UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Estela Hanauer Schaab

**Interação lercanidipina-carvedilol: estereosseletividade e
influência da doença renal crônica em pacientes
hipertensos**

Ribeirão Preto
2012

Estela Hanauer Schaab

**Interação lercanidipina-carvedilol: estereosseletividade e
influência da doença renal crônica em pacientes
hipertensos**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Toxicologia

Orientadora: Prof. Dra. Vera Lucia Lanchote

**Ribeirão Preto
2012**

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.

Schaab, Estela Hanauer

Interação lercanidipina-carvedilol: estereosseletividade e influência da doença renal crônica em pacientes hipertensos. Ribeirão Preto, 2012.

117p. il.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Toxicologia.

Orientadora: Lanchote, Vera Lucia

1. Carvedilol.
2. Lercanidipina.
3. Farmacocinética.
4. Hipertensão.
5. Doença renal crônica.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Estela Hanauer Schaab

Interação lercanidipina-carvedilol:estereosseletividade e influência da doença renal crônica em pacientes hipertensos.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Toxicologia

Orientada: Estela Hanauer Schaab

Orientadora: Prof. Dra. Vera Lucia Lanchote

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

À meu pai Ernani,
Por todo amor, carinho, dedicação, tempo e
esforço dedicados a mim e a minha formação

À minha mãe Maria Estela
Pelo amor incondicional, e por estar ao meu
lado em todos os momentos, acreditar em mim e
nos meus sonhos

À meu irmão Felipe
Pelo companheirismo e amizade de sempre

Agradecimentos

A minha orientadora Prof. Dra. Vera Lucia Lanchote, pela oportunidade de me receber em seu laboratório, por acreditar em mim e no meu trabalho, pelos ensinamentos, apoio, dedicação e paciência durante estes 4 anos.

As minhas queridas amigas Carolina Pinto, Joice Costa, Luciana Santello, Maira Dalé, Talita Martins e Thalita Zanoni, por estarem ao meu lado em todos os momentos, e me darem força para seguir em frente.

Aos pacientes com doença renal crônica e aos pacientes hipertensos que aceitaram participar deste estudo de três fases e 32 horas de internação em cada fase. Muito obrigada por confiarem em mim e por cederem seu tempo precioso na condução da pesquisa. Sem vocês este trabalho jamais seria possível.

Ao Corpo Clínico do Ambulatório de Nefrologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto-USP, pela valiosa ajuda na seleção de pacientes com doença renal crônica.

Ao Corpo Clínico do Ambulatório de Hipertensão do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto-USP pela contribuição na seleção de pacientes hipertensos.

Ao Dr. Carlos Eduardo Paiva, pelo auxílio nas consultas, internações e seleção de pacientes.

Aos funcionários da Unidade de Pesquisa Clínica do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, por todo o cuidado e carinho que sempre tiveram com os pacientes, pelo sorriso, pelos dias e noites de dedicação, sempre com muita responsabilidade e profissionalismo.

A Juliana Abumansur e Diego Cusinato pelo auxílio na genotipagem dos pacientes.

Aos funcionários Dra. Maria Paula Marques, Dra. Adriana Rocha e Eduardo Tozatto pela ajuda valiosa, ensinamentos e amizade.

Ao funcionário Natalino Bocado, pela paciência, amizade e carinho.

Ao grupo de pesquisa do laboratório de farmacocinética e metabolismo: Dra. Ana Leonor Godoy, Dra. Natália Valadares de Moraes, Dra. Carolina de Miranda, Dra. Teresa Carvalho, Dra. Flávia Garcez, Dra. Josiane Poggi, Ms. Carolina Pinto, Ms. Daniel Neves, Ms. Francine Attié de Castro, Ms. Glauco Nardotto, Ms. Juciane Cardoso, Ms. Leonardo Pinto, Ms. Natalícia Antunes, Otávio Rocha e Rodrigo Metzker, pela amizade, troca de experiências, conselhos e companheirismo.

A Prof. Dra. Sandy K. Pang da University of Toronto, pela oportunidade de estágio em seu laboratório, e aos meus queridos colegas Dr. Edwin Chow, Dr. Luqin Si, Matthew Durk, Holly Quach, Shivani Chaudhary, Daniel Ting e Tamara Dzekic, por me receberem bem, pela paciência, companheirismo e amizade.

A todos os funcionários da Sessão de Pós-graduação, em especial Rosana Florêncio, Ana Lúcia Turatti e Rosemary Ioshimine Gerolineto pela orientação, competência e paciência.

Ao Senhor Antonio, Clóvis e a todos os funcionários que cuidam da nossa segurança na FCFRP-USP.

A Dona Evanira, pelo sorriso, carinho e cafezinho gostoso de cada dia.

A FAPESP, pela concessão de Bolsa de Doutorado e pelo apoio financeiro para realização desta pesquisa.

A todas as pessoas que não foram citadas aqui e que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, muito obrigada.

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais
voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

RESUMO

SCHAAB, E.H. **Interação lercanidipina-carvedilol: estereosseletividade e influência da doença renal crônica em pacientes hipertensos**. 2012. 117f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

A doença renal crônica (DRC) está associada com inibição da atividade de sistemas enzimáticos e de transportadores de fármacos. O carvedilol, um β -bloqueador não seletivo é substrato e inibidor da P-gp intestinal. A lercanidipina, antagonista de canais de cálcio é metabolizada pelo CYP3A4, sendo descrita como provável inibidora da P-gp. O presente estudo avalia a interação carvedilol-lercanidipina em pacientes hipertensos portadores ou não de DRC. Foram investigados 8 pacientes hipertensos portadores de DRC estágios 3 e 4 e 8 pacientes hipertensos com função renal normal, fenotipados para o CYP2D6 e CYP3A, e genotipados para o CYP2C9 e P-gp. Os pacientes receberam dose única oral de 25 mg de carvedilol racêmico (Fase 1) ou 20 mg de lercanidipina racêmica (Fase 2) ou dose única oral de 25 mg de carvedilol racêmico associada com 20mg de lercanidipina racêmica (Fase 3). As amostras seriadas de sangue foram coletadas até 32h. A frequência cardíaca foi avaliada na situação de exercício isométrico durante 2 min com o *handgrip*, a 30% da contratilidade voluntária máxima, em cada tempo de colheita de sangue. As concentrações plasmáticas dos enantiômeros do carvedilol e da lercanidipina foram realizadas por LC-MS/MS. A farmacocinética do carvedilol, como monoterapia ou em associação com a lercanidipina, é enantiosseletiva no GRUPO DRC com acúmulo plasmático do enantiômero (+)-(R)-carvedilol. A administração de dose única oral de 20 mg de lercanidipina racêmica ao GRUPO DRC reduziu o *clearance* total aparente e aumentou a AUC somente para o enantiômero (+)-(R)-carvedilol. O GRUPO CONTROLE também apresentou acúmulo plasmático do enantiômero (+)-(R)-carvedilol. No entanto, a administração de dose única oral de 20 mg de lercanidipina racêmica não alterou a farmacocinética de ambos os enantiômeros do carvedilol no GRUPO CONTROLE. A comparação do GRUPO DRC com o GRUPO CONTROLE, na monoterapia ou em associação com lercanidipina, mostra que a DRC não altera a farmacocinética de ambos os enantiômeros do carvedilol. A relação PK-PD não mostra diferenças com significância estatística entre as Fases 1 e 3, tanto para o grupo DRC quanto para o grupo CONTROLE. No entanto, a comparação do GRUPO DRC com o GRUPO CONTROLE permite observar maiores valores de *EC₅₀* nos pacientes do GRUPO DRC na Fase 3. A administração de dose única oral de 20 mg de lercanidipina, sob monoterapia ou em associação ao carvedilol, aos GRUPOS DRC e CONTROLE não mostra enantiosseletividade no parâmetro AUC. A administração de dose única oral de 25 mg de carvedilol racêmico reduziu de maneira enantiosseletiva o *clearance* total da (S)-lercanidipina no GRUPO DRC, mas não no CONTROLE. A comparação do GRUPO DRC com o CONTROLE não mostra diferenças com significância estatística nos parâmetros farmacocinéticos de ambos os enantiômeros da lercanidipina nas Fases 2 e 3. Concluindo, o carvedilol reduziu o *clearance* total aparente do eutômero (S)-lercanidipina e a lercanidipina reduziu o *clearance* total aparente do enantiômero (+)-(R)-carvedilol nos pacientes do Gupo DRC, mas não nos pacientes do GRUPO CONTROLE. Os dados permitem sugerir enantiosseletividade na atividade da P-gp e sugerir que a DRC estágios 3 e 4 não altera a farmacocinética do carvedilol e da lercanidipina em pacientes hipertensos fenotipados como metabolizadores rápidos do CYP2D6 e com atividade normal do CYP3A. No entanto, os maiores valores de *EC₅₀* nos pacientes do GRUPO DRC na Fase 3 sugerem uma menor potência do (-)-(S)-carvedilol na inibição da atividade simpática.

Palavras-chave: carvedilol, lercanidipina, farmacocinética, hipertensão, doença renal crônica.

ABSTRACT

SCHAAB, E.H. **Carvedilol-lercanidipine interaction: stereoselectivity and influence of chronic kidney disease in hypertensive patients**. 2012. 117f. Doctoral Thesis. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

Chronic kidney disease (CKD) is associated with inhibition of enzyme systems and drug transporters. Carvedilol, a nonselective β -blocker, is a substrate and inhibitor of intestinal P-gp. Lercanidipine, a calcium channel antagonist, is metabolized by CYP3A4, which is described as a probable inhibitor of P-gp. The present study evaluates the carvedilol-lercanidipine interaction in hypertensive patients, with or without CKD. We investigated 8 hypertensive patients with CKD stages 3 and 4 and 8 hypertensive patients with normal renal function, phenotyped for CYP2D6 and CYP3A, and genotyped for CYP2C9 and P-gp. Patients received a single oral dose of 25 mg of racemic carvedilol (Phase 1), or 20 mg of racemic lercanidipine (Phase 2), or a single oral dose of 25 mg of racemic carvedilol associated with 20 mg of racemic lercanidipine (Phase 3). Serial blood samples were collected up to 32h. Heart rate was assessed in the situation of isometric exercise for 2 min with handgrip at 30% of maximal voluntary contractility, in each blood collection time. Plasma concentrations of the enantiomers of carvedilol and lercanidipine were performed by LC-MS/MS. The pharmacokinetics of carvedilol, alone or in combination with lercanidipine in the CKD group, is enantioselective with plasma accumulation of the enantiomer (+)-(R)-carvedilol. The administration of a single oral dose of 20 mg of racemic lercanidipine reduced the total apparent clearance and increased the AUC for the enantiomer (+)-(R)-carvedilol on CKD group. The CONTROL group also presented plasma accumulation of the enantiomer (+)-(R)-carvedilol. However, the administration of single oral dose of 20 mg of racemic lercanidipine does not alter the pharmacokinetics of the enantiomers of carvedilol in CONTROL group. The comparison between the CONTROL group with the CKD group, in monotherapy or in combination with lercanidipine, shows that CKD does not alter the pharmacokinetics of both enantiomers of carvedilol. The PK-PD modeling shows no statistically significant differences between Phases 1 and 3 in any group. However, comparing the CKD group with the CONTROL group, higher values of EC₅₀ were observed in the patients of CKD group in Phase 3. The administration of a single oral dose of 20 mg of racemic lercanidipine, in monotherapy or in combination with carvedilol to the CONTROL and CKD group does not show enantioselectivity in the parameter AUC. Administration of a single oral dose of 25 mg of racemic carvedilol reduced the total apparent clearance and increased the AUC for the enantiomer (S)-lercanidipine on CKD group, but not in CONTROL group. The comparison between the CKD group with the CONTROL group does not show statistically significant differences in pharmacokinetic parameters of both enantiomers of lercanidipine in Phases 2 and 3. In conclusion, carvedilol reduced the apparent total clearance of the eutomer (S)-lercanidipine and lercanidipine reduced the apparent total clearance of the enantiomer (+)-(R)-carvedilol in the patients of CKD group, but not in the patients of CONTROL group. The findings suggest enantioselectivity in the activity of P-gp, and that CKD stages 3 and 4 does not alter the pharmacokinetics of carvedilol and lercanidipine in hypertensive patients phenotyped as extensive metabolizers of CYP2D6 and with normal CYP3A activity. However, the highest values of EC₅₀ in patients of CKD group in the Phase 3 suggest a lower potency of (-)-(S)-carvedilol in the inhibition of sympathetic activity in these patients.

Key-words: carvedilol, lercanidipine, pharmacokinetics, hypertension, chronic renal failure.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Metabolismo do carvedilol; *centro quiral (OLDHAM; CLARKE, 1997).	21
Figura 2-	Metabolismo da lercanidipina (BARCHIELLI <i>et al.</i> , 1997).....	25
Figura 3-	Gráfico do tamanho da amostra em relação ao poder de teste.	30
Figura 4-	Ultrafiltração do plasma humano. Antes da ultrafiltração, o fármaco encontra-se parcialmente livre no plasma e parcialmente ligado às proteínas plasmáticas (A). O fármaco livre atravessa a membrana junto com o solvente (plasma). Sua concentração no ultrafiltrado é a mesma da amostra acima da membrana (B) (Millipore Corporation 2010 e 2011).....	35
Figura 5-	Curvas concentração plasmática <i>versus</i> tempo dos enantiômeros do carvedilol nos pacientes do GRUPO DRC (n=8) tratados com dose única oral de 25 mg de carvedilol racêmico, em regime de monoterapia ou em associação com dose única oral de 20 mg de lercanidipina racêmica. Dados apresentados como média $\pm$ EPM.....	46
Figura 6-	Curvas concentração plasmática <i>versus</i> tempo dos enantiômeros do carvedilol nos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8) tratados com dose única oral de 25 mg de carvedilol racêmico, em regime de monoterapia ou em associação com dose única oral de 20 mg de lercanidipina racêmica. Dados apresentados como média $\pm$ EPM.....	49
Figura 7-	Curvas concentração plasmática <i>versus</i> tempo dos enantiômeros da lercanidipina nos pacientes do GRUPO DRC (n=8) tratados com dose única oral de 20 mg de lercanidipina racêmica, em regime de monoterapia ou em associação com dose única oral de 25 mg de carvedilol racêmico. Dados apresentados como média $\pm$ EPM.....	58
Figura 8-	Curvas concentração plasmática <i>versus</i> tempo dos enantiômeros da lercanidipina nos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8) tratados com dose única oral de 20 mg de lercanidipina racêmica, em regime de monoterapia ou em associação com dose única oral de 25 mg de carvedilol racêmico. Dados apresentados como média $\pm$ EPM.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Classificação da Doença Renal Crônica (KDOQUI, 2002)	18
Tabela 2-	Dados individuais dos pacientes do GRUPO DRC (n = 8) e do GRUPO CONTROLE (n=8) investigados.....	31
Tabela 3-	Aleatorização para a sequência das fases de tratamento para os pacientes incluídos na investigação.....	33
Tabela 4-	Dados individuais de genotipagem da Pgp (ABCB1) e CYP2C9 dos pacientes do GRUPO DRC (n = 8) e do GRUPO CONTROLE (n=8).....	42
Tabela 5-	Dados individuais de fenotipagem dos pacientes do GRUPO DRC (n = 8) e do GRUPO CONTROLE (n=8).....	44
Tabela 6-	Farmacocinética dos enantiômeros do carvedilol em pacientes do GRUPO DRC (n = 8) tratados com dose única de carvedilol associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).....	47
Tabela 7-	Farmacocinética dos enantiômeros do carvedilol nos pacientes do GRUPO CONTROLE (n = 8) tratados com dose única de carvedilol associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).....	50
Tabela 8	Farmacocinética do enantiômero (+)-(R)-carvedilol nos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8) e GRUPO DRC (n=8) tratados com dose única oral de carvedilol associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).....	51
Tabela 9-	Farmacocinética do enantiômero (-)-(S)-carvedilol nos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8) e GRUPO DRC (n=8) tratados com dose única oral de carvedilol associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).....	52
Tabela 10	Farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) relacionando as concentrações plasmáticas do (-)-(S)-carvedilol em função da variação da frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico com o <i>handgrip</i> em pacientes do GRUPO DRC (n =8) tratados com dose única de carvedilol racêmico associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).....	54

Tabela 11	Farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) relacionando as concentrações plasmáticas do (-)-(S)-carvedilol em função da variação da frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico com o <i>handgrip</i> em pacientes do GRUPO CONTROLE (n =8) tratados com dose única de carvedilol racêmico associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).....	55
Tabela 12	Farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) relacionando as concentrações plasmáticas do (-)-(S)-carvedilol em função da variação da frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico com o <i>handgrip</i> em pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8) e GRUPO DRC (n =8) tratados com dose única de carvedilol racêmico associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).....	56
Tabela 13	Farmacocinética dos enantiômeros da lercanidipina nos pacientes do GRUPO DRC (n = 8) tratados com dose única de lercanidipina associada ou não ao carvedilol. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).....	59
Tabela 14	Farmacocinética dos enantiômeros da lercanidipina nos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8) tratados com dose única de lercanidipina associada ou não ao carvedilol. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).....	61
Tabela 15	Farmacocinética do enantiômero (S)-lercanidipina nos pacientes do GRUPO CONTROLE (n = 8) e GRUPO DRC (n=8) tratados com dose única de lercanidipina associada ou não ao carvedilol. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).....	62
Tabela 16	Farmacocinética do enantiômero (R)-lercanidipina nos pacientes do GRUPO CONTROLE (n =8) e GRUPO DRC (n=8) tratados com dose única de lercanidipina associada ou não ao carvedilol. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).....	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	alanina amino transferase
AST	aspartato amino transferase
CYP	Citocromo P450
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRC	Doença renal crônica
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EM	Metabolizador rápido
EPM	Erro padrão da média
FMRP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
HDL	<i>High density lipoprotein</i>
HPLC	High performance liquid chromatography
IC	Intervalo de Confiança
IMC	Índice de massa corporal
K/DOQUI	<i>USA National Kidney Foundation</i>
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial
LDL	<i>Low density lipoprotein</i>
MDR1	<i>Multi-drug resistance gene</i>
MRM	<i>Multiple reaction monitoring</i>
MS	<i>Mas spectrometry</i>
[M + H] ⁺	Íon molecular protonado
NAT-2	N-acetiltransferase 2
OATP	Poli-peptídeo transportador de anion orgânico
P-gp	Glicoproteína P
PI	padrão interno
PK-PD	farmacocinética- farmacodinâmica
RM	razão metabólica
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i> , polimorfismo de base única
t	Tempo
TFG	Taxa de filtração glomerular
UGT	UDP-glicuronosiltransferase
v/v/v/v	Volume/volume/volume/volume

LISTA DE SÍMBOLOS

α	constante de velocidade de distribuição
β	constante de velocidade de eliminação
γ	Coeficiente de Hill (Gamma)
AUC	Área sob a curva concentração plasmática <i>versus</i> tempo
$Cl_{\text{creatinina}}$	<i>Clearance</i> de creatinina
Cl/F	<i>Clearance</i> total aparente
C_{max}	Concentração plasmática máxima
E ₅₀	Concentração do fármaco no compartimento de efeito requerida para produzir 50% do efeito máximo (EC ₅₀)
E _{max}	Efeito máximo
K _{e0}	Constante de velocidade de transferência para o compartimento de efeito
K_a	constante de absorção
K_{el}	constante de eliminação
®	Marca registrada
t_{max}	tempo para atingir C_{max}
$t_{1/2}$	meia-vida de eliminação
Vd/F	Volume aparente de distribuição

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. OBJETIVOS.....	28
2.1 Objetivo Geral.....	28
2.2 Objetivos Específicos.....	28
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	31
3.1 Casuística e Protocolo Clínico.....	31
3.2 Análise dos enantiômeros do carvedilol em plasma.....	35
3.2.1 Análise dos enantiômeros do carvedilol livre em plasma.....	36
3.3 Análise dos enantiômeros da lercanidipina em plasma.....	36
3.4 Análise do metoprolol e α -hidroximetoprolol em urina e plasma.....	37
3.5 Análise do midazolam em plasma.....	38
3.6 Análise farmacocinética e farmacodinâmica.....	38
3.7 Genotipagem da Pgp (ABCB1) e CYP2C9.....	39
3.8 Análise Estatística.....	41
4. RESULTADOS.....	42
4.1 Genotipagem da Pgp (ABCB1) e CYP2C9	43
4.2 Fenotipagem do CYP2D6 e CYP3A.....	44
4.3 Farmacocinética dos enantiômeros do carvedilol total (concentração livre + concentração ligada às proteínas plasmáticas) em plasma.....	46
4.4 Farmacocinética dos enantiômeros do carvedilol livre (concentração não ligada às proteínas plasmáticas) em plasma.....	54
4.5 Farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) do enantiômero (-)-(S)-carvedilol	

em função da variação da frequência cardíaca no teste de esforço isométrico com o <i>handgrip</i>	54
4.6 Farmacocinética dos enantiômeros da lercanidipina em plasma.....	58
5. DISCUSSÃO.....	65
6. CONCLUSÕES.....	73
7. REFERENCIAS.....	78
APÊNDICE.....	87
ANEXOS.....	112

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Apesar do avanço da química sintética, muitos fármacos utilizados na prática clínica são administrados como racematos, uma mistura de iguais proporções de dois enantiômeros. A interação dos enantiômeros com macromoléculas biológicas quirais, como enzimas e proteínas transportadoras, pode resultar em diferenças nos processos farmacocinéticos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção. O conhecimento da farmacocinética dos fármacos quirais é de extrema importância na prática clínica, considerando os diferentes efeitos farmacológicos e/ou tóxicos de cada enantiômero (BROCKS, 2006; LU, 2007).

A expressão gênica e a atividade das enzimas do citocromo P450 (CYP) podem ser alteradas por algumas doenças, as quais podem modificar a atividade de enzimas responsáveis pelo metabolismo de diversos fármacos. A modulação das enzimas CYP é seletiva, variando de maneira específica entre as diferentes doenças. Estas mudanças podem levar a alterações na biodisponibilidade, *clearance* e toxicidade, podendo afetar a eficácia e a segurança de medicamentos (CHENG; MORGAN, 2001; MOMPER; VENKATARAMANAN; NOLIN, 2010).

Os pacientes com doença renal crônica (DRC), por exemplo, podem apresentar respostas inesperadas a doses terapêuticas de muitos fármacos. Esta resposta é normalmente resultante de alterações na distribuição, metabolismo ou excreção renal. A principal alteração farmacocinética na doença renal crônica é certamente a redução na excreção renal, com observação de redução do *clearance* renal e acúmulo plasmático principalmente de fármacos com alta fração eliminada na urina sob a forma inalterada. Há um aumento no volume de distribuição dos fármacos hidrofílicos devido à retenção de líquidos (ROSTAMI-HODJEGAN; KROEMER; TUCKER, 1999).

Estudos clínicos mostram que a DRC também pode reduzir o *clearance* não renal de muitos fármacos em 30-90% e resultar em aumento da biodisponibilidade para os fármacos de alta razão de extração hepática. O acúmulo de toxinas urêmicas e citocinas pró-inflamatórias resulta em *downregulation* do CYP2C e CYP3A em animais de experimentação e, em redução da atividade do CYP2C19 e CYP2C9 e redução do transporte mediado pelo polipeptídeo transportador de anion orgânico (OATP) e glicoproteína P (P-gp) em estudos clínicos. A atividade das enzimas envolvidas nas reações de conjugação com o ácido glicurônico (UGT2BT) e as reações de acetilação dependentes da NAT-2 também são

significativamente reduzidas em pacientes com DRC (SUN; FRASSETO; BENET, 2006; NAUD et al., 2008; DREISBACH, 2009).

