooxygenases in streptozotocin-induced diabetic rats. **Free Radic. Res.**, London, v.40, n.9, p.921-928, 2006.

SINDRUP, S.H.; BROSEN, K.; GRAM, L.F. Pharmacokinetics of the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine: nonlinearity and relation to the sparteine oxidation polymorphism. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, v. 51, n.3, p.288-295, 1992.

SITAR, D. S. Fatores que influenciam a ação das drogas. In: PAGE, C. P.; CURTIS, M.J.; SUTTER, M.C.; WALKER, M.J.A.; HOFFMAN, B.B. **Farmacologia Integrada**. São Paulo, SP, Manole, 1999, cap.5. p. 72-73.

SLAUGHTER, R.L.; EDWARDS, D.J. Recent advances the cytochrome P450 enzymes. **Ann. Pharmacother.**, Cincinnati, v.29, n.6, p.619-24, 1995.

SOHN, D.R.; KUSAKA, M.; SHIN, S.G.; JANG, I.J.; CHIBA, K.; ISHIZAKI, T. Utility of a one-point (3-hour postdose) plasma metabolic ratio as a phenotypic test using metoprolol in two east asian populations. **Ther. Drug Monit.**, New York, v.14, n.3, p.184-189, 1992.

SOHN, D.R.; SHIN, S.G.; PARK, C.W.; KUSAKA, M.; CHIBA, K.; ISHIZAKI, T. Metoprolol oxidation polymorphism in a Korean populations: comparison with native Japanese and Chinese population. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, London, v. 32, n.4, p. 504-507, 1991.

SPINA, E.; CAMPO, G.M.; AVENOSO, A.; CAPUTI, A.P.; ZUCCARO, P.; PACIFICI, R.; GATTI, G.; STRADA, G.; BARTOLI, A.; PERUCCA, E. CYP2D6-related oxidation polymorphism in Italy. **Pharmacol. Res.**, London, v.29, n.3, p.281-289, 1994.

STREETMEN, D.S.; BERTINO, J.S.Jr.; NAFZIGER, A.N. Phenotyping of drug-metabolizing enzymes in adults: a review of in-vivo cytochrome P450 phenotyping probes. **Pharmacogenetics**, London, v. 10, n.3, p. 187-216, 2000.

TADDEI, C. F. G.; RAMOS, L. R.; MORAES, J. C.; WAJNGARTEN, M.; LIBBERMAN, A.; SANTOS, S. C.; SAVIOLI, F.; DIOGUARDI, G.; FRANKEN, R. Estudo multicêntrico de idosos atendidos em ambulatórios de cardiologia e geriatria de instituições brasileiras. **Arq. Bras. Cardiol.**, Rio de Janeiro, v.69, n. 5, p. 327-33, 1997.

The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. **JAMA**, Chicago, v. 289, n. 19, p.2560-2572, 2003.

TOUW, D.J. Clinical implications of genetic polymorphisms and drug interactions mediated by cytochrome P-450 enzymes. **Drug Metabol. Drug Interact.**, London, v.14, n.2, p.55-82, 1997.

TRIGGS, E.J.; NATION, A.L.; LONG, A.; ASHLEY, J.J. Pharmacokinetics in the elderly. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, Berlin, v. 8, n.1, p.55-62, 1975.

TU, Z.G.; ZHAO, L.L. Metoprolol alpha-hydroxylation capacity in 96 Chinese Han volunteers. **Zhongguo Yao Li Xue Bao**, Shanghai, v.16, n.4, p.325-329, 1995.

TUCKER, G.T.; SILAS, J.H.; IYUN, A.O.; LENNARD, M.S.; SMITH, A.J. Polymorphic hidroxilation of debrisoquine. **Lancet**, London, v.2, n. 8040, p.718, 1977.

UNITED NATIONS POPULATION DIVISION. World Population Prospects. The 1998 revision. The sex and age distribution of the world population. **United Nations**, New York, v.2, p. 883, 1999.

VAITKEVICIUS, P.V.; FLEG, J.L.; ENGEL, J.H.; O'CONNOR, F.C.; WRIGHT, J.G.; LAKATTA, L.E.; YIN, F.C.; LAKATTA, E.G. Effects of age and aerobic capacity on arterial stiffness in healthy adults. **Circulation**, Dallas, v.88, n.4, p. 1456-1462, 1993.

VERDECCHIA, P.; SCHILLACI, G.; BORGIONI, C.; CIUCCI, A.; GATTOBIGIO, R.; ZAMPI, I.; REBOLDI, G.; PORCELLATI, C. Prognostic significance of serial changes in left ventricular mass in essential hypertension. **Circulation**, Dallas, v.97, n.1, p.48-54, 1998.

