



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE

POLIMORFISMOS DOS RECEPTORES BETA ADRENÉRGICOS NA RESPOSTA
TERAPÊUTICA E NO PROGNÓSTICO DE PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA
CARDÍACA CRÔNICA.

SABRINA BERNARDEZ PEREIRA

Niterói – RJ
Março 2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

SABRINA BERNARDEZ PEREIRA

POLIMORFISMOS DOS RECEPTORES BETA ADRENÉRGICOS NA RESPOSTA
TERAPÊUTICA E NO PROGNÓSTICO DE PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA
CARDÍACA CRÔNICA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-
Graduação em Ciências Cardiovasculares da
Universidade Federal Fluminense, para
obtenção do título de mestre.

Orientadores: Prof. Dr. EVANDRO TINOCO MESQUITA
Prof^ª. GEORGINA SEVERO RIBEIRO

Niterói – RJ
Março 2010

SABRINA BERNARDEZ PEREIRA

POLIMORFISMOS DOS RECEPTORES BETA ADRENÉRGICOS NA RESPOSTA
TERAPÊUTICA E NO PROGNÓSTICO DE PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA
CARDÍACA CRÔNICA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-
Graduação em Ciências Cardiovasculares da
Universidade Federal Fluminense, para
obtenção do título de mestre.

Aprovada em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. WOLNEY DE ANDRADE MARTINS
Doutor em Cardiologia pela USP
Professor Adjunto da UFF

Prof. Dr. MARCELO WESTERLUND MONTERA
Doutor em Cardiologia pela USP
Professor de Cardiologia e Farmacologia da Universidade Gama Filho

PROF. Dr. FERNANDO BACAL
Doutor em Cardiologia pela USP
Professor Livre Docente em Cardiologia pela USP

Niterói – RJ
Março 2010

Tudo o que se aprimora na vontade, se perdura com o tempo.

(autor desconhecido)

Dedico esta dissertação a cada paciente que passou pela minha vida acadêmica e
profissional.

Força necessária para que eu nunca desistisse.

Isto é por eles, isto é para eles!

Que eu possa contribuir cada vez mais, aprender cada vez mais.

Sorrir junto, chorar junto e dedicar-me até quando existir.

AGRADECIMENTOS

Deus

A DEUS por estar comigo onde quer que eu esteja, por me fazer senti-lo, por me permitir respirá-lo e dar-me sua mão nas horas que não pude andar sozinha.

Pacientes

Aos meus queridos pacientes, que me ensinaram mais do que eu lhes ensinei, que me deram o alicerce para meu humilde trabalho, que me mantiveram forte quando eu ameacei cair, e fizeram-me feliz quando um sorriso se permitia abrir.

Por todos que não pude manter a vida, onde a medicina mostrava-me suas limitações. A eles, o meu mais puro desejo de Paz Eterna.

Família

À minha tão amada família, pelo apoio constante e pela compreensão nos momentos que não pude estar presente.

À minha querida mãe, forte, presente e incansável mãezinha, que esteve de pé a todo o momento de minha vida, e que mesmo na luta diária, nas adversidades dos dias, permitiu-me o acesso aos estudos e ensinou-me como não desistir nunca. Espelho-me em ti.

Ao meu pai, que sempre esteve ao meu lado quando precisei. De quem nunca esquecerei as lágrimas quando no vestibular passei. A quem herdo a inocência, o acreditar na bondade alheia e na honestidade, bens inestimáveis.

A minha querida avó Encarnacion, que é alma de minha alma. A quem me amou incondicionalmente e ensinou-me a ser quem hoje sou. Que possa guardar eternamente os bons momentos que passamos juntas. Faço para ti esta singela homenagem.

Ao meu avô Amador, mesmo distante na minha infância e adolescência, pude nesta etapa da minha vida conviver ao seu lado e admirá-lo.

À minha irmã Graciela, a quem tanto amo e orgulho-me. Com quem aprendi a caminhar. Só ela para saber sobre as verdades que existem dentro mim.