A DRC é caracterizada por perda progressiva na taxa de filtração glomerular (TFG). O diagnóstico é feito com base na redução da TFG por um período de no mínimo três meses, frequentemente acompanhado de albuminúria (ABBOUD; HENRICH, 2010). Baseado nesta definição, o grupo de trabalho propõe a seguinte classificação para a DRC:

Tabela 1. Classificação da Doença Renal Crônica (KDOQUI, 2002)

Estágio	Descrição	TFG (mL/min/1,73 m²)
1	lesão renal com TFG normal ou aumentada	> 90
2	lesão renal com leve diminuição da TFG	60-89
3	lesão renal com moderada diminuição da TFG	30-59
4	lesão renal com acentuada diminuição da TFG	15-29
5	falência renal funcional ou em terapia renal substitutiva	< 15

A Sociedade Brasileira de Nefrologia, de acordo com pesquisas realizadas em 2009 nas Unidades de Diálise cadastradas no Brasil, estima a existência de 77.589 pacientes em diálise. As estimativas das taxas de prevalência e de incidência de DRC em tratamento dialítico foram, respectivamente, de 405 e 144 pacientes por milhão da população. O número estimado de pacientes que iniciaram o tratamento dialítico em 2009 foi de 27.612. A taxa anual de mortalidade bruta foi de 17,1%. (SESSO et al., 2010).

Em pacientes com doença cardiovascular, o risco de morte súbita está relacionado com a gravidade da DRC. Cada decréscimo de 10 mL/min na TFG está associado a um aumento de 10% no risco de morte súbita. Pacientes em diálise com doença coronariana apresentam um risco seis vezes maior para morte súbita cardíaca comparados aos pacientes com TFG de 60 mL/min (BIE et al., 2012). A ativação do sistema nervoso simpático é comum em pacientes com DRC e desempenha um papel importante na gênese da hipertensão, no progresso da redução da função renal e está associada ao aumento da morbidade e mortalidade cardiovascular. A hipertensão representa uma complicação freqüente em pacientes com DRC

e compromete mais de 80% dos pacientes que requerem hemodiálise (MIKI et al., 1991). O controle da pressão arterial é uma importante meta terapêutica em pacientes com DRC para retardar o progresso da doença e evitar o aparecimento de doenças cardiovasculares (FAQAH; JAFAR, 2011).

Considerando o controle rigoroso da pressão arterial como principal mecanismo para prevenção do progresso da DRC, a busca de agentes terapêuticos que reduzam o risco cardiovascular e melhorem a expectativa de vida do paciente, é um dos focos atuais de relevância clínica. Os beta-bloqueadores são potentes agentes anti-hipertensivos que diferem nos seus efeitos hemodinâmicos na função renal. O carvedilol reduz a resistência vascular e previne a redução da TFG e o fluxo renal em pacientes com hipertensão com ou sem DRC. Além disso, o carvedilol pode retardar a progressão da albuminúria e fornecer proteção cardiorenal em pacientes hipertensos com insuficiência cardíaca congestiva e com alto risco de morte súbita. O carvedilol é considerado um fármaco efetivo no tratamento da hipertensão, podendo prolongar a expectativa de vida de pacientes com doença cardíaca (HART; BAKRIS, 2007; SEHRT et al., 2011).

O carvedilol, 1- (carbazol-4-iloxi) -3-[2-(o-metoxifenoxi) etil] -2-propranol, é um β -bloqueador não seletivo de terceira geração, com afinidade aproximadamente 7 vezes maior em adrenoreceptores β_1 em relação a β_2 , perdendo sua seletividade em altas doses. O carvedilol também possui efeito antagonista para receptores α_1 -adrenérgicos (TAKARA; SAKAEDA; OKUMURA, 2004; STOUT et al., 2010). O carvedilol é um fármaco administrado por via oral como mistura racêmica dos enantiômeros (-)-(S) e (+)-(R). Estes enantiômeros apresentam diferentes propriedades farmacológicas, sendo que os enantiômeros (-)-(S) e (+)-(R) apresentam a mesma atividade sobre os receptores α_1 -adrenérgicos, sendo o enantiômero (-)-(S)-carvedilol responsável pela atividade antagonista nos receptores β -adrenérgicos (TAKEKUMA et al., 2007).

O mecanismo hipotensor do carvedilol decorre da vasodilatação periférica, além dos clássicos efeitos descritos para o β -bloqueio adrenérgico, ou seja, redução da atividade de renina plasmática, bradicardia com redução do débito cardíaco e elevação da produção de prostaglandinas vasodilatadoras (GEHR et al., 1999; MEHVAR; BROCKS, 2001). O carvedilol também é um potente antioxidante, com atividade 10 vezes maior que a atividade antioxidante da vitamina E, prevenindo a depleção da vitamina E e glutatona induzida pelo estresse oxidativo (TAKARA; SAKAEDA; OKUMURA, 2004).

Como os demais β -bloqueadores, o carvedilol é rapidamente absorvido no trato gastrointestinal, atingindo a concentração plasmática máxima em 1 a 2 horas. É um fármaco lipofílico com volume de distribuição de aproximadamente 2 L.kg^{-1} . A ligação do carvedilol às proteínas plasmáticas, principalmente a albumina é de aproximadamente 98%, sendo maior para o enantiômero (+)-(R)-carvedilol. A eliminação é predominantemente biliar, sendo que somente 2% da dose é excretada pelos rins como fármaco inalterado. O *clearance* plasmático varia de 500 a 700 mL.min^{-1} . A meia-vida de eliminação varia de 7 a 10 horas após a administração oral (NEUGEBAUER et al., 1987; ZHOU; WOOD, 1995; GEHR et al., 1999; ZARGHI et al., 2007; SAITO et al., 2010).

O metabolismo do carvedilol é estereosseletivo, sendo as concentrações plasmáticas do (+)-(R)-carvedilol aproximadamente três vezes maiores do que as concentrações plasmáticas do (-)-(S)-carvedilol. A biodisponibilidade oral do (+)-(R)-carvedilol é cerca de 2 vezes maior do que a do seu antípoda (30% para a forma R e 15% para a forma S), uma indicação de enantiosseletividade significativa no efeito de primeira passagem (NEUGEBAUER; NEUBERT, 1991; GEHR et al., 1999). O carvedilol é predominantemente eliminado por metabolismo hepático, sendo que enantiômero (-)-(S)-carvedilol é metabolizado mais rapidamente que o enantiômero (+)-(R) (TAKEKUMA et al., 2007).

O carvedilol é metabolizado por múltiplas vias. As enzimas CYP2D6 e CYP2C9 são as principais responsáveis pelo metabolismo de Fase I, enquanto as enzimas UGT1A1, UGT2B4 e UGT2B7 estão envolvidas no metabolismo de fase II. O CYP2D6, o CYP2C9 e a UGT2B7 metabolizam preferencialmente o (-)-(S)-carvedilol, enquanto a UGT1A1 metaboliza preferencialmente o (+)-(R)-carvedilol, mas a velocidade de metabolismo do carvedilol pelo CYP2D6 é maior do que pelo CYP2C9 (OLDHAM; CLARKE, 1997; TAKEKUMA et al., 2007).

Estudos com microsossomos de fígado humano mostram que ambos os enantiômeros do carvedilol são metabolizados a 4'-hidroxicarvedilol (4OHC), 5'-hidroxicarvedilol (5OHC), 8-hidroxicarvedilol (8OHC) e O-desmetilcarvedilol (ODMC). O CYP2D6 é o principal responsável pela formação do 4OHC e do 5OHC, mas o CYP2E1, CYP2C9 e CYP3A4 também apresentam alguma contribuição. A produção do ODMC está claramente associada ao CYP2C9, embora existam evidências do envolvimento parcial do CYP2D6, CYP1A2 e CYP2E1. O CYP1A2 é a principal enzima envolvida no metabolismo do carvedilol ao 8OHC (OLDHAM; CLARKE, 1997) (Figura 1).

Figura 1. Metabolismo do carvedilol; *centro quiral (OLDHAM; CLARKE, 1997).

Estudos *in vitro* e *in vivo* relatam o carvedilol como substrato e inibidor da P-gp intestinal. O genótipo do CYP2D6, a expressão intestinal dos transportadores Pgp e MRP2 e a interação de fármacos são considerados os principais fatores responsáveis pela variabilidade interindividual nas concentrações plasmáticas do carvedilol e manifestação dos efeitos adversos resultantes da atividade β -bloqueadora (depressão da função ventricular esquerda) ou α_1 -bloqueadora (hipotensão ortostática) (KAKUMOTO et al., 2003; GIESSMANN et al., 2004; TAKEKUMA et al., 2007; AMIOKA et al., 2007; SAITO et al., 2010).

A atividade do CYP2D6, envolvido no metabolismo do carvedilol, é geneticamente controlada e apresenta distribuição polimórfica em humanos. A frequência de metabolizadores lentos (PM) na população caucasiana é de 7%, com observação de alta frequência dos alelos CYP2D6*4 e CYP2D6*5. Como o *clearance* do (-)-(S)-carvedilol é maior do que o do (+)-(R)-carvedilol, devido a metabolização estereosseletiva, em metabolizadores lentos da debrisoquina (fármaco marcador da atividade do CYP2D6) o *clearance* do (+)-(R)-carvedilol é ainda menor, podendo resultar em maiores concentrações plasmáticas deste enantiômero e em possível aumento do efeito beta-bloqueador (ZHOU; WOOD, 1995; RENSTSCH, 2002; MIZUTANI, 2003).

O CYP2C9 é a principal enzima da subfamília 2C, sendo responsável pelo metabolismo do carvedilol e de aproximadamente 10% de todos os fármacos com relevância clínica. As variantes alélicas mais relevantes incluem o *2 (Arg144Cys) e o *3 (Ile359Leu) por reduzir a função catalítica do CYP2C9. As frequências alélicas na população caucasiana são de aproximadamente 82% para o alelo CYP2C9*1, 11% para o CYP2C9*2 e 7% para CYP2C9*3, resultando em frequências genótípicas de 65,3; 20; 0,9; 12; 1,4 e 0,4%, respectivamente, para os polimorfismos *1/*1, *1/*2, *2/*2, *1/*3, *2/*3 e *3/*3. Podem ocorrer pequenas diferenças na frequência destes genótipos entre subgrupos da população caucasiana, sendo que a variante CYP2C9*2 é quase ausente na população africana e na população asiática (KIRCHHEINER et al., 2004).

A glicoproteína-P (P-gp), também conhecida como MDR1 (*multidrug resistance*), é uma proteína de transporte que exporta fármacos para fora da célula, dentre os quais o carvedilol é descrito não somente como substrato, mas também como inibidor da P-gp intestinal (AMIOKA et al., 2007). A P-gp humana está presente em altos níveis em tecidos normais incluindo a superfície apical das células da mucosa do intestino, a membrana dos canalículos biliares dos hepatócitos, a membrana luminal do túbulo proximal renal, entre outros. A distribuição tecidual da P-gp sugere que esta proteína desempenha um papel fundamental na absorção intestinal, na excreção urinária e biliar e na prevenção do acúmulo de xenobióticos no cérebro. A informação das características funcionais da P-gp contribui na previsão da biodisponibilidade, distribuição e eliminação de seus substratos (TANIGWARA, 2000; LECUTA; VLASE, 2006).

Diversos fármacos têm mostrado enantiosseletividade na atividade da P-gp, tanto pelo transporte preferencial de um enantiômero como por diferentes potenciais de inibição da P-gp pelos enantiômeros. Este fato pode resultar em diferentes concentrações dos enantiômeros no compartimento de efeito, o que poderia produzir diferenças clinicamente relevantes nos efeitos terapêuticos ou surgimento de efeitos colaterais não desejados (CHOONG et al., 2010).

O gene ABCB1/MDR-1, que codifica a glicoproteína-P, é altamente polimórfico. As variantes alélicas podem alterar a farmacocinética de diversos fármacos que são substratos de Pgp, resultando em diferenças na biodisponibilidade em algumas classes de substratos (SCHEINER; DAMASCENO; MAIA, 2010). Foram identificados mais de 28 variantes alélicas no gene ABCB1, onde um SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*) no *exon* 21 (G2677T) e um SNP no *exon* 26 (C3435T) afetam a expressão e a função do transportador. Os polimorfismos no *exon* 21 e no *exon* 26 têm sido associados com diferenças de 25 a 35% na

biodisponibilidade e na depuração renal da digoxina, um medicamento utilizado no tratamento da insuficiência cardíaca (METZGER; SOUZA-COSTA; TANUS-SANTOS, 2006). Entre os polimorfismos descritos para a P-gp, os mais estudados são o G2677T, C3435T e C1236T (CASCORBI, 2011).

A redução da pressão arterial aos valores recomendados para os pacientes com DRC geralmente exige a administração de mais de uma classe de anti-hipertensivos (BANG; CHAPMAN; GOA, 2003). Os bloqueadores de canais de cálcio são amplamente utilizados para o tratamento de hipertensão, tanto em monoterapia quanto em associação com outros antihipertensivos. Estes fármacos estão associados com a redução mais relevante da pressão arterial sistólica interindividual (CICERO et al., 2012). A lercanidipina, (±)-cloridrato do ácido piridinecarboxílico, é um antagonista dos canais de cálcio tipo L, pertencente ao grupo das 1,4-diidropiridinas de terceira geração. É um fármaco altamente lipofílico, com grande seletividade vascular e prolongado efeito anti-hipertensivo quando comparada com outras diidropiridinas bloqueadoras de canais de cálcio (BORGHI, 2005; BECKEY; LUNDY; LUFTI, 2007; ROBLES et al., 2008).

A lercanidipina é utilizada na clínica como racemato, contendo quantidades idênticas dos enantiômeros (S) e (R) (HERBETTE et al., 1998; CERBAI et al., 2000). Devido à alta lipossolubilidade, a lercanidipina acumula-se na dupla camada lipídica da membrana, nas proximidades dos canais de cálcio L. Destes depósitos, a lercanidipina é lenta e continuamente liberada para alcançar os canais de cálcio L, o que caracteriza sua ação prolongada (HERBETTE et al., 1998).

Leonardi et al. (1997), mostraram em estudo *in vitro* que o enantiômero (S)-lercanidipina tem cerca de 100-200 vezes mais afinidade pelos canais de cálcio tipo L do que a (R)-lercanidipina. Estudos dos efeitos da pressão sanguínea em ratos normotensos e espontaneamente hipertensos e também em cães hipertensos mostraram que a ação anti-hipertensiva da lercanidipina pode ser atribuída ao enantiômero (S), visto que o (R) não possui efeitos na pressão sanguínea em doses maiores do que as utilizadas para o racemato ou para o enantiômero (S). A atividade hemodinâmica confirma esses resultados, com a (R)-lercanidipina mostrando pouca ou nenhuma atividade na resistência periférica ou coronariana (TESTA et al., 1997).

A farmacocinética da (S)-lercanidipina foi avaliada em voluntários sadios, adultos jovens hipertensos, idosos hipertensos e em pacientes com doença renal e hepática. Após receberem doses de 10 ou 20 mg de lercanidipina racêmica marcada com ^{14}C , em solução, as concentrações plasmáticas máximas foram atingidas dentro de 2-3 horas e as áreas sob as

curvas concentração plasmática *versus* tempo não foram linearmente relacionadas com a dose, indicando metabolismo de primeira passagem saturável. A absorção da lercanidipina aumenta com a ingestão de alimentos com alto nível de gordura (McCLELLAN; JARVIS, 2000).

A lercanidipina é altamente ligada às proteínas plasmáticas (>98%) em humanos e seu volume de distribuição de 2-2,5 L/kg foi determinado em voluntários sadios após infusão venosa de 2mg (BORASO et al., 1997). Não há dados relativos à ligação dos enantiômeros individuais às proteínas do plasma. Não há dados relativos à ligação da lercanidipina preferencialmente à albumina e/ou α_1 -glicoproteína ácida. A meia-vida de eliminação de ambos os enantiômeros da lercanidipina é de aproximadamente 10 h em voluntários sadios (JABOR; COELHO; LANCHOTE, 2004). A associação da lercanidipina com a fluvastatina em voluntários sadios resulta em redução da área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros (S) e (R)-lercanidipina e aumento da área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros da fluvastatina (BORALLI et al., 2009).

Após administração oral, a lercanidipina sofre extenso metabolismo de primeira passagem dependente do CYP3A4, originando vários metabólitos inativos e reduzindo sua biodisponibilidade sistêmica (Figura 2). A eliminação se dá essencialmente por biotransformação. Aproximadamente 50% da dose oral é eliminada nas fezes e 44% na urina, principalmente na forma de metabólitos (McCLELLAN; JARVIS, 2000). O principal metabólito origina-se da desaminação oxidativa da cadeia lateral e da aromatização do anel diidropiridinico. Outras vias metabólicas envolvem o processo de conjugação com o ácido glicurônico, N,N-didesalquilação e redução do grupo nitro (BARCIELLI et al., 1997).

Figura 2. Metabolismo da lercanidipina (BARCIELLI *et al.*, 1997).

Não há dados relativos à lercanidipina como substrato de proteínas transportadoras tais como a P-gp, no entanto, outras di-hidropiridinas bloqueadoras de canal de cálcio e substratos do CYP3A como a nifedipina, nitrendipina e felodipina são relatadas como inibidores da P-gp (KLOTZ, 2002; KIVISTO; NIEMI; FROMM, 2004).

A P-gp e o CYP3A4 podem atuar sinergicamente no intestino e limitar a biodisponibilidade de fármacos administrados por via oral através dos enterócitos. No enterócito, a disposição espacial da P-gp, localizada na membrana apical, e a do CYP3A, localizado no retículo endoplasmático, indica que a P-gp deve controlar o acesso de fármacos ao metabolismo intracelular do CYP3A. A especificidade de substratos da P-gp e do CYP3A também é semelhante, já que as duas proteínas compartilham inibidores e indutores (KIVISTO; NIEMI; FROMM, 2004; AZEREDO; UCHOA; DALLA COSTA, 2009).

Considerando a importância da manutenção da pressão arterial em valores $\leq 130/85$ mm Hg em pacientes com doença renal crônica e proteinúria $\leq 1\text{g/dia}$ e $\leq 125/75$ mmHg em

pacientes com proteinúria $> 1\text{g/dia}$ (ROSSERT; WAUTERS, 2002), considerando a necessidade da administração de mais de uma classe de anti-hipertensivos para reduzir a pressão arterial aos valores recomendados para os pacientes com DRC (BANG; CHAPMAN; GOA, 2003), considerando as alterações causadas pela DRC no *clearance* hepático de fármacos (DREISBACH, 2009), considerando as diferenças observadas entre os enantiômeros na ação farmacológica da lercanidipina e do carvedilol (LEONARDI et al., 1997; SAITO et al., 2010) e considerando o carvedilol como substrato e inibidor da P-gp (KAKUMOTO et al., 2003; AMIOKA et al., 2007) e a lercanidipina como substrato do CYP3A e potencial inibidor da P-gp (KLOTZ, 2002), o presente estudo avalia a interação carvedilol-lercanidipina em pacientes hipertensos portadores ou não de DRC.

Os estudos de interação de fármacos de maneira geral são conduzidos em voluntários sadios. No entanto, estados de doenças como a DRC em função do acúmulo de toxinas urêmicas e citocinas pró-inflamatórias podem modificar a expressão e a atividade de enzimas envolvidas no metabolismo de fármacos assim como podem modificar a expressão e a atividade de transportadores determinantes dos processos de absorção, distribuição e eliminação de fármacos (DREISBACH; LERTORA, 2008; DREISBACH, 2009; MOMPER; VENKATARAMAN; NOLIN, 2010). Os efeitos da DRC no metabolismo de fármacos estão bem descritos na literatura. Vários estudos relatam redução na atividade do CYP2C9, CYP2B6, N-acetiltransferase (NAT-2) e glicuronosiltransferase (UGT2B7) (SINGLAS et al., 1989; KIM et al., 1993; OSBORNE et al., 1993; KÉVORKIAN et al., 1996; DREISBACH; LERTORA, 2003; TURPEINEN et al., 2007). No entanto, os efeitos da DRC no transporte de fármacos é relativamente mais recente com relatos de redução na atividade do polipeptídeo transportador de anion orgânico (OATP) e da proteína transportadora de efluxo P-gp (NOLIN et al., 2009; SUN; FRASSETTO; BENET, 2006; MOMPER; VENKATAMARAN; NOLIN, 2010).

Uma pergunta importante a ser respondida é se os resultados de estudos de interação de fármacos conduzidos em voluntários sadios podem ser extrapolados para pacientes portadores de DRC. Para responder essa pergunta, o presente estudo foi delineado considerando a interação carvedilol-lercanidipina em pacientes hipertensos portadores de função renal normal (GRUPO CONTROLE) e em pacientes hipertensos portadores de doença renal crônica (GRUPO DRC), genotipados para a Pgp (ABCB1) e CYP2C9, fenotipados para o CYP2D6 (metoprolol como fármaco marcador) e avaliados quanto a atividade *in vivo* do CYP3A empregando midazolam como fármaco marcador.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência da DRC moderada a grave na interação lercanidipina-carvedilol em pacientes hipertensos fenotipados para o CYP2D6 como metabolizadores rápidos, genotipados para a Pgp (ABCB1) e CYP2C9 e avaliados quanto a atividade *in vivo* do CYP3A.

2.2 Objetivos Específicos

1. Avaliar a enantioseletividade na farmacocinética da lercanidipina e do carvedilol em pacientes com DRC moderada a grave e hipertensão arterial e em pacientes hipertensos com função renal normal.
2. Avaliar a influência da lercanidipina na farmacocinética e farmacocinética-farmacodinâmica dos enantiômeros do carvedilol em pacientes com DRC moderada a grave e hipertensão arterial e em pacientes hipertensos com função renal normal.
3. Avaliar a influência do carvedilol na farmacocinética dos enantiômeros da lercanidipina em pacientes com DRC moderada a grave e hipertensão arterial e em pacientes hipertensos com função renal normal.
4. Avaliar a influência da DRC moderada a grave na interação lercanidipina-carvedilol em pacientes hipertensos.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Casuística e Protocolo Clínico

O protocolo clínico foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da FMRP-USP em 10/11/2008 de acordo com o processo HCRP nº 9666/2008. Após a assinatura do *Termo de Consentimento Livre e Esclarecido*, os pacientes foram submetidos a exames clínicos e testes laboratoriais para a comprovação da normalidade da função hepática (ALT, AST, gama GT, bilirrubina e proteínas totais), avaliação da função renal (uréia e creatinina) e avaliação metabólica (colesterol, triglicérides, HDL, LDL e glicemia de jejum). Nas situações de intercorrências, tais como o aparecimento de efeitos colaterais, foi garantido o afastamento do voluntário do protocolo de pesquisa e o tratamento apropriado na Instituição. Os pacientes foram internados na Unidade de Pesquisa Clínica do Hospital das Clínicas da FMRP-USP para as coletas seriadas de sangue.

O cálculo do tamanho amostral foi obtido através do programa *Power and Sample Calculation*, versão 2.1.30 (DUPONT; PLUMMER, 1997), utilizando parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros da lercanidipina em voluntários sadios, obtidos pelo nosso grupo de pesquisa (JABOR; COELHO; LANCHOTE, 2004). Nossa hipótese de trabalho era de que a interação lercanidipina-carvedilol elevaria em pelo menos 50% a AUC da lercanidipina quando utilizada de forma isolada. Para o cálculo do tamanho amostral fixou-se o nível de significância em $P = 0,05$, poder de 0,80 e diferença entre as médias de AUC da lercanidipina em 50%. A Figura 3 mostra a variação do poder do teste de acordo com o tamanho amostral, com a observação de que a inclusão de 16 voluntários (8 no grupo controle e 8 no grupo DRC) acarretaria poder do teste acima de 80%.

Figura 3. Gráfico do tamanho da amostra em relação ao poder de teste.

