



UNIVERSIDADE D
COIMBRA



Patrícia Ferreira Dias Henriques

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Influence of ABC-efflux transporters on the toxic effects of the direct oral anticoagulant drugs” referentes à unidade curricular “Estágio Curricular”, sob a orientação, respetivamente, da Dra. Ana Filipa Guerra, Dra. Dina Lopes e da Professora Doutora Ana Fortuna e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2018

Patrícia Ferreira Dias Henriques

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Influence of ABC-efflux transporters on the toxic effects of the direct oral anticoagulant drugs” referentes à unidade curricular “Estágio Curricular”, sob a orientação, respetivamente, da Dr.^a Ana Filipa Guerra, Dr.^a Dina Lopes e da Professora Doutora Ana Cristina Fortuna e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Patrícia Ferreira Dias Henriques, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013141212, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Influence of ABC-efflux transporters on the toxic effects of the direct oral anticoagulant drugs” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 30 de Agosto de 2018

Patrícia Ferreira Dias Henriques

(Patrícia Ferreira Dias Henriques)

Agradecimentos

É com alegria que expresso o meu sincero agradecimento:

Às equipas da Farmácia do Fórum e do INFARMED, I.P., pelo apoio, partilha de conhecimento, amizade e boa disposição. Foram essenciais aos meus estágios;

À Professora Doutora Ana Cristina Fortuna, pela amabilidade, disponibilidade e orientação concedida;

Aos meus colegas de curso e amigos que me acompanharam ao longo do meu percurso académico pela força e motivação transmitida, companheirismo e experiências vividas;

À minha família pelo apoio incondicional em todos os momentos e ao Bruno por toda a paciência e confiança transmitida;

Ao FFUCoral e Coro Misto da Universidade de Coimbra pela música, aventuras e sobretudo por manterem o meu coração cheio.

A todos um grande obrigada!

Índice

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária	1
Lista de Abreviaturas.....	2
Lista de Figuras.....	2
1. Introdução.....	3
2. Caracterização da Farmácia	3
3. Atividades Desenvolvidas.....	4
3.1. Gestão de Encomendas.....	4
3.2. Atendimento ao público.....	4
3.3. Receituário	5
4. Análise SWOT	6
4.1. Pontos Fortes.....	6
4.1.1. Localização e horário	6
4.1.2. Equipa técnica.....	6
4.1.3. Sifarma 2000® e Robot Rowa Vmax.....	7
4.1.4. Diversidade de produtos.....	8
4.1.5. Medicamentos Manipulados	9
4.1.6. Determinação de parâmetros Bioquímicos e Fisiológicos.....	10
4.2. Pontos Fracos.....	11
4.2.1. Serviços Farmacêuticos Clínicos	11
4.2.2. Dispensa Automatizada	11
4.3. Oportunidades	11
4.3.1. Formações	11
4.3.2. Eventos de marcas com presença de conselheiros.....	12
4.3.3. Inventário.....	12
4.4. Ameaças.....	12
4.4.1. Clientes.....	12
4.4.2. Receitas Manuais.....	13
4.4.3. Parafarmácias	13
4.4.4. Homeopatia.....	13
4.4.5. Plano Curricular do MICF.....	14
5. Casos Clínicos.....	14
5.1. Caso Clínico 1	14
5.1. Caso Clínico 2.....	15
6. Considerações Finais.....	15
7. Bibliografia	17

8. Anexos	18
Relatório de Estágio Curricular na Direção de Avaliação de Medicamentos do Infarmed	21
Lista de Abreviaturas.....	22
Lista de Figuras.....	22
1. Introdução	23
2. INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I. P.....	23
2.1. UMM.....	24
3. Análise SWOT	25
3.1. Pontos Fortes	25
3.1.1. Integração	25
3.1.2. Equipa	26
3.1.3. Autonomia e Responsabilidade	26
3.2. Pontos Fracos.....	27
3.2.1. Foco único em renovações de processos de EMR	27
3.2.2. Fluxo de trabalho irregular.....	27
3.3. Oportunidades	27
3.3.1. Contacto com o portal SMUH-ALTER e GiMED	27
3.3.2. Formação com profissionais experientes.....	28
3.3.3. Contacto com requerentes.....	28
3.3.4. Visita ao Laboratório do INFARMED, I.P.....	28
3.3.5. Assistir a uma reunião da Comissão de Avaliação de Medicamentos	28
3.4. Ameaças.....	29
3.4.1. Limitações nos recursos tecnológicos	29
4. Considerações Finais.....	29
5. Bibliografia	30
Influence of ABC-efflux transporters on the toxic effects of the direct oral anticoagulant drugs	31
Resumo.....	32
Abstract.....	33
List of Figures	34
List of Tables	34
List of Abbreviations	35
1. Introduction	36
2. Efflux Cell Membrane Transporters	37
3. Direct Oral Anticoagulants.....	40

3.1. Pharmacodynamic properties and Therapeutic Indications of DOACs.....	41
3.2. Pharmacokinetics of DOACs.....	43
4. Non-clinical evidence regarding the role of P-gp and BCRP on DOACs disposition.....	45
5. Clinical evidence regarding the role of P-gp and BCRP on DOACs disposition	49
6. Conclusions and Future Work	57
7. Annexes.....	59
8. Bibliography.....	63

Patrícia Ferreira Dias Henriques

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

Relatório de Estágio referente à unidade “Estágio Curricular”, sob a orientação Dr.^a Ana Filipa da Cunha Travasso Guerra, apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Lista de Abreviaturas

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MSRM – Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*

Lista de Figuras

Figura I – *Robot Rowa Vmax*.....8

Figura II – Gabinete de apoio ao utente da Farmácia do Fórum..... 10

1. Introdução

O exercício farmacêutico é uma atividade de interesse público, integrando-se no sistema de saúde, sendo que o seu exercício tem como objetivo essencial a pessoa do doente. O farmacêutico não é um simples trocador de mercadorias por receita médica. A sua formação académica e competências técnicas permitem que este profissional seja capaz de informar e aconselhar o doente no momento da dispensa do medicamento na farmácia comunitária, que é um local privilegiado de obtenção de informação no que toca a cuidados de saúde[1]. Hoje em dia a farmácia, para além de ser o local de cedência de medicamentos e respetivo aconselhamento, é também um local de prestação de serviços e de aconselhamento de cuidados de beleza e bem-estar.

O estágio curricular em Farmácia Comunitária é a última etapa do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) e permite ao aluno contactar com a realidade de trabalho em Farmácia Comunitária. Permite aplicar e consolidar os conhecimentos teóricos e práticos adquiridos ao longo do curso, mas também aprender e desenvolver muitas outras competências, algumas que só se desenvolvem com a experiência e prática. Desta forma há uma melhor preparação para o mercado de trabalho naquela que é das principais áreas no vasto setor farmacêutico.

O meu estágio curricular foi realizado na Farmácia do Fórum, localizada no Fórum de Coimbra, tendo iniciado no dia 8 de janeiro e terminado no dia 28 de abril, sob orientação da Dr.ª Filipa Guerra, Farmacêutica Substituta da farmácia.

Este relatório contém uma pequena descrição das atividades que desenvolvi e os conhecimentos técnicos e científicos que adquiri nas mesmas e uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), que se divide em duas dimensões, a interna e a externa. A dimensão interna diz respeito aos fatores intrínsecos do estágio, subdividindo-se em Pontos Fortes e Pontos Fracos. A análise externa tem que ver com os elementos externos ao estágio, subdividindo-se em Oportunidades e Ameaças. Irei ainda apresentar alguns casos práticos que decorreram ao longo do estágio.

2. Caracterização da Farmácia

A Farmácia do Fórum está localizada no centro comercial Fórum Coimbra, no centro da cidade de Coimbra, e está aberta todos os dias das 9h às 24h. É uma farmácia muito movimentada, não deixando de ter os clientes habituais conhecidos a todos. É uma farmácia muito dinâmica, que se prima pela excelência, e que põe em primeiro lugar o utente.

3. Atividades Desenvolvidas

No decorrer do meu estágio pude contactar com diversas atividades, as quais irei descrever brevemente.

3.1. Gestão de Encomendas

O início do meu estágio foi dedicado à receção e conferência de encomendas, armazenando os produtos no *robot* e outros locais, assim como a organização de produtos reservados. Esta fase inicial foi essencial para começar a conhecer a grande diversidade de produtos existentes na farmácia, e a sua localização. Também foi importante para compreender como se calcula o preço dos produtos e medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) nesta farmácia, e o que se tem que ter em conta, nomeadamente se há descontos por parte do fornecedor, a margem, e por vezes uma pesquisa sobre a concorrência.

Por vezes era necessário proceder a reclamações por exemplo quando o que estava faturado era diferente daquilo recebido, ou quando recebia embalagens danificadas. Muitas vezes era necessário fazer devoluções. Isto dotou-me de competências de resolução de problemas.

Numa fase mais tardia do estágio também tive oportunidade de contactar com a realização de encomendas. Na farmácia do Fórum são realizadas encomendas diárias três vezes por dia. O Sifarma 2000[®] automaticamente escolhe o número de embalagens de cada produto tendo em conta o seu *stock* mínimo e máximo definidos. A partir daqui era necessário ajustar os números na encomenda ou eliminar/acrescentar produtos. Para tal era necessário ter em conta vários fatores nomeadamente a média de vendas do produto por mês, quantas unidades foram vendidas no presente mês, por vezes a lista de produtos mais vendidos na semana anterior, e ainda ter noção do espaço disponível para armazenamento de produtos.

3.2. Atendimento ao público

O atendimento dos utentes ao balcão é a atividade central onde o farmacêutico comunitário atua junto da população.

No meu estágio comecei por assistir a atendimentos realizados pelos farmacêuticos mais experientes, que me mostraram todo o processo incluindo as perguntas que é necessário fazer, a informação que é necessária dar e ainda os fatores técnicos da venda. De seguida passei a ser eu a realizar o atendimento com a supervisão direta de um farmacêutico, que me auxiliava sempre que necessário. Por último passei a ser independente no atendimento, sendo que quando necessitava de ajuda recorria a alguém para me auxiliar.

Contactei com vários tipos de prescrição, nomeadamente receitas manuais, receitas eletrónicas materializadas e receitas sem papel.

Na dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) é necessário ter em conta se é a primeira vez que o doente irá tomar a medicação, avaliando se é uma situação aguda ou crónica, e se crónica se já é habitual ser aquela a medicação. Se for medicação nova é essencial informar acerca da posologia e acerca de alguma advertência específica. Se for habitual é necessário compreender qual o laboratório de preferência de cada medicamento. Pode-se ainda questionar ao utente se tem alguma dúvida ou problema com a medicação, e se a toma corretamente.

No caso de MNSRM é muito importante compreender a situação para a qual o utente necessita do medicamento e avaliar qual o medicamento que melhor se adequa, explicando a posologia e advertências. É muito comum o utente pedir certo medicamento não sujeito a receita médica sem saber o fim a que se destina, e por isso cabe a nós fornecer toda a informação.

Existem ainda outros produtos por exemplo dispositivos médicos ou produtos de dermocosmética para os quais também é necessário compreender a situação do utente, perceber a sua preferência, e avaliar o que melhor se adequa. No caso de produtos de dermofarmácia e cosmética era muito comum existirem promoções para as quais era necessário atenção, visto que estas muitas vezes fidelizam um cliente.

Ao longo do meu estágio deparei-me com uma diferença significativa no tipo de atendimentos durante a semana e ao fim-de-semana e feriados. Durante a semana contactava principalmente com utentes habituais, já conhecidos na farmácia, com residência perto da farmácia ou lojistas do fórum, cedendo a medicação de situações crónicas. Os utentes já tinham ficha criada na farmácia, e podia consultar o seu histórico. Ao fim-de-semana e feriados eram principalmente clientes não habituais, de passagem, sobretudo procurando medicação para situações agudas ou aconselhamento de produtos de dermofarmácia e cosmética. Nestes dias a afluência à farmácia era bastante maior, sendo necessário adoptar um ritmo de trabalho diferente.

3.3. Receituário

A conferência do receituário é uma tarefa de grande importância em farmácia comunitária, sendo essencial para evitar erros relacionados com receitas, de forma a não prejudicar o utente nem a farmácia em termos financeiros.

Inicia durante o atendimento ao receber uma receita, verificando se esta foi prescrita corretamente sem erros ou falta de informação, e em todas elas o prazo de validade. No caso

das receitas eletrónicas materializadas deve-se verificar se o médico prescriptor assinou a receita, e se a impressão no verso corresponde à receita em questão. Se for uma receita manual é necessário ter mais atenção pois são mais os fatores a ter em conta, nomeadamente verificar a identificação do utente (nome, número de utente/número de beneficiário), vinheta do prescriptor, identificação da exceção que justifica o uso deste tipo de receita, regime de comparticipação, identificação e quantidade do(s) medicamento(s), data e assinatura do prescriptor.

Após dispensa da receita há uma revalidação por uma pessoa diferente à do atendimento, verificando todos os pontos acima referidos. Caso esteja tudo conforme a receita é carimbada, assinada e datada.

Seguidamente é feita a separação e organização das receitas de acordo com o organismo de comparticipação e o lote a que pertencem. Esta fase foi muito importante no meu estágio, visto que me foi muito útil para conhecer os organismos e regimes de comparticipação e o processo de faturação às diversas entidades.

4. Análise SWOT

4.1. Pontos Fortes

4.1.1. Localização e horário

A Farmácia do Fórum está localizada no centro comercial Fórum Coimbra, no piso 0, e está aberta todos os dias das 9h às 24h. A localização na cidade e o horário alargado foram sem dúvida um ponto forte visto que me permitiram contactar com uma maior heterogeneidade e quantidade de casos e utentes. Isto sem dúvida contribuiu para a minha aprendizagem e para o maior desenvolvimento das minhas capacidades de atendimento.

4.1.2. Equipa técnica

A equipa técnica da Farmácia do Fórum foi dos pontos mais fortes no meu estágio. Uma equipa de 16 profissionais de saúde jovens e dinâmicos, incluindo maioritariamente farmacêuticos, mas também técnicos de farmácia e técnicos auxiliares de farmácia. Todos eles contribuíram para o meu desenvolvimento e aprendizagem. Sempre dispostos a darem-me pequenas formações de várias gamas de produtos, e sempre disponíveis para me ajudar com as infindáveis dúvidas. Uma equipa com uma excelente ética de trabalho. Uma equipa incansável.

4.1.3. Sifarma 2000® e Robot Rowa Vmax

Hoje em dia uma farmácia está completamente dependente de tecnologia, sendo que esta auxilia e controla as atividades a realizar na farmácia, minimizando possíveis erros.

O Sifarma 2000® é o programa de gestão farmacêutica presente em todos os computadores da Farmácia do Fórum. Este *software* tem inúmeras funcionalidades. Permite realizar grande parte das encomendas e a sua conferência na receção, controlando rigorosamente os produtos encomendados e recebidos. Também permite realizar devoluções, gestão de *stock* na farmácia e apoio na conferência de validades. No atendimento permite criação de ficha do utente, onde se pode registar as suas informações e onde fica guardado o seu histórico de compras que pode ser muito útil quando o utente toma os mesmos medicamentos num longo período de tempo e não se lembra dos seus nomes/laboratórios, ou quando o utente necessita de medicamentos psicotrópicos e a partir da ficha é possível obter logo toda a informação necessária ao dispensar esse tipo de medicamento. Por último o Sifarma 2000® dá um grande apoio ao atendimento ao possuir informação científica sobre os medicamentos. A informação da composição do medicamento, verificando qual/quais o(s) princípio(s) ativo(s) dos medicamentos, assim como os excipientes foi sem dúvida essencial, dado que os utentes muitas vezes pediam os nomes das marcas ou era necessário saber se continha sacarose/lactose/sabor. A informação acerca de interações, precauções, contra-indicações e reações adversas permitiu ainda esclarecer muitas dúvidas.

O Robot Rowa Vmax (Figura I), um *robot* de armazenamento, está acoplado ao Sifarma 2000®, e cede os produtos solicitados tanto no atendimento como fora dele. Traz vantagens a nível de organização da farmácia uma vez que em pouco espaço físico armazena um grande número de produtos. Este *robot* possui um leitor ótico e uma esteira de armazenamento que permitem a introdução de embalagens. Ao introduzir uma embalagem é ainda necessário registar o prazo de validade. O *robot* organiza as embalagens por tamanhos e prazos de validade, sendo que cede sempre o produto com validade mais curta, contribuindo para o “*first in, first out*”. Traz ainda vantagens a nível do atendimento uma vez que deixa de ser necessário ir procurar os medicamentos solicitados, o que deixa mais tempo para o aconselhamento farmacêutico. Tendo em conta que o *robot* está associado ao Sifarma 2000®, quando existe uma receita médica, os medicamentos dispensados pelo *robot* são exatamente aqueles presentes na receita, não havendo assim erros a dispensar embalagens semelhantes de nome, dosagem e aspeto. Isto permite uma grande confiança ao ceder os medicamentos certos.

Desde o início do meu estágio que contactei tanto com o Sifarma 2000® como o Robot, inicialmente a nível da receção de encomendas e reposição de produtos, e mais tarde a nível

do atendimento, chegando à conclusão que estas ferramentas tecnológicas são essenciais ao bom funcionamento da farmácia e permitem uma eficaz gestão farmacêutica e um atendimento de qualidade, com redução de erros e agilização de processos.



Figura I – Robot Rowa Vmax.

4.1.4. Diversidade de produtos

A Farmácia do Fórum tem uma vasta variedade de produtos. Para além dos medicamentos de uso humano possui uma grande diversidade de produtos de dermofarmácia e cosmética, medicamentos e produtos de uso veterinário, suplementos alimentares, dispositivos médicos, produtos de puericultura, higiene oral, entre outros.

A área da dermofarmácia e cosmética foi aquela para a qual ia menos preparada e necessitei de mais formação para conseguir aconselhar este tipo de produtos. Sendo uma área muito requisitada na farmácia do fórum fui obrigada a aprender as características de cada marca de cosmética, o seu conceito, gamas de produtos e quais os melhores para cada tipo de pele e preferência da pessoa. Também era recorrente a necessidade de aconselhar produtos para certos problemas de pele como dermatite atópica, dermatite seborreica, psoríase, etc, o que me fez aprender muito sobre os diferentes produtos existentes para cada situação.