À minha sobrinha Maria Clara, pela alegria que trouxe à nossa família. Que sua tia-madrinha seja capaz de ensiná-la o pouco que conhece sobre o mundo e protegê-la de todo o mal.

Ao meu amor Renato, pela paciência, dedicação e incentivo nas horas mais difíceis. Encontros de outras vidas, sentimentos que perduram e para quem transbordo o meu mais profundo amor.

Mestres

Ao meu orientador Professor Evandro Tinoco Mesquita, com quem aprendo a cada dia. Que se fez pai, irmão, amigo, chefe e mestre. Ministrou a primeira aula sobre Doenças de Chagas, minha primeira paixão pela cardiologia e pela docência. Fez-me ter a certeza do meu caminho a trilhar, tornando, a partir daí, o Ambulatório de Insuficiência Cardíaca a minha casa. Os meus agradecimentos por acreditar em mim, valorizando meus potenciais.

À minha orientadora Professora Georgina Severo Ribeiro, quem me ensinou muito além da Biologia Molecular e da Metodologia Científica. Fez-me refletir a cada passo dado, a cada palavra falada e a enxergar a vida muito além do que meus olhos me permitem ver. Como ela mesma diz: “Nada é coincidência”.

À Professora Maria Luiza Garcia Rosa por sua fundamental colaboração no desenvolvimento desta dissertação.

Agradeço a Professora Solange Artimos de Oliveira, de quem fui bolsista PIBIC ainda no terceiro período da graduação. A ela devo o meu batismo na pesquisa científica. Seus ensinamentos foram fundamentais para dar os meus primeiros passos, e seu incentivo para que minha caminhada prosseguisse.

Agradeço ao Professor Marcelo W. Montera, quem me ensinou muito mais do que possa imaginar. Foram dois anos de parceria, confiança e respeito. Anos estes que me fizeram crescer profissionalmente e pessoalmente, e deu-me asas para que pudesse continuar sozinha com seus ensinamentos, propagando-os.

Amigos

Agradeço a todos os meus queridos amigos que estão comigo nesta trajetória. Àqueles que continuam, àqueles que terminaram, àqueles que estão começando. A reunião sob a árvore do HUAP - como Hipócrates - foi a prova necessária de que o nosso caminho juntos é muito mais prazeroso, produtivo e pleno. Sem vocês, amigos, eu nunca estaria aqui, nenhum sonho seria possível e meu sorriso não estaria tão aberto como hoje.

Especial agradecimento ao Tiago e a Camila, acadêmicos de medicina que me ensinaram mais do que ensinei e se tornaram meus irmãozinhos. E ao Sérgio Chermont e Mônica Quintão que se tornaram meus grandes e verdadeiros amigos nesta trajetória.

À Mônica Velloso que me mostrou que ainda é possível ser médica, mãe, mulher e além de tudo nunca desistir de seus ideais.

À querida amiga Terezinha, pelo carinho, amizade, atenção e competência externada, tendo sido de extrema importância na formatação desta dissertação. E à Maria Cristina, pela sua contribuição na revisão ortográfica.

Futuro

Espero passar tudo isso aos meus futuros filhos, se assim DEUS permitir!