Foram investigados 8 pacientes adultos (2 mulheres e 6 homens) com idade entre 23 a 62 anos, portadores de doença renal crônica estágios 3 e 4 (GRUPO DRC), de acordo com a classificação K/DOQI (Kidney Disease Outcomes Quality Initiative K/DOQI, 2002), em seguimento na Divisão de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (Tabela 2). Foram ainda investigados 8 pacientes com função renal dentro dos limites da normalidade e portadores de hipertensão arterial (GRUPO CONTROLE), caracterizada de acordo com os critérios da VI Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial (2010), ou seja, uso de medicação anti-hipertensiva e/ou comprovação diagnóstica com pelo menos três aferições basais em dias distintos de pressão arterial com valores maiores de 140 x 90 mmHg (Tabela 2).

Tabela 2. Dados individuais dos pacientes do GRUPO DRC (n = 8) e do GRUPO CONTROLE (n=8) investigados.

Pacientes	Idade (anos)	Gênero	IMC (Kg/m ²)	creatinina sérica (mg/dL)	Cl _{creatinina} (mL/min/1,73m ²)
GRUPO DRC					
1	44	F	33,8	4,2	21,6
2	42	M	32,7	2,1	49,5
3	62	M	34,8	2,5	47,7
4	52	M	30,3	2,1	50,4
5	53	M	31,7	2,4	41,8
6	49	F	31,9	1,7	47,9
7	23	M	20,8	4,1	24,9
8	40	M	20,9	2,9	35,9
GRUPO CONTROLE					
1	48	F	34,9	0,6	164,2
2	25	M	24,4	1,2	115,5
3	48	F	25,1	1,1	95,6
4	53	M	32,6	1,2	98,8
5	62	M	30,9	0,9	91,5
6	47	M	31,0	1,1	108,6
7	44	M	28,2	1,1	99,9
8	40	M	25,0	1,0	93,0

Os pacientes investigados foram submetidos a um período de vinte dias de *run-in* utilizando como medicação hipotensora padrão a associação de furosemida 40 mg/dia e enalapril 10 mg a cada 12 h. Os pacientes que apresentaram pressão arterial $\geq 180 \times 110$ mmHg foram excluídos do protocolo. O estudo cruzado e aleatório foi desenvolvido em 3 fases, sendo que alguns pacientes iniciaram pela FASE 1 (carvedilol), outros pela FASE 2 (lercanidipina) e outros pela FASE 3 (carvedilol + lercanidipina), conforme a tabela de aleatorização (Tabela 3). O período de *wash-out* entre as fases foi de 1 semana, mantendo-se o uso constante de furosemida e enalapril conforme descrito anteriormente.

Na FASE 1, os pacientes em estado de jejum de 12 horas receberam pela manhã, via oral, dose única de 25 mg de carvedilol racêmico (Carvedilat[®], EMS Sigma Pharma). A dieta padrão do hospital foi servida após 3h da administração do carvedilol. As amostras de sangue (10mL) foram coletadas em seringas heparinizadas (Liquemine[®] 5000UI, Roche) nos tempos zero, 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 5; 6; 8; 10; 12; 16; 18; 24 e 32h após a administração do carvedilol. Os plasmas foram armazenados a -70°C até o momento da análise.

Na FASE 2, os pacientes em estado de jejum de 12 horas receberam pela manhã, via oral, dose única de 20 mg de lercanidipina racêmica (Zanidip[®], Medley) com 200mL de água. A dieta padrão do hospital foi servida após 3h da administração da lercanidipina. As amostras de sangue (10 mL) foram coletadas em seringas heparinizadas (Liquemine[®] 5000UI, Roche) nos tempos 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 6; 8; 10; 12 e 24h. Os plasmas para análise cromatográfica foram obtidos por centrifugação (1800g x 20 min) das amostras de sangue e armazenados a -70°C até o momento da análise. Todo o procedimento foi realizado em ambiente com luz amarela como única fonte de iluminação.

Na FASE 3, os pacientes em estado de jejum de 12 horas receberam pela manhã, via oral, dose única de 25 mg de carvedilol racêmico e 20mg de lercanidipina racêmica com 200mL de água. A dieta padrão do hospital foi servida após 3h da administração da lercanidipina. As amostras de sangue (10 mL) foram coletadas em seringas heparinizadas (Liquemine[®] 5000UI, Roche) nos tempos zero, 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 5; 6; 8; 10; 12; 16; 18; 24 e 32h. Os plasmas para análise cromatográfica foram obtidos por centrifugação (1800g x 20 min) das amostras de sangue e armazenados a -70°C até o momento da análise. Todo o procedimento foi realizado em ambiente com luz amarela como única fonte de iluminação.

Tabela 3. Aleatorização para a sequência das fases de tratamento para os pacientes incluídos na investigação.

Paciente	Internação 1	Internação 2	Internação 3
GRUPO DRC			
1	FASE 1	FASE 2	FASE 3
2	FASE 2	FASE 1	FASE 3
3	FASE 1	FASE 2	FASE 3
4	FASE 3	FASE 2	FASE 1
5	FASE 3	FASE 1	FASE 2
6	FASE 2	FASE 1	FASE 3
7	FASE 1	FASE 2	FASE 3
8	FASE 1	FASE 3	FASE 2
GRUPO CONTROLE			
1	FASE 2	FASE 1	FASE 3
2	FASE 1	FASE 2	FASE 3
3	FASE 2	FASE 3	FASE 1
4	FASE 1	FASE 2	FASE 3
5	FASE 3	FASE 1	FASE 2
6	FASE 1	FASE 3	FASE 2
7	FASE 2	FASE 1	FASE 3
8	FASE 3	FASE 1	FASE 2

FASE 1: carvedilol; FASE 2: lercanidipina; FASE 3: carvedilol+ lercanidipina.

A frequência cardíaca (parâmetro farmacodinâmico) foi avaliada na situação de exercício isométrico com o *handgrip* Jamar[®] (Simmons Preston, EUA), nos mesmos tempos de colheita das amostras de sangue para a análise do carvedilol. Os pacientes, após repouso de 5 min em posição supina, foram solicitados a utilizar o *handgrip* na sua contratilidade voluntária máxima, com o braço dominante. Após 3 determinações, a média da contratilidade voluntária máxima foi obtida e os pacientes foram solicitados a realizar durante 2 min o exercício isométrico com o *handgrip*, a 30% da contratilidade voluntária máxima (KUBO et al., 2001). A análise da resposta simpática desencadeada pela manobra do *handgrip* foi realizada calculando-se a variação da frequência cardíaca entre os períodos final e 1 min antes do início da prova de esforço isométrico durante 2 min.

A pressão arterial sistólica e a pressão arterial diastólica, determinadas com o auxílio do monitor cardíaco Dixtal DX2021, foram avaliadas 1 min após o término de cada exercício isométrico com o *handgrip*.

A avaliação da atividade *in vivo* do CYP2D6 e do CYP3A foi realizada 24h após a administração da lercanidipina (FASE 2). Os pacientes receberam uma dose única de 1 comprimido de 100 mg de tartarato de metoprolol (Seloken[®], AstraZeneca) e 1 comprimido de 15 mg de midazolam (Dormonid[®], Roche) com 200 mL de água. As coletas seriadas de sangue foram realizadas nos tempos de 15; 30 e 45 minutos, 1, 2, 3, 4, 5 e 6h após a administração dos fármacos. A urina foi coletada até 8h após a administração dos fármacos, o volume total foi mensurado e uma alíquota armazenada a -70°C até o momento da análise.

Para a investigação do genótipo da P-gp (ABCB1) e CYP2C9 foram coletados 10 mL de sangue, em tubos contendo EDTA como anticoagulante.

3.2 Análise dos enantiômeros do carvedilol em plasma

A análise dos enantiômeros do carvedilol em plasma foi realizada empregando LC-MS/MS acoplado a coluna de fase quiral, conforme método previamente desenvolvido e validado pelo grupo (POGGI et al., 2012). Alíquotas de plasma (1000 µL) adicionadas de 25 µL da solução de metoprolol (padrão interno, 20 µg/mL) e 5 mL de éter di-isopropílico, foram extraídas durante 10 min em agitador tipo *mixer* (Vibrax VXR basic, Ika) e centrifugadas a 1500 rpm durante 10 min. Volumes de 4 mL das fases orgânicas foram transferidos para tubos cônicos e evaporados à secura. Os resíduos foram retomados em 0,1 mL da fase móvel (mistura de etanol: metanol: ácido acético: dietilamina 60:40: 0,15: 0,025 v/v/v/v) e alíquotas de 75 µL foram injetadas no sistema cromatográfico. Os enantiômeros do carvedilol foram separados na coluna Chirobiotic[®]V (Astec, Whippany, NJ, EUA), partículas de 5µm (250 X 4,6 mm) com fase móvel na vazão de 1 mL/min e com infusão pós-coluna de água deionizada e filtrada. Os enantiômeros foram eluídos na sequência (-)-(S)- carvedilol e (+)-(R)-carvedilol com tempos de retenção, respectivamente, de 16,55 e 18,10 min. Os íons protonados $[M + H]^+$ e seus respectivos íons produtos foram monitorados nas transições 407>100 para os enantiômeros do carvedilol e 268>116 para o metoprolol empregado como padrão interno. O método mostrou limite de quantificação de 0,2 ng de cada enantiômero/mL de plasma, linearidade no intervalo de concentrações plasmáticas de 0,2-200 ng de cada enantiômero/mL de plasma e precisão e exatidão com coeficientes de variação e % de inexatidão inferiores a 15%.

3.2.1 Análise dos enantiômeros do carvedilol livre em plasma

Para a análise da concentração livre dos enantiômeros do carvedilol, alíquotas de 1 mL de plasma branco ou de amostras de plasma (amostras referentes a concentração plasmática máxima de cada paciente) foram acondicionadas em dispositivos de ultrafiltração Centrifree® (Millipore, Carrigtwohill, Irlanda) e centrifugadas a 1875 g durante 40 min em centrífuga com rotor de eixo fixo (ângulo de 36 graus) (modelo NT 825, Nova Técnica, Piracicaba, Brasil), refrigerado a 4°C para a obtenção do ultrafiltrado do plasma. O processo de ultrafiltração do plasma está descrito na Figura 4.

Figura 4. Ultrafiltração do plasma humano. Antes da ultrafiltração, o fármaco encontra-se parcialmente livre no plasma e parcialmente ligado às proteínas plasmáticas (A). O fármaco livre atravessa a membrana junto com o solvente (plasma). Sua concentração no ultrafiltrado é a mesma da amostra acima da membrana (B) (Millipore Corporation 2010 e 2011).

Alíquotas do ultrafiltrado foram analisadas por LC-MS/MS como descrito no item 3.2 para a análise dos enantiômeros do carvedilol total em plasma. As curvas de calibração foram construídas no intervalo de 0,2-200 ng de cada enantiômero do carvedilol/mL de plasma.

3.3 Análise dos enantiômeros da lercanidipina em plasma

A análise da lercanidipina em plasma foi realizada conforme método previamente desenvolvido e validado pelo grupo (JABOR et al., 2003). Alíquotas de 1000 µL de plasma

foram adicionados 25 μL da solução do padrão interno amiodarona $0,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ e 25 μL de solução aquosa de hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os enantiômeros da lercanidipina foram extraídos das amostras de plasma com 4,5 mL de hexano:isopropanol (99:1 v/v). Os tubos foram agitados durante 2 min em agitador tipo *mixer* e centrifugados a 2000 rpm durante 10 minutos. Foram transferidos 4 mL das fases orgânicas para tubos cônicos e evaporadas à secura. Os resíduos foram retomados em 100 μL de hexano:etanol (95:5 v/v) adicionado 0,1% dietilamina, agitados no vortex por 20 s, e alíquotas de 60 μL foram injetadas no sistema cromatográfico LC-MS/MS. Todo o procedimento analítico foi realizado em ambiente com luz amarela devido à fotossensibilidade da lercanidipina. Os enantiômeros da lercanidipina foram separados na coluna Chiralpak® AD 250 x 4,6 mm, partículas de 10 μm (Chiral Technologies Inc., Exton, PA, EUA). A eluição dos enantiômeros da lercanidipina foi obtida com fase móvel constituída por mistura de hexano: etanol: dietilamina (95: 5: 0,1 v/v/v) na vazão de 1,3 mL/min, com infusão pós-coluna de solução aquosa de acetato de amônio 10mmol/L em etanol (5:95 v/v), com fluxo estabelecido em 0,25 mL/min. As análises foram executadas no modo MRM (*Multiple Reaction Monitoring*). Os adutos com amônio $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ e seus respectivos íons produtos foram monitorados nas transições: 612 >100 para os enantiômeros da lercanidipina e 646 >100 para o padrão interno amiodarona. Os enantiômeros foram eluídos na sequência (S)-lercanidipina e (R)-lercanidipina com tempos de retenção, respectivamente, de 5 e 6 minutos aproximadamente. O limite de quantificação foi de 0,025 ng de cada enantiômero/mL de plasma e os intervalos lineares foram de 0,025 a 50 ng/mL para ambos os enantiômeros da lercanidipina.

3.4 Análise do metoprolol e α -hidroximetoprolol em urina e plasma

A análise do metoprolol e α -hidroximetoprolol em urina e plasma foi realizada por HPLC com detecção por fluorescência, de acordo com métodos desenvolvidos e validados em estudos anteriores do grupo (SILVA, 2008; NEVES, 2009).

Alíquotas de 100 μL de urina ou de 1000 μL de plasma adicionadas de 25 μL de solução de padrão interno (tramadol 50 $\mu\text{g/mL}$), solução aquosa de hidróxido de sódio 1M (25 μL para urina e 250 μL para plasma), diclorometano:éter di-isopropílico 1:1 (2 mL para urina e 4 mL para plasma) e cloreto de sódio (10 mg para urina e 100 mg para plasma) foram extraídas durante 30 min em agitador horizontal (220 ± 10 ciclos/min). Após o procedimento de centrifugação a 1800g durante 5 min, volumes da fase orgânica (1,6 mL para urina e 3,5 mL para plasma) foram separados e evaporados até a secura. Os resíduos foram dissolvidos

em 100 μ L de fase móvel (tampão fosfato 0,05 M pH 3,5: acetonitrila 90:10 v/v) e 20 μ L foram submetidos à análise cromatográfica. O metoprolol e o α -hidroximetoprolol foram separados na coluna RP-Select B (LiChrospher[®] 60, Merck), partículas de 5 μ m (125 x 4 mm) protegida por pré-coluna RP-18 (Lichrospher[®] 100, Merck, Darmstadt, Alemanha) com fase móvel na vazão de 1 mL/min e detector por fluorescência operando em 229 nm (excitação) e 298 nm (emissão). As curvas de calibração foram construídas nos intervalos de 0,2-20 e 0,1-10 μ g de metoprolol e α -hidroximetoprolol /mL de urina e nos intervalos de 10-250 ng de metoprolol e α -hidroximetoprolol /mL de plasma. Os estudos de precisão e exatidão de ambos os métodos mostram coeficientes de variação e % de inexatidão inferiores a 15% na análise do metoprolol e α -hidroximetoprolol.

3.5 Análise do midazolam em plasma

A análise do midazolam em plasma foi realizada por LC-MS/MS, como descrito por JABOR et al. (2005). Em resumo, alíquotas de 1 mL de plasma, após adição do padrão interno clobazam, foram alcalinizadas com 25 μ L de hidróxido de sódio 0,1M e extraídas com mistura de tolueno-álcool isoamílico (100:1, v/v) em agitador mecânico horizontal durante 30min. Após centrifugação a 2000g, por 5 min, as fases orgânicas foram separadas e evaporadas até a secura. Os resíduos foram dissolvidos em 50 μ L de uma solução de acetonitrila-acetato de amônio 10 mmol/L (50:50, v/v). A separação do midazolam e do padrão interno clobazam foi realizada em coluna e pré-coluna RP-18. A detecção foi realizada no espectrômetro de massas Quatro Micro triplo quadrupolo (Micromass, Manchester, UK), utilizando interface *electrospray* e modo de ionização positivo. Foram monitoradas as transições 301>259 para o midazolam e 342>203 para o padrão interno clobazam. O limite de quantificação foi de 0,1 ng/mL de plasma com intervalo linear de 0,1 a 100 ng/mL.

3.6 Análise farmacocinética e farmacodinâmica

A análise dos enantiômeros do carvedilol foi avaliada com base nas concentrações plasmáticas dos enantiômeros do carvedilol obtidas experimentalmente, empregando cinética de primeira ordem e modelo bicompartimental com *lag time* (modelo 12), com auxílio do programa WinNonLin versão 4.0 (Pharsight Corp, Mountain View, Calif, EUA).

As concentrações plasmáticas do (-)-(S)-carvedilol foram plotadas em função da variação da frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço

isométrico durante 2 min utilizando o *handgrip* a 30% da contratilidade voluntária máxima. A análise PK-PD *link* (Farmacocinética-Farmacodinâmica com compartimento de efeito) foi realizada com o uso do programa WinNonLin com base no modelo Emax sigmóide inibitório (modelo 107). O referido modelo emprega a equação $E = E_{\text{max}} * (1 - (C_e^{**\text{Gamma}} / (C_e \text{Gamma} + E_{\text{Ce50}}^{**\text{Gamma}})))$ e considera que o efeito na concentração zero é igual ao Emax e o efeito na concentração infinito é igual a zero.

As concentrações plasmáticas do (-)-(S)-carvedilol e do (+)-(R)-carvedilol também foram plotadas em função da pressão arterial média avaliada 1 min após o término do teste de esforço isométrico com o *handgrip*. A análise PK-PD *link* (Farmacocinética-Farmacodinâmica com compartimento de efeito) foi realizada com o uso do programa WinNonLin com base no modelo Emax sigmóide (modelo 106). O referido modelo considera que o efeito na concentração zero é igual ao E_0 (efeito basal) e o efeito na concentração infinito é igual ao Emax.

A farmacocinética dos enantiômeros da lercanidipina foi avaliada através do modelo monocompartimental e cinética de primeira ordem, empregado o programa WinNonlin.

3.7 Genotipagem da Pgp (ABCB1) e CYP2C9

O genótipo da Pgp (ABCB1) e do CYP2C9 foi realizado no Laboratório de hipertensão experimental e farmacogenética da Disciplina de Nefrologia, Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. O DNA foi extraído da camada leucocitária do sangue através da técnica de salting-out (MILLER; DYKES; POLESKY, 1988). Os SNPs rs1799853 (3608C>T) e rs1057910 (42614A>C) do gene do CYP2C9 e rs1045642 (3435C>T), rs1128503 (1236C>T) e rs2032582 (2677G>T/A) dos genes ABCB1 relacionados a alterações de função dos citocromo P-450 e P-gp, respectivamente, foram genotipados por discriminação alélica através da reação da polimerase em cadeia em tempo real (RT-PCR), utilizando os ensaios do tipo TaqMan[®] Drug Metabolism Genotyping Assays (Applied Biosystems; Foster City, CA, USA), identificados segundo o quadro 1.

Quadro 1: Descrição das sequências referências e identificação dos ensaios Taqman®

Gene	Identificação ensaio	Identificação SNp	Polimorfismo	Sequência
ABCB1	C_7586657_20	rs1045642	3435 C/T	TGTTGGCCTCCTTTTGCTGCCCCTCAC[A/G]ATCTCTTCCTG TGACACCAACCCGGC
	C_7586662_10	rs1128503	1236 C/T	GCCCACTCTGCACCTTCAGGTTTCAG[A/G]CCCCTTCAAGAT CTACCAGGACGAGT
	C_11711720D_40	rs2032582	2677 G/A	TGAAAGATAAGAAAGAACTAGAAAGT[C/T]CTGGGAAG GTGAGTCAAACTAAATA
	C_11711720C_30	rs2032582	2677 G/T	TGAAAGATAAGAAAGAACTAGAAAGT[C/A]CTGGGAAG GTGAGTCAAACTAAATA
CYP2C9	C_25625805_10	rs1799853	3608C>T	GATGGGGAAGAGGAGGACATTGAGGAC[C/T]GTGTTCAAG AGGAAGCCCGCTGCCT
	C_27104892_10	rs1057910	4261A>C	TGTGGTGCACGAGGTTCCAGAGATAC[C/A]TTGACCTTCT CCCCACCAAGCCTGCC

Os ensaios TaqMan® PCR foram realizados para um volume total de reação de 10 µL em uma placa para reação contendo 96 poços com os reagentes distribuídos conforme segue:

Reagentes	Volume (µL/poço)
Master Mix (2x)	5
Taqman (20x)	0,5
DNA (30ng/µL)	1
H ₂ O	3,5
	10 µL

A amplificação do PCR foi realizada utilizando o equipamento Roche LightCycler® 480, Software versão 1.5 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemanha).

A termociclagem consistiu de um ciclo de desnaturação inicial a 95°C por 10 min, 40 ciclos de amplificação a 95°C por 10 s e 60°C por 1 min e um ciclo de resfriamento a 37°C por 10 s. Em cada corrida foram realizadas análises de controle negativo. A discriminação alélica foi realizada pela medida da fluorescência final (Endpoint Genotyping Analysis) dos fluoróforos VIC® e FAM® ligados no final 5' do probe Taqman® (Applied Biosystems; Foster City, CA, USA) e analisadas utilizando o programa do fabricante.

3.8 Análise Estatística

Os testes estatísticos foram realizados com o auxílio do programa GraphPad Instat® para obtenção da média, mediana, erro padrão da média (EPM) e intervalo de confiança 95% (IC 95%).

O teste de Wilcoxon para dados pareados foi empregado na avaliação das razões enantioméricas do carvedilol e da lercanidipina diferentes da unidade e para avaliar a influência da lercanidipina na farmacocinética dos enantiômeros do carvedilol e a influência do carvedilol na farmacocinética dos enantiômeros da lercanidipina. O teste de Mann-Whitney foi empregado para comparar o GRUPO DRC com o GRUPO CONTROLE. Em todos os testes estatísticos o nível de significância foi fixado em $p \leq 5\%$.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Genotipagem da Pgp (ABCB1) e CYP2C9

Os dados de genotipagem da Pgp (ABCB1) e CYP2C9 estão apresentados na Tabela 4 para os pacientes dos Grupos DRC (n=8) e Controle (n=8).

Tabela 4. Dados individuais de genotipagem da **Pgp (ABCB1)** e **CYP2C9** dos pacientes do **GRUPO DRC** (n = 8) e do **GRUPO CONTROLE** (n=8).

Pacientes	CYP2C9			Pgp (ABCB1)	
	C=Wild type T= 2C9*2	A=Wild type C= 2C9*3	G=Wild type 2677G>T/A	C=Wild type 3435C/T	C=Wild type 1236C/T
GRUPO DRC					
1	TT	AA	GT	CT	CT
2	CC	AA	GG	CC	CC
3	CC	AC	GG	CC	CC
4	CT	AA	GT	CC	CT
5	CC	AA	GT	CT	CT
6	CC	AA	TT	CT	TT
7	CC	AA	GG	CC	CC
8	CC	AA	GG	CT	CC
GRUPO CONTROLE					
1	CC	AA	GG	TT	CC
2	CC	AC	GG	CC	CC
3	CC	AA	AT	CC	CT
4	CC	AA	GG	CC	CC
5	CT	AA	GT	CT	CT
6	CC	AC	GT	CT	CT
7	CC	AA	GG	CC	CT
8	CC	AA	GG	CC	CC

4.2 Fenotipagem do CYP2D6 e CYP3A

A fenotipagem do CYP2D6 foi avaliada através da investigação do fenótipo oxidativo tipo metoprolol em plasma e urina. Os resultados da investigação do fenótipo oxidativo tipo metoprolol estão apresentados na Tabela 5. Os pacientes do GRUPO DRC e os pacientes do GRUPO CONTROLE foram fenotipados como metabolizadores extensivos considerando que razões metabólicas (RM) de excreção urinária metoprolol/ α -hidroximetoprolol menores que 12,6 e razões de concentrações plasmáticas log metoprolol/ α -hidroximetoprolol menores que 1,5 definem o fenótipo de metabolizador extensivo (EM) (HORAI et al., 1989; SOHN et al., 1992).