A farmácia do fórum apresenta também um alargado leque de produtos veterinários, principalmente para cão e gato, visto que hoje em dia a sociedade cada vez mais se preocupa com os seus animais de estimação, querendo garantir o seu bem estar e saúde. Assim sendo foi necessário aprender a aconselhar este tipo de produtos, passando da teoria à prática.

Relativamente a suplementos alimentares também existem com grande variedade na farmácia do fórum, sendo que são frequentemente pedidos pelos clientes com necessidades

específicas. Foi necessário aprender quais os suplementos melhores para cada situação, como por exemplo má circulação sanguínea ou dificuldade em adormecer. Esta foi sem dúvida das áreas em que senti que o aconselhamento farmacêutico era essencial e uma mais valia, e o facto de haver imensa variedade deste tipo de produtos possibilitou-me aprender muito sobre eles.

Houve ainda muitos outros tipos de produtos para os quais era necessário um aconselhamento específico, desde cremes de muda da fralda, mamilos de silicone, colutórios diversos, escovas de dentes com imensas características, meias elásticas, pensos, palmilhas, etc... Graças ao meu estágio numa farmácia com uma variedade enorme destes produtos foi possível aprender muito mais.

4.1.5. Medicamentos Manipulados

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de preparar vários medicamentos manipulados. Apesar da grande diversidade de medicamentos existentes no mercado há por vezes necessidade de preparar uma certa formulação que não existe comercializada, respondendo a necessidades específicas do utente, como por exemplo crianças. A Farmácia assume a responsabilidade desde a aquisição de matérias primas até à dispensa do medicamento e aconselhamento.

Ao preparar medicamentos manipulados pude colocar em prática os meus conhecimentos de farmácia galénica, assim como adquirir e consolidar novos conhecimentos e competências. Em primeiro lugar pude contactar em profundidade com o Formulário Galénico Português, uma ferramenta de grande importância na preparação de medicamentos manipulados. Pude ainda realizar a manipulação em si, como por exemplo de cremes, soluções de uso externo ou soluções orais. Nesta fui a operadora, sendo que fui supervisionada por um farmacêutico. Além da manipulação preenchi a folha de registo do medicamento manipulado, na qual se deve discriminar todas as substâncias usadas, o processo de preparação, os testes de controlo do produto acabado, as condições de armazenamento, o prazo de utilização e o cálculo do preço do medicamento. Apresento em anexo uma folha de registo preenchida por mim, assim como a rotulagem do manipulado (Anexo I). Também preenchi a folha de registo de utilização das matérias primas, na qual discriminava a quantidade utilizada de matéria prima, e a quantidade restante. Cada folha de registo tem em anexo o boletim de análise da matéria prima.

Para todo o processo de preparação do medicamento manipulado dispunhamos do apoio técnico-científico do Laboratório de Estudos Farmacêuticos sempre que surgia alguma

dúvida ou algum medicamento manipulado novo não presente no formulário galénico português.

Resumindo os medicamentos manipulados são essenciais, porque colmatam a inexistência de soluções da indústria, e o meu estágio permitiu-me desenvolver competências nesta área.

4.1.6. Determinação de parâmetros Bioquímicos e Fisiológicos

A Farmácia do Fórum dispõe de alguns serviços farmacêuticos destinados aos seus utentes, nomeadamente os de *check up* de saúde que incluem a medição da pressão arterial, glicémia, colesterol total e triglicéridos. Estas medições são efectuadas no gabinete de apoio ao utente, um local que confere conforto e privacidade ao utente (Figura II).

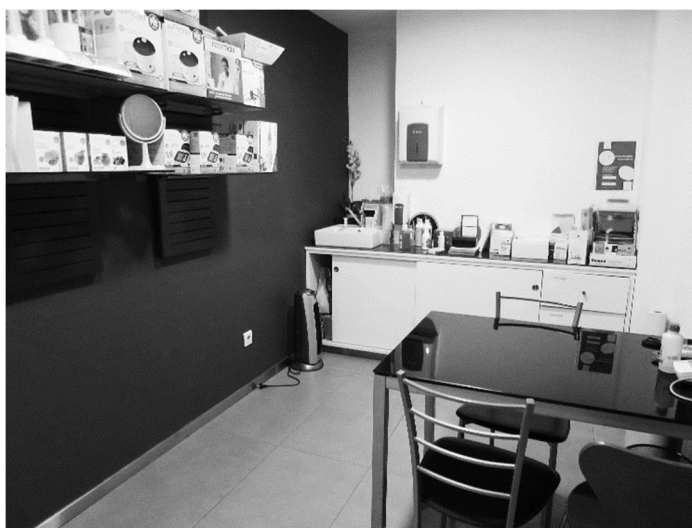


Figura II – Gabinete de apoio ao utente da Farmácia do Fórum.

Após efectuar a determinação do valor em questão é prestado aconselhamento não farmacológico de acordo com o resultado, alertando normalmente o utente para adoptar estilos de vida saudáveis. Para além disso é ainda normalmente questionado ao utente que medicação toma e tentar compreender se a toma corretamente e não tem qualquer tipo de dúvida ou questão. Isto revela-se fundamental na adesão à terapêutica. Apesar de uma determinação destes parâmetros só por si não ter grande significado, dá para ficar com uma noção se o valor está muito fora do habitual ou não. No caso de utentes com algum problema de saúde relacionado com estes parâmetros é habitual dar uma folha de registo para ir anotando os valores, e alertar que é importante fazer as medições com certa regularidade.

No meu estágio tive a oportunidade de determinar os vários parâmetros bioquímicos e fisiológicos e prestar aconselhamento ao utente, desenvolvendo as minhas capacidades de comunicação.

4.2. Pontos Fracos

4.2.1. Serviços Farmacêuticos Clínicos

O MICF prepara os seus alunos para prestarem serviços farmacêuticos clínicos, tanto a nível hospitalar como em farmácia comunitária. Penso que os conhecimentos adquiridos são, sem dúvida, muito úteis para que o futuro farmacêutico esteja preparado para desempenhar estes serviços, que são uma mais-valia para o doente, valorizando o farmacêutico enquanto promotor da saúde pública.

Apesar do simples aconselhamento farmacêutico no decorrer do atendimento seja muitas vezes um serviço farmacêutico clínico, a farmácia onde estagiei não disponibiliza alguns dos serviços que foram focados ao longo do MICF, como revisão da medicação ou acompanhamento farmacoterapêutico.

4.2.2. Dispensa Automatizada

O *Robot Rowa Vmax*, apesar de trazer diversos benefícios no atendimento, causa alguma automatização na dispensa de medicamentos, acartando alguma dificuldade em associar os princípios ativos aos nomes comerciais e às embalagens. Quando o utente não sabe o nome do laboratório do medicamento que pretende, e havendo muitos genéricos, torna-se um verdadeiro desafio compreender de qual se trata, uma vez que não é possível “abrir a gaveta” e ver as embalagens, é necessário pedir ao *robot* que traga as embalagens uma a uma, o que leva algum tempo, sendo que muitas vezes o cliente acabava por desistir de querer o tal medicamento.

4.3. Oportunidades

4.3.1. Formações

Apesar da grande formação académica que temos ao longo do curso, é essencial a formação contínua de todos os colaboradores da farmácia, sendo que era constante a existência de formações, tanto internas como externas.

As formações internas eram promovidas por delegados de informação médica ou profissionais de saúde ligados a uma marca de produtos. Nas formações eram apresentados novos produtos e era feita uma revisão de produtos já existentes, reforçando as vantagens destes, e explicando como se deveria proceder o aconselhamento, esclarecendo qualquer tipo de dúvida. Estas formações revelaram-se uma mais valia no meu estágio, pois permitia que me

sentisse confiante ao aconselhar os produtos. Destaco as formações das linhas/produtos da Bayer Vet[®], Omega Pharma[®], Vichy[®], Esthederm[®], Bioderma[®], A-Derma[®], Mylan[®] e Absorvit[®].

Houve ainda, a nível externo, certas formações mais abrangentes destinadas a várias farmácias, nas quais se explicava mais a fundo os produtos. Destaco aqui duas formações da ISDIN[®], da PharmaNord[®], da Gedeon Richter[®] e da Zambon[®].

4.3.2. Eventos de marcas com presença de conselheiros

Ao longo do meu estágio a farmácia contou com vários eventos promovidos por diversas marcas, como a Caudalie[®], Papillon[®] ou ISDIN[®]. Nos eventos havia um conselheiro que contactava com o utente para promover a marca e normalmente fazendo uma avaliação inicial das suas necessidades seguindo-se um aconselhamento personalizado. Estes eventos acabaram por ser uma oportunidade para o meu estágio uma vez que muitas vezes estes conselheiros davam-me formação específica da marca, aprofundando o meu conhecimento nas mesmas.

4.3.3. Inventário

No meu estágio tive a oportunidade de participar na realização do inventário da farmácia, que é feito uma vez por ano, tendo este ano iniciado pelas 14h e finalizado pelas 4h. No inventário é feita a contagem física de todos os produtos existentes na farmácia e posteriormente feita a comparação com o *stock* apresentado pelo Sifarma 2000[®]. Ao realizar esta comparação deve-se fazer nova contagem dos produtos com diferenças entre o valor do Sifarma 2000[®] e o valor dado na contagem física, e se mesmo assim houver diferenças deve-se compreender a razão do erro. Por fim deve-se corrigir os erros remanescentes.

Tudo isto revela-se de grande importância uma vez que permite corrigir qualquer erro que possa existir no que toca aos *stocks*, de forma que o *stock* apresentado seja efetivamente o real, o que é crucial não só no momento do atendimento ao informar o cliente do número de embalagens existentes de um determinado produto, mas também no que toca à gestão de encomendas e otimização do espaço de armazenamento.

Ao participar nesta atividade pude compreender melhor a importância da gestão e manutenção de *stocks*.

4.4. Ameaças

4.4.1. Clientes

A tipologia de clientes da Farmácia do Fórum cria muitas vezes um ambiente desfavorável para a farmácia, e conseqüentemente ao meu estágio. Sendo localizada num centro comercial da cidade a maioria dos clientes tem acesso a informação, sendo que vêm

previamente informados à farmácia. Alguns destes clientes vinham corretamente informados, no entanto a maioria estava mal informada tanto pela internet (redes sociais, sites não fidedignos, blogs) como por amigos/familiares, sendo que a confiança no farmacêutico era escassa, e acabavam por confiar mais num blog ou num amigo.

No caso de MNSRM ou produtos de saúde/cosmética este tipo de cliente pedia exatamente o que queria, ao contrário dos clientes menos informados que relatam o seu problema de saúde ou o motivo pelo qual vieram à farmácia, pedindo conselhos para a sua situação. O que sucedia era que, estando mal informados, acabavam por pedir um produto que não era o mais adequado. A estratégia do Farmacêutico era questionar para que situação se destinava o produto, de forma a compreender se realmente seria aquele o mais indicado, sugerindo outro caso não fosse.

4.4.2. Receitas Manuais

Apesar de menos comuns nos dias de hoje, as receitas manuais ainda são uma realidade em farmácia comunitária. Estas podem causar bastantes dificuldades no decorrer do atendimento uma vez que era habitual erros na prescrição ou caligrafia difícil de compreender. Isto acabou por se tornar uma ameaça ao meu estágio uma vez que me impossibilitou ou atrasou muitas vezes o meu atendimento. Acabou por ser por vezes também frustrante quando uma certa receita passada com erros impossibilitava o utente de poder levar o medicamento que necessitava.

4.4.3. Parafarmácias

No centro comercial onde se localiza a Farmácia do Fórum existe uma parafarmácia. Esta tinha constantemente campanhas e promoções, competindo com a farmácia. Muitas pessoas são atraídas pelos preços competitivos, apesar do atendimento na parafarmácia não ser o melhor, o que se comprovou por utentes que depois tiveram que recorrer à farmácia para obter melhor aconselhamento. Por outro lado, houve também situações em que pessoas vinham à farmácia para obter aconselhamento de certos produtos/MNSRC, para depois adquiri-los na parafarmácia. No geral a parafarmácia leva à perda de alguns clientes.

Contudo, apesar da competitividade, o profissionalismo e qualidade de atendimento da equipa da Farmácia do Fórum eram capazes de fidelizar clientes, tornando-os habituais.

4.4.4. Homeopatia

A área da homeopatia não é desenvolvida no MICEF por ser uma terapia alternativa sem bases científicas. Sendo que a farmácia onde estagiei dispunha de medicamentos homeopáticos, era frequente os utentes terem interesse nestes produtos e questionarem

acerca da sua eficácia e segurança. Isto acabou por se tornar uma ameaça ao meu estágio uma vez que, apesar de estar confiante na segurança destes produtos, não podia afirmar que eram eficazes, e conseqüentemente não fui capaz de realizar aconselhamento farmacêutico nesta área. Isto deixava os utentes confusos porque confiam na eficácia dos produtos da farmácia, não fazendo sentido ter lá medicamentos não eficazes.

4.4.5. Plano Curricular do MICF

O plano curricular do MICF abrange diversas áreas do saber, fornecendo ao aluno muitas ferramentas e competências para o seu futuro. No entanto, reúne algumas lacunas que apresentaram uma ameaça ao meu estágio, nomeadamente as unidades curriculares “Dermofarmácia e Cosmética” e “Preparações de Uso Veterinário” que não se adequam à realidade de farmácia comunitária. No caso da primeira unidade curricular, a componente de cosmética foi muito escassa para além de que não houve qualquer componente de aconselhamento farmacêutico de produtos dermatológicos e cosméticos. A segunda unidade curricular foca-se muito na farmacocinética de alguns produtos veterinários, e nas diferenças entre espécies de animais, descurando o aconselhamento farmacêutico no momento do atendimento.

Apesar da unidade curricular “Intervenção Farmacêutica em Auto-cuidados de Saúde e Fitoterapia” ter dotado os alunos de conhecimentos essenciais para o estágio em farmácia comunitária, as duas áreas do saber deveriam ser lecionadas separadamente, de forma a abordar de forma mais profunda os assuntos lecionados e adicionar outras matérias pertinentes, como por exemplo suplementos alimentares, puericultura, entre outros.

Estas falhas fizeram com que não estivesse tão bem preparada para o estágio como gostaria, no entanto a equipa técnica da farmácia foi um pilar essencial na minha aprendizagem e desenvolvimento colmatando estas lacunas.

5. Casos Clínicos

5.1. Caso Clínico I

Uma mulher na casa dos 35 anos desloca-se à Farmácia do Fórum com queixa de diarreia leve há cerca de 5 horas. Refere que não tem febre nem se lembra de ter comido algo estragado. Com o intuito de obter mais informação sobre o possível motivo para esta situação questionei se tinha recentemente iniciado algum medicamento. A utente respondeu que tinha tomado há uns dias um antibiótico para uma infeção urinária. Depois de consultar a sua ficha de utente cheguei à conclusão que tinha sido o medicamento fosfomicina 3 g granulado para solução oral. A toma de antibióticos conduz frequentemente a distúrbios gastrointestinais

como diarreia, por provocar o desequilíbrio da flora intestinal. Posto isto aconselhei a toma de Atyflor[®], que contém uma mistura de 7 estirpes de bactérias que ajudam a restabelecer a flora intestinal (probióticos), e ainda fructooligosacarídeos, que facilitam o desenvolvimento de probióticos (prébióticos)[2]. Aconselhei a toma de uma saqueta por dia durante ou depois da refeição, dissolvendo-a em água. Alertei ainda que deveria beber muitos líquidos, pois a diarreia leva à desidratação. Para além disso, referi que se não houvesse melhoria dos sintomas dentro de 2 ou 3 dias deveria consultar um médico.

5.1. Caso Clínico 2

Um homem com cerca de 30 anos dirige-se à farmácia apresentando-se com os seguintes sintomas: insónia, preocupação e dificuldade de concentração. Refere que se sente ansioso tanto durante o dia como à noite e que isso faz com que tenha dificuldade em adormecer, e que se sente assim há cerca de uma semana. Questionei se estava a tomar algum medicamento ou se tinha algum outro problema de saúde, ao qual referiu que não. Tratando-se de um caso de ansiedade ligeira aconselhei a toma de Valdispert[®] 125 mg, um medicamento à base de plantas (extrato seco de raiz de valeriana) que tem como indicação o “alívio da tensão nervosa ligeira e das perturbações do sono”[3], sendo a posologia de 3 a 4 comprimidos em toma única, 1 a 3 vezes por dia[3]. Alertei que deveria fazer exercício físico com regularidade, e esforçar-se por ter bons hábitos alimentares e de sono. Referi ainda que no caso de inefetividade após 2 semanas de uso contínuo deveria consultar o médico[3].

6. Considerações Finais

O estágio em farmácia comunitária é uma das etapas essenciais do percurso académico do MICF, pois permite o contacto com a realidade de trabalho do farmacêutico, onde o aluno pode colocar em prática os conhecimentos adquiridos no contexto real da prática profissional, além de adquirir novas competências e aptidões.

O meu estágio foi, sem dúvida, muito enriquecedor e uma experiência única de desenvolvimento pessoal e profissional. Pela análise SWOT apresentada é fácil compreender que, apesar de alguns pontos fracos e ameaças, os pontos fortes e oportunidades tornaram esta experiência excelente, sobretudo tendo em conta a equipa técnica que tanto me apoiou desde o primeiro dia. Foram meses de trabalho árduo, com muitas tarefas por desenvolver, e grande quantidade de clientes, o que foi deveras desafiante, e me fez aprender algo novo todos os dias. Foram meses muito gratificantes na medida em que sentia que estava a contribuir ativamente para a melhoria da saúde e bem-estar da sociedade.

Apesar da frequente falta de reconhecimento do valor do farmacêutico pela população em geral, penso que através das capacidades técnicas e científicas, e da prestação de serviços de qualidade, o farmacêutico ganhará o reconhecimento merecido, tendo em conta o papel preponderante que assume na promoção da saúde pública.

7. Bibliografia

[1] ORDEM DOS FARMACÊUTICOS. **Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. Artigos 1,6 e 16.** [Acedido a 20 de maio de 2018] Disponível em: <http://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/a-ordem-dos-farmaceuticos/regulamentos/>.

[2] GRUPO ITALFARMACO. **Atyflor.** [Acedido a 25 de maio de 2018] Disponível em: <http://www.italfarmaco.pt/produtos-obstipacao>.

[3] **Resumo das Características do Medicamento - Valdispert 125 mg.** [Acedido a 25 de maio de 2018] Disponível em: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=33200&tipo_doc=rcm.