RESUMO

Os receptores beta-adrenérgicos são a principal via pela qual a função cardíaca é influenciada. A ativação crônica destes receptores está implicada na patogênese e prognóstico da IC e já é comprovado que o bloqueio desses receptores melhora a sobrevida em pacientes com disfunção sistólica do ventrículo esquerdo. Polimorfismos funcionais nos genes dos receptores beta-adrenérgicos têm sido associados com fenótipos na IC e com a interação farmacogenética dos beta-bloqueadores. O presente estudo tem como objetivo determinar a associação dos polimorfismos dos receptores beta-adrenérgicos com a resposta medicamentosa ao carvedilol e prognóstico em pacientes portadores de IC, com disfunção sistólica do ventrículo esquerdo. O estudo foi delineado como coorte prospectivo, no qual foram acompanhados 140 pacientes com diagnóstico clínico de IC, disfunção sistólica (FE <50% por Simpson) e tratamento otimizado com carvedilol, por um período mínimo de 12 meses. No seguimento, foi analisada a resposta medicamentosa através da avaliação ecocardiográfica após 6 meses e os desfechos óbito e internação hospitalar. Foi utilizado um grupo controle de 83 voluntários saudáveis para comparação da prevalência genotípica com o grupo de pacientes. O DNA foi extraído de leucócitos do sangue periférico, os fragmentos amplificados pela reação da polimerase e genotipados pela técnica de RFLP para os polimorfismos do receptor beta 1 (ADBR1) Arg389Gly e Ser49Gly e do receptor beta 2 (ADBR2) Gln27Glu e Arg16Gly. A população do estudo estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Para análise estatística utilizou-se o teste do qui-quadrado ou exato de Fisher para os dados categóricos e o teste *t* de Student para amostras independentes. Para identificar as variáveis independentes que predizem os desfechos ou respostas terapêuticas foi utilizada a Análise de Regressão Logística. A curva de sobrevida ou livre de eventos foi ajustada pelo método de Kaplan-Meier. Após análise, observou-se no grupo de pacientes uma média de idade de 59±13 anos, 69,9% do sexo masculino, 50,7% autodeclarados afro-brasileiros, 46% com etiologia isquêmica. Durante um seguimento mínimo de 12 meses e médio de 23 meses, ocorreram 18 óbitos e 46 pacientes necessitaram de internação hospitalar. Em relação à prevalência dos genótipos entre casos e controles, observou-se que o grupo de casos apresentou o genótipo ADBR2 Glu27Glu (24,7%) significativamente maior que o grupo controle (8,4%), com $p=0,007$. Pacientes com internação após 12 meses apresentaram frequência alélica ADBR1 Gly389 (54,9%) significativamente maior que o grupo sem internação (42,1%), com $p = 0,039$, assim como prevaleceu a frequência alélica ADBR1 Gly389 (61,1%) entre os óbitos ($p = 0,045$). Quando avaliado o desfecho óbito em relação ao ADBR1 Ser49Gly e a raça autodeclarada, observou-se que os pacientes afro-brasileiros e portadores do genótipo ADBR1 Ser49Ser apresentavam uma menor sobrevida em comparação aos homocigotos ADBR1 Gly49Gly e heterocigotos ADBR1 Ser49Gly ($p=0,029$). Não houve associação entre a melhora FEVE>20% e os polimorfismos dos beta-receptores. Conclui-se que os pacientes ambulatoriais da rede pública com IC sistólica, sob

terapia beta-bloqueadora e portadores do alelo ADBR1 Gly389 podem apresentar pior evolução, com redução da sobrevida livre de eventos em comparação àqueles portadores do alelo ADBR1 Arg389. Assim como pacientes autodeclarados afro-brasileiros e homocigotos ADBR1 Ser49Ser. Enquanto o genótipo ADBR2 Glu27Glu pode estar associado ao risco para a IC na amostra estudada.

Palavras-chave: Polimorfismos. Insuficiência cardíaca. Prognóstico. Resposta medicamentosa.