Os pacientes do GRUPO DRC (n=8) e os pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8) foram fenotipados quanto a atividade do CYP3A intestinal e hepático usando o midazolam oral como fármaco marcador. Os valores de *clearance* oral (Cl/F) para o midazolam (Tabela 5) variaram de 10,2 a 33,3 ml/min/kg para os pacientes do GRUPO DRC e de 9,6 a 23,1 ml/min/kg para os pacientes do GRUPO CONTROLE. Os valores de *clearance* oral do midazolam para os pacientes investigados estão dentro do intervalo de 10-40 ml/min/kg relatado em estudos anteriores na investigação de voluntários sadios (LAMBA et al., 2002).

Tabela 5. Dados individuais de fenotipagem dos pacientes do GRUPO DRC (n = 8) e do GRUPO CONTROLE (n=8).

Pacientes	Peso Kg	AUC ^{0-∞} ng.h/mL (midazolam)	Cl/F L/h (midazolam)	Cl/F mL/min/kg (midazolam)	RM urina	log RM plasma	Fenótipo CYP2D6
GRUPO DRC							
1	87,3	280,5	53,5	10,2	4,9	0,7	EM
2	87,7	176,9	84,8	16,1	7,5	1,0	EM
3	96,0	180,9	82,9	14,4	0,5	0,1	EM
4	86,6	175,4	85,5	16,5	0,7	0,6	EM
5	83,2	177,4	84,5	16,9	5,1	1,1	EM
6	75,8	106,9	140,4	30,9	0,9	0,3	EM
7	62,8	175,4	105,0	27,9	4,6	0,9	EM
8	73,8	101,8	147,3	33,3	1,1	0,3	EM
GRUPO CONTROLE							
1	90,7	288,0	52,1	9,6	1,0	0,1	EM
2	73,1	215,9	69,5	15,9	0,7	0,2	EM
3	63,0	172,2	87,2	23,1	1,0	0,3	EM
4	98,1	208,3	72,0	12,2	0,6	-0,1	EM
5	76	227,1	66,1	14,4	0,7	0,9	EM
6	92,8	140,6	100,6	19,2	3,1	0,9	EM
7	82,7	165,1	90,8	21,5	0,2	-0,9	EM
8	77,7	149,1	100,6	21,6	0,1	0,1	EM

RM razão metabólica metoprolol/ α -hidroximetoprolol

p≤0,05 Teste de Mann Whitney Cl/F midazolam DRC vs Controle (nenhuma diferença significativa).

4.3 Farmacocinética dos enantiômeros do carvedilol total (concentração livre + concentração ligada às proteínas plasmáticas) em plasma

A disposição cinética dos enantiômeros do carvedilol nos pacientes do GRUPO DRC (n=8), em regime de monoterapia (FASE 1) ou em associação com a lercanidipina (FASE 3) está apresentada na Figura 5 (média±EPM) e na Tabela 6 (mediana, média e IC95%). Os dados mostram acúmulo plasmático do enantiômero (+)-(R)-carvedilol nas situações de monoterapia e na associação com a lercanidipina. As razões de AUC (+)-(R)/(-)-(S) foram de 2,26 na monoterapia e 2,88 na associação com a lercanidipina (dados apresentados como medianas).

Nos pacientes do GRUPO DRC, a administração de dose única de lercanidipina alterou a disposição cinética somente do enantiômero (+)-(R)-carvedilol, com observação de maiores valores de AUC e menores valores de *clearance* total aparente (Cl/F); Tabela 6.

(-)-(S)-Carvedilol

(+)-(R)-Carvedilol

Figura 5. Curvas concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros do carvedilol nos pacientes do GRUPO DRC (n=8) tratados com dose única oral de 25 mg de carvedilol racêmico, em regime de monoterapia ou em associação com dose única oral de 20 mg de lercanidipina racêmica. Dados apresentados como média $\pm$ EPM.

Tabela 6. Farmacocinética dos enantiômeros do carvedilol em pacientes do **GRUPO DRC (n = 8)** tratados com dose única de carvedilol associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).

	Carvedilol		Carvedilol + Lercanidipina	
	(+)-(R)	(-)-(S)	(+)-(R)	(-)-(S)
C_{max} (ng/mL)	23,84	8,64*	41,84	13,69*
	30,74	12,20	50,79	17,22
	(13,78-47,70)	(4,21-20,19)	(24,87-76,71)	(8,41-26,02)
t_{max} (h)	1,56	1,20*	1,37	1,26
	1,68	1,40	1,47	1,29
	(0,83-2,52)	(0,69-2,11)	(0,83-2,11)	(0,68-1,90)
K_a (h⁻¹)	1,49	1,94*	4,79	1,82*
	1,72	3,47	6,13	3,03
	(0,76-2,69)	(0,12-6,81)	(1,51-10,75)	(0,73-5,32)
α (h⁻¹)	1,07	1,07	0,50	0,86*
	1,20	1,04	0,50	0,98
	(0,34-2,06)	(0,40-1,67)	(0,34-0,66)	(0,46-1,50)
β (h⁻¹)	0,06	0,06	0,04	0,05
	0,08	0,06	0,05	0,06
	(0,02-0,14)	(0,02-0,99)	(0,03-0,07)	(0,02-0,09)
t_{1/2β} (h)	11,15	11,30	14,85	15,61
	12,95	19,40	24,85	14,75
	(6,49-19,42)	(6,45-32,35)	(1,06-48,64)	(9,06-20,44)
AUC^{0-∞} (ng.h/mL)	190,60	98,93*	242,17 ^Δ	79,33*
	230,30	99,08	384,20	107,13
	(114,63-345,98)	(64,43-133,73)	(129,19-639,20)	(42,52-171,74)
Cl/F (L/h)	65,71	128,11*	51,90 ^Δ	157,63*
	69,09	152,62	49,91	157,16
	(42,16-96,02)	(86,48-218,11)	(25,25-74,57)	(95,44-218,88)
Vd/F (L)	844,54	3372,50*	620,85	1730,90*
	943,98	3067,40	564,42	1820,77
	(432,60-1455,40)	(1510,30-4624,40)	(376,32-752,51)	(1330,50-2311,10)
AUC^{0-∞} (+)/(-)	2,26		2,88	
	2,31		3,79	
	(1,77-2,84)		(1,69-5,91)	

*(+)-(R) versus (-)-(S)-lercanidipina. Teste de Wilcoxon; p≤0,05; ^Δ lercanidipina versus lercanidipina + carvedilol. Teste de Wilcoxon; p≤0,05

A disposição cinética dos enantiômeros do carvedilol nos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8), em regime de monoterapia (FASE 1) ou em associação com a lercanidipina (FASE 3), está apresentada na Figura 6 (média±EPM) e na Tabela 7 (mediana, média e IC95%). Os dados mostram acúmulo plasmático do enantiômero (+)-(R)-carvedilol em ambas as fases do estudo. As razões de AUC (+)-(R)/(-)-(S) foram de 1,85 na monoterapia e 1,66 na associação com a lercanidipina (dados apresentados como medianas).

A administração de dose única de lercanidipina não alterou a disposição cinética de ambos os enantiômeros do carvedilol nos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8); Tabela 7.

(-)-(S)-Carvedilol

(+)-(R)-Carvedilol

Figura 6. Curvas concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros do carvedilol nos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8) tratados com dose única oral de 25 mg de carvedilol racêmico, em regime de monoterapia ou em associação com dose única oral de 20 mg de lercanidipina racêmica. Dados apresentados como média $\pm$ EPM.

Tabela 7. Farmacocinética dos enantiômeros do carvedilol nos pacientes do **GRUPO CONTROLE (n = 8)** tratados com dose única de carvedilol associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).

	Carvedilol		Carvedilol + Lercanidipina	
	(+)-(R)	(-)-(S)	(+)-(R)	(-)-(S)
Cmax (ng/mL)	16,25	9,11	34,59	10,91*
	25,38	12,01	40,49	18,04
	(10,09-40,66)	(4,57-19,45)	(10,59-70,38)	(4,91-31,16)
tmax (h)	1,10	1,17	1,05	1,04
	1,17	1,07	1,12	1,13
	(0,87-1,48)	(0,82-,32)	(0,73-1,51)	(0,62-1,64)
Ka (h⁻¹)	2,54	10,16	3,89	2,45
	4,38	7,89	6,71	4,43
	(0,28-9,05)	(3,14-12,65)	(1,45-11,97)	(0,65-8,23)
α (h⁻¹)	0,60	0,83	0,50	0,63
	0,69	0,80	0,52	0,89
	(0,37-1,02))	(0,52-1,09)	(0,42-0,61)	(0,40-1,42)
β (h⁻¹)	0,04	0,06	0,06	0,05
	0,10	0,06	0,06	0,06
	(0,01-0,18)	(0,03-0,09)	(0,04-0,08)	(0,04-0,08)
t1/2β (h)	18,31	10,57	10,84	16,00
	16,59	19,64	12,44	15,46
	(5,53-27,65)	(1,47-37,81)	(7,44-17,44)	(11,16-19,77)
AUC^{0-∞} (ng.h/mL)	142,60	63,61*	143,20	52,89*
	160,92	80,01	181,60	96,65
	(70,21-251,63)	(38,68-121,34)	(59,51-303,69)	(24,50-168,80)
Cl/F (L/h)	87,66	201,25*	96,60	240,49*
	118,25	213,80	113,83	200,42
	(50,97-185,53)	(112,84-314,75)	(49,63-178,03)	(113,87-286,97)
Vd/F (L)	1454,70	2625,80*	584,81	1809,50*
	1718,20	3817,80	1564,30	3010,40
	(528,58-2907,70)	(745,39-6890,30)	(55,14-3183,70)	(775,27-5245,40)
AUC^{0-∞} (+)/(-)	1,85		1,66	
	1,95		1,96	
	(1,61-2,31)		(1,36-2,56)	

*(+)-(R) versus(-)-(S)-carvedilol; ^Δcarvedilol versus carvedilol + lercanidipina (nenhuma diferença significativa).
Teste de Wilcoxon; p≤0,05

As Tabelas 8 e 9 mostram a comparação do GRUPO DRC (n=8) com o GRUPO CONTROLE (n=8), respectivamente para os enantiômeros (+)-(R)-carvedilol e (-)-(S)-carvedilol, nas situações de monoterapia ou em associação com a lercanidipina. Os dados

mostram que a DRC não altera a disposição cinética de ambos os enantiômeros do carvedilol, nas situações de monoterapia ou em associação com a lercanidipina.

Tabela 8. Farmacocinética do enantiômero (+)-(R)-carvedilol nos pacientes do **GRUPO CONTROLE** (n=8) e **GRUPO DRC** (n=8) tratados com dose única oral de carvedilol associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).

	Carvedilol		Carvedilol + Lercanidipina	
	Grupo Controle	Grupo DRC	Grupo Controle	Grupo DRC
C_{max}	16,25	23,84	34,59	41,84
(ng/mL)	25,38	30,74	40,49	50,79
	(10,09-40,66)	(13,78-47,70)	(10,59-70,38)	(24,87-76,71)
t_{max} (h)	1,10	1,56	1,05	1,37
	1,17	1,68	1,12	1,47
	(0,87-1,48)	(0,83-2,52)	(0,73-1,51)	(0,83-2,11)
K_a (h⁻¹)	2,54	1,49	3,89	4,79
	4,38	1,72	6,71	6,13
	(0,28-9,05))	(0,76-2,69)	(1,45-11,97)	(1,51-10,75)
α (h⁻¹)	0,60	1,07	0,50	0,50
	0,69	1,20	0,52	0,50
	(0,37-1,02))	(0,34-2,06)	(0,42-0,61)	(0,34-0,66)
β (h⁻¹)	0,04	0,06	0,06	0,04
	0,10	0,08	0,06	0,05
	(0,01-0,18)	(0,02-0,14)	(0,04-0,08)	(0,03-0,07)
t_{1/2β} (h)	18,31	11,15	10,84	14,85
	16,59	12,95	12,44	24,85
	(5,53-27,65)	(6,49-19,42)	(7,44-17,44)	(1,06-48,64)
AUC	142,60	190,60	143,20	242,17
(ng.h/mL)	160,92	230,30	181,60	384,20
	(70,21-251,63)	(114,63-345,98)	(59,51-303,69)	(129,19-639,20)
Cl/F (L/h)	87,66	65,71	96,60	51,90
	118,25	69,09	113,83	49,91
	(50,97-185,53)	(42,16-96,02)	(49,63-178,03)	(25,25-74,57)
V_d/F (L)	1454,70	844,54	584,81	620,85
	1718,20	943,98	1564,30	564,42
	(528,58-2907,70)	(432,60-1455,40)	(55,14-3183,70)	(376,32-752,51)

[#]Grupo Controle *versus* GRUPO DRC; Teste Mann-Whitney: p≤0,05 (nenhuma diferença significativa)

Tabela 9. Farmacocinética do enantiômero (-)-(S)-carvedilol nos pacientes do **GRUPO CONTROLE (n=8)** e **GRUPO DRC (n=8)** tratados com dose única oral de carvedilol associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).

	Carvedilol		Carvedilol + Lercanidipina	
	Grupo Controle	Grupo DRC	Grupo Controle	Grupo DRC
C_{max}	9,11	8,64	10,91	13,69
(ng/mL)	12,01	12,20	18,04	17,22
	(4,57-19,45)	(4,21-20,19)	(4,91-31,16)	(8,41-26,02)
t_{max} (h)	1,17	1,20	1,04	1,26
	1,07	1,40	1,13	1,29
	(0,82-1,32)	(0,69-2,11)	(0,62-1,64)	(0,68-1,90)
K_a (h⁻¹)	10,16	1,94	2,45	1,82
	7,89	3,47	4,43	3,03
	(3,14-12,65)	(0,12-6,81)	(0,65-8,23)	(0,73-5,32)
α (h⁻¹)	0,83	1,07	0,63	0,86
	0,80	1,04	0,89	0,98
	(0,52-1,09)	(0,40-1,67)	(0,40-1,42)	(0,46-1,50)
β (h⁻¹)	0,06	0,06	0,05	0,05
	0,06	0,06	0,06	0,06
	(0,03-0,09)	(0,02-0,99)	(0,04-0,08)	(0,02-0,09)
t_{1/2β} (h)	10,57	11,30	16,00	15,61
	19,64	19,40	15,46	14,75
	(1,47-37,81)	(6,45-32,35)	(11,16-19,77)	(9,06-20,44)
AUC	63,61	98,93	52,89	79,33
(ng.h/mL)	80,01	99,08	96,65	107,13
	(38,68-121,34)	(64,43-133,73)	(24,50-168,80)	(42,52-171,74)
Cl/F (L/h)	201,25	128,11	240,49	157,63
	213,80	152,62	200,42	157,16
	(112,84-314,75)	(86,48-218,11)	(113,87-286,97)	(95,44-218,88)
Vd/F (L)	2625,80	3372,50	1809,50	1730,90
	3817,80	3067,40	3010,40	1820,77
	(745,39-6890,30)	(1510,30-4624,40)	(775,27-5245,40)	(1330,50-2311,10)

#Grupo CONTROLE *versus* GRUPO DRC; Teste Mann-Whitney: p≤0,05 (nenhuma diferença significativa)

4.4 Farmacocinética dos enantiômeros do carvedilol livre (concentração não ligada às proteínas plasmáticas) em plasma

As concentrações plasmáticas do carvedilol livre foram avaliadas, empregando o método da ultrafiltração, nas amostras referentes à concentração plasmática máxima ($C_{\max}$) do carvedilol para cada paciente investigado (GRUPO CONTROLE e GRUPO DRC). As concentrações plasmáticas de carvedilol livre não foram quantificadas em nenhuma das amostras analisadas em razão de estarem abaixo do limite de quantificação do método de 0,2 ng de cada enantiômero do carvedilol/mL de plasma.

4.5 Farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) do enantiômero (-)-(S)-carvedilol em função da variação da frequência cardíaca no teste de esforço isométrico com o *handgrip*

A Tabela 10 (mediana, média, IC95%) mostra para os pacientes do GRUPO DRC (n=8) os parâmetros obtidos na avaliação farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) relacionando as concentrações plasmáticas do (-)-(S)-carvedilol em função da variação da frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico com o *handgrip*. Os parâmetros $E_{\max}$, EC_{50} e δ não mostram diferenças com significância estatística ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos carvedilol e carvedilol associado a lercanidipina para os pacientes do GRUPO DRC.

Tabela 10. Farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) relacionando as concentrações plasmáticas do **(-)-(S)-carvedilol** em função da variação da frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico com o *handgrip* em pacientes do **GRUPO DRC (n =8)** tratados com dose única de carvedilol racêmico associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).

Parâmetro	Carvedilol	carvedilol + lercanidipina
	12,61	16,42
E_{max} (bpm)	13,89	17,76
	(8,67-19,10)	(14,12-21,39)
	2,78	11,89
EC₅₀ (ng/mL)	4,74	13,27
	(0,14-9,34)	(8,16-18,37)
	1,45	0,75
γ	2,79	1,83
	(0,11-5,46)	(0,95-4,61)
	0,27	0,35
Ke0 (1/ng/mL)	0,68	0,67
	(0,33-1,68)	(0,07-1,41)

Δ carvedilol vs carvedilol + lercanidipina; Teste de Wilcoxon $p \leq 0,05$ (nenhuma diferença significativa);

E_{max} efeito máximo; EC₅₀ concentração plasmática no compartimento de efeito a 50% do efeito máximo; γ coeficiente de Hill ; Ke0 constante de velocidade de transferência para o compartimento do efeito

Os parâmetros obtidos na avaliação farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) para os pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8) estão apresentados na Tabela 11 como mediana, média e (IC95%). Os parâmetros E_{max}, EC₅₀ e γ não mostram diferenças com significância estatística ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos carvedilol e carvedilol associado a lercanidipina para os pacientes do GRUPO CONTROLE.

Tabela 11. Farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) relacionando as concentrações plasmáticas do (-)-(S)-carvedilol em função da variação da frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico com o *handgrip* em pacientes do **GRUPO CONTROLE (n =8)** tratados com dose única de carvedilol racêmico associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).

Parâmetro	Carvedilol	carvedilol + lercanidipina
	8,05	8,97
E_{max} (bpm)	9,06	10,31
	(5,81-12,32)	(4,45-16,17)
	5,51	7,78
EC₅₀ (ng/mL)	6,93	8,20
	(2,31-11,56)	(2,12-14,29)
	1,58	1,18
γ	3,21	4,06
	(0,02-6,44)	(0,11-8,01)
	1,35	0,61
Ke0 (1/ng/mL)	3,79	1,11
	(0,05-7,53)	(0,08-2,30)

Δ carvedilol vs carvedilol + lercanidipina); Teste de Wilcoxon $p \leq 0,05$ (nenhuma diferença significativa)

E_{max} efeito máximo; EC₅₀ concentração plasmática no compartimento de efeito a 50% do efeito máximo; γ coeficiente de Hill ; Ke0 constante de velocidade de transferência para o compartimento do efeito

A Tabela 12 mostra a comparação entre o GRUPO DRC (n=8) e o GRUPO CONTROLE (n=8) para os parâmetros obtidos na avaliação PK-PD relacionando as concentrações plasmáticas do (-)-(S)-carvedilol em função da variação da frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico com o *handgrip*. O parâmetro EC₅₀ é maior ($p \leq 0,05$) no GRUPO DRC quando comparado ao GRUPO CONTROLE (11,89 vs 7,78 ng/mL) na situação de administração do carvedilol em associação com a lercanidipina.

Tabela 12. Farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) relacionando as concentrações plasmáticas do (-)-(S)-**carvedilol** em função da variação da frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico com o *handgrip* em pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8) e GRUPO DRC (n =8) tratados com dose única de carvedilol racêmico associado ou não a lercanidipina. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).

Parâmetro	carvedilol		carvedilol + lercanidipina	
	CONTROLE	DRC	CONTROLE	DRC
E_{max} (bpm)	8,05	12,61	8,97	16,42
	9,06 (5,81-12,32)	13,89 (8,67-19,10)	10,31 (4,45-16,17)	17,76 (14,12-21,39)
EC₅₀ (ng/mL)	5,51	2,78	7,78	11,89*
	6,93 (2,31-11,56)	4,74 (0,14-9,34)	8,20 (2,12-14,29)	13,27 (8,16-18,37)
γ	1,58	1,45	1,18	0,75
	3,21 (0,02-6,44)	2,79 (0,11-5,46)	4,06 (0,11-8,01)	1,83 (0,95-4,61)
Ke₀ (1/ng/mL)	1,35	0,27	0,61	0,35
	3,79 (0,05-7,53)	0,68 (0,33-1,68)	1,11 (0,08-2,30)	0,67 (0,07-1,41)

*CONTROLE *versus* DRC; Teste de Mann-Whitney; $p \leq 0,05$

4.6 Farmacocinética dos enantiômeros da lercanidipina em plasma

A Figura 7 e a Tabela 13 mostram para os pacientes do GRUPO DRC (n=8) a disposição cinética dos enantiômeros da lercanidipina, em regime de monoterapia (FASE 2) ou em associação com o carvedilol (FASE 3). Os dados mostram que na situação de monoterapia a concentração plasmática máxima (C_{max}) do enantiômero (S)-lercanidipina é maior que a do enantiômero (R)-lercanidipina, enquanto o clearance aparente (Cl/F) do enantiômero (S)-lercanidipina é menor que a do enantiômero (R)-lercanidipina. O volume aparente de distribuição (Vd/F) do enantiômero (R)-lercanidipina é maior do que o do (S)-lercanidipina quando a lercanidipina é administrada como monoterapia (FASE 3) ou em associação com o carvedilol (FASE 3). A administração de dose única de 25 mg de carvedilol racêmico aos pacientes do GRUPO DRC alterou a disposição cinética somente do enantiômero (S)-lercanidipina, com observações de maior valor de AUC (14,75 vs 8,92 ng.h/mL) e menor valor de Cl/F (656,17 vs 1102,60 L/h); Tabela 13.

A disposição cinética dos enantiômeros da lercanidipina para os pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8), em regime de monoterapia (FASE 2) ou em associação com o carvedilol (FASE 3), está apresentada na Figura 8 (média $\pm$ EPM) e na Tabela 14 como mediana, média e IC95%. Os dados mostram que o tempo para atingir C_{max} (t_{max}), o clearance aparente (Cl/F) e o volume aparente de distribuição (Vd/F) do enantiômero (R)-lercanidipina são maiores do que aqueles observados para o enantiômero (S)-lercanidipina, nas situações de monoterapia e em associação com o carvedilol.

(S)-Lercanidipina

(R)-Lercanidipina

Figura 7. Curvas concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros da lercanidipina nos pacientes do GRUPO DRC (n=8) tratados com dose única oral de 20 mg de lercanidipina racêmica, em regime de monoterapia ou em associação com dose única oral de 25 mg de carvedilol racêmico. Dados apresentados como média $\pm$ EPM.

Tabela 13. Farmacocinética dos enantiômeros da lercanidipina nos pacientes do GRUPO DRC (n = 8) tratados com dose única de lercanidipina associada ou não ao carvedilol. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).