8. Anexos

Anexo I:



Medicamento: Solução Alcoólica de Ácido Bórico à Saturação 70%

Teor em substância(s) activa(s): 100ml de solução saturada contém 5g de ácido bórico

Forma farmacêutica: Solução

Data de preparação: 24.04.2018

Número do lote: 47/2018

Quantidade a preparar: 50ml

Matérias-primas	Lote nº	Origem	Farmacopeia	Quantidade para 100 g (ou mL, ou unidades)	Quantidade calculada	Quantidade pesada	Rubrica do Operador e data	Rubrica do Supervisor e data
Ácido Bórico	171503-O-2	Acofarm		5g	2.5g	2.5g	24/4 PB	24/04/18 M
Alcool etílico a 96%	16/0609	SDC		66.5g	33.25g	33.25g	PB	M
Água purificada	008/146/7	Dimor		33.5g	16.75g	16.75g	PB	M

Preparação

Rubrica do Operador

1. Verificar o estado de limpeza do material	PB
2. Pesar o ácido bórico	PB
3. Preparar álcool a 70% partindo de álcool a 96%, adicionando água purificada à quantidade de álcool calculada, em proveta graduada até atingir os 50g.	PB
4. Adicionar o ácido bórico ao álcool a 70% aos poucos, agitando fortemente após cada adição, durante 20 segundos.	PB
5. Agitar de 15 em 15 min durante 20 segundos até completar uma hora.	PB
6. Filtrar, colocar em frasco conta gotas e rotular.	PB

Embalagem

Tipo de embalagem:

Capacidade do recipiente:

Material de embalagem	Nº do lote	Origem
Frasco conta-gotas de vidro âmbar 50mL		

Operador: PB



Prazo de utilização e Condições de conservação

Condições de conservação: À temperatura ambiente no frasco bem fechado	Operador: <u>PD</u>
Prazo de utilização: 2 meses	Operador: <u>PD</u>

Verificação

ENSAIO	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO	Rubrica do Operador
Aspeto	Solução límpida e transparente	✓	PD
Cor	Incolor	✓	PD

Aprovado Rejeitado

Supervisor: M 24/04/10

Nome, morada e telefone do doente

████████████████████

Nome do prescriptor

████████████████████

Anotações

Cálculo do preço de venda

MATÉRIAS-PRIMAS:							
matérias-primas	embalagem existente em armazém		preço de aquisição de uma dada quantidade unitária (s/IVA)		quantidade a usar	factor multiplicativo	valor da matéria-prima utilizada na preparação
	quantidade adquirida	preço de aquisição (s/IVA)	quantidade unitária	preço			
Ácido Bórico	500g	6.5€	1gr	0.013€	2.5g	2.2	0.0715€
Alcool etílico a 96%	250mL	4.23€	1ml	0.017€	33.25g = 41.56ml	1.9	1.34€
Água Purificada	1L	0.68€	1ml	0.0007€	16.75mL	1.9	0.022€
subtotal A							1.43 €

HONORÁRIOS DE MANIPULAÇÃO:					
valor referente à quantidade base	forma farmacéutica	quantidade	F (€)	factor multiplicativo	valor
	Solução	50ml	4.98	3	= 14.94€
Valor adicional					
subtotal B					14.94€

MATERIAL DE EMBALAGEM:				
materiais de embalagem	preço de aquisição (s/IVA)	quantidade	factor multiplicativo	valor
Frasco Conta-Gotas	0.92	1	1.2	1.104€
subtotal C				1.104€

PREÇO DE VENDA AO PÚBLICO DO MEDICAMENTO MANIPULADO:	(A + B + C) x 1,3	22.71€
	+ IVA	1.36€
	D	24.07€

DISPOSITIVOS AUXILIARES DE ADMINISTRAÇÃO:			
dispositivo	preço unitário	quantidade	valor
E			

PREÇO FINAL: D+E = 24.05€

Operador: _____ Supervisor: _____

Rubrica do Director Técnico	Data
-----------------------------	------

IMP.10.2

CFP FARMÁCIA DO FORUM	
MANIPULADO: SOLUÇÃO ALCOÓLICA 70% DE ÁCIDO BÓRICO À SATURACÃO (50mL)	
DATA: 24/04/2018	VALIDADE: 24/06/2018
LOTE: 47/2018	PREÇO : 24.05€
UTENTE : _____ POSOLOGIA: APLICAR DE MANHÃ E À NOITE (APLICAÇÃO AURICULAR) CONSERVAÇÃO : À temperatura ambiente, em frasco bem fechado ADVERTÊNCIAS: <u>Uso Externo</u> ; Manter fora do alcance das crianças	
DIRECÇÃO TÉCNICA DRA. LAURA MARIA DOS SANTOS COELHO C.C.FORUM COIMBRA, LI 043 – 3044-520 SANTA CLARA COIMBRA – T 239800610	

Patrícia Ferreira Dias Henriques

Relatório de Estágio Curricular na Direção de Avaliação de Medicamentos do Infarmed

Relatório de Estágio referente à unidade “Estágio Curricular”, sob a orientação Dr.^a Dina Cordeiro Lopes, apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Lista de Abreviaturas

AIM – Autorização de Introdução ao Mercado

ATC – *Anatomical Therapeutic Chemical Code*

CAM – Comissão de Avaliação de Medicamentos

DAM – Direção de Avaliação de Medicamentos

DCP – Procedimento Descentralizado

EMR – Estado Membro de Referência

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

GiMED – Gestão de Informação de Medicamentos

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

RM – Reconhecimento Mútuo

SMUH-ALTER – Plataforma de Submissão de Pedidos de Alteração do Sistema de Gestão de Medicamentos de Uso Humano

SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*

UIM – Unidade de Introdução no Mercado

UMM – Unidade de Manutenção no Mercado

Lista de Figuras

Figura A – Organograma do Infarmed(I).....24

Figura B – Sumário da Análise SWOT do Estágio Curricular no Infarmed.....25

I. Introdução

No último ano do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) o aluno tem a oportunidade de contactar com a realidade de trabalho do farmacêutico. Tem a possibilidade de escolher um estágio curricular extra, para além do estágio em Farmácia Comunitária, de acordo com os seus interesses pessoais, o que permite ao aluno contactar com uma outra área de atuação farmacêutica. Sendo que tinha grande curiosidade pela área regulamentar do medicamento, decidi estagiar na Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. - INFARMED, I.P., vendo este estágio como uma oportunidade de contactar com uma das melhores agências do medicamento da europa e desenvolver competências na área regulamentar.

O presente relatório diz respeito ao estágio curricular no INFARMED, I.P., que decorreu entre 2 de maio e 31 de julho de 2018, sob orientação da Dra. Dina Lopes. Neste abordarei sucintamente a área onde estagiei, e farei uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) contemplando os pontos fortes e fracos do estágio, assim como as oportunidades e ameaças observadas ao longo desta etapa.

2. INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I. P.

O INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I. P., abreviadamente designado por Infarmed, é um instituto público com autonomia administrativa e financeira e com património próprio. Este instituto, sediado no Parque de Saúde de Lisboa, tem como missão “regular e supervisionar os setores dos medicamentos, dispositivos médicos e produtos cosméticos, segundo os mais elevados padrões de proteção da saúde pública, e garantir o acesso dos profissionais da saúde e dos cidadãos a medicamentos, dispositivos médicos, produtos cosméticos, de qualidade, eficazes e seguros”(2).

O Infarmed é constituído por órgãos e unidades orgânicas, como demonstra o organograma da instituição (Figura A).

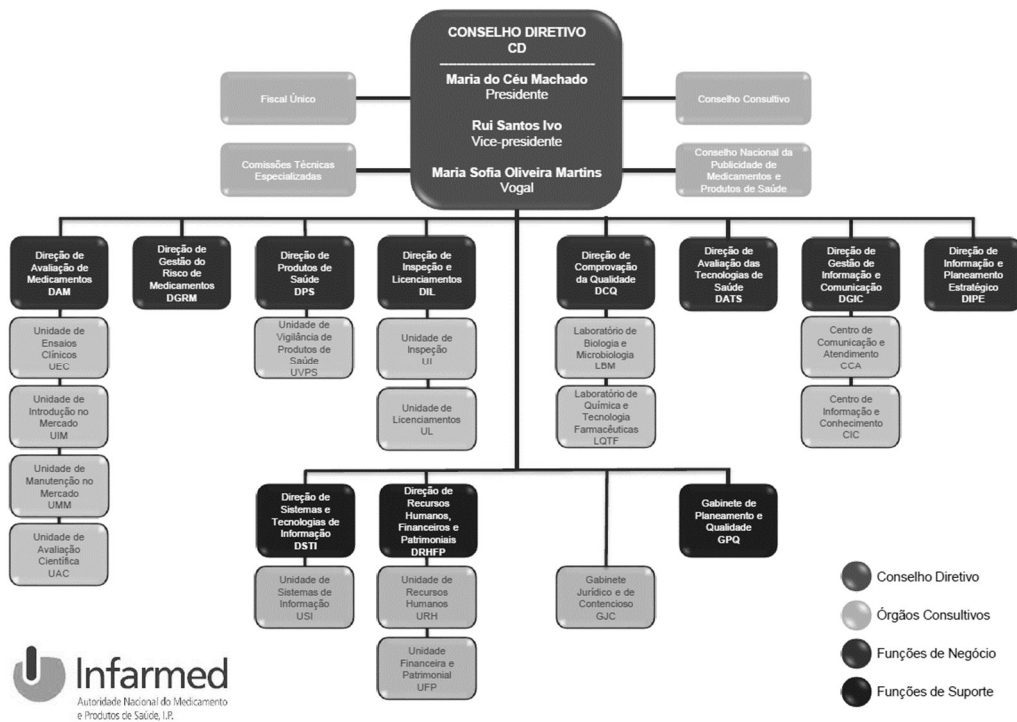


Figura A – Organograma do Infarmed(I).

2.1. UMM

A Direção de Avaliação de Medicamentos (DAM) é uma das Unidades Orgânicas, estando dividida em 4 subunidades orgânicas: a Unidade de Introdução no Mercado (UIM), a Unidade de Manutenção no Mercado (UMM), a Unidade de Ensaios Clínicos e a Unidade de Avaliação Científica. À DAM compete assegurar os procedimentos de registo, avaliação de eficácia, segurança, e qualidade, autorização de introdução ao mercado (AIM) e manutenção no mercado de medicamentos de uso humano, e a gestão destes procedimentos, que tanto podem ser a nível nacional como a nível Europeu (procedimentos de reconhecimento mútuo e descentralizado).

A UMM é responsável pelas atividades necessárias à manutenção no mercado nomeadamente processos de alterações, renovações e revogações. Dentro da UMM há uma equipa que gere apenas processos de âmbito europeu nos quais Portugal é o Estado Membro de Referência (EMR), sendo que foi nesta equipa que o meu estágio se integrou.

3. Análise SWOT

Este relatório tem por base uma análise SWOT, que se divide em duas dimensões, a interna e a externa. A dimensão interna relativa aos pontos fortes e pontos fracos e a análise externa relativa às oportunidades e ameaças (Figura B).



Figura B – Sumário da Análise SWOT do Estágio Curricular no Infarmed.

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Integração

O acolhimento e integração dos estagiários foi um dos pontos fortes do estágio, uma vez que logo desde o início fomos bem-recebidos pelos funcionários do Infarmed. No primeiro dia do estágio foi-nos proporcionada uma formação inicial pelo Dr. José Viana, em representação da Direção de Recursos Humanos, Financeiros e Patrimoniais. Esta transmitiu informações acerca do estágio, da estrutura e funcionamento do Infarmed e outras informações úteis. Nos dias seguintes houve formação específica para os estagiários que viriam a integrar a DAM, pela Dra. Dina Lopes, a coordenadora do estágio, Dra. Telma Fortunas e Dr. Carlos Mendes. Estas revelaram-se bastante úteis para rever os conceitos de Assuntos Regulamentares do Medicamento, como por exemplo as bases legais, os procedimentos de registo de medicamentos de uso humano e os tipos de alterações. Permitiram ainda conhecer as várias plataformas informáticas mais utilizadas pela DAM.

Numa fase seguinte fomos distribuídos pelos diferentes grupos de trabalho onde tivemos formação específica numa área, sendo que no meu caso foi sobre renovações da AIM em processos em que Portugal é o EMR. Esta formação específica foi dada pela sub-orientadora do estágio, a Dra. Ana Mimoso, onde foi possível compreender por exemplo os tipos de renovações, a documentação necessária e os calendários da renovação.

3.1.2. Equipa

No *Open Space* onde o meu estágio decorreu existem gestores apenas de processos em que Portugal é o EMR, pertencentes a duas unidades distintas: a UIM e a UMM. Cada um é responsável por um conjunto de processos de acordo com a classificação ATC (*Anatomical Therapeutic Chemical Code*) do medicamento. O facto das duas equipas de unidades diferentes se encontrarem no mesmo espaço revelou-se muito benéfico para a troca de informação.

A equipa que me acolheu revelou-se dinâmica, disponível e muito competente. O bom ambiente vivido contribuiu para a minha integração, assim como a dedicação e profissionalismo de cada membro da equipa que me orientou, sempre pronto para ajudar e esclarecer dúvidas, o que foi essencial na minha aprendizagem.

3.1.3. Autonomia e Responsabilidade

Enquanto estagiária da UMM estive responsável por processos de renovações de AIM de calendário reduzido de Procedimento Descentralizado (DCP) e de Reconhecimento Mútuo (RM) nos quais Portugal é EMR, e ainda responsável pela fase de validação das renovações completas.

Após a formação inicial tive toda a autonomia para executar todas as etapas destes processos, sendo a gestora de processo, dos quais destaco:

- Validação das renovações de calendário reduzido e renovações completas, analisando a informação da documentação comparando com a base de dados do Infarmed;
- Pedido de elementos ao requerente no caso de existir falta ou inconformidades da documentação;
- Início do calendário das renovações de calendário reduzido (30 dias);
- Finalização da fase europeia do procedimento, através da emissão do “*End of Procedure*”;
- Finalização da fase nacional, tanto através da emissão de ofício ou de email a informar o requerente.

Sempre foi necessário um grande sentido de responsabilidade, que se foi desenvolvendo ao longo do estágio, visto que todas as tarefas mencionadas anteriormente

têm grande impacto a nível do Infarmed e da Indústria Farmacêutica. Desenvolvi uma atenção maior ao pormenor, assim como valorizei cada vez mais o rigor da informação.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Foco único em renovações de processos de EMR

Um ponto fraco do estágio foi o foco num único tipo de processo de EMR, o que limitou muito a minha aprendizagem. Visto que a equipa tinha claramente sobrecarga de trabalho, foi-lhes impossível darem-me formação específica sobre outros tipos de processo, formação esta que é sempre demorada considerando todos os pormenores envolvidos. Tendo em conta que os processos de renovação de calendário reduzido são bastante simples, não foi necessário o tempo integral do estágio para aprender os vários procedimentos envolvidos, sendo que me tornei rapidamente quase independente. Seria interessante em parte do estágio ter participado em alguns processos de pedido de AIM e alterações à AIM, para ter um panorama mais geral do que é feito na DAM, tanto de processos de EMR como processos nacionais ou de Estado Membro Envolvido.

3.2.2. Fluxo de trabalho irregular

Uma vez que as tarefas do meu estágio incluíam muita comunicação com os requerentes dos pedidos de renovação, acabei por estar muito dependente das suas respostas. Isto levou a que houvesse por vezes uma excessiva carga de trabalho, principalmente no início do estágio, e muitas vezes não houvesse trabalho de todo visto que estava apenas à espera das respostas dos requerentes. Penso que poderia ter sido feito um melhor planeamento do estágio, de forma a que o estagiário pudesse contribuir ao máximo para a instituição, e de igual forma a instituição contribuísse mais para a formação do estagiário, talvez neste caso incluindo no plano a passagem por outros grupos de trabalho, como mencionado anteriormente, ou então adicionar às renovações de AIM de calendário reduzido algumas alterações à AIM.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Contacto com o portal SMUH-ALTER e GiMED

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de contactar com alguns portais e plataformas eletrónicas que conferem inúmeras vantagens tanto ao Infarmed como para os requerentes. Destaco a plataforma de Gestão de Informação de Medicamentos (GiMED) e a Plataforma de Submissão de Pedidos de Alteração do Sistema de Gestão de Medicamentos de Uso Humano (SMUH-ALTER).

O GiMED é uma aplicação que permite gerir e armazenar toda a informação do ciclo de vida dos medicamentos de uso humano, o que agiliza os processos da DAM, incluindo

os de renovação da AIM. Foi uma oportunidade contactar com este repositório de informação uma vez que me levou a compreender de uma forma mais profunda o ciclo de vida do medicamento.

O SMUH-ALTER é um portal onde é possível submeter, gerir e avaliar alterações e renovações de AIM. Neste há comunicação com os requerentes (responsáveis pela submissão de pedidos de AIM/alterações/renovações), na medida em que há perguntas e respostas realizadas pelo portal. Assim sendo foi uma oportunidade para compreender de que forma é que a indústria farmacêutica comunica com o Infarmed no que diz respeito a alterações e renovações de AIM, o que pode ter utilidade no futuro.

3.3.2. Formação com profissionais experientes

O contacto com gestores de processo com muita experiência na área dos assuntos regulamentares e toda a legislação associada foi sem dúvida essencial à aquisição de conhecimentos ao longo do estágio. Qualquer tipo de problema ou dúvida era possível resolver com a ajuda destes profissionais experientes. Isto foi sem dúvida enriquecedor no decorrer do meu estágio, ao possibilitar uma aprendizagem em contexto real.

3.3.3. Contacto com requerentes

Ao gerir processos de renovações de AIM era necessário contactar diariamente com a Indústria Farmacêutica e com os responsáveis pela submissão das renovações. Não só através de email ou plataformas eletrónicas mas também por telefone. Isto foi uma oportunidade de desenvolver uma maior capacidade de confiança assim como compreender qual a linguagem técnica a ser utilizada, tanto em Português como Inglês.