ABSTRACT

β adrenergic receptors are the primary pathway through which cardiac function is influenced. Chronic β 1AR activation is implicated in the pathogenesis and prognosis of HF and β adrenergic receptors blockade improves survival in left ventricular systolic dysfunction. Common functional polymorphisms in β adrenergic receptor genes have been associated with HF phenotypes, and with pharmacogenetic interaction with β adrenergic receptor blockers. This study aims to determine the association between polymorphisms of beta-adrenergic receptors with carvedilol drug response and prognosis in patients with HF with left ventricle systolic dysfunction. The study was designed as a prospective cohort, in which 140 patients with clinical diagnosis of HF and systolic dysfunction (EF <50% by Simpson) were followed for a mean period of 12 months. Further, we evaluated the drug response by echocardiographic evaluation after 6 months of optimal treatment with carvedilol and outcomes of death and hospitalization. Was used a control group of healthy volunteers to compare the genotype prevalence with the patients' group. DNA was extracted from peripheral blood leukocytes, the fragments amplified by the polymerase reaction and genotyped by RFLP for Ser49Gly and Arg389Gly beta 1 receptor and for Gln27Glu and Arg16Gly beta 2 receptor polymorphisms. The study population was in Hardy-Weinberg equilibrium. Statistical analysis used the chi-square or Fisher exact test for categorical data and Student t test for independent samples. To identify independent variables that predict outcomes and therapeutic responses was used logistic regression analysis. The survival rate or free of events was adjusted by the Kaplan-Meier. After analysis, it was observed in patients' group a mean age of 59 ± 13 years, 69.9% male, 50.7% self-declared african-Brazilians, 46% with ischemic etiology. During a mean follow up of 12 months, there were 18 deaths and 46 patients required hospitalization. About the prevalence of genotypes between cases and controls, we observed that the cases presented Glu27Glu genotype (24.7%) significantly higher than the control group (8.4%), $p = 0.007$. Patients with hospital admission showed Gly389 allelic frequency (54.9%) significantly higher than the group without hospitalization (42.1%), $p = 0.039$, and prevailed Gly389 allelic frequency (61.1%) among deaths ($p = 0.047$). The evaluated of death outcome in relation to the polymorphism Ser49Gly and color self-reported, showed that non-white patients and with genotype Ser49Ser showed a lower survival compared to Gly49Gly homozygous and heterozygous Ser49Gly ($p = 0.029$). There was no association between improved LVEF > 20% and beta adrenergic receptors polymorphisms. In conclusion, Public Health Care outpatients with systolic HF, with beta-blocker therapy and Gli389 allele carriers may have worse outcome, with reduced event-free survival compared to those carrying the Arg389 allele. As such, patients self declared as afro-brazilians and homozygous Ser49Ser. While Glu27Glu genotype may be associated with risk for HF in the sample.

Keywords: Polymorphism. Heart failure. Prognoses. Drug response.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

1. INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Considerações iniciais.....	16
1.2 O papel do sistema nervoso autônomo na IC.....	18
1.3 Os polimorfismos dos receptores beta-adrenérgicos o que a genética pode explicar?.....	21
1.3.1 Polimorfismos dos receptores beta-1 adrenérgicos.....	22
1.3.1.1 Arg389Gly.....	23
1.3.1.2 Ser49Gly.....	24
1.3.1.3 Frequência alélica.....	24
1.3.1.4 O papel funcional dos polimorfismos dos receptores beta 1 adrenérgicos.....	25
1.3.1.5 Suscetibilidade para IC.....	26
1.3.1.6 Capacidade de exercício na IC.....	26
1.3.1.7 Resposta ao beta-bloqueador e prognóstico na IC.....	27
1.3.2 Polimorfismos dos receptores beta-2 adrenérgicos.....	29
1.3.2.1 Arg16Gly.....	30
1.3.2.2 Gln27Glu.....	30
1.3.2.3 Arg16Gly/Gln27Glu.....	30
1.3.2.4 Frequência Alélica.....	30
1.3.2.5 O papel funcional dos polimorfismos dos receptores beta 2 adrenérgicos.....	31
1.3.2.6 Suscetibilidade para IC.....	31
1.3.2.7 Capacidade de exercício na IC.....	32
1.3.2.8 Resposta ao beta-bloqueador e prognóstico na IC.....	32
2. OBJETIVOS.....	35
2.1 Objetivo primário.....	35
2.2 Objetivos secundários.....	35
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	36
3.1 Delineamento do estudo.....	36
3.2 Caracterização das amostras do estudo.....	36
3.2.1 Grupo I: Pacientes com IC Sistólica.....	36
3.2.2 Grupo II: Controle.....	38