	Lercanidipina		Lercanidipina + Carvedilol	
	(S)- lercanidipina	(R)- lercanidipina	(S)- lercanidipina)	(R)- lercanidipina
C_{max}	1,04	0,78*	1,63	1,18
(ng/mL)	1,36	0,84	1,57	1,16
	(0,39-2,33)	(0,50-1,18)	(0,71-2,43)	(0,73-1,57)
t_{max} (h)	1,73	2,05	1,72	1,58
	1,99	2,20	1,77	1,94
	(1,00-2,98)	(1,13-3,27)	(1,27-2,26)	(1,19-2,70)
K_a (h⁻¹)	1,61	0,46	1,51	1,64
	2,09	1,91	1,95	1,82
	(0,60-3,58)	(0,46-3,36)	(1,06-2,840)	(0,85-2,80)
K_{el} (h⁻¹)	0,16	0,15	0,11 ^Δ	0,12
	0,16	0,15	0,12	0,12
	(0,13-0,19)	(0,10-0,19)	(0,09-0,14)	(0,09-0,16)
t_{1/2} (h)	4,30	4,73	6,11	5,88
	4,50	5,77	6,38	6,21
	(3,49-5,50)	(2,39-9,16)	(4,82-7,940)	(4,40-8,03)
AUC^{0-∞}	8,92	7,55	14,75 ^Δ	11,26
(ng.h/mL)	10,69	7,99	20,25	12,66
	(5,36-16,02)	(6,00-9,98)	(5,12-35,39)	(7,37-17,95)
Cl/F (L/h)	1102,60	1265,80*	656,17 ^Δ	839,08
	1093,50	1270,00	743,47	906,70
	(709,27-1477,80)	(964,00-1575,80)	(347,09-1139,80)	(562,97-1250,40)
V_d/F (L)	7054,80	9124,50*	4243,60	6584,10*
	7291,10	11107,80	5328,10	8142,00
	(4090,40-10492,00)	(3460,90-18753,00)	(2055,60-8600,50)	(4007,20-12277,00)
AUC^{0-∞}_{S/R}	1,13		1,21	
	1,31		1,75	
	(0,89-1,73)		(0,30-3,20)	

* (R) *versus* (S)-lercanidipina; ^Δ lercanidipina *versus* lercanidipina + carvedilol. Teste de Wilcoxon; p≤0,05

(S)-Lercanidipina

(R)-Lercanidipina

Figura 8. Curvas concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros da lercanidipina nos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8) tratados com dose única oral de 20 mg de lercanidipina racêmica, em regime de monoterapia ou em associação com dose única oral de 25 mg de carvedilol racêmico. Dados apresentados como média $\pm$ EPM.

Tabela 14. Farmacocinética dos enantiômeros da lercanidipina nos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8) tratados com dose única de lercanidipina associada ou não ao carvedilol. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).

	Lercanidipina		lercanidipina + carvedilol	
	(S)- lercanidipina	(R)- Lercanidipina	(S)- Lercanidipina	(R)- lercanidipina
Cmax	1,52	0,96*	2,13	1,90*
(ng/mL)	1,54	1,17	2,33	1,84
	(0,83-2,24)	(0,50-1,83)	(1,29-3,37)	(0,80-2,88)
tmax (h)	1,78	2,42*	1,31	1,61*
	1,98	2,56	1,53	1,87
	(1,26-2,70)	(1,76-3,37)	(0,79-2,27)	(0,81-2,93)
Ka (h⁻¹)	1,27	0,88	1,98	1,56
	1,45	1,02	2,39	2,07
	(0,69-2,21)	(0,50-1,55)	(0,85-3,93)	(0,80-3,33)
Kel (h⁻¹)	0,17	0,14	0,16	0,16
	0,18	0,15	0,18	0,17
	(0,13-0,24)	(0,11-0,20)	(0,12-0,25)	(0,11-0,24))
t_{1/2} (h)	4,02	4,98	4,35	4,49
	4,10	5,04	4,38	4,71
	(3,15-5,05)	(3,63-6,45)	(3,02-5,75)	(3,06-6,35)
AUC^{0-∞}	12,72	10,37	15,43	10,18
(ng.h/mL)	12,36	12,10	10,18	15,15
	(7,69-17,02)	(4,19-20,02)	(10,12-25,07)	(7,15-23,15)
Cl/F (L/h)	771,46	922,18*	631,47	953,05*
	928,93	1126,90	640,12	813,42
	(568,14-1289,70)	(595,17-1658,70)	(435,71-844,52)	(517,03-1109,80)
Vd/F (L)	4693,70	6809,40*	3100,90	3555,10*
	5721,60	8059,20	4022,00	5650,30
	(2976,60-8466,60)	(3646,80-12472,00)	(1990,00-6054,10)	(2214,90-9085,60)
AUC^{0-∞}_{S/R}	1,22		1,25	
	1,16		1,24	
	(0,96-1,37)		(1,03-1,45)	

* (R) *versus* (S)-lercanidipina; ^A lercanidipina *versus* lercanidipina + carvedilol. Teste de Wilcoxon; p≤0,05

As Tabelas 15 e 16, mostram a comparação do GRUPO DRC (n=8) com o GRUPO CONTROLE (n=8), respectivamente para os enantiômeros (S)-lercanidipina e (R)-lercanidipina, nas situações de monoterapia ou em associação com o carvedilol. Os dados mostram que a DRC não altera a disposição cinética de ambos os enantiômeros da lercanidipina, nas situações de monoterapia ou em associação com o carvedilol.

Tabela 15. Farmacocinética do enantiômero **(S)-lercanidipina** nos pacientes do **GRUPO CONTROLE (n = 8)** e **GRUPO DRC (n=8)** tratados com dose única de lercanidipina associada ou não ao carvedilol. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).

	Lercanidipina		lercanidipina+carvedilol	
	Grupo Controle	Grupo DRC	Grupo Controle	Grupo DRC
C_{max}	1,52	1,04	2,13	1,63
(ng/mL)	1,54	1,36	2,33	1,57
	(0,83-2,24)	(0,39-2,33)	(1,29-3,37)	(0,71-2,43)
t_{max} (h)	1,78	1,73	1,31	1,72
	1,98	1,99	1,53	1,77
	(1,26-2,70)	(1,00-2,98)	(0,79-2,27)	(1,27-2,26)
K_a (h⁻¹)	1,27	1,61	1,98	1,51
	1,45	2,09	2,39	1,95
	(0,69-2,21)	(0,60-3,58)	(0,85-3,93)	(1,06-2,840)
K_{el} (h⁻¹)	0,17	0,16	0,16	0,11
	0,18	0,16	0,18	0,12
	(0,13-0,24)	(0,13-0,19)	(0,12-0,25)	(0,09-0,14)
t_{1/2} (h)	4,02	4,30	4,35	6,11
	4,10	4,50	4,38	6,38
	(3,15-5,05)	(3,49-5,50)	(3,02-5,75)	(4,82-7,940)
AUC^{0-∞}	12,72	8,92	15,43	14,75
(ng.h/mL)	12,36	10,69	10,18	20,25
	(7,69-17,02)	(5,36-16,02)	(10,12-25,07)	(5,12-35,39)
Cl/F (L/h)	771,46	1102,60	631,47	656,17
	928,93	1093,50	640,12	743,47
	(568,14-1289,70)	(709,27-1477,80)	(435,71-844,52)	(347,09-1139,80)
Vd/F (L)	4693,70	7054,80	3100,90	4243,60
	5721,60	7291,10	4022,00	5328,10
	(2976,60-8466,60)	(4090,40-10492,00)	(1990,00-6054,10)	(2055,60-8600,50)

[#]Grupo CONTROLE *versus* GRUPO DRC; Teste Mann-Whitney: p≤0,05 (nenhuma diferença significativa).

Tabela 16. Farmacocinética do enantiômero **(R)-lercanidipina** nos pacientes do **GRUPO CONTROLE (n =8)** e **GRUPO DRC (n=8)** tratados com dose única de lercanidipina associada ou não ao carvedilol. Dados apresentados como mediana, média (IC95%).

	Lercanidipina		Lercanidipina+Carvedilol	
	Grupo Controle	Grupo DRC	Grupo Controle	Grupo DRC
C_{max}	0,96	0,78	1,90	1,18
(ng/mL)	1,17	0,84	1,84	1,16
	(0,50-1,83)	(0,50-1,18)	(0,80-2,88)	(0,73-1,57)
t_{max} (h)	2,42	2,05	1,61	1,58
	2,56	2,20	1,87	1,94
	(1,76-3,37)	(1,13-3,27)	(0,81-2,93)	(1,19-2,70)
K_a (h⁻¹)	0,88	0,46	1,56	1,64
	1,02	1,91	2,07	1,82
	(0,50-1,55)	(0,46-3,36)	(0,80-3,33)	(0,85-2,80)
K_{el} (h⁻¹)	0,14	0,15	0,16	0,12
	0,15	0,15	0,17	0,12
	(0,11-0,20)	(0,10-0,19)	(0,11-0,24))	(0,09-0,16)
t_{1/2} (h)	4,98	4,73	4,49	5,88
	5,04	5,77	4,71	6,21
	(3,63-6,45)	(2,39-9,16)	(3,06-6,35)	(4,40-8,03)
AUC^{0-∞}	10,37	7,55	10,18	11,26
(ng.h/mL)	12,10	7,99	15,15	12,66
	(4,19-20,02)	(6,00-9,98)	(7,15-23,15)	(7,37-17,95)
Cl/F (L/h)	922,18	1265,80	953,05	839,08
	1126,90	1270,00	813,42	906,70
	(595,17-1658,70)	(964,00-1575,80)	(517,03-1109,80)	(562,97-1250,40)
V_d/F (L)	6809,40	9124,50	3555,10	6584,10
	8059,20	11107,80	5650,30	8142,00
	(3646,80-12472,00)	(3460,90-18753,00)	(2214,90-9085,60)	(4007,20-12277,00)

[#]Grupo CONTROLE *versus* GRUPO DRC; Teste Mann-Whitney: p≤0,05 (nenhuma diferença significativa).

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

A DRC pode alterar a disposição cinética dos fármacos eliminados por excreção renal como também dos fármacos eliminados por metabolismo hepático. A retenção dos produtos finais do metabolismo pode alterar a atividade de enzimas hepáticas com conseqüente indução ou inibição do metabolismo hepático (CHURCHWELL; MUELLER, 2007; DREISBACH; LERTORA, 2008). A DRC também afeta a expressão de transportadores de fármacos tais como a P-gp em função das alterações nos níveis de proteína ou mRNA causadas por toxinas urêmicas e citocinas proinflamatórias (NAUD et al., 2007; NAUD et al., 2008).

A interação carvedilol-lercanidipina foi avaliada em pacientes hipertensos portadores de função renal normal (GRUPO CONTROLE, n=8) e em pacientes portadores de doença renal crônica estágios 3 e 4, de acordo com a classificação K/DOQI (GRUPO DRC, n=8).

Os pacientes com DRC e os pacientes do grupo controle foram tratados com dose única de carvedilol (FASE 1), lercanidipina (FASE 2) ou carvedilol associado a lercanidipina (FASE 3), em estudo cruzado randomizado. As concentrações plasmáticas dos enantiômeros da lercanidipina e do carvedilol foram avaliadas com base em métodos enantiosseletivos empregando LC-MS/MS desenvolvidos e validados em estudos anteriores do grupo (JABOR et al., 2003; POGGI et al., 2012).

As variantes genéticas do CYP2D6 estão relacionadas dentre os fatores que alteram as concentrações plasmáticas dos enantiômeros do carvedilol e, portanto, influenciam sua eficácia e segurança. Com base nos dados reportados por Giessmann et al. (2004), as concentrações plasmáticas de carvedilol no estado de equilíbrio são maiores em pacientes fenotipados como metabolizadores lentos para o CYP2D6 quando comparadas aos pacientes fenotipados como metabolizadores rápidos (3,3 vezes maiores para o (-)-(S)-carvedilol e 2,4 vezes para o (+)-(R)-carvedilol). Considerando que o CYP2D6 metaboliza preferencialmente o enantiômero (-)-(S)-carvedilol (GIESSMANN et al.; 2004; SAITO et al., 2010), foram investigados somente pacientes fenotipados como metabolizadores rápidos para o CYP2D6 com base nas razões metabólicas metoprolol/ α -hidroximetoprolol em urina menores que 12,6 e razões metabólicas log metoprolol/ α -hidroximetoprolol em plasma menores que 1,5; (Tabela 5) (HORAI et al., 1989; SOHN et al., 1992). Também foram incluídos na investigação somente os pacientes com atividade normal do CYP3A com base nos valores de clearance oral do midazolam entre 10-40 ml/min/kg (Tabela 5) (LAMBA et al., 2002), considerando que a

lercanidipina sofre extenso metabolismo de primeira passagem dependente do CYP3A (McCLELLAN; JARVIS, 2000).

Os valores de clearance oral do midazolam, um marcador do CYP3A hepático e intestinal e não substrato de Pgp e OATP hepática, não diferiram entre os GRUPOS CONTROLE e DRC (Tabela 5). Momper, Venkataramanan e Nolin (2010) relatam que a biodisponibilidade oral de vários substratos do CYP3A é aumentada em pacientes com doença renal crônica, mas o mecanismo ainda é contraditório em termos do envolvimento do CYP3A e de transportadores como a Pgp intestinal e a OATP hepática. Nolin et al. (2009) relatam que o clearance do midazolam não é alterado em pacientes em hemodiálise e que portanto é improvável que ocorra alteração na atividade do CYP3A hepático. Os autores ainda relatam que a redução observada no clearance da fexofenadina em pacientes em hemodiálise poderia ser explicada em função da redução na atividade da Pgp intestinal.

Os grupos investigados também podem ser considerados homogêneos em termos do genótipo do CYP2C9, uma enzima envolvida preferencialmente no metabolismo do enantiômero (-)-(S)-carvedilol (GIESSMANN et al., 2004; SAITO et al., 2010). Os pacientes do GRUPO CONTROLE foram genotipados como CYP2C9*1*1 (62,5%), CYP2C9*1*2 (12,5%) e CYP2C9*1*3 (25%), enquanto os pacientes do GRUPO DRC foram genotipados como CYP2C9*1*1 (62,5%), CYP2C9*1*2 (12,5%), CYP2C9*2*2 (12,5%) e CYP2C9*1*3 (12,5%); Tabela 4. Botton et al. (2011) relatam que na investigação de 279 pacientes brasileiros com ancestrais europeus, 65,2% dos pacientes foram genotipados como CYP2C9*1*1, 22,9% como CYP2C9*1*2, 1,1% como CYP2C9*2*2 e 9% como CYP2C9*1*3. O alelo CYP2C9*3 influencia a ligação de substratos e está relacionado com acentuada redução na atividade da enzima, no entanto, o alelo CYP2C9*2 não altera ou mostra apenas redução moderada na atividade da enzima (KIRCHHEINER et al., 2003).

O gene ABCB1 codifica a Pgp, uma proteína transportadora de efluxo que modula a farmacocinética de seus substratos, tais como o carvedilol considerado substrato e também inibidor da P-gp (KAKUMOTO et al., 2003; GIESSMANN et al., 2004; AMIOKA et al., 2007) e a lercanidipina como potencial inibidor da P-gp (KLOTZ, 2002). A frequência da variante alélica C3435T foi de 50% no GRUPO DRC e 38% no GRUPO CONTROLE (Tabela 4), dados de acordo com estudos da população brasileira de frequência da variante alélica C3435T de 43,2% em descendentes caucasianos e de 51,4% em descendentes ameríndios (SANTOS et al., 2011).

A farmacocinética do carvedilol administrado como monoterapia em dose única oral aos pacientes portadores de DRC é enantiosseletiva com acúmulo plasmático do enantiômero

(+)-(R)-carvedilol e razões enantioméricas (+)-(R)/(-)-(S) de área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo (AUC_R/AUC_S) de 2,3 (Tabela 6). Os dados obtidos estão de acordo com Zhou e Wood (1995) na investigação de voluntários sadios fenotipados como metabolizadores extensivos da debrisoquina com relatos de valores de 2,2. Neugebauer et al. (1990) reportam razões AUC_R/AUC_S de 2,26 na investigação de voluntários sadios não fenotipados quanto a atividade do CYP2D6. Os dados obtidos podem ser explicados em função da maior biodisponibilidade do enantiômero (+)-(R)-carvedilol (31,1 vs 15,1%) em voluntários sadios tratados com o fármaco racêmico (NEUGEBAUER et al., 1990).

Os valores de *clearance* aparente do carvedilol administrado como monoterapia em dose única aos pacientes com DRC, 65,71 vs 128,11 L/h respectivamente para os enantiômeros (+)-(R) e (-)-(S)-carvedilol (Tabela 6), são menores do que aqueles relatados por Zhou et al. (1995) na investigação de voluntários sadios fenotipados como metabolizadores rápidos da debrisoquina (119,2 vs 215,4 L/h). Gehr, (1999) relatam que pacientes com doença renal grave (*clearance* da creatinina ≤ 30 mL/min) tratados com dose única oral de carvedilol racêmico mostram aumento nos valores de AUC de aproximadamente 40% para o enantiômero (+)-(R)-carvedilol e aumento $< 20\%$ para o enantiômero (-)-(S)-carvedilol. Os dados permitem inferir que a DRC reduz de maneira preponderante a capacidade de metabolismo do (+)-(R)-carvedilol e que provavelmente diferentes isoformas do CYP estão envolvidas no metabolismo de ambos os enantiômeros do carvedilol. No entanto, alterações na atividade de proteínas transportadoras do carvedilol em pacientes com DRC também podem estar envolvidas nos mecanismos responsáveis pelo acúmulo plasmático preponderante para o enantiômero (+)-(R)-carvedilol (DREISBACH, 2009). Em voluntários sadios a fração livre do (-)-(S)-carvedilol no plasma é maior do que a do (+)-(R)-carvedilol (0,0063 vs 0,0045) (FUJIMAKI et al., 1990). Considerando que a ligação de fármacos às proteínas plasmáticas pode ser reduzida em pacientes com DRC (CHURCHWELL; MUELLER, 2007), a possibilidade de alterações diferenciais entre os enantiômeros do carvedilol na ligação às proteínas plasmáticas também pode ser um mecanismo de relevância para explicar a redução preponderante do *clearance* do enantiômero (+)-(R)-carvedilol nos pacientes investigados.

A administração de dose única de 20 mg de lercanidipina modifica de maneira enantiosseletiva a disposição cinética do carvedilol em pacientes portadores de DRC. Os dados apresentados na Tabela 6 mostram que a lercanidipina modifica apenas a disposição cinética do enantiômero (+)-(R)-carvedilol, destituído de atividade β -bloqueadora mas equípote ao enantiômero (-)-(S)-carvedilol em termos do bloqueio α -adrenérgico

(BARTSCH et al., 1990), com observações de aumento da área sob a curva concentração plasmática vs tempo (190,60 vs 242,17 ng.h/mL) e redução do *clearance* aparente (65,71 vs 51,90 L/h).

A farmacocinética dos enantiômeros do carvedilol no GRUPO CONTROLE, à semelhança do GRUPO DRC, também é enantiosseletiva com observação de maiores concentrações plasmáticas do enantiômero (+)-(R)-carvedilol e razões enantioméricas de AUC (+)-(R)-(-)-(S) de 1,9 na monoterapia e 1,7 na associação com a lercanidipina (Tabela 7). O *clearance* total aparente do (+)-(R)-carvedilol é menor que o do (-)-(S)-carvedilol tanto na monoterapia (87,66 vs 201,25 L/h) quanto na associação com a lercanidipina (96,60 vs 240,49 L/h). O volume aparente de distribuição do (+)-(R)-carvedilol também é menor que o do (-)-(S)-carvedilol tanto na monoterapia (1454,70 vs 2625,80 L) quanto na associação com a lercanidipina (584,81 vs 1809,50 L). Os maiores valores de volume aparente de distribuição para o enantiômero (-)-(S)-carvedilol podem ser explicados em função da alta ligação do carvedilol às proteínas plasmáticas (98-99%) e da maior fração livre do (-)-(S)-carvedilol no plasma (1,4 vezes maior que a do (+)-(R)-carvedilol) (FUJIMAKI et al., 1990).

A administração de dose única oral de 20 mg de lercanidipina racêmica não alterou a farmacocinética de ambos os enantiômeros do carvedilol nos pacientes do GRUPO CONTROLE (Tabela 7), mas reduziu o *clearance* total aparente (65,71 vs 51,90 L/h) e aumentou a AUC (190,60 vs 242,17 ng.h/mL) do enantiômero (+)-(R)-carvedilol nos pacientes do GRUPO DRC (Tabela 6), inferindo diferenças na interação carvedilol-lercanidipina entre pacientes com função renal normal e pacientes com DRC. Os dados podem ser explicados em função do carvedilol agir como substrato da Pgp e a lercanidipina como provável inibidor da Pgp presente nos enterócitos. Ressalta-se ainda que diferentes sítios de ligação na P-gp para diferentes enantiômeros poderiam explicar a enantiosseletividade na atividade da proteína transportadora (CHOONG et al., 2010). O acúmulo de toxinas urêmicas contribui na redução do *clearance* não renal de fármacos, provavelmente em função da redução na atividade de transportadores como a Pgp intestinal e a OATP hepática, e não em função da redução da atividade do CYP3A inicialmente proposta (MOMPER; VENKATARAMANAN; NOLIN, 2010). Logo, é provável que no presente estudo a administração de dose única de 20 mg de lercanidipina racêmica aos pacientes do GRUPO DRC reduziu o *clearance* total aparente e aumentou a $AUC^{0-\infty}$ do enantiômero (+)-(R)-carvedilol em função do aumento da biodisponibilidade oral do enantiômero, conseqüente da inibição da Pgp intestinal, ou seja, a DRC e a lercanidipina contribuíram para a redução na atividade da Pgp intestinal. No entanto, para os pacientes do GRUPO CONTROLE com

atividade normal da Pgp intestinal, a administração de 20 mg de lercanidipina racêmica não foi suficiente para a observação de alterações na atividade da Pgp intestinal.

Consequentemente, a hipótese proposta no projeto inicial da lercanidipina agir como inibidor da Pgp e resultar em maiores concentrações plasmáticas de carvedilol no GRUPO CONTROLE mas não no GRUPO DRC, não foi comprovada provavelmente em função de dois aspectos: inclusão de pacientes com DRC estágios 3 e 4 que ainda não apresentam *downregulation* na expressão da Pgp em função da provável baixa concentração de toxinas urêmicas e citocinas pró-inflamatórias (MOMPER; VENKATARAMANAN; NOLIN, 2010) e da administração de dose única oral de 20 mg de lercanidipina racêmica provavelmente não suficiente para inibir a Pgp intestinal nos pacientes do GRUPO CONTROLE.

Barchielli et al. (1997) relatam que pacientes com doença cardiovascular, portadores ou não de insuficiência cardíaca e tratados durante 7 dias com lercanidipina (20 mg/dia), não mostram alterações nas concentrações plasmáticas no estado de equilíbrio da β -metildigoxina (substrato de P-gp) (BARCHIELLI et al., 1997). Logo, os dados do estudo *in vivo* de Barchielli et al. (1997) não permitem inferir a lercanidipina como inibidor ou indutor da P-gp. No entanto, considerando que outras di-hidropiridinas antagonistas de canais de cálcio tais como a nifedipina, a nitrendipina e a felodipina são referidas como inibidores da P-gp (KLOTZ, 2002), estudos *in vitro* fazem-se necessários para definir o potencial da lercanidipina em termos da inibição de proteínas transportadoras de efluxo tais como a P-gp e MRP2, entre outras.

As concentrações plasmáticas do carvedilol livre ou do carvedilol não ligado às proteínas plasmáticas foram avaliadas pelo método da ultrafiltração nas amostras referentes à concentração plasmática máxima do carvedilol de cada paciente investigado. As concentrações plasmáticas de carvedilol livre não foram quantificadas nos pacientes do GRUPO CONTROLE e do GRUPO DRC em razão de estarem abaixo do limite de quantificação do método de 0,2 ng de cada enantiômero do carvedilol/mL de plasma. Os achados podem ser explicados considerando a alta ligação do carvedilol às proteínas plasmáticas, com relatos de valores de aproximadamente 98-99% (FUJIMAKI et al., 1990).