3.3.4. Visita ao Laboratório do INFARMED, I.P.

A visita ao Laboratório do Infarmed foi sem dúvida uma oportunidade única de conhecer um laboratório de referência, integrado na rede de laboratórios qualificados da Organização Mundial de Saúde. Este está dividido no laboratório de química e tecnologia farmacêutica e no laboratório de biologia e microbiologia. Todos os anos são seleccionados medicamentos para analisar a sua conformidade com o dossier de AIM, de acordo com a análise do seu risco. Para além destes são ainda analisados medicamentos em que há suspeita de não conformidade. São também analisados dispositivos médicos e cosméticos.

3.3.5. Assistir a uma reunião da Comissão de Avaliação de Medicamentos

Na última semana do estágio foi possível assistir a uma reunião da Comissão de Avaliação de Medicamentos (CAM), onde estavam presentes avaliadores médicos,

farmacêuticos, toxicológicos e eco-toxicológicos. Nesta reunião são analisados os pareceres de peritos quer em pedidos de AIM, como de alterações ou renovações. São colocadas questões e discutidas ideias quando há pareceres discordantes ou não positivos de forma a garantir a qualidade, eficácia e segurança de todos os medicamentos.

3.4. Ameaças

3.4.1. Limitações nos recursos tecnológicos

Os recursos tecnológicos foram uma limitação à progressão do meu estágio, uma vez que devido às falhas dos computadores facultados houve um grande consumo de tempo que poderia ter sido utilizado para aprender e fazer mais. Seria expectável que, num local onde há prazos a cumprir e todas as ações podem ter impacto na saúde pública, não existissem computadores constantemente a falhar, e plataformas tão lentas. Considero que isto é bastante limitante ao trabalho realizado no Infarmed, e que acabou por se tornar uma ameaça ao meu estágio.

4. Considerações Finais

O estágio curricular é uma oportunidade única de vivenciar o contexto real da profissão do farmacêutico. A FFUC permite aos alunos do MICF experienciar mais do que uma das muitas valências do farmacêutico, através de um estágio curricular, como é o caso do estágio no Infarmed.

A possibilidade de realizar um estágio na área dos assuntos regulamentares foi sem dúvida uma oportunidade de aprender muito e contactar com profissionais de excelência. Este estágio deu-me uma ideia daquilo que é necessário em termos regulamentares para um medicamento estar no mercado, assim como a importância do rigor necessário e o impacto de todas as decisões na indústria e na saúde pública.

Apesar do anterior mencionado, houve certas falhas no estágio que poderiam ser resolvidas no futuro de forma a potenciar ao máximo o trabalho do estagiário, o que traria benefícios para o Infarmed e para o aluno.

Globalmente foi um estágio muito enriquecedor, que me abriu muitos horizontes. Espero que a FFUC continue e proporcionar aos seus alunos este tipo de oportunidade.

5. Bibliografia

(1) Organograma do Infarmed. [Acedido a 15 de julho de 2018]. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/estrutura-e-organizacao>.

(2) O Infarmed - Apresentação. [Acedido a 13 de agosto de 2018]. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/apresentacao>.

Patrícia Ferreira Dias Henriques

Influence of ABC-efflux transporters on the toxic effects of the direct oral anticoagulant drugs

Monografia referente à unidade curricular “Estágio Curricular”, sob a orientação Doutora Ana Cristina Bairrada Fortuna, apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Resumo

Os anticoagulantes orais diretos têm demonstrado importantes vantagens clínicas relativamente aos antagonistas da vitamina K, apesar de permanecem com o grave problema do seu efeito tóxico: as hemorragias. Há diversas características individuais que parecem aumentar a ocorrência destes eventos como por exemplo insuficiência renal, interações medicamentosas e apresentação de concentrações plasmáticas diferentes mesmo após a administração da mesma dose de fármaco. Sendo os anticoagulantes orais diretos substratos da Breast Cancer Resistance Protein (BCRP) e da P-glycoprotein (P-gp), poderão estes transportadores de efluxo estar relacionados com os efeitos tóxicos destes fármacos?

No presente trabalho foi feita uma revisão da literatura internacional no que diz respeito às evidências, não clínicas e clínicas, da influência dos transportadores de efluxo na biodisponibilidade dos anticoagulantes orais diretos e conseqüentemente no seu efeito terapêutico e tóxico. Apesar de estarem disponíveis no mercado há menos de uma década, há atualmente diversos estudos que provam que a BCRP e a P-gp determinam a farmacocinética destes fármacos, e que a escolha clínica do anticoagulante deve ter em conta as interações relacionadas com os transportadores de efluxo e o polimorfismo a eles associado.

Palavras-chave: anticoagulantes orais diretos, transportadores de efluxo, hemorragia, interações medicamentosas, polimorfismo.

Abstract

In spite of their clinical advantages comparing to vitamin K antagonists, direct oral anticoagulant drugs (DOACs) keep the main toxic effect: the hemorrhages. There are several individual characteristics that seem to increase the occurrence of these events, as renal failure, drug-drug interactions (DDI) and different plasmatic concentrations after administration of the same dose. As DOACs are substrates of Breast Cancer Resistance Protein (BCRP) and P-glycoprotein (P-gp), can these efflux transporters be related with the toxic effects of those drugs?

The present work reviews the international literature regarding the non-clinical and clinical evidence of the impact of efflux transporters on the bioavailability of DOACs and on their therapeutic and toxic effect. Although they have been marketed for less than a decade, there are currently several studies proving that BCRP and P-gp influence the pharmacokinetics of DOACs and that the interactions related to the efflux transporters and their associated polymorphism should be considered in clinical practice.

Keywords: direct oral anticoagulant drugs, efflux transporters, hemorrhages, drug-drug interactions, polymorphism.

List of Figures

- Figure 1 – Oral Anticoagulant Drugs Sales History (active substances apixaban, dabigatran etexilate, edoxaban, rivaroxaban and warfarine for Eliquis[®], Pradaxa[®], Lixiana[®], Xarelto[®] and Varfine[®] respectively) of Farmácia do Fórum (Coimbra, Portugal).....37
- Figure 2 – Localization of adenosine triphosphate binding cassette (ABC) transporters Multidrug resistance-associated protein (MRP) I, MRP2, Permeability glycoprotein (P-gp), and Breast cancer resistance protein (BCRP) in different human tissues. Adapted from ^{11,15}38
- Figure 3 – Pharmacological targets of oral anticoagulants. Adapted from ³³41
- Figure 4 – Mean plasma concentrations of rivaroxaban (ng/mL) after oral administration of 2 mg/kg rivaroxaban (n = 6) in mice. Figure constructed based on the results achieved in ⁴⁶46

List of Tables

- Table 1 – Effect of several drugs on direct oral anticoagulants (DOACs) area under plasma concentration versus time curve and probable mechanism involved regarding interaction with P-glycoprotein (P-gp) and cytochrome P450 (CYP) 3A4 activity. (+, increase; -, decrease).....53
- Table 2 – Recommendations on clinical practice when co-prescribing direct oral anticoagulants (DOACs) with inducers/inhibitors of P-glycoprotein (P-gp)³⁻⁶.....54

List of Abbreviations

ABC – ATP-binding cassette
ABCB1 – ABC subfamily B member 1 gene
ABCG2 – ATP binding cassette subfamily G member 2
aPTT – Activated partial thromboplastin time
ASA – Acetylsalicylic acid
ATP – Adenosine triphosphate
AUC – Area under the plasma versus time curve
BCRP – Breast cancer resistance protein
 C_{min} – Minimal plasma concentration
CNS – Central nervous system
CYP – Cytochrome P450
DDI – Drug-drug interactions
DOACs – Direct oral anticoagulants
ECT – Ecarin clotting time
EMA – European Medicines Agency
HIV – Human Immunodeficiency Virus
IV – Intravenous
INR – International normalized ratio
KO – Knockout
MRP – Multidrug resistance-associated protein
NMCR – Non-major clinically relevant
PDE5i – 5-phosphodiesterase inhibitors
P-gp – Permeability glycoprotein
PT – Prothrombin time
SNP – Single nucleotide polymorphisms
TT – Thrombin time
VKA – Vitamin K antagonists

I. Introduction

Thrombosis is the underlying cause of the majority of the heart attacks and strokes, making the development of anticoagulant drugs essential to prevent and treat it¹. DOACs are currently widely used among patients requiring both short- and long-term anticoagulation. DOACs have several advantages with regard to vitamin K antagonists, like warfarin, and end up to be preferred because of their ease of use, fixed dosing, decreased drug–drug interactions potential, and because their therapeutic monitoring is not required as it is for warfarin². In Portugal, four DOACs are marketed: dabigatran etexilate (Pradaxa[®]), rivaroxaban (Xarelto[®]), apixaban (Eliquis[®]) and edoxaban (Lixiana[®]), which were approved by the European Medicines Agency (EMA) on 18th March 2008, 30th September 2008, 18th May 2011 and 19th June 2015, respectively^{3–6}.

These drugs have been prescribed with increasing frequency. For example in Australia, the DOACs rivaroxaban, apixaban and dabigatran etexilate are used at a ratio of 2:1 comparing with warfarin, making them the most popular medication to manage non-valvular atrial fibrillation⁷. In Canada, because of the emerging DOACs, warfarin passed from 99 % of the total oral anticoagulant drugs prescriptions (2010), to 67 % in only 4 years⁸. In Portugal the reality is similar: in 2010 the DOACs only represented 0.8 % of the total oral anticoagulant drugs prescriptions, raising up to 51.3 % in 2015⁹.

In community pharmacies, it is evident that the prescription of DOACs is increasing per year. For instance, Farmácia do Fórum, in Coimbra (Portugal), showed a completely different history of sales of oral anticoagulants in the last 5 years (Figure 1). Warfarine (Varfine[®]) passed from 72.8 % of all the oral anticoagulant drugs sales in 2012, to 18.9 % in 2017. Edoxaban (Lixiana[®]) is the most recent approved oral anticoagulant, which justifies the low absolute frequency of sales in comparison to the remaining DOACs.

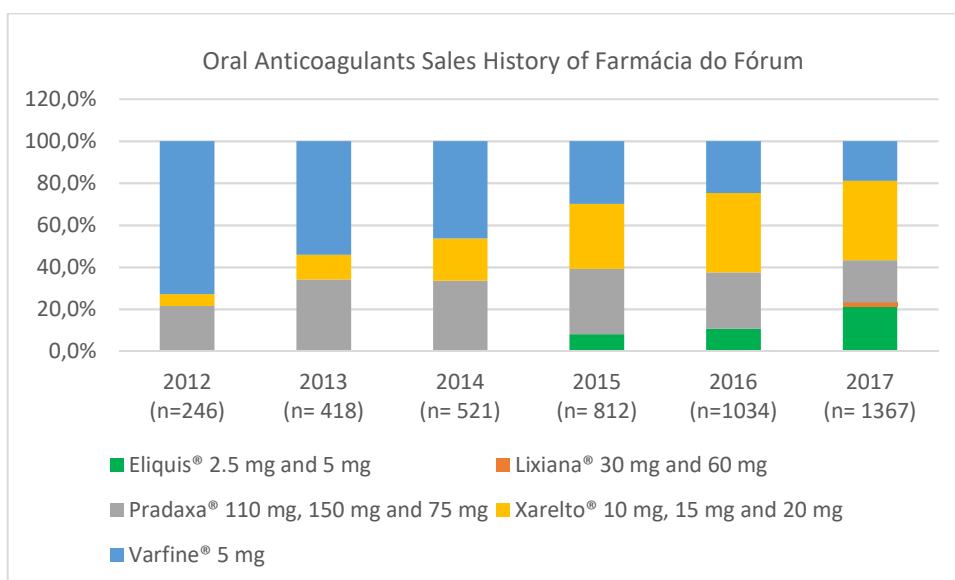


Fig. 1 – Oral Anticoagulant Drugs Sales History (active substances apixaban, dabigatran etexilate, edoxaban, rivaroxaban and warfarine for Eliquis®, Pradaxa®, Lixiana®, Xarelto® and Varfine® respectively) of Farmácia do Fórum (Coimbra, Portugal).

In spite of the advantages aforementioned and their increasing use, DOACs remain with a serious problem common to warfarin, which is the increased bleeding risk. Unlike warfarin, DOACs are substrates of adenosine triphosphate (ATP) binding cassette (ABC) efflux transporters, namely P-gp and BCRP which can be related with altered pharmacokinetics and subsequent increased bleeding risk¹⁰.

The present work reviewed the non-clinical and clinical impact of the efflux transporters BCRP and P-gp on the pharmacokinetics and on the toxic effects of DOACs, commenting whether they are clinically relevant or not and what can be done to reduce that impact.

2. Efflux Cell Membrane Transporters

The ABC transporter family is one of the biggest protein superfamilies currently known. In the human genome there are 48 ABC genes encoding for these transporters, which are organized into seven families (designed A to G) based on their similarity regarding sequence homology, gene structure and domains order¹¹. All of them share the same core structure consisting of two transmembrane domains containing the ligand binding site, which confers the specificity of the transporter, and two ATP binding domains, where ATP binds and hydrolyzes. ABC genes can either encode the full transporter with the four domains or can be half transporter proteins with one domain of each type, that must then dimerize (e.g. BCRP)^{12,13}.

These transporters move specific substrates across cell membranes against the concentration gradient, consuming ATP. In humans, ABC transporters are all exporters, transporting substrates out of the cell¹³. Many of them modulate the absorption, distribution, metabolism and excretion of several compounds, limiting the absorption of substrates from the gastrointestinal tract, accelerating the elimination through bile/renal pathways, and also protecting the brain and fetus from xenobiotics^{10,14}. Multidrug resistance-associated protein (MRP) 1, MRP2, P-gp, and BCRP are examples of these efflux transporters, which are expressed at relatively high levels in diverse organs as shown in Figure 2¹⁵.

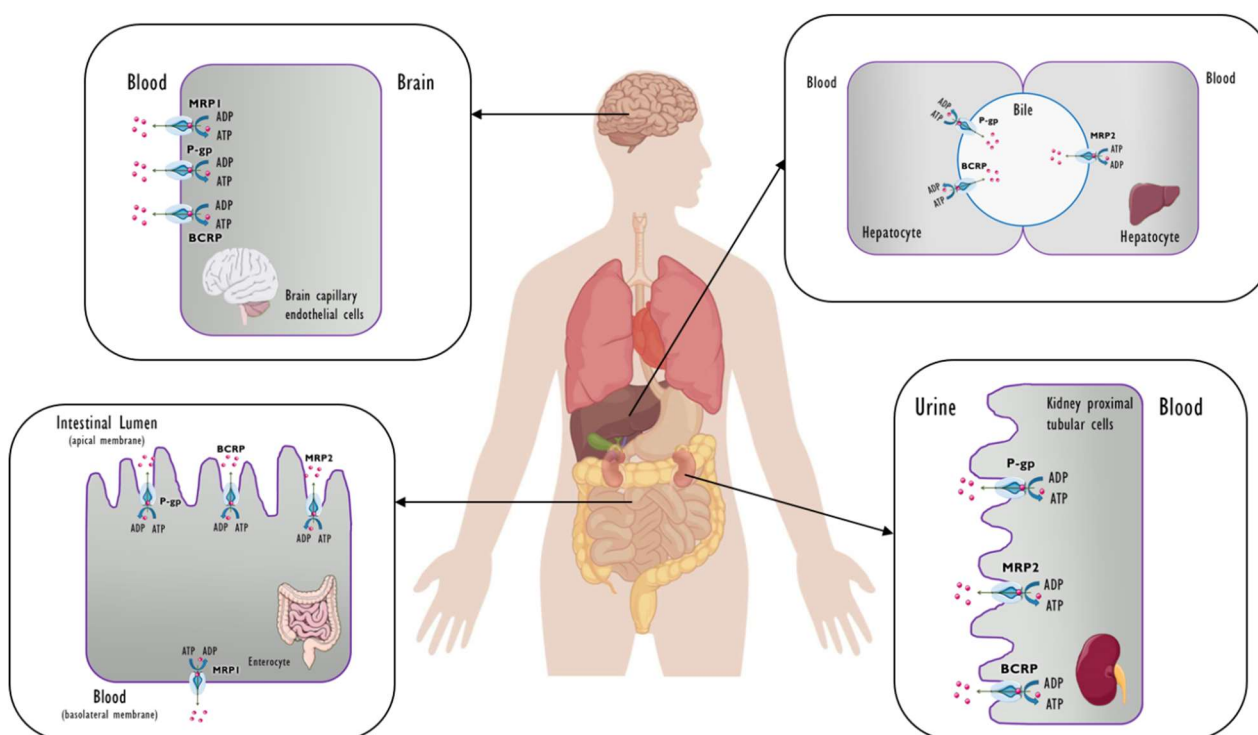


Fig. 2 – Localization of adenosine triphosphate binding cassette (ABC) transporters Multidrug resistance-associated protein (MRP) 1, MRP2, Permeability glycoprotein (P-gp), and Breast cancer resistance protein (BCRP) in different human tissues. Adapted from ^{11,15}.

Compounds that interact with ABC transporters can be simply substrates, which movement across membranes is mediated by the transporter; inhibitors that impair the transporter-mediated efflux of other molecules; inducers which increase the transporter expression levels; or activators, enhancing the transporter activity without increasing the transporter expression. One compound can have overlapping modes of action¹¹.

P-gp and BCRP have been reported to be determinant in DOACs disposition. P-gp, encoded by the ABC subfamily B member 1 gene (*ABCB1*), is the transporter of ABC superfamily most investigated up to date. P-gp transports a variety of drugs across cell

membranes and since different drugs may share the same binding site, several DDI have been reported at this level¹⁶.

Regarding oral drugs, P-gp contributes with a first-pass limiting effect on intestinal absorption, since it prevents part of the drug to cross the intestinal membrane and attain the systemic circulation. In liver and kidneys, P-gp is expressed in the apical membrane of biliary canalicules and of epithelial cells of renal tubes, increasing drug excretion into the bile and urine. As a result, co-administration of P-gp inhibitors and P-gp substrates can lead to increased plasma concentrations of the second group, by enhancing its intestinal absorption and reducing its elimination, which will increase plasma concentrations that may result in toxic effects. In opposition, co-administration of compounds that are activators/inducers can lead to lower plasma concentrations and, therefore, reduced efficacy¹⁷. Furthermore, P-gp is also expressed in the endothelial cells of blood-brain barrier and, at this level, the DDI aforementioned can result in distinct levels of P-gp substrates in the central nervous system (CNS). These interactions between drugs that are substrates of P-gp and modulators of P-gp are systematically investigated during the approval of new drugs, due do their already demonstrated clinical relevance. Depending on the possible clinical manifestation of a DDI, appropriate measures can be taken, as additional monitoring, dose adjustment, or even search for alternative treatments due to contraindication¹⁸.