3.3	Avaliação clínica e exames complementares do grupo I (pacientes).....	38
3.3.1	Critérios de Inclusão.....	38
3.3.2	Critérios de Exclusão.....	38
3.3.3	Avaliação Ecocardiográfica.....	39
3.3.4	Exames Laboratoriais.....	39
3.3.4.1	Hemoglobina.....	39
3.3.4.2	Glicemia de admissão.....	39
3.3.4.3	Creatinina de admissão.....	39
3.3.4.4	Sódio de admissão.....	40
3.3.4.5	Potássio de admissão.....	40
3.3.4.6	Perfil lipídico de admissão.....	40
3.3.4.7	Ácido úrico de admissão.....	40
3.3.5	Seguimento.....	41
3.4	Avaliação genético-molecular.....	43
3.4.1	Extração do DNA genômico.....	43
3.4.2	Avaliação em gel de agarose e quantificação do DNA.....	43
3.4.3	Análise dos polimorfismos dos receptores beta adrenérgicos.....	43
3.4.3.1	Análise dos Polimorfismos dos Receptores Beta 1 Adrenérgicos.....	44
3.4.3.2	Análise dos Polimorfismos dos Receptores Beta 2 Adrenérgicos.....	45
3.5	Aspectos bioéticos.....	46
3.6	Conflito de interesses.....	46
3.7	Análise estatística.....	47
4.	RESULTADOS.....	48
4.1	Descrição geral da amostra estudada.....	48
4.2	Terapia medicamentosa.....	50
4.3	Variáveis ecocardiográficas na admissão e após 6 meses.....	51
4.4	Análise da classe funcional segundo NYHA na admissão e após 6 meses.....	51
4.5	Equilíbrio de Hardy-Weinberg dos polimorfismos dos receptores beta adrenérgicos.....	52
4.6	Análise da prevalência genotípica entre os grupos estudados.....	52
4.7	Análise das variáveis ecocardiográficas e classe funcional em relação aos genótipos.....	53
4.8	Regressão logística.....	54
4.9	Análise dos desfechos em relação à frequência alélica.....	59
4.10	Avaliação da sobrevida ou livre de eventos em relação aos polimorfismos dos genes ADBR1 e ADBR2.....	60
4.11	Avaliação da sobrevida em relação aos polimorfismos dos receptores beta adrenérgicos e a raça autodeclarada.....	62

5	DISCUSSÃO.....	65
6	LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	71
7	CONCLUSÕES.....	72
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
9	APÊNDICES.....	78
	1- FICHA DE INCLUSÃO DO GRUPO CONTROLE.....	79
	2 - FICHA DE INCLUSÃO DOS PACIENTES COM IC SISTÓLICA.....	80
	3 - FICHA DE SEGUIMENTO CLÍNICO.....	87
	4 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	90
	5 - ARTIGOS ACEITOS PARA A PUBLICAÇÃO.....	91
	6 - ARTIGOS PUBLICADOS.....	92
	GLOSSÁRIO.....	116

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Polimorfismos do sistema adrenérgicos.....	21
FIGURA 2	Polimorfismos do gen ADBR1.....	23
FIGURA 3	Frequencias dos haplótipos dos polimorfismos dos receptores beta 1 adrenérgicos.....	24
FIGURA 4	Polimorfismos do gen ADBR2.....	29
FIGURA 5	Sequência racional do estudo.....	42
FIGURA 6	Exemplo de análise molecular do polimorfismo ADBR1 Arg389Gly.....	46
FIGURA 7	Comparação da terapêutica admissional e após seis meses de seguimento.....	50
FIGURA 8	Curva de sobrevida estratificada pelo polimorfismo ADBR1 Ser49Gly.....	61
FIGURA 9	Curva de sobrevida estratificada pelo polimorfismo ADBR1 Arg389Gly.....	62
FIGURA 10	Probabilidade acumulada de sobrevida segundo o polimorfismo Ser49Gly e a cor auto-declarada.....	63
FIGURA 11	Probabilidade acumulada de sobrevida segundo o polimorfismo ADBR1 Arg389Gly e a cor auto declarada.....	64