A comparação do GRUPO DRC com o GRUPO CONTROLE, nas situações de monoterapia ou associação com a lercanidipina, está apresentada na Tabela 8 para o enantiômero (+)-(R)-carvedilol e na Tabela 9 para o enantiômero (-)-(S)-carvedilol. Os dados mostram que a DRC não altera a farmacocinética de ambos os enantiômeros do carvedilol, tanto na situação de monoterapia quanto na associação com a lercanidipina. No entanto, considerando que o carvedilol é substrato da Pgp e que sua eliminação depende de múltiplas

vias metabólicas com a participação do CYP2D6, CYP2C9, UGT1A1, UGT2B4 e UGT2B7 (TAKEKUMA et al., 2007) e considerando que estudos experimentais e clínicos relatam que a DRC está associada com *downregulation* e redução da atividade de enzimas CYP, enzimas UGT e de proteínas transportadoras (SUN; FRASSETO; BENET, 2006; NAUD et al., 2008; DREISBACH, 2009; MOMPER; VENKATARAMANAN; NOLIN, 2010), o resultado esperado seria a redução do *clearance* total aparente de um ou de ambos os enantiômeros do carvedilol em pacientes portadores de DRC. No entanto é importante considerar que foram incluídos no GRUPO DRC pacientes com *clearance* da creatinina entre 20-50 mL/min/1,73 m² e que provavelmente as alterações na atividade enzimática sejam observadas em pacientes com menores valores de *clearance* da creatinina (< 20mL/min/1,73 m²), uma situação mais compatível com o acúmulo de toxinas urêmicas e citocinas pró-inflamatórias responsabilizadas pelas alterações na atividade enzimática e de transportadores, ou seja, é possível que a redução no *clearance* não renal de fármacos seja dependente da concentração de toxinas urêmicas (MOMPER; VENKATARAMANAN; NOLIN, 2010).

A resposta cardiovascular ao carvedilol é enantiosseletiva. Os enantiômeros do carvedilol diferem em termos da afinidade com os receptores β adrenérgicos. Somente o enantiômero (-)-(S)-carvedilol bloqueia com alta afinidade os receptores β_1 e β_2 adrenérgicos. No entanto, ambos os enantiômeros (-)-(S) e (+)-(R)-carvedilol mostram propriedades similares em termos da ligação aos receptores α_1 -adrenérgicos (DI VERNIERO et al., 2010). O exercício isométrico com o *handgrip* induz aumento da pressão arterial acompanhado por aumento da frequência cardíaca e da resistência vascular periférica na musculatura esquelética em repouso (KAMIYA et al., 2001). Logo, somente as concentrações plasmáticas do enantiômero (-)-(S)-carvedilol, cujo efeito bloqueador dos receptores β adrenérgicos atenua o aumento da frequência cardíaca induzida pelo exercício (MEY et al., 1994), foram relacionadas com a variação da frequência cardíaca (diferença entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico durante 2 min com o *handgrip* a 30% da contratilidade voluntária máxima).

Os parâmetros farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) do GRUPO DRC apresentados na Tabela 10 (efeito máximo, concentração plasmática no compartimento de efeito a 50% do efeito máximo, coeficiente de Hill e a constante de velocidade de transferência para o compartimento de efeito) não mostram diferenças com significância estatística entre os tratamentos carvedilol ou carvedilol associado com lercanidipina. Os dados PK-PD estão de acordo com as observações de que a administração de dose única de lercanidipina aos pacientes portadores de DRC resulta em acúmulo plasmático do

enantiômero (+)-(R)-carvedilol, mas não altera as concentrações plasmáticas do enantiômero (-)-(S)-carvedilol responsável pela atividade β -bloqueadora do carvedilol. Ressalta-se ainda que os parâmetros PK-PD obtidos na presente investigação para os pacientes do GRUPO DRC (Tabela 10), tratados com dose única de carvedilol como monoterapia (E_{max} de 12,61 bpm e EC_{50} de 2,78 ng/mL) ou em associação com a lercanidipina (E_{max} de 16,42 bpm e EC_{50} de 11,89 ng/mL), estão de acordo com os dados reportados por Tenero et al. (2006) na investigação de voluntários sadios (E_{max} de 19,2 bpm e EC_{50} de 7,7 ng/mL) tratados com carvedilol em doses variando de 12,5-50 mg e submetidos ao teste da bicicleta ergométrica com carga compatível para atingir a frequência cardíaca de 140 bpm (concentrações plasmáticas do enantiômero (-)-(S)-carvedilol vs alteração na frequência cardíaca induzida pelo exercício).

A análise PK-PD para os pacientes do GRUPO CONTROLE (Tabela 11) mostram que a associação com a lercanidipina não altera os parâmetros PK-PD do carvedilol descritos como efeito máximo (8,05 vs 8,97 bpm), concentração plasmática no compartimento de efeito a 50% do efeito máximo (5,51 vs 7,78 ng/mL), coeficiente de Hill (1,58 vs 1,18) e a constante de velocidade de transferência para o compartimento de efeito (1,35 vs 0,61 1/ng/mL). Os dados obtidos estão de acordo com as observações na fase farmacocinética de que a lercanidipina não altera a disposição cinética do enantiômero (-)-(S)- carvedilol (Tabela 7).

No entanto, a comparação do GRUPO DRC com o GRUPO CONTROLE (Tabela 12) permite observar maiores valores de EC_{50} para os pacientes do GRUPO DRC (11,89 vs 7,78 ng/mL) na situação de administração do carvedilol em associação com a lercanidipina, sugerindo uma menor potência do (-)-(S)-carvedilol na inibição da atividade simpática no sistema vascular dos pacientes do GRUPO DRC.

A lercanidipina é um fármaco altamente ligado às proteínas plasmáticas (>98%) e de extensa eliminação pré-sistêmica dependente do CYP3A (McCLELLAN; JARVIS, 2000). A administração de dose única oral de 20 mg de lercanidipina, sob monoterapia ou em associação ao carvedilol, aos pacientes do GRUPO DRC não mostra enantiosseletividade no parâmetro área sob a curva concentração plasmática vs tempo (Tabela 13). As razões enantioméricas (S)/(R) de área sob a curva concentração plasmática vs tempo foram de 1,13 no protocolo de monoterapia e de 1,21 na associação com o carvedilol (Tabela 13). As razões enantioméricas (S)/(R) de área sob a curva concentração plasmática vs tempo obtidas na investigação de voluntários sadios foram de 1,21 no estudo de Jabor, Coelho e Lanchote (2004) e de 1,06 no estudo de Boralli et al. (2009). Barchielli et al. (1997) relatam razões enantioméricas (S)/(R) de área sob a curva concentração plasmática vs tempo de 1,03 na

investigação de voluntários sadios, 1,47 na investigação de pacientes portadores de doença renal moderada ($n=7$, *clearance* da creatinina 30-50 mL/min) e de 1,75 na investigação de pacientes portadores de doença renal grave ($n=6$, pacientes dependentes de diálise), inferindo acúmulo plasmático do eutômero (S)-lercanidipina em pacientes portadores de doença renal. No entanto, a concentração plasmática máxima (C_{max}) do enantiômero (S)-lercanidipina é maior do que a do enantiômero (R)-lercanidipina para os pacientes investigados portadores de DRC estágios 3 e 4 tratados com lercanidipina como monoterapia (1,04 vs 0,78 ng/mL).

A administração de dose única de 25 mg de carvedilol modifica de maneira enantiosseletiva a disposição cinética da lercanidipina em pacientes do GRUPO DRC, com observações de aumento da área sob a curva concentração plasmática vs tempo (8,92 vs 14,75 ng.h/mL) e redução do *clearance* total aparente (1102,60 vs 656,17 L/h) do enantiômero (-)-(S)-lercanidipina (Tabela 13).

A disposição cinética dos enantiômeros da lercanidipina para os pacientes do GRUPO CONTROLE, em regime de monoterapia, é enantiosseletiva com observação de maiores valores de concentração plasmática máxima (1,52 vs 0,96 ng/mL) e menores valores de t_{max} (1,78 vs 2,42 h), *clearance* aparente (771,46 vs 922,18 L/h) e volume aparente de distribuição (4693,70 vs 6809,40 L) para o enantiômero (S)-lercanidipina quando comparado ao enantiômero (R)-lercanidipina (Tabela 14). O menor volume aparente de distribuição para o enantiômero (S)-lercanidipina poderia ser explicado em função de sua menor fração livre no plasma, embora os dados de ligação às proteínas plasmáticas dos enantiômeros individuais da lercanidipina não encontram-se descritos na literatura. No entanto, à semelhança do GRUPO DRC, o parâmetro AUC não mostra enantiosseletividade. A razão enantiomérica (S)/(R) de AUC para os pacientes do GRUPO CONTROLE foi de 1,22 para a situação de monoterapia (Tabela 14).

A associação de carvedilol em dose única de 25 mg não alterou a farmacocinética de ambos enantiômeros da lercanidipina para os pacientes do GRUPO CONTROLE (Tabela 14), mas reduziu de maneira enantiosseletiva o *clearance* aparente do eutômero (S)-lercanidipina nos pacientes do GRUPO DRC (Tabela 13), inferindo diferenças na interação carvedilol-lercanidipina entre pacientes com função renal normal e pacientes com DRC. O acúmulo do enantiômero (S)-lercanidipina em pacientes portadores de DRC moderada a grave foi descrito por Barchielli et al. (1997).

A comparação do GRUPO DRC com o GRUPO CONTROLE não mostra diferenças com significância estatística (Tabelas 15 e 16) nos parâmetros farmacocinéticos de ambos os enantiômeros da lercanidipina, nas situações de tratamento com a lercanidipina sob

monoterapia ou em associação com o carvedilol, permitindo inferir que a DRC estágios 3 e 4 não altera a disposição cinética da lercanidipina em pacientes hipertensos, um dado que contribui na hipótese de que a redução no *clearance* não renal de fármacos depende da concentração de toxinas urêmicas e portanto do estágio da doença renal crônica.

Concluindo, o carvedilol reduziu o *clearance* total aparente do eutômero (S)-lercanidipina e a lercanidipina reduziu o *clearance* total aparente do enantiômero (+)-(R)-carvedilol nos pacientes do Grupo DRC mas não nos pacientes do GRUPO CONTROLE, inferindo que estudos de interação de fármacos podem diferir em função de doenças associadas e que a condução de estudos de interação de fármacos em voluntários sadios é questionável. Os dados ainda permitem sugerir enantiosseletividade na atividade da P-gp e sugerir que a DRC estágios 3 e 4 não altera a farmacocinética do carvedilol e da lercanidipina em pacientes hipertensos fenotipados como metabolizadores rápidos do CYP2D6 e com atividade do CYP3A hepático e intestinal (*clearance* oral do midazolam) dentro dos parâmetros da normalidade. No entanto, os maiores valores de EC_{50} nos pacientes do GRUPO DRC na situação de administração do carvedilol em associação com a lercanidipina, sugerem uma menor potência do (-)-(S)-carvedilol na inibição da atividade simpática no sistema vascular dos pacientes do GRUPO DRC.

6. CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

- 1- A farmacocinética do carvedilol, administrado como monoterapia em dose única oral, aos pacientes portadores de doença renal crônica e aos pacientes hipertensos com função renal normal é enantiosseletiva, com acúmulo plasmático do enantiômero (+)-(R)-carvedilol.
- 2- A farmacocinética da lercanidipina, administrada como monoterapia em dose única oral, aos pacientes portadores de doença renal crônica e aos pacientes hipertensos com função renal normal é enantiosseletiva, com observação de maiores valores de concentração plasmática máxima e menores valores de *clearance* aparente e volume de distribuição aparente para o enantiômero (S)-lercanidipina.
- 3- A administração de dose única de 20 mg de lercanidipina aos pacientes portadores de doença renal crônica modifica a disposição cinética do enantiômero (+)-(R)-carvedilol, com observações de aumento da área sob a curva concentração plasmática vs tempo e redução do *clearance* aparente. No entanto, a administração de dose única oral de 20 mg de lercanidipina aos pacientes hipertensos com função renal normal não altera a farmacocinética de ambos os enantiômeros do carvedilol.
- 4- Os parâmetros farmacocinética-farmacodinâmica, relacionando as concentrações plasmáticas do enantiômero (-)-(S)-carvedilol com a alteração na frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico com o *handgrip*, não mostram diferenças com significância estatística entre os tratamentos carvedilol ou carvedilol associado com lercanidipina, tanto para os pacientes portadores de doença renal crônica quanto para os pacientes hipertensos com função renal normal.
- 5- A administração de dose única de 25 mg de carvedilol modifica de maneira enantiosseletiva a disposição cinética da lercanidipina em pacientes portadores de doença renal crônica, com observações de aumento da área sob a curva concentração plasmática vs tempo e redução do *clearance* aparente do enantiômero (-)-(S)-lercanidipina. No entanto, a associação de dose única de 25 mg de carvedilol não

altera a farmacocinética de ambos enantiômeros da lercanidipina em pacientes hipertensos com função renal normal.

- 6- A doença renal crônica estágios 3 e 4 não altera a farmacocinética do carvedilol e da lercanidipina em pacientes hipertensos com função renal normal, tanto na situação de monoterapia quanto na situação de associação.
- 7- A doença renal crônica estágios 3 e 4 altera a relação PK-PD (concentrações plasmáticas do enantiômero (-)-(S)-carvedilol vs alteração na frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico com o *handgrip*) com observação de maiores valores de concentração plasmática do enantiômero (-)-(S)-carvedilol no compartimento de efeito a 50% do efeito máximo, somente na situação de administração do carvedilol em associação com a lercanidipina.

7. REFERÊNCIAS

7. REFERÊNCIAS

- ABBOUD, H.; HENRICH, W.L. Stage IV chronic kidney disease. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v.362, n.1, p.56-65, 2010.
- AMIOKA, K.; KUZUYA, T.; KUSHIHARA, H.; EJIRI, M.; NITTA, A.; NABESHIMA, T. Carvedilol increases ciclosporin bioavailability by inhibiting P-glycoprotein-mediated transport. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v.59, n.10, p. 1383-1387, 2007.
- AZEREDO, F.J.; UCHOA, F.T.; DALLA COSTA, T. Papel da glicoproteína-P na farmacocinética e nas interações medicamentosas. *Rev. Bras. Farm.*, Rio de Janeiro, v.90, n.4, p.321-326, 2009.
- BANG, L.M.; CHAPMAN, T.M.; GOA, K.L. Lercanidipine: A Review of its efficacy in the management of hypertension. *Drugs*, Auckland, v. 63, n.22, p.2449-2472, 2003.
- BARCIELLI, M.; DOLFINI, P.; FARINA, B.; LEONI, B.; TARGA, G.; VINACCIA, V.; TAJANA, A. Clinical pharmacokinetics of lercanidipine. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, Philadelphia, Suppl. 2, v. 29, p.3609-17, 1997.
- BARTSCH, W.; SPONER, G.; STREIN, K.; MULLER-BECKMANN, B.; KLING, L.; BOHM, E.; MARTIN, U.; BORBE, H.O. Pharmacological characteristics of the stereoisomers of carvedilol. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, Berlin, v.38, p. s104-s107, 1990.
- BECKLEY, C.; LUNDY, A.; LUFTI, N. Lercanidipine in the treatment of hypertension. *Ann Pharmacother.*, Cincinnati, v.41, n.3, p. 465-472, 2007.
- BIE, K.M. de; BUITEN, M.S.; RABELINK, T.J.; JUKEMA, W.J. How to reduce sudden cardiac death in patients with renal failure. *Heart*, London, v. 98, p. 335-341, 2012.
- BORALLI, V.B.; COELHO, E.B.; SAMPAIO, S.A.; MARQUES, M.P.; LANCHOTE, V.L. Enantioselectivity in the pharmacokinetic interaction between fluvastatin and lercanidipine in healthy volunteers. *J. Clin. Pharmacol.*, Stamford, v. 49, n.2, p.205-11, 2009.
- BORASO, A.; BERNOCCHI, P.; BENIGNO, P.; FERRARI, F.; CECONI, C.; FERRARI, R. The time dependence of the cardio protective effects of lercanidipine. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, Hagerstown, Suppl. 1, v.29, p.S69-S77, 1997.
- BORGHI, C. Lercanidipine in hypertension. *Vasc. Health. and Risk. Manag.*, Auckland, v.1, n.3, p.173-82, 2005.
- BOTTON, M.R.; BANDINELLI, E.; ROHDE, L.E.P.; AMON, L.C.; HUTZ, M.H. Influence of genetic, biological and pharmacological factors on warfarin dose in a Southern Brazilian population of European ancestry. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, London, v. 72, n.3, p.442-50, 2011.
- BROCKS, D.R. Drug disposition in three dimensions: an update on stereoselectivity in pharmacokinetics. *Biopharm. Drug. Dispos.*, Chichester, v.27, p.387-406, 2006.
- CASCORBI, I. P-glycoprotein: tissue distribution, substrates, and functional consequences of

genetic variations. *Handb. Exp. Pharmacol.*, Berlin, v. 201, p. 261-283, 2011.

CERBAI, E.; SARTIANI, L.; DE PAOLI, P.; MARTUCCI, R.; DAVOLI, G.; DI CIOLLA, F.; LISI, G.; MACCHERINI, M.; SANI, G.; MUGELLI, A. Electrophysiology effects of lercanidipine on repolarizing potassium currents. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, Hagerstown, v. 36, p.584-91, 2000.

CICERO, A.F.G.; GEROCARNI, B.; ROSTICCI, M.; BORGHI, C. Blood pressure and metabolic effect of a combination lercanidipine with different antihypertensive drugs in clinical practice. *Clin. Exp. Hypertens.*, London, v.34, n.2, p.113-117, 2012.

CHENG, P. Y., MORGAN, E. T. Hepatic cytochrome P450 regulation in disease states. *Curr. Drug. Metab.*, Hilversum, v. 2, n.2, p.165-83, 2001.

CHOONG, E.; DOBRINAS, M.; CARRUPT, P.A.; EAP, C.B. The permeability P-glycoprotein: a focus on enantioselectivity and brain distribution. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, London, v.6, n.8, p. 953-965, 2010.

CHURCHWELL, M.D.; MUELLER, B.A. Selected pharmacokinetic issues in patients with chronic kidney disease. *Blood Purif.*, Basel, v.25, p.133-138, 2007.

DI VERNIERO, C.A.; BERTERA, F.; BUONTEMPO, F.; BERNABEU, E.; CHIAPPETTA, D.; MAYER, M.A.; BRAMUGLIA, G.F.; TAIRA, C.A.; HOCHT, C. Enantioselective pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of carvedilol in a N-nitro-L-arginine methyl Ester rat modelo f secondary hypertension. *J. Pharm. Pharmacol.*, Mumbai, v. 62, p. 890-900, 2010.

DREISBACH, A.W.; LERTORA, J.J. The effect of chronic renal failure on hepatic drug metabolism and drug disposition. *Semin. Dial.*, Baltimore, v.16, p.45-50, 2003.

DREISBACH, A.W. The influence of chronic renal failure of drug metabolism and transport. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v.86, n. 5, p.553-556, 2009.

DREISBACH, A.W.; LERTORA, J.L. The effect of chronic renal failure on drug metabolism and transport. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, London, v.4, n.8, p.1065-1074, 2008.

DUPONT, W.D.; PLUMMER, W.D. PS power and sample size program available for free on the Internet. *Control Clin. Trials*, New York, v.18, n.3, p. 274, 1997.

FAQAH, A.; JAFAR, T.H. Control of blood pressure in chronic kidney disease: how long to go? *Nephron. Clin. Pract.*, Basel, v.119, n.4, p. c324-331, 2011.

FUJIMAKI, M.; MURAKOSHI, Y.; HAKUSUI, H. Assay and disposition of carvedilol enantiomers in humans and monkey: Evidence of stereoselective presystemic metabolism. *J. Pharm. Sci.*, Easton, v. 79, n.7, p. 568-572, 1990.

GEHR, T.W.B.; TENERO, D.M.; BOYLE, D.A.; QIAN, Y.; SICA, D.A.; SHUSTERMAN, N.H. The pharmacokinetics of carvedilol and its metabolites after single and multiple dose oral administration in patients with hypertension and renal insufficiency. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, Berlin, v.55, p.269-277, 1999.

GIESSMANN, T.; MODESS, C.; HECKER, U.; ZSCHIESCHE, M.; DAZERT, P.; KUNERT-KEIL, C.; WARZOK, R.; ENGEL, G.; WEITSCHIES, W.; CASCORBI, I.; KROEMER, H.K.; SIEGMUND, W. CYP2D6 genotype and induction of intestinal drug transporters by rifampin predict presystemic clearance of carvedilol in healthy subjects. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v. 75, n.3, p. 213-222, 2004.

HART, P.D.; BAKRIS, G.L. Should beta-blockers be used to control hypertension in people with chronic kidney disease? *Semin. Nephrol.*, Philadelphia, v. 27, n.5, p.555-564, 2007.

HERBETTE, L.G.; VECHIARELLI, M.; SARTANI, A.; LEONARDI, A. Lercanidipine: short plasma half-life, long duration of action and high cholesterol tolerance. Updated molecular model to rationalize its pharmacokinetic properties. *Blood Press. Suppl.*, Oslo, v.2, p.10-7, 1998.

HORAI, Y.; NAKANO, M.; ISHIZAKI, T.; ISHIKAWA, K.; ZHOU, H.H.; ZHOU, B.; LIAO, C.; ZHANG, L. 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.

JABOR, V.A.P.; COELHO, E.B.; IFA, D.R.; BONATO, P.S.; SANTOS, N.A.G.; LANCHOTE, V.L. Enantioselective determination of lercanidipine in human plasma for pharmacokinetic studies by normal-phase liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, Amsterdam, v. 796, p.429-437, 2003.

JABOR, V.A.P.; COELHO, E.B.; LANCHOTE, V.L. Enantioselective pharmacokinetics of lercanidipine in healthy volunteers. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, Amsterdam, v.813, n.1-2, p.343-6, 2004.

JABOR, V.A.; COELHO, E.B.; DOS SANTOS, N.A.; BONATO, P.S.; LANCHOTE, V.L. A highly sensitive LC-MS-MS assay for analysis of midazolam and its major metabolite in human plasma: applications to drug metabolism. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, Amsterdam, v.822, n.1-2, p. 27-32, 2005.

K/DOQI. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Am. J. Kidney Dis.*, Philadelphia, v. 39, S1-S246, 2002.

KAKUMOTO, M.; SAKAEDA, T.; TAKARA, K.; NAKAMURA, T.; KITA, T.; YAGAMI, T.; KOBAYASHI, H.; OKAMURA, N.; OKAMURA, K. Effects of carvedilol on MDR1-mediated multidrug resistance: comparison with verapamil. *Cancer Sci.*, Oxford, v.94, n.1, p.81-86, 2003.

KAMIYA, A.; MICHIKAMI, D.; FU, Q.; NIIMI, Y.; IWASE, S.; MANO, T.; SUZUMURA, A. Static handgrip exercise modifies arterial baroreflex control of vascular sympathetic outflow in humans. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, Bethesda, v.281, n.4, R1134-1139, 2001.

KÉVORKIAN, J.P.; MICHEL, C.; HOFMANN, U.; JACQZ-AIGRAIN, E.; KROEMER, H.K.; PERALDI, M.N.; EICHELBAUM, M.; JAILLON, P.; FUNCK-BRENTANO, C. Assessment of individual CYP2D6 activity in extensive metabolizers with renal failure:

comparison of sparteine and dextromethorphan. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v.59, p.583-592, 1996.

KIM, Y.G.; SHIN, J.G.; SHIN, S.G.; JANG, I.J.; KIM, S.; LEE, J.S.; HAN, J.S.; CHA, Y.N. Decreased acetylation of isoniazid in chronic renal failure *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v.54, p.612-620, 1993.