The BCRP, another efflux transporter of the ABC family, encoded by the ABC subfamily G member 2 (*ABCG2*) gene, is also expressed in the liver, kidney, gastrointestinal tract, blood-brain barrier¹². BCRP transports many different substrates, such as chemotherapeutic agents, xenobiotics, organic anions and also physiological substances¹⁹. Similarly to P-gp, BCRP has a very broad substrate and inhibitor specificity, which significantly overlaps with that of P-gp. This means that clinical DDI attributed specifically to BCRP are limited^{20,21}. One example of a DDI attributed to BCRP is between curcumin, an herbal product that inhibits BCRP, and sulfasalazine, a substrate of BCRP. Co-administration with curcumin increases 3.2 times the oral exposure of sulfasalazine at therapeutic doses in humans. The same DDI was demonstrated in wild-type mice, with an increase of the area under the plasma versus time curve (AUC) of sulfasalazine, but not in *Abcg2*-knockout mice, proving that BCRP is a key factor for this DDI²².

On the other hand, polymorphisms, namely single nucleotide polymorphisms (SNP) regarding genes that express ABC transporters have been identified and demonstrated to lead to different transport expression/function, which can result in increased adverse effects or decreased efficacy of a drug. Indeed, the *ABCB1* gene has several SNPs, among which 14 are

reported to be associated with different functions of P-gp. Although these polymorphisms have been associated with changes in drug response, drug disposition and toxicity, the findings have been conflicting with limited clinical implications²³. Furthermore, the *ABCG2* gene has over 80 naturally occurring SNPs with the 34G>A (12Val>Met, exon 2) and the 421C>A (141Gln>Lys, exon 5) described as the two most frequent variants. Although the 34G>A variant is not associated with different protein expression, the 421C>A variant reduces cell surface expression of BCRP, leading to lower efflux of its substrates, which increases plasma concentrations. This variant is the most clinically important polymorphism since it is highly related to inter-individual differences in therapeutic results^{12,24}. For example the pharmacokinetic profiles of diflomotecan²⁵, topotecan²⁶ and rosuvastatin²⁷ are very different among 421C>A genotyping groups. Clinical studies showed that 421C>A polymorphism was associated with increased risk of gefitinib induced diarrhea, which brings implications for treatments with this agent²⁸. However this polymorphism was not associated with pharmacokinetic change in pitavastatin²⁹, which suggests that the effect of BCRP 421C>A polymorphism is dependent of the substrate.

There are other *ABCG2* SNPs inducing functional impairment, such as *ABCG2* 376C>T and 1000G>T, which result in an early stop codon. Their frequencies are however very low in all ethnic groups^{12,24}.

In conclusion DDI and polymorphism related to the efflux transport mediated by P-gp and BCRP are probably underestimated and can result in altered plasma concentrations of xenobiotics (including drugs), leading to toxicity or sub-therapeutic drug levels. As the DOACs are known substrates of ABC efflux transporters, it is pertinent to ascertain the influence of DDI and polymorphism regarding P-gp and BCRP on their biodisposition.

3. Direct Oral Anticoagulants

For decades that anticoagulation with vitamin K antagonists (VKA), such as warfarin, is ascribed as the gold standard for stroke prevention in patients with atrial fibrillation³⁰. Vitamin K is essential for the functional forms of several coagulation factors and the anticoagulant factor proteins C and S. It exists in different kinds of food, leading to food-drug interactions related with VKA. Furthermore, VKA have a wide spectrum of DDI, as well as a significant inter-individual metabolic variability. Indeed warfarin is metabolized by several enzymes from the complex cytochrome P450 (CYP). The principal enzyme that metabolizes warfarin is CYP2C9, which is currently well known to be associated to several SNPs that significantly compromise the drug plasma concentration and pharmacological effect. On the other hand, the therapeutic effect of warfarin is dependent on the vitamin K epoxide reductase (*VCORC1*

gene) genotype. This inter-individual genetic variability and the small therapeutic range of warfarin require patients to be monitored in accordance to the international normalized ratio (INR) and posteriorly subjected to dose adjustment. These limitations prompted to the development of new oral anticoagulants in order to reduce the need for the routine monitoring and target single coagulation factors, instead of vitamine K epoxide reductase³⁰⁻³².

The licensed drugs rivaroxaban, dabigatran etexilate, apixaban and edoxaban are already available for clinical use in several countries. Dabigatran is a direct thrombin inhibitor, while the remaining ones are factor Xa inhibitors. The pharmacological targets of warfarin and the aforementioned new oral anticoagulants on the coagulation cascade are shown in Fig. 3. Due to their mechanism of action, rivaroxaban, dabigatran etexilate, apixaban and edoxaban are considered direct oral anticoagulant drugs and their pharmacodynamic and pharmacokinetic properties will be in deeply described in the following sections.

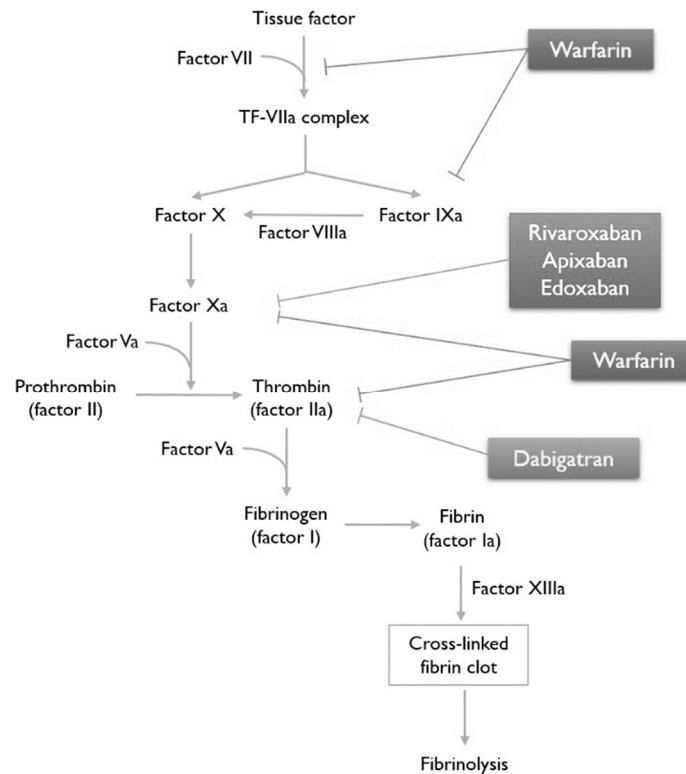


Fig. 3 – Pharmacological targets of oral anticoagulants. Adapted from ³³.

3.1. Pharmacodynamic properties and Therapeutic Indications of DOACs

Rivaroxaban, apixaban and edoxaban selectively and competitively bind to factor Xa, located in the final common pathway of the coagulation cascade (Fig. 3). They inhibit thrombin formation since they block the interaction between factor Xa and its substrate prothrombin. This mechanism results in extended clotting time and reduced risk of thrombus formation^{5,6,34}.

In general, therapeutic and side effects of factor Xa inhibitors are a reflection of the aforementioned mechanism of action. When there is an excessive or prolonged inhibition of Xa factor resultant from, for instance, increased drug dosing and bioavailability, the consequences may include (major) bleeding at distinct organic levels. Rivaroxaban is associated with frequent bleeding complications that consist predominantly of minor and non-major clinically relevant (NMCR) events, which usually do not require treatment. Only approximately 6 % of all bleeding events are major bleeding events. These bleeding events are classified according to the International Society on Thrombosis and Haemostasis as minor, NMCR, or major bleeding (Annex 1). However the rates and pattern of bleeding events in unselected patients might be different from these outcomes identified in patients enrolled in clinical trials, since patients in daily care show frequently comorbidities and are treated under less surveillance³⁵.

Comparing to warfarin, patients treated with rivaroxaban develop more gastrointestinal bleeding events: 3.61 events/100 patient-years for rivaroxaban vs. 2.60 events/100 patient-years for warfarin (definition of patient-years on Annex 2)³⁶. On the other hand, apixaban has a reduced risk for major and NMCR bleeding comparing with warfarin, rivaroxaban and dabigatran, with a relative risk reduction of 38 %, 46 % and 35 % respectively. The risk for intracranial hemorrhage is considerably lower than those related to warfarin and rivaroxaban, which present a relative risk reduction of 46 % and 54 %, respectively³⁷. The risk of gastrointestinal bleeding is also lower, which is a unique characteristic among the four DOACs^{36,37}.

Similarly, edoxaban also has an advantageous safety profile comparing to warfarin, with regard to major and NMCR bleeding³⁸. However, in patients taking 60 mg of edoxaban versus dose adjusted warfarin, a higher frequency of gastrointestinal bleeding was observed after edoxaban administration (1.51 % vs. 1.23 %)³⁶. Additionally, lower edoxaban doses are associated with less bleeding events³⁸.

Dabigatran etexilate is a prodrug that, after oral administration, is rapidly absorbed and converted to dabigatran in plasma and liver by esterase-catalyzed hydrolysis. The active metabolite, dabigatran, is a potent, reversible, competitive direct thrombin inhibitor, preventing the conversion of fibrinogen into fibrin, and, hence, avoiding the development of thrombus⁴. Dabigatran has also a lower risk of major bleeding than warfarin³⁹. Patients with atrial fibrillation administered with 110 mg or 150 mg twice daily had a lower risk of intracranial bleeding, comparing to warfarin, but the highest dose of dabigatran was associated with more gastrointestinal bleeding than dose adjusted warfarin^{36,40}. Evaluation of gastrointestinal

hemorrhages revealed increased odds ratio of dabigatran as patient age enhances, while aging had little effect on warfarin pharmacological effects. In opposition, nervous system hemorrhage is less affected by age of patients taking dabigatran or warfarin. An explanation for the higher gastrointestinal bleeding with age in patients taking dabigatran is that older people often have a reduced kidney function, increasing dabigatran plasma concentrations because it is mainly excreted by the kidney and it is not metabolized by CYP isoenzymes, in opposition to warfarin that is metabolized in the liver³⁹.

In general, DOACs prolong clotting factors such as prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT) and INR. However, as the changes observed are small and highly variable, these biomarkers are not currently recommended to measure pharmacodynamic effects³². The ecarin clotting time (ECT) is also prolonged with dabigatran treatment, providing useful information. Moreover it shows a linear dose dependent response up to 500 ng/mL of dabigatran, but as this test is not standardized, the results need to be interpreted with caution^{4,41,42}.

The therapeutic indications designated by EMA, in the European Public Assessment Report are summarized in Annex 3. In brief, all the new oral anticoagulants are indicated in prevention of stroke and systemic embolism in adults with nonvalvular atrial fibrillation with one or more risk factors (hypertension, diabetes, prior stroke, etc.). With exception of edoxaban, all DOACs are indicated for the prevention and treatment of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. With lower dosages, they are also indicated for the prevention of venous thromboembolic events following hip/knee replacement. Rivaroxaban has one more therapeutic indication in its lower dosage – prevention of atherothrombotic events in adults after an acute coronary syndrome, with elevated cardiac biomarkers [co-administrated with acetylsalicylic acid (ASA) or with ASA plus clopidogrel/ticlopidine]³⁻⁶.

3.2. Pharmacokinetics of DOACs

Rivaroxaban is rapidly absorbed, achieving the peak plasma concentration within 2-4 hours post-dosing. Its oral bioavailability is high (around 80 % to 100 %) for doses between 2.5 mg and 15 mg. At higher doses, the absorption is decreased because of the rivaroxaban limited dissolution. However, rivaroxaban binds to plasma proteins, namely albumin, at 92 - 95 %. Its volume of distribution is around 50 liters. Rivaroxaban undergoes hepatic metabolism, via CYP3A4 and CYP2J2 enzymes, but approximately 1/3 of rivaroxaban maintains unchanged and is eliminated through direct renal excretion. The metabolites are eliminated renal or fecal routes. It is a substrate of BCRP and P-gp transporters. Its half-life is usually between 5 and 9 hours, except in the elderly, which is considerably increased to 11 and 13 hours, probably due

to the limited renal function in the elderly. Moreover, due to rivaroxaban hepatic metabolism and renal excretion, patients with renal or hepatic impairment have higher rivaroxaban exposure, and, consequently, its doses must be reduced and monitoring renal function is required^{2,43}.

Apixaban reaches peak plasma concentrations 3-4 hours after oral administration. Its bioavailability is around 50 %, but, at doses equal to or higher than 25 mg, apixaban has decreased bioavailability due to its dissolution limited absorption. Plasma protein binding is about 87 %, with a volume of distribution around 21 liters. Apixaban is metabolized mostly by CYP3A4, and it is a substrate of P-gp and BCRP. These pharmacokinetic characteristics increase apixaban potential of developing DDI. Furthermore, apixaban is eliminated by other multiple pathways, including renal elimination of the parent compound (clearance is approximately 27 % of total systemic clearance), while 25 % is excreted in the urine and feces as the form of metabolites. Other elimination pathways are biliary and possibly direct intestinal excretion. The half-life is approximately 12 hours. As well as with rivaroxaban, elderly patients exhibit higher plasma concentrations of apixaban and its disposition is slightly affected by renal impairment^{2,30,44}.

Edoxaban is the most recent DOAC and it has a rapid absorption with the peak plasma concentration after 1-2 hours, and a bioavailability of approximately 62 %. Plasma protein binding is only around 55 %, and the volume of distribution is 107 liters. It is mostly metabolized via hydrolysis, but also via conjugation or oxidation by CYP3A4/5 and it is a substrate of P-gp. With an half-life time around 10-14 hours, edoxaban is mainly eliminated unchanged, through various pathways, including biliary/intestinal excretion and renal excretion (35 %), which compromises the drug disposition in patients with renal impairment^{2,30,44}.

Dabigatran etexilate is rapidly absorbed after oral administration. The absolute bioavailability of dabigatran is approximately 6–7 %, after oral administration of dabigatran etexilate, with peak plasma within 2 hours of oral administration. Food does not interfere with the bioavailability but delays the time to achieve the peak plasma concentrations in approximately 2 hours. Protein binding to dabigatran is about 35 %, and the volume of distribution is approximately 50-70 liters. Dabigatran etexilate is a substrate for P-gp. Dabigatran is not metabolized by CYP enzymes and its excretion is mainly renal (80 % of systemically available dabigatran). The half-life is about 12-14 hours. Patients with renal impairment have higher plasma AUC^{34,44}.

4. Non-clinical evidence regarding the role of P-gp and BCRP on DOACs disposition

As described in section 2, ABC drug transporters determine the mechanisms of absorption, intestinal secretion, biliary excretion and renal tubular secretion of drugs that are their substrates. As mentioned in the previous section, several DOACs have already demonstrated to be substrates of ABC transporters, namely P-gp and/or BCRP, which function may have a great impact on drug disposition, pharmacokinetics and pharmacodynamic effects. This mediated-transport is crucial for optimal efficacy and reducing side effects and therefore it is important to interpret their real impact *in vivo*. This section will focus on the scientific evidence that demonstrate the relevance of P-gp and/or BCRP in DOACs disposition. Several *in vivo* studies were performed in transgenic rodents whose ABC transporters expression is altered. At this point, it is important to bear in mind that humans only have one gene that encodes a single P-gp transporter, while mice have 2 genes – *Abcb1a* and *Abcb1b*. The former is mainly responsible for the P-gp expression in the gastrointestinal tract and ovary, with lower impact in blood-brain barrier testis, kidney, lung and liver, while *Abcb1b* is responsible for P-gp expression mainly in the distal gastrointestinal tract, lung, ovary, and heart⁴⁵.

Rivaroxaban is a shared substrate of P-gp and BCRP. To evaluate the relevance of P-gp and BCRP *in vivo*, plasma and brain, liver and kidney tissue concentrations were assessed after oral administration of rivaroxaban (2 mg/kg) to four distinct mice strains: wild-type, *Abcb1a* knockout (*Abcb1a*-KO), *Abcg2* knockout (*Abcg2*-KO) and *Abcb1a/Abcb1b/Abcg2* triple knockout mice (*Abcb1a/Abcb1b/Abcg2*-KO). Plasma concentrations from wild-type, *Abcb1a*-KO and *Abcg2*-KO mice were not significantly different. However, *Abcb1a/Abcb1b/Abcg2*-KO mice showed higher rivaroxaban plasma levels after the first hour post-dosing (Fig. 4). Rivaroxaban total apparent clearance was significantly reduced only in triple KO mice⁴⁶. The rivaroxaban tissue concentrations showed that kidney-to-plasma and liver-to-plasma ratios did not differ across the various knockout mice assessed. However, rivaroxaban brain-to-plasma ratio was 2-times higher in *Abcb1a/Abcb1b/Abcg2*-KO mice⁴⁶.

These results clearly suggest that P-gp and BCRP work synergistically to modulate rivaroxaban disposition and seem to be particularly relevant in limiting its access into the CNS. At this level, both ABC transporters act as a protective mechanism, hampering rivaroxaban to exhibit central toxic effects.

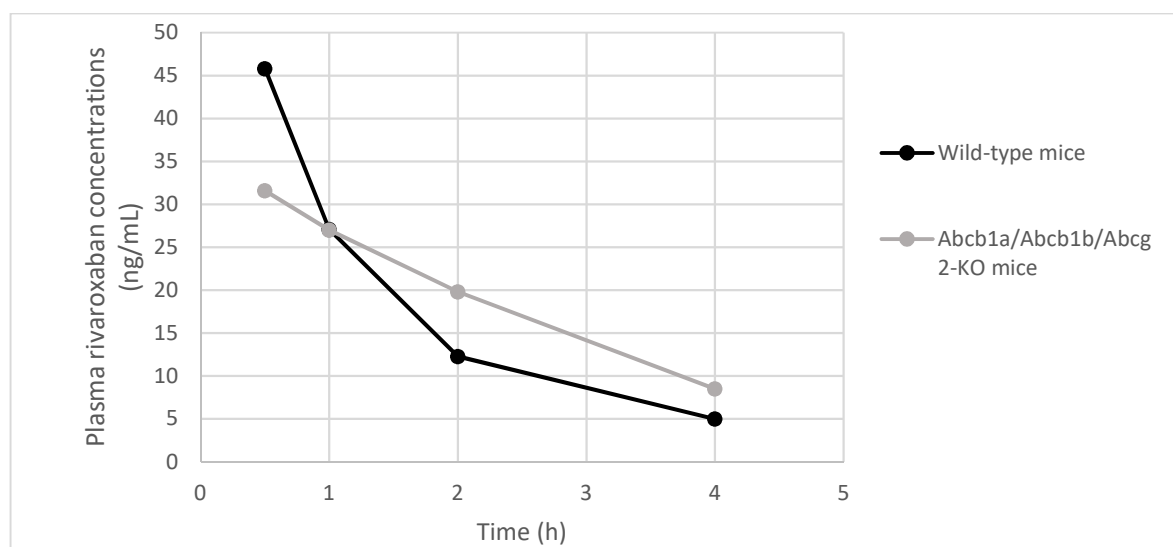


Fig. 4 – Mean plasma concentrations of rivaroxaban (ng/mL) after oral administration of 2 mg/kg rivaroxaban (n = 6) in mice. Figure constructed based on the results achieved in ⁴⁶.