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1	Respostas biológicas mediadas pelos receptores adrenérgicos no coração.	19
QUADRO 2	Polimorfismos do gen ADBR1e seu efeito no prognóstico e resposta ao beta-bloqueador na IC.....	28
QUADRO 3	Polimorfismos do gen ADBR2 e seu efeito no prognóstico e resposta ao beta-bloqueador na IC.....	34
QUADRO 4	Tratamento Farmacológico da IC a partir da classe funcional da NYHA.....	37
QUADRO 5	Valores de referência do perfil lipídico em adultos.....	40
QUADRO 6	Sequencias de oligonucleotídios utilizadas de acordo com as variantes.....	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Características Clínicas e Laboratoriais dos pacientes com IC (grupo 1).....	49
TABELA 2	Análise da FEVE após seis meses.....	51
TABELA 3	Análise da classe funcional NYHA após seis meses.....	52
TABELA 4	Equilíbrio de Hardy Weinberg dos polimorfismos estudados.....	52
TABELA 5	Associação entre genótipos ADBR1 e ADBR2 em controles e pacientes.....	53
TABELA 6	Análise da CF NYHA após seis meses(6m) por subgrupos de genótipos ADBR1 Ser49Gly.....	54
TABELA 7	Análise das variáveis clínicas e de genótipos ADBR1 e ADBR2 segundo internação hospitalar.....	55
TABELA 8	Análise das variáveis clínicas e de genótipos ADBR1 e ADBR2 segundo óbito.....	56
TABELA 9	Análise das variáveis clínicas e de genótipos ADBR1 e ADBR2 segundo aumento FEVE $\geq 20\%$	57
TABELA 10	Regressão Logística para o desfecho: óbito.....	58
TABELA 11	Regressão Logística para a resposta: aumento FEVE $\geq 20\%$	59
TABELA 12	Regressão Logística para a melhora da CF NYHA.....	59

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACC	American College of Cardiology
AHA	American Heart Association
Arg	Arginina
AE	Átrio Esquerdo
AMP	Adenosina Monofosfato
ATP	Adenosina Trifosfato
BRA	Bloqueador do receptor da angiotensina II
CF	Classe Funcional
DECIT	Departamento de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde
FEVE	Fração de ejeção do ventrículo esquerdo
FAPERJ	Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FC	Frequência Cardíaca
Gly	Glicina
Glu	Ácido glutâmico
Gln	Glutamina
GMP	Guanosina Monofosfato
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HUAP	Hospital Universitário Antonio Pedro
IC	Insuficiência Cardíaca
IMC	Índice de Massa Corpórea
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IECA	Inibidor da enzima de conversão da angiotensina
PAS	Pressão Arterial Sistólica

RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Restrição por comprimento de fragmento de polimorfismo)
Ser	Serina
SUS	Sistema Único de Saúde
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Polimorfismo de Base Única).
SERCA	Sarco/endoplasmic reticulum Ca ²⁺ -ATPase
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
UFF	Universidade Federal Fluminense
VE	Ventrículo Esquerdo
VED	Ventrículo Esquerdo em diástole
VES	Ventrículo Esquerdo em sístole
VO2	Volume de oxigênio.

INTRODUÇÃO

1.1 Considerações iniciais

Políticas públicas para oferta de medicamentos e o incentivo de pesquisas na IC em pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS) são itens fundamentais para redução do impacto médico-social que representa a insuficiência cardíaca (IC) em nosso meio.

A terapêutica atualmente disponível para IC tem proporcionado importante impacto na evolução clínica dos pacientes. Nos últimos 50 anos, passamos de um modelo empírico e potencialmente deletério – sangrias, ventosas, altas doses de cardiotônicos, para gradativamente estruturar um novo modelo científico, embasado não apenas em conceitos fisiopatológicos ou de experimentação animal, e sim através de ensaios clínicos controlados e

Apesar desses importantes avanços, é possível observar, a partir dos ensaios clínicos, que apenas um terço dos pacientes efetivamente respondem ao esquema terapêutico, enquanto que a grande maioria continua exposta aos eventos clínicos.

As diferentes respostas a um determinado esquema terapêutico dependem de vários fatores tais como: idade, etnia, superfície corporal, função hepática e renal, absorção gastrointestinal, interações medicamentosas.