KIRCHHEINER, J.; TSAHURIDU, M.; JABRANE, W.; ROOTS, I.; BROCKMOLLER, J. The CYP2C9 polymorphisms: from enzyme kinetics to clinical dose recommendations. *Per. Med.*, London, v. 1, n.1, p.63-84, 2004.

KIRCHHEINER, J.; KUDLICZ, D.; MEISEL, C.; BAUER, S.; MEINEKE, I.; ROOTS, I.; BROCKMOLLER, J. Influence of CYP2C9 polymorphisms on the pharmacokinetics and cholesterol-lowering activity of (-)-3S,5R-fluvastatin and (+)-3R,5S-fluvastatin in healthy volunteers. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v.74, p.186-94, 2003.

KIVISTO, K.T.; NIEMI, M.; FROMM, M.F. Functional interaction of intestinal CYP3A4 and P-glycoprotein. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, Paris, v.18, p. 621-626, 2004.

KLOTZ, U. Interaction potential of lercanidipine, a new vasoselective dihydropyridone calcium antagonist. *Arzneimittelforschung*, Aulendorf, v.52, n. 3, p. 155-161, 2002.

KUBO, T.; AZEVEDO, E. R.; NEWTON, G. E.; PARKER, J. D. FLORAS, J. S. Lack of evidence for peripheral $\alpha(1)$ - adrenoceptor blockade during long-term treatment of heart failure with carvedilol. *J. Am. Coll. Cardiol.*, New York, v. 38, n.5, p. 1463-1469, 2001.

LAMBA, J.K.; LIN, Y.S.; SCHUETZ, E.R.; THUMMEL, K.E. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, Amsterdam, v.54, p.1271-94, 2002.

LECUTA, S.E.; VLASE, L. Pharmacokinetics and metabolic drug interactions. *Curr. Clin. Pharmacol.*, San Francisco, v.1, p.5-20, 2006.

LEONARDI A.; POGGESI, C.; TADDEI, L.; GUARNIERI, L.; ANGELICO, P.; ACCOMAZZO, M.R.; NICOSIA, S.; TESTA, R. Effect of the new calcium antagonist lercanidipine and its enantiomers *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, Philadelphia, Suppl. 1, v.29, pS10-18, 1997.

LU, H. Stereoselectivity in drug metabolism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, London, v.3, n.2, p.149-158, 2007.

McCLELLAN, K.J.; JARVIS, B. Lercanidipine – a review of its use in hypertension. *Drugs*, Auckland, v.60, n.5, p.1123-40, 2000.

MEHVAR, R.; BROCKS, D.R. Stereospecific pharmacokinetics and pharmacodynamics of beta-adrenergic blockers in humans. *J. Pharm. Pharm. Sci.*, Edmonton, v.4, n.2, p. 185-200, 2001.

METZGER, I.F.; SOUZA-COSTA, D.C.; TANUS-SANTOS, J.E. Farmacogenética: princípios, aplicações e perspectivas. *Medicina*, Ribeirão Preto, v. 39, n. 4, p. 515-521, 2006.

- MEY, C.; BREITHAUPT, K.; SCHLOOS, J.; NEUGEBAUER, G.; PALM, D.; BELZ, G.G. Dose-effect and pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship of the β_1 -adrenergic receptor blocking properties of various doses of carvedilol in healthy humans. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v.55, n.3, p.329-337, 1994.
- MIKI, S.; MASAMURA, H.; KAIFU, Y.; YUASA, S. Pharmacokinetics and efficacy of carvedilol in chronic hemodialysis patients with hypertension *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, Philadelphia, v. 18, Suppl. 4, p.S62-S68, 1991.
- MILLER, S.A.; DYKES, D.D.; POLESKY, H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res. Suppl.*, London, v.16, n.3, p.1215, 1988.
- MILLIPORE CORPORATION. Assay of free anticonvulsant drugs, Application note, AN1002EN00. Disponível em: www.millipore.com/publications.
- MILLIPORE CORPORATION. Centrifree® Ultrafiltration Devices, User guide. Disponível em: www.millipore.com/techlibrary.
- MIZUTANI, T. PM frequencies of major CYPs in Asians and Caucasians. *Drug Metab. Rev.*, London, v.35, n. 2-3, p.99-106, 2003.
- MOMPER, J.D.; VENKATARAMANAN, R.; NOLIN, T.D. Nonrenal drug clearance in CKD: Searching for the path less traveled. *Adv. Chronic Kidney Dis.*, Philadelphia, v. 17, p.384-391, 2010.
- NAUD, J.; MICHAUD, J.; LEBLOND, F.A.; LEFRANCOIS, S.; BONNARDEAUX, A.; PICHETTE, V. Effects of chronic renal failure on liver drug transporters. *Drug Metab. Dispos.*, Bethesda, v. 36, n.1, p.124-128, 2008.
- NAUD, J.; MICHAUD, J.; BOISVERT, C.; DESBIENS, K.; LEBLOND, F.A.; MITCHELL, A.; JONES, C. Down-regulation of intestinal drug transporters in chronic renal failure in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, Baltimore, v. 320, n.3, p.978-985, 2007.
- NEUGEBAUER, G.; NEUBERT, P. Metabolism of carvedilol in man. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.*, Paris, v. 16, n.4, p.257-260, 1991.
- NEUGEBAUER, G.; AKPAN, W.; KAUFMANN, B.; REIFF, K. Stereoselective disposition of carvedilol in man after intravenous and oral administration of the racemic compound. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, Berlin, n.38, p. S108-S111, 1990.
- NEUGEBAUER, G.; AKPAN, W.; VON MOLLENDORFF, E.; NEUBERT, P.; REIFF, K. Pharmacokinetics and disposition of carvedilol in humans. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, Philadelphia, v.10, Suppl 11:S85-8, p.85-88, 1987.
- NEVES, D.V. Fenotipagem do CYP2D6 em idosos cardiopatas classificados como metabolizadores extensivos ou lentos do metoprolol. 2009. 83f; Dissertação (Mestrado em Toxicologia)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2009.

NOLIN, T.D.; FRYE, R.F.; LE, P.; SADR, H.; NAUD, J.; LEBLOND, F.A.; PICHETTE, V.; HIMMELFARB, J. ESRD impairs nonrenal clearance of fexofenadine but not midazolam. *J. Am. Soc. Nephrol.*, Baltimore, v. 20, p.2269-2276, 2009.

OLDHAM, H.G.; CLARKE, S.E. *In vitro* identification of the human cytochrome P450 enzymes involved in the metabolism of R (+) and S (-) carvedilol. *Drug Metab. Dispos.*, Bethesda, v.25, n.8, p.970-982, 1997.

OSBORNE, R.; JOEL, S.; GREBENIK, K.; TREW, D.; SLEVIN, M. The pharmacokinetics of morphine and morphine glucuronides in kidney failure. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v.54, p.158-167, 1993.

POGGI, J.C.; SILVA, F.G.; COELHO, E.B.; MARQUES, M.P.; BERTUCCI, C.; LANCHOTE, V.L. Analysis of carvedilol enantiomers in human plasma using chiral stationary phase column and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Chirality*, New York, v. 24, n.3, p.209-214, 2012.

RENSTSCH, K.M. The importance of stereoselective determination of drugs in the clinical laboratory. *J. Biochem. Biophys. Methods*, Amsterdam, v. 54, n.1-3, p. 1-9, 2002.

ROBLES, N.R. Calcium antagonists and renal failure progression. *Ren. Fail.*, London, v. 30, p.247-255, 2008.

ROSSERT, J.A.; WAUTERS, J-P. Recommendations for the screening and management of patients with chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant*, Oxford, v.17, Suppl. 1, p.19-28, 2002.

ROSTAMI-HODJEGAN, A.; KROEMER, H.K.; TUCKER, G. T. *In vivo* indices of enzyme activity: the effect of renal impairment on the assessment of CYP2D6 activity. *Pharmacogenetics*, London, v.9, n.3, p. 277-286, 1999.

SAITO, M.; KAWANA, J.K.; OHNO, T.; HANADA, K.; KANERO, M.; MIHARA, K.; SHIOMI, M.; NAGAYAMA, M.; SUMIYOSHI, T.; OGATA, H. Population pharmacokinetics of R- and S-carvedilol in Japanese patients with chronic heart failure. *Biol Pharm Bull*, Tokyo, v.33, n.8, p.1378-84, 2010.

SANTOS, P.C.J.L.; SOARES, R.A.G.; SANTOS, D.B.G.; NASCIMENTO, R.M.; COELHO, G.L.L.M.; NICOLAU, J.C.; MILL, J.G.; KRIEGER, J.E.; PEREIRA, A.C. CYP2C19 and ABCB1 gene polymorphisms are differently distributed according to ethnicity in the Brazilian general population. *BMC Med. Genet.*, London, v.12, n.13, p.1-7, 2011.

SCHEINER, M.A.M.; DAMASCENO, A.M.; MAIA, R.C. ABCB1 single nucleotide polymorphisms in the Brazilian population. *Mol. Biol. Rep.*, Dordrecht, v.37, p.111-118, 2010.

SEHRT, D.; MEINEKE, I.; TZVETKOV, M.; GULTEPE, S.; BROCKMOLLER, J. Carvedilol pharmacokinetics and pharmacodynamics in relation to CYP2D6 and ADRB pharmacogenetics. *Pharmacogenomics*, London, v.12, n.6, p.783-795, 2011.

SESSO, R.C.C.; LOPES, A.A.; THOME, F.S.; LUGON, J.R. BURDMANN, E.A. Censo

Brasileiro de diálise, 2009. *J. Bras. Nefrol.*, São Paulo, v.32, n.4, p. 380-384, 2010.

SILVA, F.G. Influência do diabetes mellitus e da insuficiência renal crônica em tratamento dialítico na farmacocinética e farmacodinâmica do carvedilol em pacientes hipertensos. 2008. 145 f. Tese (Doutorado em Toxicologia)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

SINGLAS, E.; PIOGER, J.C.; TABURET, A.M.; COLIN, J.N.; FILLASTRE, J.P. Zidovudine disposition in patients with severe renal impairment: influence of hemodialysis. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v.46, p.109-197, 1989.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO. VI DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL. *Arq. Bras. Cardiol.*, Rio de Janeiro, v. 95(1 supl.1), p. 1-51, 2010.

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

STOUT, S.M.; NIELSEN, J.; BLESKE, B.E.; SHEA, M.; BROOK, R.; KERBER, K.; WELAGE, L. The impact of paroxetine coadministration on stereospecific carvedilol pharmacokinetics. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.*, Naperville, v. 15, n. 4, p.373-379, 2010.

SUN, H.; FRASSETO, L.; BENET, L.Z. Effects of renal failure on drug transport and metabolism. *Pharmacol. Ther.*, Oxford, v.109, n.1-2, p.1-11, 2006.

TAKARA, K.; SAKAEDA, T.; OKUMURA, K. Carvedilol: a new candidate for reversal of MDR1/P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Anticancer Drugs*, Oxford, v.15, n.4, 2004.

TAKEKUMA, Y.; TAKENAKA, T.; YAMAZAKI, K.; UENO, K.; SUGAWARA, M. Stereoselective metabolism of racemic carvedilol by UGT1A1 and UGT2B7, and effects of mutation of these enzymes on glucuronidation activity. *Biol. Pharm. Bull.*, Tokyo, v. 30, p.2146-2153, 2007.

TANIGAWARA, Y. Role of P-glycoprotein in drug disposition. *Ther. Drug Monit.*, Hagerstown, v.22, p.137-40, 2000.

TENERO, D.M.; HENDERSON, L.S.; CAMPANILE, A.M.; BAIDOO, C.A.; BOYLE, D. Development of a pharmacokinetic/pharmacodynamic model for carvedilol to predict β 1-blockade in patients with congestive heart failure. *Am. J. Cardiol.*, New York, v.98, n. 7A, p. 27L-31L, 2006.

TESTA, R.; LEONARDI, A.; TAJANA, A.; RISACASSI, R.; MAGLIOCCA, R.; SARTANI, A. Lercanidipine (Rec15/2375): a novel 1,4-dihidropiridine calcium antagonist for hypertension. *Cardiovasc. Drug Rev.*, New York, v.15, n.3, p.187-219, 1997.

TURPEINEN, M.; KOIVUVIITA, N.; TOLONEN, A.; REPONEN, P.; LUNDGREN, S.; MIETTUNEN, J.; METSÄRINNE, K.; RANE, A.; PELKONEN, O.; LAINE, K. Effect of renal impairment on the pharmacokinetics of bupropion and its metabolites. *Br. J. Clin.*

Pharmacol., London, v.64, p.165-173, 2007.

ZARGHI, A.; FOROUTAN, S.M.; SHAFATI, A.; KHODDAM, A. Quantification of carvedilol in human plasma by liquid chromatography using fluorescence detection: application in pharmacokinetics studies, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, Oxford, v.44, p.250-253, 2007.

ZHOU, H. H; WOOD, A. J. Stereoselective disposition of carvedilol is determined by CYP2D6. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v. 57, n.5, p. 518-524, 1995.

As **Tabelas I** (GRUPO DRC, n=8) e **II** (GRUPO CONTROLE, n=8) apresentam os parâmetros farmacocinéticos individuais referentes aos enantiômeros (-)-(S)-carvedilol e (+)-(R)-carvedilol, respectivamente, nas situações de administração de dose única via oral de 25 mg de carvedilol racêmico (Fase 1) ou em associação dose única via oral de 25 mg de carvedilol racêmico com 20 mg de lercanidipina racêmica (Fase 3). As **Tabelas III** (GRUPO DRC) e **IV** (GRUPO CONTROLE) apresentam os parâmetros farmacocinéticos individuais de PK-PD, relacionando as concentrações plasmáticas do (-)-(S)-carvedilol em função da variação da frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico com o *handgrip*.

As **Tabelas V** (GRUPO DRC) e **VI** (GRUPO CONTROLE) apresentam os parâmetros farmacocinéticos individuais referentes aos enantiômeros (S)-lercanidipina e (R)-lercanidipina, respectivamente, nas situações de administração de dose única via oral de 20 mg de lercanidipina racêmica (Fase 2) ou em associação dose única via oral de 20 mg de lercanidipina racêmica com 25 mg de carvedilol racêmico (Fase 3).

A **Figura I** apresenta os perfis farmacocinéticos individuais dos pacientes do GRUPO DRC (n=8), referentes aos enantiômeros (-)-(S)-carvedilol e (+)-(R)-carvedilol, respectivamente, nas situações de administração de dose única via oral de 25 mg de carvedilol racêmico (Fase 1). A **Figura II** apresenta os perfis farmacocinéticos individuais dos pacientes do GRUPO DRC (n=8), referentes aos enantiômeros (-)-(S)-carvedilol e (+)-(R)-carvedilol, respectivamente, na associação de dose única via oral de 25 mg de carvedilol racêmico com 20 mg de lercanidipina racêmica (Fase 3).

A **Figura III** apresenta os perfis farmacocinéticos individuais dos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8), referentes aos enantiômeros (-)-(S)-carvedilol e (+)-(R)-carvedilol, respectivamente, nas situações de administração de dose única via oral de 25 mg de carvedilol racêmico (Fase 1). A **Figura IV** apresenta os perfis farmacocinéticos individuais dos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8), referentes aos enantiômeros (-)-(S)-carvedilol e (+)-(R)-carvedilol, respectivamente, na associação de dose única via oral de 25 mg de carvedilol racêmico com 20 mg de lercanidipina racêmica (Fase 3).

A **Figura V** apresenta os perfis farmacocinéticos individuais dos pacientes do GRUPO DRC (n=8), referentes aos enantiômeros (S)-lercanidipina e (R)-lercanidipina, respectivamente, na situação de administração de dose única via oral de 20 mg de lercanidipina racêmica (Fase 2). A **Figura VI** apresenta os perfis farmacocinéticos individuais dos pacientes do GRUPO DRC (n=8), referentes aos enantiômeros (S)-lercanidipina e (R)-

lercanidipina, respectivamente, na situação de administração de associação dose única via oral de 20 mg de lercanidipina racêmica com 25 mg de carvedilol racêmico (Fase 3).

A **Figura VII** apresenta os perfis farmacocinéticos individuais dos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8), referentes aos enantiômeros (S)-lercanidipina e (R)-lercanidipina, respectivamente, na situação de administração de dose única via oral de 20 mg de lercanidipina racêmica (Fase 2). A **Figura VIII** apresenta os perfis farmacocinéticos individuais dos pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8), referentes aos enantiômeros (S)-lercanidipina e (R)-lercanidipina, respectivamente, na situação de administração de associação dose única via oral de 20 mg de lercanidipina racêmica com 25 mg de carvedilol racêmico (Fase 3).

Tabela I. Dados individuais da farmacocinética dos enantiômeros do carvedilol nos pacientes do **GRUPO DRC (n=8)** tratados com carvedilol (FASE 1) ou carvedilol + lercanidipina (FASE 3).

	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	K_a (h⁻¹)	α (h⁻¹)	β (h⁻¹)	t_{1/2} (h)	AUC^{0-∞} (ng.h.mL⁻¹)	Cl/F (L.h⁻¹)	Vd/F (L)	AUC^{0-∞} (+)/(-)
FASE 1										
(-)-(S)-carvedilol										
1	9,14	2,11	1,08	-	0,15	4,53	82,50	151,52	991,33	2,21
2	8,14	0,67	12,88	0,69	0,01	47,76	167,55	74,60	4834,29	3,12
3	31,39	0,94	1,82	1,87	0,07	9,83	131,33	95,18	951,31	1,52
4	20,35	0,50	3,76	1,13	0,09	7,70	87,31	143,16	1201,74	2,31
5	7,79	1,50	2,05	1,94	0,07	9,88	55,26	226,22	2796,16	1,85
6	4,89	3,08	0,49	0,49	0,02	30,44	117,95	105,97	3948,90	2,90
7	2,07	1,22	4,08	0,08	0,05	12,70	40,16	311,27	5701,13	2,99
8	13,82	1,18	1,57	1,21	0,02	32,36	110,56	113,06	4113,97	1,56
(+)-(R)-carvedilol										
1	15,83	2,95	0,71	-	0,13	5,50	182,06	68,66	544,41	
2	60,56	0,74	4,14	2,47	0,07	10,03	522,78	23,91	326,73	
3	26,97	0,86	1,28	1,23	0,04	19,08	199,13	62,77	1297,94	
4	59,22	0,55	2,39	2,41	0,24	2,91	201,87	61,92	214,98	
5	16,54	1,74	1,69	0,61	0,04	16,98	102,24	122,26	1829,82	
6	20,71	3,26	0,54	0,53	0,03	26,83	341,73	36,58	1088,95	
7	6,88	1,96	1,93	0,08	0,06	10,74	119,92	104,23	1648,93	
8	39,21	1,39	1,07	1,07	0,06	11,56	172,70	72,38	600,12	
FASE 3										
(-)-(S)-carvedilol										
1	6,56	2,92	0,70	0,66	0,04	16,28	77,88	160,51	2896,42	2,49
2	14,70	1,30	1,62	0,31	0,04	16,35	96,26	129,85	1280,97	9,83
3	39,56	1,38	3,26	1,03	0,03	20,97	279,76	44,68	1091,23	2,77
4	10,04	0,85	1,24	1,32	0,12	5,95	51,07	244,77	1502,16	4,34
5	16,40	0,66	7,91	2,30	0,13	5,15	47,99	260,45	1608,33	2,48
6	12,67	1,34	0,91	0,75	0,03	25,16	154,35	80,99	2306,67	2,25
7	12,64	1,22	2,02	0,50	0,05	14,93	80,78	154,74	2026,88	3,22
8	25,17	0,62	6,57	0,97	0,05	13,21	68,94	181,30	1853,52	2,98
(+)-(R)-carvedilol										
1	18,55	2,85	0,89	0,80	0,08	8,28	194,21	64,36	660,78	
2	81,90	2,31	0,50	0,50	0,03	22,36	946,98	13,20	264,12	
3	105,00	1,39	5,80	0,50	0,05	13,89	776,17	16,10	249,02	
4	16,61	1,11	8,33	0,30	0,01	93,72	224,34	55,72	817,88	
5	43,76	0,64	16,41	0,72	0,08	8,53	119,00	105,04	681,28	
6	39,92	1,47	3,77	0,33	0,04	15,84	347,31	36,00	580,91	
7	35,37	1,36	2,31	0,29	0,03	24,56	260,00	48,08	815,51	
8	65,19	0,64	11,01	0,54	0,06	11,63	205,55	60,81	445,84	

Tabela II. Dados individuais da farmacocinética dos enantiômeros do carvedilol nos pacientes do **GRUPO CONTROLE (n=8)** tratados com carvedilol (FASE 1) ou carvedilol + lercanidipina (FASE 3).

	Cmax (ng/mL)	tmax (h)	Ka (h ⁻¹)	α (h ⁻¹)	β (h ⁻¹)	t _{1/2} (h)	AUC ^{0-∞} (ng.h.mL ⁻¹)	Cl/F (L.h ⁻¹)	Vd/F (L)	AUC ^{0-∞} (+)/(-)
FASE 1										
(-)-(S)-carvedilol										
1	27,98	1,21	9,86	0,87	0,10	6,77	157,19	63,62	544,35	2,31
2	4,80	1,23	1,44	1,19	0,03	20,48	37,19	336,12	8248,97	1,44
3	9,70	1,14	1,70	1,09	0,10	7,00	53,85	232,13	1787,28	2,61
4	8,99	0,74	11,12	0,64	0,08	8,52	38,06	328,40	2820,27	1,74
5	7,36	1,55	1,02	0,80	0,03	22,58	144,83	86,31	2555,22	1,53
6	4,11	1,21	10,46	0,23	0,01	71,22	101,86	122,71	10800,16	2,33
7	9,23	0,71	15,89	1,14	0,09	7,91	33,72	370,71	2696,44	1,75
8	23,89	0,76	11,65	0,48	0,05	12,62	73,37	170,37	1090,08	1,96
(+)-(R)-carvedilol										
1	59,00	1,37	2,54	0,58	0,10	6,81	363,97	27,47	210,31	
2	11,84	1,07	3,88	0,64	0,04	19,37	53,44	233,91	3717,08	
3	23,10	1,13	2,54	0,54	0,03	21,25	140,79	88,78	1659,44	
4	17,30	0,95	1,30	1,16	0,22	3,20	66,29	188,56	583,75	
5	14,53	1,06	3,61	0,34	0,04	17,27	221,67	56,39	1250,00	
6	12,72	1,94	1,56	0,29	0,02	43,18	237,73	52,58	2604,73	
7	15,21	0,71	18	0,62	0,04	19,36	59,03	211,76	3527,77	
8	49,32	1,16	1,64	1,39	0,3	2,31	144,41	86,55	192,19	
FASE 3										
(-)-(S)-carvedilol										
1	47,65	1,21	11,34	0,57	0,04	17,97	279,52	35,78	671,64	1,71
2	3,79	1,14	2,04	0,61	0,03	24,23	45,07	277,35	8055,57	1,23
3	9,98	1,27	1,26	0,47	0,09	8,04	45,94	272,08	977,96	2,15
4	5,17	2,50	0,76	0,68	0,09	18,78	44,89	278,43	4105,01	1,59
5	29,37	0,94	2,06	2,38	0,04	15,81	174,57	71,61	1345,30	1,62
6	11,85	0,72	2,85	0,62	0,06	12,19	59,83	208,9	2273,7	3,52
7	7,12	0,54	3,2	1,13	0,04	16,19	40,54	308,32	5590,5	1,59
8	29,37	0,69	12,0	0,65	0,07	10,49	82,83	150,91	1063,14	2,27
(+)-(R)-carvedilol										
1	106,55	1,21	13,08	0,48	0,06	10,69	480,61	20,81	198,42	
2	8,00	1,16	1,78	0,63	0,03	22,94	55,60	224,80	4668,19	
3	22,95	1,10	1,52	0,52	0,08	8,41	98,74	126,59	598,83	
4	9,87	2,16	0,51	0,31	0,10	6,72	71,54	174,72	1037,43	
5	70,56	0,73	13,63	0,64	0,06	12,17	283,66	44,07	499,71	
6	46,23	0,7	15,37	0,45	0,06	10,99	210,44	59,4	570,79	
7	6,23	1,0	5,91	0,48	0,03	20,21	64,55	193,65	4682,41	
8	53,48	0,9	1,87	0,61	0,09	7,39	187,66	66,61	258,55	

Tabela III. Farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) relacionando as concentrações plasmáticas do **(-)-(S)-carvedilol** em função da variação da frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico com o *handgrip* em pacientes do GRUPO DRC (dados individuais)

	E_{max} (bpm)	EC₅₀ (ng/mL)	γ	KeO 1/ng/mL
FASE 1				
(-)-(S)-carvedilol				
1	15,15	1,95	1,67	0,36
2	13,34	3,66	1,24	0,69
3	24,52	2,70	4,37	0,07
4	9,60	18,06	2,87	0,34
5	11,77	5,12	0,13	3,60
6	11,89	2,86	10,00	0,20
7	20,36	2,04	1,23	0,00
8	4,48	1,51	0,79	0,14
FASE 3				
(-)-(S)-carvedilol				
1	19,39	24,97	0,03	0,00
2	23,12	8,68	0,11	0,28
3	14,11	14,34	1,01	1,22
4	12,70	6,417	0,62	0,42
5	17,25	16,95	0,85	0,09
6	15,07	16,27	0,64	0,02
7	24,83	9,08	10,00	0,70
8	15,58	9,44	1,40	2,62

Tabela IV. Farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) relacionando as concentrações plasmáticas do **(-)-(S)-carvedilol** em função da variação da frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico com o *handgrip* em pacientes do **GRUPO CONTROLE** (dados individuais, n=8).