VESTAL, R. E. Drug use in the elderly: a review of problems and special considerations. **Drugs**, New York, v.16, n.4, p. 358-382, 1978.

WALLACE, S.; WHITING, B. Factors affecting drug binding in plasma of elderly patients. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, London, v.3, n.2, p.327-330, 1976.

WEI, J.Y. Age and the cardiovascular system. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.327, n.24, p. 1735-1739, 1992.

WILKINSON, G.R. Drug metabolism and variability among patients in drug response. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.352, n.21, p. 2211-2221, 2005.

WILLIAMSON, J.; CHOPIN, J.M. Adverse reactions to prescribed drugs in the elderly: a multicentre investigation. **Age Ageing**, London, v.9, n.2, p.73-80, 1980.

WOLF, K.K.; WOOD, S.G.; ALLARD, J.L.; HUNT, J.A.; GORMAN, N.; WALTON-STRONG, B.W.; SZAKACS, J.G.; DUAN, S.X.; HAO, Q.; COURT, M.H.; VON MOLTKE, L.L.; GREENBLATT, D.J.; KOSTRUBSKY, V.; JEFFERY, E.H.; WRIGHTON, S.A.; GONZALEZ, F.J.; SINCLAIR, P.R.; SINCLAIR, J.F. Role of CYP3A and CYP2E1 in alcohol-mediated increases in acetaminophen hepatotoxicity: comparison of wild-type and Cyp2e1(-/-) mice. **Drug Metab. Dispos.**, Baltimore, v.35, n.7, p.1223-1231, 2007.

World Health Organization. 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension. Guidelines Subcommittee. **J. Hypertens.**, London, v. 17, n.2, p.151-183, 1999.

World Health Organization. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. **World Health Organ. Tech. Rep. Ser.**, Geneva, v. 894, n. 1-12, p.1-253, 2000.

WUTTKE, H.; RAU, T.; HEIDE, R.; BERGMANN, K.; BOHM, M.; WEIL, J.; WERNER, D.; ESCHENHAGEN, T. Increased frequency of cytochrome P450 2D6 poor metabolizers among patients with metoprolol-associated adverse effects. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, v.72, n.4, p. 429-437, 2002.

YU, C.M.; SANDERSON, J.E. Right and left ventricular diastolic function in patients with and without heart failure: effect of age, sex, heart rate, and respiration on Doppler-derived measurements. **Am. Heart. J.**, St. Louis, v.134, n.3, p. 426-434, 1997.

ZANGER, U.M.; RAIMUNDO, S.; EICHELBAUM, M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, Berlin, v.369, n.1, p. 23-37, 2004.

ANEXOS

ANEXO 1**PESQUISA CIENTÍFICA
TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO**

NOME DO PACIENTE :..... IDADE:.....
RESPONSÁVEL LEGAL, SE FOR O CASO:.....
REGISTRO E/OU DOCUMENTO DE IDENTIFICAÇÃO:.....

TÍTULO DO PROJETO: Fenotipagem do CYP2D6 em idosos cardiopatas classificados como metabolizadores extensivos ou lentos do metoprolol.

RESPONSÁVEL CLÍNICO PELO PROJETO: Prof. Dr. Evandro José Cesarino

Coordenador do Projeto: Prof. Dr. Evandro José Cesarino

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Declaro que em/...../..... concordei voluntariamente em participar, como paciente do projeto de pesquisa acima referido. Fui devidamente informado em detalhes pelo médico responsável que:

- 1- O estudo implica em que eu me submeto a procedimentos, exames complementares e tratamentos devidamente planejados, cujos eventuais riscos me foram explicados.
- 2- Não sou obrigado a continuar participando do projeto e posso, a qualquer momento sair do mesmo.
- 3- Os procedimentos não incluem, necessariamente, os já reconhecidos como aplicáveis em casos como o meu e podem visar à avaliação de tratamentos novos ou a compará-los com os tradicionais.
- 4- A pesquisa não será feita se houver, relacionados à mesma, grandes riscos para mim. Da mesma forma, caso algum risco proibitivo venha a se revelar no decurso do estudo, o pesquisador se compromete a me alertar sobre o fato e a suspender de imediato minha participação como paciente.
- 5- O objetivo deste trabalho é avaliar de que forma os medicamentos são eliminados pelo organismo, seja de maneira lenta ou rápida, no intuito de tentar explicar a maior ocorrência de efeitos colaterais dos mesmos em diferentes pacientes.
- 6- Necessitamos colher amostras de urina para avaliar a eliminação do medicamento e amostras de sangue para avaliar se as funções do rim e fígado do seu organismo estão funcionando corretamente. Estas colheitas das amostras serão realizadas pelo investigador principal do projeto.