Similarly, apixaban is also a substrate of both P-gp and BCRP¹⁴. At the proximal part of the small intestine, it is quickly absorbed after oral administration, partly escaping the barrier function performed by P-gp and BCRP. P-gp and BCRP influence on apixaban disposition was firstly demonstrated after oral and intravenous (IV) administration of apixaban to wild-type, *Abcb1* knockout (*Abcb1*-KO) and *Abcg2*-KO rats. Apixaban was also administered to wild-type rats simultaneously with a dual BCRP and P-gp inhibitor (GF-120918). After oral administration, apixaban exposure over time (given by the AUC) was increased by 140 % in the *Abcb1*-KO rats and by 311 % in the *ABCG2*-KO rats comparing with the wild-type rats. After administration of GF-120918 to wild-type rats, AUC increased 373 %, clearly evidencing that apixaban exposition depends on P-gp and BCRP activity. After IV administration, total AUC was increased by 45 % and 66 %, respectively, in both *Abcb1*-KO and *Abcg2*-KO rats compared with the wild-type rats. However, it increased by 101 % after administration of GF-120918. *Abcg2*-KO rats exhibited a higher effect on increasing the apixaban exposure versus the *Abcb1*-KO rats. These results suggest that BCRP has a more important role than P-gp in apixaban absorption and elimination. After oral administrations, the increment of AUC values was higher than that observed after IV administration. This corroborates that P-gp and BCRP have an important role in absorption with both P-gp and BCRP working synergistically in the disposition of the DOAC⁴⁷.

The efflux transporters also demonstrated a relevant impact on apixaban excretion. After IV administration of [¹⁴C]apixaban to *Abcb1*-KO and *Abcg2*-KO rats, a reduction on urinary excretion was observed in *Abcg2*-KO rats (decreased from 50 % to 35 %) and in *Abcb1*-KO rats (decreased from 50 % to 44 %). In compensation, intestinal excretion increased from

21 % to 34 % in *Abcg2*-KO-rats and from 21 % to 25 % in *Abcb1*-KO rats. Transporters knockout reduce active transport excretion and increase tubule reabsorption, leading to decreased urinary elimination. The reduced renal elimination develops an increased compensatory intestinal elimination, characterized by an over-expression of other transporters and the enhancing of passive diffusion through the intestinal epithelium. Intestinal excretion of apixaban was additionally investigated in rats after IV administration of [¹⁴C]apixaban (2 mg/kg) in the presence of GF-120918. The intestinal excretion of apixaban in rats was reduced from 21 % to 14 % without affecting other elimination pathways, suggesting that both transporters promote apixaban intestinal excretion. The reabsorption of apixaban in the duodenum, jejunum and upper ileum is also limited by high expression levels of P-gp and BCRP⁴⁷. Both the “recycling” mechanisms in which P-gp and BCRP are involved, intestinal reabsorption and tubular reabsorption, prolong elimination half-life of apixaban, decreasing its apparent clearance⁴⁷.

Following oral administration of edoxaban, incomplete absorption has been observed in humans, along with active renal secretion, intestinal secretion, and/or biliary excretion⁴⁸. These observations suggest that the drug efflux transporters expressed in the kidney, liver, and gastrointestinal tract can be involved in edoxaban biodisposition.

Employing human colon adenocarcinoma Caco-2 cell monolayers in an *in vitro* bidirectional transport assay, *Mikkaichi et al.* observed that the efflux ratio (formula on Annex 4) of [¹⁴C]edoxaban was nearly completely inhibited by verapamil, a selective P-gp inhibitor. Indeed, the efflux ratio of edoxaban (1 μM) decreased 91.7 % (from 19.4 to 1.62) in the presence of verapamil (100 μM). Even though Caco-2 cells express multiple efflux transporters besides P-gp (e.g. BCRP), the almost complete reduction of the efflux ratio in the presence of verapamil, suggests that edoxaban is a substrate of P-gp, and that this efflux transporter is determinant on the transport of edoxaban, explaining the incomplete absorption of edoxaban that is observed in humans⁴⁸. *Mikkaichi et al.* also suggested that other efflux transporters like BCRP have a poor contribution on edoxaban disposition. However *Hodin et al.* also compared the efflux ratio between edoxaban alone and edoxaban plus verapamil, using the same cell culture, having different results. Accordingly, the efflux ratio only decreased 43 % (the efflux ratio of edoxaban alone was 17 while the efflux ratio of edoxaban plus verapamil was 9.69)¹⁰. This can be explained by the distinct concentrations of verapamil and edoxaban used in both studies, which were 10 μM of edoxaban and 10 μM of verapamil in *Hodin et al.*¹⁰, compared to 1 μM of edoxaban and 100 μM of verapamil in *Mikkaichi et al.*⁴⁸. *Hodin et al.* also evaluated the efflux inhibition of edoxaban with a BCRP specific inhibitor, Ko143, revealing a

46 % efflux inhibition¹⁰. This suggested that BCRP and P-gp have a similar role on edoxaban efflux. These contradictory findings obtained *in vitro* corroborate that *in vivo* studies must be performed and suggest that the role of BCRP on edoxaban disposition should be further evaluated.

In vivo studies were performed in *Abcb1*-KO mice intravenously administered with [¹⁴C]edoxaban at the dose of 1 mg/kg⁴⁸. The results revealed higher concentrations of edoxaban in the brain of *Abcb1*-KO mice than in the brain tissue of the wild-type mice, suggesting that edoxaban penetration into the brain through the blood–brain barrier is dependent on P-gp. In summary, since the metabolism of edoxaban has a small contribute to its total clearance, given that it is predominant excreted unchanged, and strong P-gp inhibitors increase edoxaban exposure, the efflux transport process of edoxaban through P-gp has a great influence in its disposition⁴⁸.

Dabigatran etexilate is a substrate of P-gp, in contrast to dabigatran (the active form), which is not^{4,40}. This means that P-gp only has impact on dabigatran etexilate absorption phase. In inhibition studies using verapamil and Ko143 in Caco-2 cells monolayers, the efflux inhibition of dabigatran etexilate in the presence of verapamil was 87 %. BCRP also participated in the transport of dabigatran etexilate since Ko143 inhibited drug efflux by 74 %¹⁰. However, to the best of our knowledge, there are no *in vivo* studies proving that dabigatran etexilate is a substrate of BCRP.

Based on the bidirectional transport assay performed with Caco-2 cell monolayers in the absence or presence of verapamil, Ko143 and cyclosporine A (a non-specific inhibitor of ABC transporters), the four DOACs were classified in 3 families taking into account the involvement of P-gp and BCRP in their efflux. The first one differentiates DOACs with a strong involvement of P-gp, including dabigatran, as aforementioned, while the second one considered the DOACs with a strong BCRP influence, as apixaban, since Ko143 reduced its efflux by 76 %. The 3rd family included edoxaban and rivaroxaban which are strongly transported by both P-gp and BCRP. Nevertheless BCRP seems to have slightly more influence on rivaroxaban transport¹⁰.

The role of the efflux transporters on DOACs disposition can also be assessed through DDI studies with drugs that modulate the activity of these transporters. The possible interaction between rivaroxaban or apixaban and the type 5-phosphodiesterase inhibitors, sildenafil, tadalafil and vardenafil, was investigated using *in vitro* methodologies with the Madin Darby canine kidney cell line that overexpresses P-gp. This cell line was used to determine bidirectional apparent permeabilities of apixaban and rivaroxaban, in presence and absence of

increasing concentrations (0.5 - 100 μM) of sildenafil, tadalafil, and vardenafil. These drugs are frequently used in the treatment of pulmonary arterial hypertension and have been shown to strongly inhibit P-gp, therefore there is a theoretical risk of interaction between them and rivaroxaban and apixaban, leading to increased bioavailability and risk of bleeding. Since DOACs are expected to replace VKA in pulmonary arterial hypertension patients, this is a pertinent investigation. The results showed that the three PDE5i strongly inhibit P-gp-mediated efflux of rivaroxaban and apixaban. At the maximal concentration of each PDE5i tested (100 μM), sildenafil and vardenafil had the highest maximal efflux inhibition (90-100 %), while tadalafil only inhibited around 75 % of the efflux of both DOACs. However, with the inherent limitations associated to the *in vitro* assay that was used, clinical DDI assessment should be performed⁴⁹.

Proton pump inhibitors pantoprazole, omeprazole, esomeprazole, lansoprazole and rabeprazole can be used in association with dabigatran, since gastrointestinal disorders as dyspepsia or gastritis are adverse reactions of dabigatran. Given the fact that proton pump inhibitors are substrates or moderate inhibitors of P-gp, the specific risk of DDI between dabigatran and those drugs was evaluated *in vitro* resorting to the Caco-2 cell monolayer model. Rabeprazole reduced dabigatran etexilate efflux ratio by 38 %, which was the greatest amongst the 5 investigated drugs; in opposition, omeprazole reduced dabigatran etexilate efflux ratio only by 12 %, the least extent of reduction. Based on these *in vitro* findings, the authors suggest that clinically relevant interactions are not probable to occur at this level. However, if several drugs that interact with dabigatran via P-gp inhibition are co-administered, there is the possibility of an additive result that should be taken into account⁴⁰.

In conclusion, the aforementioned non-clinical investigations demonstrate that the ABC drug transporters have an important impact on the biodistribution and pharmacokinetics of DOACs, since they modulated drugs absorption, intestinal secretion and renal tubular secretion. Nevertheless, although *in vitro* and *in vivo* non-clinical studies performed with transgenic rodents support those conclusions, the truth is that in humans the clinical impact of P-gp and BCRP may not be so evident. Thus, in the next section, clinical evidence regarding the importance of ABC transporters on efficacy and safety of DOACs will be discussed.

5. Clinical evidence regarding the role of P-gp and BCRP on DOACs disposition

The majority of the clinical evidence currently available regarding the role of ABC transporters on DOACs biodisposition results from DDI clinical assessment as it is nowadays mandatory by EMA and Food and Drug Administration for new chemical entities^{50,51}.

Rivaroxaban is metabolized by CYP3A4 and suffers efflux mediated by P-gp and BCRP. Therefore, its plasma concentrations and bioavailability are expected to be altered when co-administered with inhibitors of CYP3A4, P-gp and/or BCRP. Indeed, CYP3A4, P-gp and BCRP share a large number of common inhibitors, mainly the azole-antimycotic drugs, like ketoconazole, and the Human Immunodeficiency Virus (HIV) protease inhibitors, like ritonavir. At this respect, clinical DDI studies demonstrated a significant increase in rivaroxaban plasma concentrations and AUC values when it was administered with fluconazole, ketoconazole or ritonavir (the mean AUC increased by 42 %, 158 % and 153 % respectively), leading to an increased bleeding risk⁵². Moreover, clearance of rivaroxaban decreased while its half-life time considerably increased. Fluconazole was the azole-antimycotic drug that less changed the plasma concentration of rivaroxaban, suggesting that it interacts in a lesser degree with CYP3A4, P-gp and BCRP and, therefore, it is acceptable to be co-administered but, preferentially, monitoring DOAC plasma concentrations. However, co-administration of rivaroxaban with erythromycin or clarithromycin that only inhibit one of the efflux transporters or moderately inhibit both, increased rivaroxaban plasma concentrations (34 % and 54 % respectively), but in a lower extent than ketoconazole and ritonavir. Indeed the authors did not consider the DDI as clinically relevant. Drug interactions involving only BCRP are less likely as a great fraction of BCRP substrates and inhibitors are chemotherapeutic agents^{46,52}.

As expected, rivaroxaban also interacts with strong combined CYP3A4 and P-gp inducers, such as rifampicin, leading to decreased mean rivaroxaban AUC, with parallel decreases in its pharmacodynamic effects. These inducers should be avoided unless the person is closely observed for signs and symptoms of thrombosis⁶.

Similarly to rivaroxaban, apixaban is a substrate of P-gp and BCRP and it is also metabolized by CYP3A4. Thus, the combined P-gp/BCRP/CYP3A4 strong inhibitors, ketoconazole and ritonavir, increased apixaban exposure twice, and are recommended to be avoided in patients treated with apixaban. Drugs with less effect on P-gp and CYP3A4 result in less increase in apixaban exposure. For example, diltiazem, a combined weak P-gp and moderate CYP3A4 inhibitor, showed a 40 % increase in apixaban AUC. When there are additional factors that may increase apixaban exposure, as renal impairment, co-administration of P-gp/CYP3A4 inhibitors lead to a bigger increase in apixaban exposure and toxicity^{14,17}. On the other hand, dual inducers of P-gp and CYP3A4 co-administrated with apixaban, decreased 50 % the AUC of DOACs and should be avoided in order to attain therapeutic effects^{14,17}.

Regarding the newest DOAC, edoxaban, clinical studies have already demonstrated that its plasma concentrations increase up to 2-fold when co-administered with P-gp/CYP3A4 inhibitors. Since the contribution of CYP3A4 to edoxaban metabolism is low (less than 4 % of dose after oral administration correspond to CYP3A4 metabolites), the major cause of DDI is considered to be the inhibition of P-gp, especially affecting absorption⁴⁸. Moreover, DDI clinical investigations were performed regarding edoxaban and six cardiovascular drugs that are likely to be co-prescribed with edoxaban. These drugs exhibit different degrees of P-gp inhibition: verapamil, dronedarone, quinidine and amiodarone are strong P-gp inhibitors, while digoxin and atorvastatin are known P-gp substrates. Edoxaban co-administration with verapamil, dronedarone or quinidine resulted in a 50 % increase in total exposure (given by AUC) as well as in the plasma concentration obtained immediately before the following administration of edoxaban, which corresponds to the minimal plasma concentration (C_{min}). Co-administration of amiodarone increased AUC by 50 % and C_{min} decreased nearly 26 %. Co-administration of digoxin or atorvastatin had minor pharmacokinetic effects of edoxaban probably because digoxin and atorvastatin are only substrates of P-gp as well as edoxaban⁵³.

Dabigatran is not metabolized by the complex CYP and, therefore, pharmacokinetic interactions are more related with dabigatran etexilate absorption which is hampered by P-gp. P-gp inhibitors, as amiodarone, quinidine, verapamil, ketoconazole and clarithromycin, increased the AUC of dabigatran from 50 % to over 200 %. Other strong P-gp inhibitors are expected to produce similar increases in dabigatran plasma concentrations. On the other hand strong P-gp inducers such as rifampicin reduced the AUC of dabigatran by approximately 50 %⁴⁰.

The interactions between 12 antiepileptic drugs (carbamazepine, oxcarbazepine, ethosuximide, gabapentin, levetiracetam, lamotrigine, phenobarbital, phenytoin, valproic acid, pregabalin, topiramate and zonisamide) and the 4 DOACs were recently revised⁵⁴. After a stroke, approximately 10 % of patients have seizures. In addition, in the elderly, the cause of 30-40 % of all cases of epilepsy is previous stroke.⁵⁵ Most of these people need treatment with an antiepileptic drug which may be also prescribed for other indications like neuropathic pain or psychiatric disorders. Bearing this in mind, it can be expected that DOACs would be on concomitant therapy with antiepileptic drugs. Interactions between VKA and antiepileptic drugs are well known, and are detected by measurement of INR; however little is known about DDI between DOACs and antiepileptic drugs. There is evidence supporting that several antiepileptic drugs induce P-gp, and therefore they are expected to decrease the absorption, exposition and therapeutic effect of DOACs. Carbamazepine increases the P-gp activity, with

evidence on humans⁵⁴. Levetiracetam, phenobarbital and phenytoin have evidence supporting an increment of the P-gp activity on animals and valproic acid *in vitro*⁵⁴. Lamotrigine and topiramate have animal studies that show no effect on P-gp⁵⁴. The effects of ethosuximide, gabapentin, oxcarbazepine, pregabalin and zonisamide on P-gp have not been reported⁵⁴. There are *in vitro* and *in vivo* animal studies currently reported as well as some case reports in humans supporting those DDIs between antiepileptic drugs and DOACs. For instance, the anticoagulant effect of dabigatran was significantly reduced in a 45-year-old African-American patient receiving concomitant phenytoin⁵⁶. Therefore, the clinical relevance is still not totally clarified. The transport efficacy of P-gp and its substrate recognition is different between human and mouse for some antiepileptic drugs, thus it is necessary precaution when extrapolating the results achieved in animal studies to humans⁵⁴.

Table I summarizes the main DDI involving P-gp and DOACs.

Table I – Effect of several drugs on DOACs area under plasma concentration versus time curve and probable mechanism involved regarding interaction with P-glycoprotein (P-gp) and CYP3A4 activity (+, increase; -, decrease).