	E_{max} (bpm)	EC₅₀ (ng/mL)	γ	KeO 1/ng/mL
FASE 1				
(-)-(S)-carvedilol				
1	7,53	5,60	1,63	0,33
2	14,60	12,77	8,67	2,24
3	6,42	0,05	2,58	0,001
4	12,05	5,43	0,67	0,24
5	13,59	6,56	9,97	9,99
6	5,85	17,41	0,12	9,92
7	3,98	1,125	0,465	7,15
8	8,5	1,57	1,54	0,47
FASE 3				
(-)-(S)-carvedilol				
1	3,22	7,87	9,22	0,07
2	21,04	2,89	0,001	1,44
3	18,90	7,90	0,043	1,23
4	13,40	4,42	0,91	0,47
5	11,03	9,95	0,93	0,58
6	6,92	7,68	1,42	4,41
7	5,3	24,46	9,99	0,65
8	2,67	0,46	9,97	0,01

Tabela V. Dados individuais da farmacocinética dos enantiômeros da lercanidipina nos pacientes do **GRUPO DRC (n=8)** tratados com lercanidipina (FASE 2) ou lercanidipina + carvedilol (FASE 3).

	Cmax (ng/mL)	tmax (h)	Ka (h ⁻¹)	Kel (h ⁻¹)	t_{1/2} (h)	AUC^{0-∞} (ng.h.L ⁻¹)	Cl/F (L.h ⁻¹)	Vd/F (L)	AUC^{0-∞} (S)/(R)
FASE 2									
(S)-LER									
1	1,12	3,36	0,51	0,15	4,54	12,24	767,86	5024,75	1,29
2	1,02	0,68	5,30	0,16	4,28	7,04	1334,82	8245,78	1,20
3	0,82	1,17	2,36	0,19	3,73	5,48	1715,96	9238,41	1,03
4	1,05	2,83	0,69	0,15	4,67	10,80	870,41	5863,74	0,95
5	0,85	0,84	3,97	0,16	4,31	6,09	1544,42	9608,89	1,05
6	0,47	3,62	0,60	0,10	7,26	6,96	1350,01	14134,99	1,06
7	1,41	2,30	0,86	0,18	3,88	11,92	788,70	4420,11	1,40
8	4,15	1,12	2,39	0,21	3,30	25,00	376,01	1792,28	2,50
(R)-LER									
1	0,81	4,29	0,23	0,23	2,96	9,46	993,57	4249,00	
2	0,76	0,67	5,61	0,14	4,88	5,85	1605,85	11302,56	
3	0,59	1,53	1,82	0,14	5,03	5,32	1766,92	12813,15	
4	1,01	3,46	0,50	0,15	4,63	11,36	827,34	5525,85	
5	0,73	1,15	2,69	0,14	4,82	6,00	1567,59	10904,28	
6	0,26	2,77	1,25	0,04	15,63	6,58	1429,34	32230,39	
7	0,87	2,58	0,80	0,15	4,62	8,53	1102,21	7344,73	
8	1,68	1,14	2,40	0,19	3,59	10,85	866,53	4486,66	
FASE 3									
(S)-LER									
1	1,53	1,62	1,56	0,16	4,27	12,25	767,49	4729,19	1,78
2	2,05	2,57	0,92	0,12	5,96	23,79	395,13	3398,71	0,94
3	0,58	1,35	2,53	0,09	7,30	6,93	1356,06	14288,12	1,15
4	1,16	1,34	2,41	0,11	6,27	12,14	774,60	7008,22	0,78
5	0,19	0,84	4,17	0,14	4,90	6,21	1514,61	2461,23	0,73
6	1,75	2,27	1,16	0,10	6,61	21,17	444,06	4234,30	1,27
7	1,75	1,83	1,45	0,13	5,41	17,25	544,85	4252,92	1,42
8	3,57	2,32	1,37	0,07	10,34	62,28	150,93	2252,10	5,96
(R)-LER									
1	0,89	1,54	1,65	0,17	4,13	6,87	1369,04	8164,04	
2	2,00	3,47	0,57	0,12	5,73	25,16	373,61	3087,75	
3	0,49	1,50	2,21	0,09	7,43	6,04	1555,61	16680,39	
4	1,05	1,53	2,30	0,08	9,15	15,50	606,32	8005,77	
5	0,60	0,97	4,24	0,08	9,10	8,50	1106,48	14529,86	
6	1,31	3,27	0,64	0,11	6,04	16,66	564,40	4916,80	
7	1,43	1,61	1,62	0,15	4,60	12,08	778,03	5162,46	
8	1,48	1,67	1,36	0,20	3,53	10,44	900,13	4589,22	

Tabela VI. Dados individuais da farmacocinética dos enantiômeros da lercanidipina nos pacientes do **GRUPO CONTROLE (n=8)** tratados com lercanidipina (FASE 2) ou lercanidipina + carvedilol (FASE 3).

	Cmax (ng/mL)	tmax (h)	Ka (h ⁻¹)	Kel (h ⁻¹)	t _{1/2} (h)	AUC ^{0-∞} (ng.h.mL ⁻¹)	Cl/F (L.h ⁻¹)	Vd/F (L)	AUC ^{0-∞} (S)/(R)
FASE 2									
(S)-LER									
1	1,53	1,83	1,13	0,21	3,31	10,73	876,25	4178,69	1,19
2	0,88	1,74	1,41	0,16	4,30	7,26	1293,92	8027,16	1,28
3	0,77	1,55	1,62	0,17	4,03	5,86	1602,87	9309,32	1,42
4	3,17	2,46	0,49	0,33	2,10	21,66	434,07	1317,33	0,63
5	1,51	3,74	0,39	0,17	4,00	16,67	563,76	3253,27	1,32
6	0,66	2,27	1,06	0,13	5,49	6,94	1355,31	10740,29	1,08
7	1,54	1,28	2,47	0,12	5,65	14,72	638,61	5208,67	1,26
8	2,24	1,00	3,01	0,18	3,89	15,00	666,67	3738,39	1,14
(R)-LER									
1	1,29	2,31	0,67	0,26	2,66	9,02	1041,53	4002,52	
2	0,62	1,95	1,25	0,15	4,78	5,68	1657,02	11416,81	
3	0,37	2,80	0,77	0,13	5,46	4,13	2275,12	17906,15	
4	2,76	2,53	0,99	0,11	6,52	33,99	276,50	2600,31	
5	1,04	4,32	0,30	0,17	4,04	12,67	741,85	4327,38	
6	0,54	3,50	0,52	0,13	5,19	6,43	1462,07	10949,65	
7	0,89	1,49	2,28	0,09	8,02	11,71	802,83	9291,33	
8	1,84	1,64	1,41	0,19	3,64	13,18	758,6	3979,63	
FASE 3									
(S)-LER									
1	2,30	1,85	1,12	0,21	3,35	16,28	577,38	2794,55	1,06
2	2,64	0,88	2,83	0,31	2,24	11,2	839,63	2717,63	1,24
3	1,97	1,99	1,14	0,16	4,27	16,73	561,88	3460,08	1,73
4	1,91	3,37	0,63	0,11	6,32	25,15	373,68	3407,22	0,87
5	5,01	0,77	4,52	0,16	4,43	36,13	260,17	1663,11	1,14
6	1,06	1,11	2,98	0,12	5,58	9,83	955,87	7688,88	1,27
7	1,08	0,74	5,36	0,11	6,41	10,85	866,75	8010,62	1,27
8	2,69	1,51	0,53	0,28	2,46	14,59	685,56	2434,05	1,36
(R)-LER									
1	1,93	2,46	0,69	0,21	3,26	15,30	614,36	2891,57	
2	1,89	0,86	3,15	0,26	2,63	8,98	1046,33	3969,64	
3	1,05	2,02	1,19	0,15	4,78	9,66	972,78	6704,34	
4	1,91	4,65	0,37	0,11	6,17	28,63	328,39	2924,96	
5	4,59	0,80	4,20	0,17	4,19	31,66	296,92	1795,63	
6	0,69	1,60	1,93	0,11	6,59	7,73	1216,25	11558,33	
7	0,70	0,98	3,97	0,09	7,71	8,55	1099,00	12217,23	
8	1,96	1,63	1,04	0,30	2,33	10,71	933,32	3140,48	

A **Figura I** mostra as curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros do carvedilol para os pacientes incluídos no grupo de DRC (n=8) na FASE 1 (carvedilol).

Paciente 5

Paciente 5

Paciente 6

Paciente 6

Paciente 7

Paciente 7

Paciente 8

Paciente 8

Figura I. Curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros do carvedilol (FASE 1) para os pacientes do grupo DRC (n=8).

A **Figura II** mostra as curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros do carvedilol para os pacientes incluídos no grupo doença renal crônica (n=8) na FASE 3 (carvedilol+lercanidipina).

Paciente 5

Paciente 5

Paciente 6

Paciente 6

Paciente 7

Paciente 7

Paciente 8

Paciente 8

Figura II. Curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros do carvedilol em associação com a lecanidipina (FASE 3) para os pacientes do GRUPO DRC (n=8).

A **Figura III** mostra as curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros do carvedilol para os pacientes incluídos no GRUPO CONTROLE (n=8) na FASE 1 (carvedilol).

Paciente 5

Paciente 5

Paciente 6

Paciente 6

Paciente 7

Paciente 7

Paciente 8

Paciente 8

Figura III. Curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros do carvedilol (FASE 1) para os pacientes do GRUPO CONROLE.

A **Figura IV** mostra as curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros do carvedilol para os pacientes incluídos no GRUPO CONTROLE (n=8) na FASE 3 (carvedilol+lercanidipina).

Paciente 5

Paciente 5

Paciente 6

Paciente 6

Paciente 7

Paciente 7

Paciente 8

Paciente 8

Figura IV. Curvas de concentração plasmática versus tempo dos enantiômeros do carvedilol em associação com a lercanidipina (FASE 3) para os pacientes do GRUPO CONTROLE (n=8).

A **Figura V** mostra as curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros da lercanidipina para os pacientes incluídos no GRUPO DRC (n=8) na FASE 2 (lercanidipina).

Paciente 5

Paciente 5

Paciente 6

Paciente 6

Paciente 7

Paciente 7

Paciente 8

Paciente 8

Figura V. Curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros da lercanidipina (FASE 2) para os pacientes do grupo DRC (n=8).

A **Figura VI** mostra as curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros da lercanidipina para os pacientes incluídos no GRUPO DRC (n=8) na FASE 3 (lercanidipina + carvedilol).

S-Lercanidipina

Paciente 1

Paciente 2

Paciente 3

Paciente 4

R-Lercanidipina

Paciente 1

Paciente 2

Paciente 3

Paciente 4

Paciente 5

Paciente 5

Paciente 6

Paciente 6

Paciente 7

Paciente 7

Paciente 8

Paciente 8

Figura VI. Curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros da lercanidipina (FASE 3) para os pacientes do grupo DRC (n=8).

A **Figura VII** mostra as curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros da lercanidipina para os pacientes incluídos no GRUPO CONTROLE (n=8) na FASE 2 (lercanidipina).

Paciente 5

Paciente 5

Paciente 6

Paciente 6

Paciente 7

Paciente 7

Paciente 8

Paciente 8

Figura VII. Curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros da lercanidipina para os pacientes incluídos no GRUPO CONTROLE (n=8) na FASE 2 (lercanidipina).

A **Figura VIII** mostra as curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros da lercanidipina para os pacientes incluídos no GRUPO CONTROLE (n=8) na FASE 3 (lercanidipina + carvedilol).

Paciente 5

Paciente 5

Paciente 6

Paciente 6

Paciente 7

Paciente 7

Paciente 8

Paciente 8

Figura VIII- Curvas de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros da lercanidipina para os pacientes incluídos no GRUPO CONTROLE (n=8) na FASE 3 (lercanidipina + carvedilol).

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.fmrp.usp.br

Ribeirão Preto, 11 de novembro de 2008

Ofício nº 4032/2008
CEP/SPC

Prezadas Senhoras,

O trabalho intitulado **“INTERAÇÃO LERCANIDIPINA-CARVEDILOL: ESTEROSSELETIVIDADE E INFLUÊNCIA DA INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA EM PACIENTES HIPERTENSOS”**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 276ª Reunião Ordinária realizada em 10/11/2008 e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 9666/2008.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

PROF. DR. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA
Coordenador do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimas Senhoras

ESTELA HANAUER SCHAAB

PROFª DRª VERA LÚCIA LANCHOTE (Orientadora)

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO -
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Campus Universitário Monte Alegre – RIBEIRÃO PRETO – SP

**PESQUISA CIENTÍFICA
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

NOME DO PACIENTE / IDADE:..... /.....

REGISTRO E/OU DOCUMENTO DE IDENTIFICAÇÃO.....

NOME DA PESQUISA: **“INTERAÇÃO LERCANIDIPINA-CARVEDILOL:
ESTEREOSELETIVIDADE E INFLUÊNCIA DA DOENÇA RENAL CRÔNICA EM
PACIENTES HIPERTENSOS”.**

RESPONSÁVEL CLÍNICO: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Coelho (FMRP-USP) – CREMESP
68.329.

TELEFONE PARA CONTATO: (16) 3602 2543

OBSERVAÇÕES: Projeto Integrado Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP e
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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 nosso estudo procura entender se a doença dos rins modifica o efeito de dois remédios usados para abaixar a pressão arterial. Alguns remédios têm o efeito alterado pela doença nos rins, podendo aumentar ou mesmo ter o seu efeito diminuído. Além disso, quando ocorre a mistura de remédios, pode acontecer de um remédio atrapalhar o efeito do outro. Para a realização deste estudo, serão necessárias pessoas com e sem problema nos rins. Assim, todas as pessoas que irão participar desta pesquisa vão ter um exame de saúde feito em primeiro

lugar para saber se existe algum problema dos rins. Os remédios que você toma para controlar a pressão serão trocados para dois remédios chamados Enalapril e Furosemida, que você deverá usar durante o período que participar da pesquisa (cerca de 60 dias). Pode acontecer de você sentir câimbras, fraqueza e tonturas. Este estudo será dividido em três fases, e você poderá iniciar por qualquer uma delas. Os intervalos de tempo entre a primeira visita e a fase I serão de uma semana, sendo que entre as fases I e II e II e III será de 15 dias. Na FASE I, você terá que vir até o Hospital (HC) em jejum de 12 horas, e irá receber um comprimido de 20 mg de um remédio usado para abaixar a pressão, chamado Lercanidipina. Nós iremos coletar amostras de 5 mL de sangue (cerca de uma colher de sopa) da veia do seu braço várias vezes (cerca de 15 vezes). Um tubinho de plástico será colocado dentro da sua veia, assim nós iremos picar você uma única vez. Pode acontecer de aparecerem efeitos exagerados do remédio como cansaço, fraqueza ou falta de ar, além de poder cair o valor da sua pressão. Se isso ocorrer, nós iremos tratá-lo aqui mesmo no hospital e iremos interromper a pesquisa. Após 15 dias, você deverá comparecer novamente ao hospital para a próxima fase do estudo. Na FASE II você receberá um comprimido (25mg) de um outro remédio para abaixar a pressão chamado Carvedilol. De novo, nós iremos coletar amostras de 5 mL de sangue (cerca de uma colher de sopa) da veia do seu braço várias vezes (cerca de 15 vezes), como explicado na parte de cima deste documento. Após 15 dias, você deverá comparecer novamente ao hospital para a próxima fase do estudo. Na FASE III você irá receber os dois remédios juntos (carvedilol e lercanidipina) para que nós possamos estudar como será o efeito desta associação. De maneira parecida com a FASE I e FASE II, você também deverá estar em jejum e as amostras de sangue serão coletadas novamente. Após o término das fases, você receberá um comprimido chamado metoprolol (100 mg) e outro chamado midazolam (15 mg), para que nós possamos avaliar como o seu fígado está destruindo os remédios. Pode acontecer de você sentir sonolência por causa do midazolam, mas você estará deitado e nós estaremos acompanhando você. Nós iremos coletar neste mesmo dia amostras de sangue (cerca de 15 vezes) de 5 mL (1 colher de sopa) para saber como seu fígado elimina os remédios. Assim, se você quiser participar da pesquisa, você terá que vir pelo menos 4 vezes ao Hospital: uma para ser examinado, e três para tomar os remédios. Nas vezes que você vier tomar os remédios, você terá que ficar internado no Hospital por 36 horas, e na última fase 48 horas. Além de coletar o seu sangue, nós também vamos medir durante o tempo em que você ficar no Hospital a sua pressão arterial com um aparelho automático chamado MAPA. Ele vai encher e esvaziar sozinho uma bolsa de borracha no seu braço esquerdo a cada 15 minutos para medir a sua pressão arterial. Pode acontecer de você sentir um aperto no braço a cada vez que o aparelho funcionar. Também iremos colocar um aparelho que mede os batimentos do seu coração e iremos pedir para que você aperte uma mola a cada vez que for coletar sangue para ver o efeito do remédio sobre os batimentos do coração

A sua colaboração será importante para entendermos como ajustar a dose desses medicamentos para o controle de pressão arterial. “Isto poderá ajudar na escolha do melhor tratamento e no ajuste da dose dos remédios para pessoas que tem problema nos rins.”

2- Você não é obrigado a continuar participando do projeto e pode, a qualquer momento sair do mesmo, sem que isso impeça que você deixe de ser tratado como os demais pacientes do Hospital das Clínicas.

3- A pesquisa não será feita se houver, relacionados à mesma, grandes riscos para você. 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 voluntário.

4- Os pesquisadores garantem que responderão a qualquer pergunta ou farão esclarecimentos a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa e com o tratamento que você será submetido.

5- Os pesquisadores se comprometem a proporcionar a você informações atualizadas durante o estudo, ainda que estas possam afetar a sua vontade de continuar participando da pesquisa.

6- Os pesquisadores se comprometem a manter sigilo da sua participação e de publicar os resultados da pesquisa para a comunidade médica e científica pertinente.

7- Você terá direito a ressarcimento financeiro caso hajam gastos gerados exclusivamente pela sua participação como voluntário desta pesquisa.

8- Caso haja dano comprovadamente decorrente da pesquisa você terá direito a indenização.

Ribeirão Preto, de.....de.....

Assinatura do paciente
ou de seu responsável

Prof. Dr. Eduardo Barbosa
Coelho
Cremesp 68.329

Telefones para contato: (16) 3602 2543 e (16) 3602 2950 (Unidade de Pesquisa Clínica)

TESTEMUNHAS NÃO LIGADAS À PESQUISA:

1-.....
Assinatura

.....
identificaç

2-.....
Assinatura

.....
identificação

ANEXO C- EXAMES BIOQUÍMICOS

TABELA I- Parâmetros bioquímicos dos pacientes do grupo DRC (n=8).

Exame Bioquímico	Paciente 1 DRC	Paciente 2 DRC	Paciente 3 DRC	Paciente 4 DRC	Paciente 5 DRC	Paciente 6 DRC	Paciente 7 DRC	Paciente 8 DRC	Valores de Referência
Uréia (mg/dL)	141	71	94	60	38	65	133	64	10-50
Creatinina (mg/dL)	4,2	2,1	2,5	2,1	2,4	1,7	4,1	2,85	0,7-1,2
Glicemia (mg/dL)	90	88	95	95	84	92	83	93	70-100
Sódio (Na) mmol/L	139	142	142	143,4	134	140	141	142,6	135,0-145,0
Potássio (K) mmol/L	5,3	6,7	4,6	4,8	3,4	5,1	5,3	4,7	3,5-5,0
TGO (U/L)	13	14	27	19	19	15	16		Até 32
TGP (U/L)					9	16	13		Até 40
Gama GT (U/L)	65	27	73	33	35	18	35		11,0-50,0
Bilirrubina Total (mg/dL)	0,43	0,37	0,53	0,82	0,77	0,33	0,30		0,2-1,2
Bilirrubina Direta (mg/dL)	0,16	0,12	0,13	0,29	0,25	0,11			Até 0,3
Colesterol Total (mg/dL)	220	175	266	136	194	183	218	164	<200
HDL (mg/dL)	32	34	38		37			38	>35
LDL (mg/dL)	167	115	188		113			112	<130
Triglicérides (mg/dL)	109	133	198	96	216	137	151	72	<150
Clearance creatinina (mL/min/1,73m²)	21,6	49,5	47,7	50,4	41,8	47,9	24,9	35,9	>80

TABELA II- Parâmetros bioquímicos dos pacientes do grupo controle (n=8).

Exame Bioquímico	Paciente 1 HAS	Paciente 2 HAS	Paciente 3 HAS	Paciente 4 HAS	Paciente 5 HAS	Paciente 6 HAS	Paciente 7 HAS	Paciente 8 HAS	Valores de Referência
Uréia (mg/dL)	27	28	43	38	31	56	25	32	10-50
Creatinina (mg/dL)	0,6	1,2	1,1	1,2	0,9	1,14	0,74	1,03	0,7-1,2
Glicemia (mg/dL)	85	99	121	88	113	87	112	75	70-100
Sódio (Na) mmol/L	140	141	138	141	136,9			144,5	135,0-145,0
Potássio (K) mmol/L	4,1	5,0	4,8	4,7	4,7			4,5	3,5-5,0
TGO (U/L)	18	28	9	16	17	23	26	38	Até 32
TGP (U/L)			14	26		46	52		Até 41
Gama GT (U/L)			19	33	35	65	47	58	11,0-50,0
Bilirrubina Total (mg/dL)	0,40	0,78	0,5		0,94		0,77		0,2-1,2
Bilirrubina Direta (mg/dL)	0,14		0,18		0,26		0,23		Até 0,3
Colesterol Total (mg/dL)	159	130	218	190	235	176	151	190	<200
HDL (mg/dL)	35	44	35	49	33	129	84	130	>35
LDL (mg/dL)	99	75	126	122	155	34	25	44	<130
Triglicérides (mg/dL)	126	50	282	94	237	66	204	80	<150
Clearance creatinina (mL/min/1,73m²)	164,18	97,23	95,6	98,78	91,5	104	149	104,7	>80