“Fornecerei informações pessoais sobre a minha idade, se sou fumante ou não, se tenho algum problema de coração na família, se consumo bebidas alcoólicas, se faço uso de algum remédio para o coração ou pressão arterial e se faço tratamento de alguma doença.

Será medida minha pressão arterial num dos meus braços, após descansar por alguns minutos na posição sentada e com a bexiga vazia.

Também serei pesado e medida a minha altura para cálculo do Índice de Massa Corpórea.

Serei orientado a ficar em jejum por 12 hs num dia previamente estabelecido, conforme a minha disponibilidade. Neste dia, será colocado um garrote (borrachinha) no meu braço, que ficará apertado por alguns minutos, para verificar a veia mais fácil de ser puncionada pelo investigador principal ou por um técnico adequadamente treinado. Serão retirados aproximadamente 10 ml de sangue para análise do funcionamento dos rins e do fígado.

Depois de confirmado a normalidade da função do meu fígado e rins, serei orientado a esvaziar a bexiga, indo ao banheiro e depois será fornecido um comprimido de um remédio que diminui o número de batidas do coração e a pressão arterial para que eu tome com um pouco de água e serei orientado a urinar, toda vez que tiver vontade, dentro de um frasco, durante oito horas depois de ter tomado este remédio.

Estes serão os únicos incômodos sofridos por mim nesta pesquisa.”

- 7- A sua colaboração permitirá entender como são metabolizados os medicamentos consumidos.
- 8- Terei a garantia de ser informado a respeito de quaisquer perguntas, esclarecimentos e/ou dúvidas acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados a pesquisa e ao tratamento que serei submetido.
- 9- Haverá o compromisso de proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade de continuar participando.
- 10- Os exames laboratoriais a serem realizados são os seguintes: potássio, hemograma, uréia, creatinina, urina I, TGO, TGP, γ GT, fosfatase alcalina, bilirrubina total e frações e proteínas totais e frações.
- 11- Caso estes exames laboratoriais revelarem resultados que levem a identificação de doenças ou anormalidades até então não diagnosticadas, os pacientes serão informados a este respeito, e encaminhados para fazerem o tratamento adequado para sua doença junto ao especialista da área.

OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:.....

Ribeirão Preto,.....de.....de 2008

Assinatura do paciente ou seu responsável

Assinatura do médico que obteve o
consentimento (carimbo ou nome legível)
Prof. Dr. Evandro José Cesarino

TESTEMUNHAS NÃO LIGADAS À PESQUISA

1-.....
ASSINATURA

.....
IDENTIFICAÇÃO

2-.....
ASSINATURA

.....
IDENTIFICAÇÃO

ANEXO 2

Comitê de Ética em Pesquisa

Av. do Café, s/nº - Fone: (0xx16) 3602.4213 - Fax: (0xx16) 3602-4877
14040-903 - Ribeirão Preto - SP - Brasil
e-mail: cep@fcrfp.usp.br

Of. CEP 46/2007 - FCFRP/USP
rlq

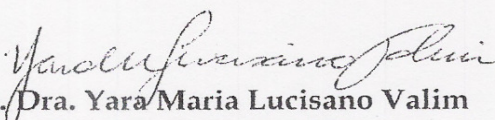
Ribeirão Preto, 1º de agosto de 2007.

Prezado Senhor,

Informamos que o projeto de pesquisa intitulado "*Identificação de pacientes idosos cardiopatas fenotipados com mebatolizadores extensivos ou lentos do metoprolol em seguimento numa unidade pública de saúde de Ribeirão Preto - SP*", apresentado por Vossa Senhoria a este Comitê, Protocolo CEP/FCFRP nº 91, foi analisado na 59ª reunião deste CEP, realizada no dia 1º de agosto de 2007 e considerado aprovado.

Em atendimento à Resolução 196/96 deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa e a publicação de seu resultado, para acompanhamento, bem como comunicada qualquer intercorrência ou interrupção do mesmo.

Atenciosamente,


Prof.^a **Dra. Yara Maria Lucisano Valim**
Coordenadora do CEP
FCFRP - USP

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. EVANDRO JOSÉ CESARINO
Depto. de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromtológicas
FCFRP - USP