		Rivaroxaban	Apixaban	Edoxaban	Dabigatran
		Evidence	Evidence	Evidence	Evidence
Strong P-gp inhibitors	Ketoconazole	+ Humans ^{6,52}	+ Humans ^{5,57}	+ Humans ^{3,58}	+ Humans ⁴
	Itraconazole	+ Humans ⁶	+ Humans ⁵		
	Voriconazole	+ Humans ⁶	+ Humans ⁵		
	Posaconazole	+ Humans ⁶	+ Humans ⁵		
	Ritonavir	+ Humans ^{6,52}	+ Humans ⁵		+ Humans ⁵⁹
	Ciclosporin			+ Humans ^{3,58}	
	Dronedaron			+ Humans ^{3,53}	
Not considered strong inhibitors of both CYP3A4 and P-gp (moderate or strong P-gp inhibitor)	Clarithromycin	+ Humans ^{6,52}	+ Humans ⁵		+ Humans ⁴
	Erythromycin	+ Humans ^{6,52}		+ Humans ^{3,58}	
	Amiodarone			+ Humans ^{3,53}	+ Humans ^{4,60}
	Quinidine			+ Humans ^{3,53}	+ Humans ⁴
	Verapamil			+ Humans ^{3,53}	+ Humans ^{4,61}
	Ticagrelor				+ Humans ⁴
	Diltiazem		+ Humans ^{5,57}		
P-gp inducers	Rifampicin	- Humans ⁶	- Humans ⁵	- Humans ³	- Humans ^{4,62}
	Phenytoin	May lead to reduced AUC ⁶	May lead to reduced AUC ⁵	May lead to reduced AUC ³	May lead to reduced AUC ⁴
	Carbamazepine	May lead to reduced AUC ⁶	May lead to reduced AUC ⁵	May lead to reduced AUC ³	May lead to reduced AUC ⁴
	<i>Hypericum perforatum</i>	May lead to reduced AUC ⁶	May lead to reduced AUC ⁵	May lead to reduced AUC ³	May lead to reduced AUC ⁴
	Phenobarbital	May lead to reduced AUC ⁶	May lead to reduced AUC ⁵	May lead to reduced AUC ³	May lead to reduced AUC ⁴

The DDI aforementioned undeniably have clinical impacts. Indeed according to the Summary of Product Characteristics of Xarelto (rivaroxaban)⁶, Eliquis (apixaban)⁵, Lixiana (edoxaban)³⁴ and Pradaxa (dabigatran etexilate)⁴, available in EMA website, the recommendations on clinical practice when there is a need of co-prescribing DOACs with inducers/inhibitors of P-gp are summarized in Table 2.

Table 2 – Recommendations on clinical practice when co-prescribing DOACs with inducers/inhibitors of P-gp³⁻⁶

Drugs	Effect on P-gp	DOACs			
		Rivaroxaban (Xarelto®)	Apixaban (Eliquis®)	Edoxaban (Lixiana®)	Dabigatran etexilate (Pradaxa®)
Ketoconazole Dronedarone Cyclosporin	<i>Strong P-gp inhibitors</i>	Concomitant use not recommended	Concomitant use not recommended	Dose reduction	Concomitant use contraindicated
Ritonavir	<i>Protease inhibitors (Strong P-gp inhibitors)</i>	Concomitant use not recommended	Concomitant use not recommended	Not studied	Concomitant use not recommended
Verapamil Amiodarone Quinidine	<i>Moderate P-g inhibitors</i>	No recommendation	No dose adjustment required	No dose adjustment required	Dose reduction
Rifampicin Phenytoin Carbamazepine, St. John's Wort	<i>P-gp inducers</i>	Concomitant use should be avoided	Depending on the therapeutic indication these drugs can either be used with caution or should not be used	Edoxaban should be used with caution	Concomitant use should be avoided

In opposition to the non-clinical and clinical evidence regarding the P-gp-mediated transport of DOACs and its impact on DOACs potential to develop DDI, interactions within BCRP are less studied. Not only because the relevance of BCRP on drugs exposition is now starting to emerge, but also because the majority of the BCRP substrates and inhibitors are chemotherapeutic agents, which are not commonly used along with oral anticoagulants^{46,52}. Consequently, it is hard to know exactly the clinical impact of BCRP inhibitors/inducers on

DOACs disposition. Nevertheless as it was recently reviewed, proton pump inhibitors, HIV-protease inhibitors and catechol-*O*-methyltransferase (COMT) inhibitors are also inhibitors of BCRP⁶³ and may, hence, increase DOACs systemic exposition and decrease their elimination, enhancing the plasma concentration and half-life times, and compromising the therapeutic and security of DOACs. However, at this level, more investigations must be performed.

There is also clinical evidence on the role of ABC transporters on DOACs biodisposition from genetic polymorphism on ABC transporters genes.

There are reduced function polymorphisms in the BCRP gene, *ABCG2*, that affect the pharmacokinetics of their substrates, like *ABCG2* 421C>A polymorphism. People with this polymorphism can be homozygous carriers of BCRP variants, where the pair of genes is identical - *ABCG2* 421A/A – or heterozygous, where the pair of genes is different - *ABCG2* 421C/A. The plasma concentration per dose (C/D) ratio of apixaban between these different genotypes was assessed⁶⁴. The C/D ratio was considerably higher for the 421A/A genotype. In fact, the C/D ratio of apixaban in patients with the 421A/A genotype was 1.55 times higher comparing with patients with the 421C/C genotype. The 421C/A genotype did not reveal significant C/D ratio differences comparing with the 421C/C. These findings show that *ABCG2* 421A/A genotype can be a significant predictor of plasma concentrations of apixaban. These results offer useful information for dosage adjustments, which can avoid the risk of adverse reactions⁶⁴.

With regard to rivaroxaban, Gong *et al.* concluded that BCRP and P-gp modulate its disposition, suggesting that patients taking P-gp/CYP3A4 inhibitors that carry loss-of-function polymorphisms in BCRP, like *ABCG2* 421C>A, are the subset of patients with the highest risk of adverse events. This information has significant implications for safety of rivaroxaban therapy, since P-gp/CYP3A4 inhibitors are used frequently and *ABCG2* polymorphisms are common⁴⁶.

The polymorphism *ABCG2* 421C>A has a significantly higher frequency in East Asians (30 % – 60 %) than African-Americans and Caucasians (5 %– 10 %). Therefore, these genotypes can cause extensive ethnic variability concerning the pharmacokinetics of *ABCG2* substrates, as rivaroxaban and apixaban. The adverse events of these oral anticoagulants, such as major bleeding, are serious and can be even fatal but the incidence rates are generally very low, which is a problem on identifying ethnic pharmacokinetics differences with adverse events consequences. Ethnic differences have probably been missed in clinical studies of small-scale²⁴.

Concerning polymorphisms on the *ABCB1* gene, the most common variants are 1236C>T, 2677G>T/A and 3435C>T, which are widely studied²³. The plasma concentration

per dose (C/D) ratio of apixaban between these different genotypes was assessed⁶⁴. No changes in C/D ratio of apixaban were observed in patients with *ABCB1* 1236C>T and 3435C>T polymorphisms. Among patients with the *ABCB1* 2677G>T/A polymorphism, the ones with the *ABCB1* 2677G/G genotype had a slight increase in the C/D ratio of apixaban, comparing with those with *ABCB1* 2677G/T or 2677G/A genotypes, however the authors consider that such a slight increase is not clinically relevant. In conclusion, none of the *ABCB1* polymorphisms examined showed relevant influence on the C/D ratio of apixaban⁶⁴.

The AUC ratios between patients with both *ABCB1* 2677G>T/A and 3435C>T variants and patients without these polymorphisms were determined for dabigatran and rivaroxaban⁶⁵. The results showed that these genotypes are not determinant to inter-individual variability of dabigatran and rivaroxaban pharmacokinetics, since the AUC ratios were 1.27 for dabigatran and 1.20 for rivaroxaban, which are not significant increments⁶⁵.

Considering all the clinical evidence aforementioned, an optimal pharmacotherapy with rivaroxaban and apixaban based on *ABCG2* pharmacogenomics is required for their risk management, while *ABCB1* polymorphisms do not influence DOACs pharmacokinetics.

Concerning the toxic effects of DOACs, despite the fact that bleeding is a risk with any anticoagulant drug, DOACs are related with similar or lower rates of major bleeding effects, reduced rates of hemorrhagic stroke and intracranial bleeding than those observed with warfarin^{31,66}. Patients with the highest bleeding risk normally do not have only renal impairment but also reduced BCRP and P-gp function, which results in increased DOACs absorption and reduced renal secretion leading to increased bioavailability. This reduced function can for example increase DOACs access to CNS, raising the risk of intracranial hemorrhage⁴⁶.

The reduced BCRP and P-gp function, which leads to toxic effects of DOACs, are a result of DDI and polymorphisms regarding these transporters.

Thus, the disposition of all DOACs is affected by P-gp inducers which can decrease the anticoagulant efficacy while the inhibitors increase systemic exposure, increasing the bleeding risk⁶⁶. This is a big concern since elderly with low renal function often have atrial fibrillation, taking DOACs, and also other health problems. Therefore they are usually polymedicated, where drugs that inhibit P-gp/CYP3A4 might be difficult to avoid⁴⁶. As mentioned before, it is hard to know exactly the impact of BCRP inhibitors and inducers on DOACs disposition and therefore their toxic effects.

Regarding polymorphisms, the reduced function polymorphism in the BCRP gene *ABCG2* 421C>A can increase the risk of toxic effects. Apixaban and rivaroxaban are described

BCRP substrates, therefore understanding the impact of *ABCG2* polymorphisms is essential for precision medicine, which can prevent major bleeding, especially since these anticoagulants are not monitored²⁴.

In conclusion, DOACs can offer comparable or better efficacy and safety than warfarin, with less risk and severity of bleeding. However, bleeding events can still occur, with variable location and severity depending on the anticoagulant used. To minimize the adverse effects it is important to choose the DOAC dose carefully, considering the patient characteristics (age, weight, renal function, polymorphisms) and possible drug-drug interactions. Analyses show that apixaban and edoxaban, properly dosed per renal function, are the most cost-effective options, especially when a patient taking warfarin has a low control of INR control⁶⁶.

6. Conclusions and Future Work

Although warfarin has historically been used as the standard for stroke prevention in patients with atrial fibrillation, VKA have several limitations, namely the numerous interactions with food and drugs and the need for frequent monitoring and dose adjustments. DOACs have shown advantages comparing with VKA, given their predictable pharmacokinetics, fixed dosing and smaller potential to develop DDI⁶⁷.

However, the risk of bleeding remains, and throughout the years several case reports of bleeding have been described with all the DOACs⁶⁸⁻⁷². As their use is becoming more prevalent, it is very important to understand the reasons that may increase the bleeding risk in order to prevent these events. The truth is that one of the causes may be related with the efflux transporters P-gp and BCRP, which modulate DOACs pharmacokinetics. DDI with inhibitors of those ABC-efflux transporters or lost of function polymorphisms lead to increased bleeding risk, which should be taken in consideration in clinical practice. Regardless the significant advances, there are economic, educational, commercial and legal barriers blocking the pharmacogenomic research to be translated into clinical practice⁷³. Nowadays the genetic profile of patients concerning P-gp and BCRP is still not adopted in clinical practice, and could be a powerful tool to prevent bleeding events, by personalized medicine. The possible DDI are more valorized in clinical practice, and they are also a point where the pharmacist can act, when revising the patient medication. The pharmacist has also an essential role on monitoring the side effects of DOACs, namely bleeding events, especially in the community and hospital pharmacy, given the close relationship with the patient.

Even though in the last years the number of studies related with DOACs and efflux transporters aroused, the clinical impact of BCRP on edoxaban and dabigatran disposition remains unclear and must be investigated.

7. Annexes

Annex 1 – Classification of bleeding events according to the International Society on Thrombosis and Haemostasis.

Major Bleeding event	Non-Major Clinically Relevant (NMCR) event	Minor Bleeding event
<p>“Bleeding with any of the following:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Documented transfusion of at least 2 U RBCs*; - Drop in hemoglobin > 2 g/L; - Surgical revision from bleeding; - Bleeding into critical site (intracranial, intraocular, intraarticular, retroperitoneal, overt gastrointestinal bleeding); - Fatal bleeding.”³⁶ 	<p>“Bleeding with any of the following:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Nonmajor bleeding compromising hemodynamics; - Any bleeding leading to hospitalization; - Subcutaneous hematoma larger than 25 cm², or 100 cm² if there was a traumatic cause; - Intramuscular hematoma documented by ultrasonography; - Epistaxis that lasted for more than 5 minutes, was repetitive (ie, 2 or more episodes of bleeding more extensive than spots and a handkerchief within 24 hours), or led to an intervention (eg, packing or electrocoagulation); - Gingival bleeding occurring spontaneously (ie, unrelated to eating or tooth brushing) or lasting for more than 5 minutes; - Hematuria that was macroscopic and was spontaneous or lasted for more than 24 hours after instrumentation (eg, catheter placement or surgery) of the urogenital tract; - Macroscopic gastrointestinal hemorrhage, including at least 1 episode of rectal blood loss, if more than a few spots on toilet paper; - Hemoptysis, if more than a few speckles in the sputum and not occurring within the context of pulmonary embolism; or - Any other bleeding type considered to have clinical consequences for a patient such as medical intervention; the need for unscheduled contact (visit or telephone call) with a physician, temporary cessation of a study drug, or temporary cessation of a study drug; or associated with pain or impairment of activities of daily life.”³⁶ 	<p>“Minor bleeding was defined as every overt bleeding event that does not fulfill the criteria of major or NMCR bleeding.”³⁶</p>

*RBC – red blood cells

Annex 2 – Definition of Patient-years

Patient-years – One patient-year is the patient experience of events during 1 year. For example if there are 100 patients followed for 3 years, there are 300 patient-years⁷⁴.

Annex 3 – Therapeutic indications of DOACs designated by EMA, in the European Public Assessment Report.

Rivaroxaban (Xarelto®)	Apixaban (Eliquis®)	Edoxaban (Roteas® and Lixiana®)	Dabigatran etexilate (Pradaxa®)
<p>2.5 mg “Xarelto, co-administered with acetylsalicylic acid (ASA) alone or with ASA plus clopidogrel or ticlopidine, is indicated for the prevention of atherothrombotic events in adult patients after an acute coronary syndrome (ACS) with elevated cardiac biomarkers.”⁵</p> <p>10 mg “Prevention of venous thromboembolism (VTE) in adult patients undergoing elective hip or knee replacement surgery. Treatment of deep vein thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE), and prevention of recurrent DVT and PE in adults.”⁵</p>	<p>2.5 mg “Prevention of venous thromboembolic events (VTE) in adult patients who have undergone elective hip or knee replacement surgery. Prevention of stroke and systemic embolism in adult patients with non-valvular atrial fibrillation (NVAF), with one or more risk factors, such as prior stroke or transient ischaemic attack (TIA); age ≥ 75 years; hypertension; diabetes mellitus; symptomatic heart failure (NYHA Class ≥ II). Treatment of deep vein thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE), and prevention of recurrent DVT and PE in adults.”⁶</p>	<p>75 mg and 110 mg “Prevention of stroke and systemic embolism in adult patients with nonvalvular atrial fibrillation (NVAF) with one or more risk factors, such as congestive heart failure, hypertension, age ≥ 75 years, diabetes mellitus, prior stroke or transient ischaemic attack (TIA).”^{7,35}</p>	<p>150 mg “Prevention of stroke and systemic embolism in adult patients with non-valvular atrial fibrillation (NVAF), with one or more risk factors, such as prior stroke or transient ischemic attack (TIA); age ≥ 75 years; heart failure (NYHA Class ≥ II); diabetes mellitus; hypertension. Treatment of deep vein thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE), and prevention of recurrent DVT and PE in adults.”^{8 6}</p>

Annex 4 – Efflux ratio formula¹⁰.

$$\text{Efflux ratio} = \frac{P_{app\ B \rightarrow A}}{P_{app\ A \rightarrow B}}$$

$P_{app\ B \rightarrow A}$, permeability coefficient value from the basal to apical direction of the cell

$P_{app\ A \rightarrow B}$, permeability coefficient value from the apical to basal direction of the cell

8. Bibliography

1. WEITZ, J. I. and HARENBERG, J. **New developments in anticoagulants: Past, present and future.** *Thromb. Haemost.*, 117 (2017) 1283–1288.
2. SUNKARA, T., OFORI, E., ZARUBIN, V., CAUGHEY, M. E., GADUPUTI, V. and REDDY, M. **Perioperative Management of Direct Oral Anticoagulants (DOACs): A Systemic Review.** *Heal. Serv. Insights*, 9s1 (2016) 40701.
3. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). **Edoxaban (Lixiana) - Summary of Product Characteristics.** [Accessed: 8th March 2018]. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002629/WC500189045.pdf.
4. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). **Dabigatran etexilate (Pradaxa) - Summary of Product Characteristics.** [Accessed: 8th March 2018]. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000829/WC500041059.pdf.
5. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). **Apixaban (Eliquis) - Summary of Product Characteristics.** [Accessed: 8th March 2018]. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002148/WC500107728.pdf.
6. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). **Rivaroxaban (Xarelto) - Summary of Product Characteristics.** [Accessed: 8th March 2018]. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000944/WC500057108.pdf.
7. POL, D., CURTIS, C., RAMUKUMAR, S. and BITTINGER, L. **NOACs Now Mainstream for the Use of Anticoagulation in Non-Valvular Atrial Fibrillation in Australia.** *Hear. Lung Circ.*, (2018) doi:10.1016/j.hlc.2018.03.010.
8. WEITZ, J. I., SEMCHUK, W., TURPIE, A. G. G., FISHER, W. D., KONG, C., CIACCIA, A. and CAIRNS, J. A. **Trends in Prescribing Oral Anticoagulants in Canada, 2008–2014.** *Clin. Ther.*, 37 (2015) 2506–2514.
9. CALDEIRA, D., FERREIRA, J. J. and PINTO, F. J. **A era dos novos anticoagulantes orais em Portugal.** *Rev. Port. Cardiol.*, 36 (2017) 577–578.
10. HODIN, S., BASSET, T., JACQUEROUX, E., DELEZAY, O., CLOTAGATIDE, A., PEREK, N., MISMETTI, P. and DELAVENNE, X. **In Vitro Comparison of the Role of P-Glycoprotein and Breast Cancer Resistance Protein on Direct Oral Anticoagulants Disposition.** *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.*, 43.2 (2018) 183-

191 doi:10.1007/s13318-017-0434-x.

11. GAMEIRO, M., SILVA, R., ROCHA-PEREIRA, C., CARMO, H., CARVALHO, F., BASTOS, M. and REMIÃO, F. **Cellular Models and In Vitro Assays for the Screening of modulators of P-gp, MRPI and BCRP**. *Molecules*, 22 (2017) 600.
12. ROBEY, R. W., TO, K. K. K., POLGAR, O., DOHSE, M., FETSCH, P., DEAN, M. and BATES, S. E. **ABCG2: a perspective**. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 61 (2009) 3–13.
13. BEIS, K. **Structural basis for the mechanism of ABC transporters**. *Biochem. Soc. Trans.*, 43 (2015) 889–893.
14. ZHANG, D., HE, K., HERBST, J. J., KOLB, J., SHOU, W., WANG, L., BALIMANE, P. V., HAN, Y.-H., GAN, J., FROST, C. E. and HUMPHREYS, W. G. **Characterization of Efflux Transporters Involved in Distribution and Disposition of Apixaban**. *Drug Metab. Dispos.*, 41 (2013) 827–835.
15. LESLIE, E. M., DEELEY, R. G. and COLE, S. P. C. **Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRPI, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense**. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 204 (2005) 216–237.
16. LEUCUTA, S. E. and VLASE, L. **Pharmacokinetics and metabolic drug interactions**. *Curr. Clin. Pharmacol.*, 1 (2006) 5–20.
17. HELLWIG, T. and GULSETH, M. **Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Drug Interactions With New Oral Anticoagulants**. *Ann. Pharmacother.*, 47 (2013) 1478–1487.
18. LUND, M., PETERSEN, T. S. and DALHOFF, K. P. **Clinical Implications of P-Glycoprotein Modulation in Drug–Drug Interactions**. *Drugs*, 77 (2017) 859–883.
19. DOYLE, L. and ROSS, D. **Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2)**. *Oncogene*, 22 (2003) 7340–7358.
20. POIRIER, A., PORTMANN, R., CASCAIS, A.-C., BADER, U., WALTER, I., ULLAH, M. and FUNK, C. **The need for human breast cancer resistance protein substrate and inhibition evaluation in drug discovery and development: why, when, and how?** *Drug Metab. Dispos.*, 42 (2014) 1466–1477.
21. MAO, Q. and UNADKAT, J. D. **Role of the breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in drug transport--an update**. *AAPS J.*, 17 (2015) 65–82.
22. KUSUHARA, H., FURUIE, H., INANO, A., SUNAGAWA, A., YAMADA, S., WU, C., FUKIZAWA, S., MORIMOTO, N., IEIRI, I., MORISHITA, M., SUMITA, K., MAYAHARA, H., FUJITA, T., MAEDA, K. and SUGIYAMA, Y. **Pharmacokinetic interaction study of sulphasalazine in healthy subjects and the impact of curcumin as an in vivo inhibitor of BCRP**.

- Br. J. Pharmacol., 166 (2012) 1793–1803.
23. WOLKING, S., SCHAEFFELER, E., LERCHE, H., SCHWAB, M. and NIES, A. T. **Impact of Genetic Polymorphisms of ABCB1 (MDRI, P-Glycoprotein) on Drug Disposition and Potential Clinical Implications: Update of the Literature.** Clin. Pharmacokinet., 54 (2015) 709–735.
 24. HIRA, D. and TERADA, T. **BCRP/ABCG2 and high-alert medications: Biochemical, pharmacokinetic, pharmacogenetic, and clinical implications.** Biochem. Pharmacol., 147 (2018) 201–210.
 25. SPARREBOOM, A., GELDERBLOM, H., MARSH, S., AHLUWALIA, R., OBACH, R., PRINCIPE, P., TWELVES, C., VERWEIJ, J. and MCLEOD, H. L. **Diflomotecan pharmacokinetics in relation to ABCG2 421C>A genotype.** Clin. Pharmacol. Ther., 76 (2004) 38–44.
 26. SPARREBOOM, A., LOOS, W. J., BURGER, H., SISSUNG, T. M., VERWEIJ, J., FIGG, W. D., NOOTER, K. and GELDERBLOM, H. **Effect of ABCG2 genotype on the oral bioavailability of topotecan.** Cancer Biol. Ther., 4 (2005) 650–658.
 27. ZHANG, W., YU, B.-N., HE, Y.-J., FAN, L., LI, Q., LIU, Z.-Q., WANG, A., LIU, Y.-L., TAN, Z.-R., FEN-JIANG, HUANG, Y.-F. and ZHOU, H.-H. **Role of BCRP 421C>A polymorphism on rosuvastatin pharmacokinetics in healthy Chinese males.** Clin. Chim. Acta, 373 (2006) 99–103.
 28. CUSATIS, G., GREGORC, V., LI, J., SPREAFICO, A., INGERSOLL, R. G., VERWEIJ, J., LUDOVINI, V., VILLA, E., HIDALGO, M., SPARREBOOM, A. and BAKER, S. D. **Pharmacogenetics of ABCG2 and adverse reactions to gefitinib.** J. Natl. Cancer Inst., 98 (2006) 1739–1742.
 29. IEIRI, I., SUWANNAKUL, S., MAEDA, K., UCHIMARU, H., HASHIMOTO, K., KIMURA, M., FUJINO, H., HIRANO, M., KUSUHARA, H., IRIE, S., HIGUCHI, S. and SUGIYAMA, Y. **SLCO1B1 (OATP1B1, an uptake transporter) and ABCG2 (BCRP, an efflux transporter) variant alleles and pharmacokinetics of pitavastatin in healthy volunteers.** Clin. Pharmacol. Ther., 82 (2007) 541–547.
 30. MANI, H. and LINDHOFF-LAST, E. **New oral anticoagulants in patients with nonvalvular atrial fibrillation: a review of pharmacokinetics, safety, efficacy, quality of life, and cost effectiveness.** Drug Des. Devel. Ther., 8 (2014) 789.
 31. PLITT, A. and BANSILAL, S. **The Nonvitamin K Antagonist Oral Anticoagulants and Atrial Fibrillation: Challenges and Considerations.** J. Atr. Fibrillation, 9 (2017) 1547.

32. FENGER-ERIKSEN, C., MÜNSTER, A.-M. and GROVE, E. L. **New oral anticoagulants: clinical indications, monitoring and treatment of acute bleeding complications.** *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 58 (2014) 651–659.
33. GROTTKE, O., FRIES, D. and NASCIMENTO, B. **Perioperatively acquired disorders of coagulation.** *Curr. Opin. Anaesthesiol.*, 28 (2015) 113–122.
34. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). **Edoxaban (Roteas) - Summary of Product Characteristics.** [Accessed: 8th March 2018]. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/004339/WC500226655.pdf.
35. BEYER-WESTENDORF, J., FORSTER, K., PANNACH, S., EBERTZ, F., GELBRICHT, V., THIEME, C., MICHALSKI, F., KOHLER, C., WERTH, S., SAHIN, K., TITTL, L., HANSEL, U. and WEISS, N. **Rates, management, and outcome of rivaroxaban bleeding in daily care: results from the Dresden NOAC registry.** *Blood*, 124 (2014) 955–962.
36. SHERWOOD, M. W., NESSEL, C. C., HELLKAMP, A. S., MAHAFFEY, K. W., PICCINI, J. P., SUH, E.-Y., BECKER, R. C., SINGER, D. E., HALPERIN, J. L., HANKEY, G. J., BERKOWITZ, S. D., FOX, K. A. A. and PATEL, M. R. **Gastrointestinal Bleeding in Patients With Atrial Fibrillation Treated With Rivaroxaban or Warfarin.** *J. Am. Coll. Cardiol.*, 66 (2015) 2271–2281.
37. PROIETTI, M., ROMANAZZI, I., ROMITI, G. F., FARCOMENI, A. and LIP, G. Y. H. **Real-World Use of Apixaban for Stroke Prevention in Atrial Fibrillation.** *Stroke*, 49 (2018) 98–106.
38. LI, S., LIU, B., XU, D. and XU, Y. **Bleeding Risk and Mortality of Edoxaban: A Pooled Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials.** *PLoS One*, 9 (2014) 95354.
39. ABE, J., UMETSU, R., KATO, Y., UEDA, N., NAKAYAMA, Y., SUZUKI, Y., SUZUKI, T., NAGASAWA, H., KINOSADA, Y. and NAKAMURA, M. **Evaluation of Dabigatran- and Warfarin-Associated Hemorrhagic Events Using the FDA-Adverse Event Reporting System Database Stratified by Age.** *Int. J. Med. Sci.*, 12 (2015) 312–321.
40. OLLIER, E., HODIN, S., BASSET, T., ACCASSAT, S., BERTOLETTI, L., MISMETTI, P. and DELAVENNE, X. **In vitro and in vivo evaluation of drug-drug interaction between dabigatran and proton pump inhibitors.** *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 29 (2015) 604–614.
41. BAGLIN, T. **The role of the laboratory in treatment with new oral**

- anticoagulants.** *J. Thromb. Haemost.*, 11 (2013) 122–128.
42. JOPPA, S., SALCICCIOLI, J., ADAMSKI, J., PATEL, S., WYSOKINSKI, W., MCBANE, R., AL-SAFFAR, F., ESSER, H. and SHAMOUN, F. **A Practical Review of the Emerging Direct Anticoagulants, Laboratory Monitoring, and Reversal Agents.** *J. Clin. Med.*, 7 (2018) 29.
 43. MUECK, W., LENSING, A. W. A., AGNELLI, G., DECOUSUS, H., PRANDONI, P. and MISSELWITZ, F. **Rivaroxaban: population pharmacokinetic analyses in patients treated for acute deep-vein thrombosis and exposure simulations in patients with atrial fibrillation treated for stroke prevention.** *Clin. Pharmacokinet.*, 50 (2011) 675–686.
 44. GRAFF, J. and HARDER, S. **Anticoagulant Therapy with the Oral Direct Factor Xa Inhibitors Rivaroxaban, Apixaban and Edoxaban and the Thrombin Inhibitor Dabigatran Etexilate in Patients with Hepatic Impairment.** *Clin. Pharmacokinet.*, 52 (2013) 243–254.
 45. BRADY, J. M., CHERRINGTON, N. J., HARTLEY, D. P., BUIST, S. C., LI, N. and KLAASSEN, C. D. **Tissue distribution and chemical induction of multiple drug resistance genes in rats.** *Drug Metab. Dispos.*, 30 (2002) 838–844.
 46. GONG, I. Y., MANSELL, S. E. and KIM, R. B. **Absence of both MDRI (ABCB1) and Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2) Transporters Significantly Alters Rivaroxaban Disposition and Central Nervous System Entry.** *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 112 (2013) 164–170.
 47. ZHANG, D., FROST, C. E., HE, K., RODRIGUES, A. D., WANG, X., WANG, L., GOOSEN, T. C. and HUMPHREYS, W. G. **Investigating the Enteroenteric Recirculation of Apixaban, a Factor Xa Inhibitor: Administration of Activated Charcoal to Bile Duct-Cannulated Rats and Dogs Receiving an Intravenous Dose and Use of Drug Transporter Knockout Rats.** *Drug Metab. Dispos.*, 41 (2013) 906–915.
 48. MIKKAICHI, T., YOSHIGAE, Y., MASUMOTO, H., IMAOKA, T., ROZEHNAL, V., FISCHER, T., OKUDAIRA, N. and IZUMI, T. **Edoxaban Transport via P-Glycoprotein Is a Key Factor for the Drug's Disposition.** *Drug Metab. Dispos.*, 42 (2014) 520–528.
 49. MARGELIDON-COZZOLINO, V., HODIN, S., JACQUEROUX, E., DELÉZAY, O., BERTOLETTI, L. and DELAVENNE, X. **In Vitro Assessment of Pharmacokinetic Drug-Drug Interactions of Direct Oral Anticoagulants: Type 5-Phosphodiesterase Inhibitors Are Inhibitors of Rivaroxaban and Apixaban Efflux by P-Glycoprotein.** *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 365 (2018) 519–525.

50. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA), C. FOR H. M. P. (CHMP). **Guideline on the investigation of drug interactions.** (2012) [Accessed: 23rd July 2018]. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/07/WC500129606.pdf.
51. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, C. FOR D. E. AND R. (CDER). **Clinical Drug Interaction Studies-Study Design, Data Analysis, and Clinical Implications Guidance for Industry.** (2017) [Accessed: 23rd July 2018]. Available at: <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm292362.pdf>.
52. MUECK, W., KUBITZA, D. and BECKA, M. **Co-administration of rivaroxaban with drugs that share its elimination pathways: pharmacokinetic effects in healthy subjects.** *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 76 (2013) 455–466.
53. MENDELL, J., ZAHIR, H., MATSUSHIMA, N., NOVECK, R., LEE, F., CHEN, S., ZHANG, G. and SHI, M. **Drug-Drug Interaction Studies of Cardiovascular Drugs Involving P-Glycoprotein, an Efflux Transporter, on the Pharmacokinetics of Edoxaban, an Oral Factor Xa Inhibitor.** *Am. J. Cardiovasc. Drugs*, 13 (2013) 331–342.
54. STÖLLBERGER, C. and FINSTERER, J. **Interactions between non-vitamin K oral anticoagulants and antiepileptic drugs.** *Epilepsy Res.*, 126 (2016) 98–101.
55. GILAD, R. **Management of Seizures following a Stroke.** *Drugs Aging*, 29 (2012) 533–538.
56. WIGGINS, B. S., NORTHUP, A., JOHNSON, D. and SENFIELD, J. **Reduced Anticoagulant Effect of Dabigatran in a Patient Receiving Concomitant Phenytoin.** *Pharmacother. J. Hum. Pharmacol. Drug Ther.*, 36 (2016) e5–e7.
57. FROST, C. E., BYON, W., SONG, Y., WANG, J., SCHUSTER, A. E., BOYD, R. A., ZHANG, D., YU, Z., DIAS, C., SHENKER, A. and LACRETA, F. **Effect of ketoconazole and diltiazem on the pharmacokinetics of apixaban, an oral direct factor Xa inhibitor.** *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 79 (2015) 838–846.
58. PARASRAMPURIA, D. A., MENDELL, J., SHI, M., MATSUSHIMA, N., ZAHIR, H. and TRUITT, K. **Edoxaban drug-drug interactions with ketoconazole, erythromycin, and cyclosporine.** *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 82 (2016) 1591–1600.
59. KUMAR, P., GORDON, L. A., BROOKS, K. M., GEORGE, J. M., KELLOGG, A., MCMANUS, M., ALFARO, R. M., NGHIEM, K., LOZIER, J., HADIGAN, C. and PENZAK, S. R. **Differential Influence of the Antiretroviral Pharmacokinetic Enhancers Ritonavir and Cobicistat on Intestinal P-Glycoprotein Transport and the**

- Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Disposition of Dabigatran.** *Antimicrob. Agents Chemother.*, 61 (2017) 1201–1217.
60. EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **CHMP Assessment Report for Pradaxa.** [Accessed: 26th June 2018]. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/000829/WC500041062.pdf.
 61. HÄRTTER, S., SENNEWALD, R., NEHMIZ, G. and REILLY, P. **Oral bioavailability of dabigatran etexilate (Pradaxa[®]) after co-medication with verapamil in healthy subjects.** *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 75 (2013) 1053–1062.
 62. HÄRTTER, S., KOENEN-BERGMANN, M., SHARMA, A., NEHMIZ, G., LEMKE, U., TIMMER, W. and REILLY, P. A. **Decrease in the oral bioavailability of dabigatran etexilate after co-medication with rifampicin.** *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 74 (2012) 490–500.
 63. GONCALVES, J., BICKER, J., ALVES, G., FORTUNA, A. and FALCAO, A. **Relevance of breast cancer resistance protein to brain distribution and central acting drugs: a pharmacokinetic perspective.** *Curr. Drug Metab.*, 19 (2018).
 64. UESHIMA, S., HIRA, D., FUJII, R., KIMURA, Y., TOMITSUKA, C., YAMANE, T., TABUCHI, Y., OZAWA, T., ITOH, H., HORIE, M., TERADA, T. and KATSURA, T. **Impact of ABCB1, ABCG2, and CYP3A5 polymorphisms on plasma trough concentrations of apixaban in Japanese patients with atrial fibrillation.** *Pharmacogenet. Genomics*, 27 (2017) 329–336.
 65. GOUIN-THIBAUT, I., DELAVENNE, X., BLANCHARD, A., SIGURET, V., SALEM, J. E., NARJOZ, C., GAUSSEM, P., BEAUNE, P., FUNCK-BRENTANO, C., AZIZI, M., MISMETTI, P. and LORIOT, M. A. **Interindividual variability in dabigatran and rivaroxaban exposure: contribution of ABCB1 genetic polymorphisms and interaction with clarithromycin.** *J. Thromb. Haemost.*, 15 (2017) 273–283.
 66. HELLENBART, E., FAULKENBERG, K. and FINKS, S. **Evaluation of bleeding in patients receiving direct oral anticoagulants.** *Vasc. Health Risk Manag.*, Volume 13 (2017) 325–342.
 67. CHEN, S. T. and PATEL, M. R. **Comparison of anticoagulant therapy for atrial fibrillation - novel oral anticoagulants versus vitamin K antagonists.** *Prog. Cardiovasc. Dis.*, (2018) doi:10.1016/j.pcad.2018.01.005.
 68. KIRALY, A., LYDEN, A., PERIYANAYAGAM, U., CHAN, J. and PANG, P. S. **Management of Hemorrhage Complicated by Novel Oral Anticoagulants in the Emergency Department.** *Am. J. Ther.*, 20 (2013) 1.
 69. FAUST, A. C. and PETERSON, E. J. **Management of Dabigatran-associated**

- Intracerebral and Intraventricular Hemorrhage: A Case Report.** *J. Emerg. Med.*, 46 (2014) 525–529.
70. STÖLLBERGER, C., ZUNTNER, G., BASTOVANSKY, A. and FINSTERER, J. **Cerebral hemorrhage under rivaroxaban.** *Int. J. Cardiol.*, 167 (2013) 179–181.
71. NITTA, K., IMAMURA, H., YASHIO, A., KASHIMA, S. and MOCHIZUKI, K. **Diffuse Alveolar Hemorrhage Associated with Edoxaban Therapy.** *Case Reports Crit. Care*, 2016 (2016) 1–4.
72. LO, J. C.-Y. and GERONA, R. **A Case of Rivaroxaban Associated Intracranial Hemorrhage.** *West. J. Emerg. Med.*, 15 (2014) 375–377.
73. OWUSU OBENG, A., FEI, K., LEVY, K., ELSEY, A., POLLIN, T., RAMIREZ, A., WEITZEL, K. and HOROWITZ, C. **Physician-Reported Benefits and Barriers to Clinical Implementation of Genomic Medicine: A Multi-Site IGNITE-Network Survey.** *J. Pers. Med.*, 8 (2018) 24.
74. EUROPEAN PATIENTS' ACADEMY. **Patient Years.** [Accessed: 31st July 2018]. Available at: <https://www.eupati.eu/glossary/patient-years/>.