Portanto, os fatores genéticos que resultam na produção de proteínas modificadas (enzimas, proteínas de transporte, vias de sinalização e receptores) também podem influenciar na resposta terapêutica. Desta forma, a terapêutica cardiovascular encontra-se numa etapa de transição para uma nova era, ou seja, a medicina baseada na genética molecular e na

farmacogenética. A indústria farmacêutica sempre direcionou sua política de pesquisa para a descoberta de “block buster”, medicamentos de conceito disruptivo e que podem ser utilizados por milhões de pacientes, gerando o retorno dos grandes investimentos econômicos.

O conhecimento de que é possível prever a resposta individual ao tratamento e os potenciais riscos de desenvolvimento de efeitos adversos aos medicamentos é um desejo de todo cardiologista. Em algumas áreas do conhecimento médico como na oncologia, a farmacogenética já é uma realidade tangível em certos tipos de neoplasia.

A moderna biologia molecular revolucionou a pesquisa e o conhecimento da patogênese molecular de vários ramos das disciplinas médicas. No passado, a nomenclatura do DNA recombinante e de outras técnicas da biologia molecular permaneciam distantes da prática cardiológica, em parte, porque as técnicas haviam sido descobertas há pouco tempo, tendo se tornado aplicáveis nas doenças cardiovasculares somente na década passada.

No momento atual observa-se o crescimento das informações genéticas, deixando transparecer, gradualmente, a necessidade de uma redefinição das doenças baseada nos processos bioquímicos que as compõe e não no fenótipo com que elas se apresentam.

No longo curso em direção a um profundo conhecimento e tratamento das doenças, o isolamento e a caracterização dos genes envolvidos poderá não constituir uma panacéia mas sim um ponto de partida.

De modo geral, acredita-se que o uso de técnicas de biologia molecular associado aos critérios morfológicos e clínico-laboratoriais convencionais deverá permitir o diagnóstico mais preciso e, conseqüentemente, o entendimento mais aprofundado da fisiopatologia das doenças cardíacas.

É o profundo conhecimento do processo de desenvolvimento de uma doença e da influência de fatores individuais que deverão pavimentar os caminhos para uma medicina personalizada e a aplicação de regimes terapêuticos diferenciados.

Baseados nesta discussão, a Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e o Departamento de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde (DECIT) têm direcionado recursos para a realização de pesquisa clínica, utilizando técnicas de diagnóstico molecular em pacientes do SUS.

A Universidade Federal Fluminense (UFF), através do Ambulatório de IC e Laboratório de Genética do Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP), é um membro do consórcio em parceria com o Laboratório de Genética do Hospital Clementino Fraga Filho, o Hospital Estadual de Cardiologia Aloísio de Castro e a Faculdade de Medicina de Valença.

Esta dissertação de mestrado é um dos passos iniciais desta proposta, direcionando um novo olhar ao paciente portador de IC.

1.2 O papel do sistema nervoso autônomo na IC.

A IC é uma síndrome clínica que representa a via final de uma variedade de doenças caracterizadas pelo comprometimento da função contrátil do coração. O corpo reage a esta situação com ativação de sistemas neuro-humorais e intenção de melhora da perfusão sanguínea e do débito cardíaco. Um dos mediadores mais importantes é o sistema nervoso simpático e seus neurotransmissores: noradrenalina e adrenalina. O aumento das catecolaminas induz a estimulação cardíaca e consequente uso da reserva inotrópica e cronotrópica.

Cronicamente, no entanto, o aumento concomitante na pós-carga, assim como no consumo direto de energia, hipertrofia e apoptose de miócitos levam a deteriorização da função cardíaca, deflagrando um ciclo vicioso.¹

A ativação simpática é observada desde os estágios iniciais da IC, com as taxas de catecolaminas associadas com a classe funcional e o prognóstico desta doença.²

Os receptores adrenérgicos têm papel principal na regulação do sistema cardiovascular. O miocárdio contém tanto receptores alfa quanto beta. Os receptores alfa são os menos comuns (estimativa de 2% a 23%) e quase todos são do tipo alfa1. Já em relação aos beta-adrenérgicos, em corações humanos saudáveis coexistem os receptores beta 1, beta 2 e beta 3 com predomínio do primeiro (70-80%). A relação entre os receptores beta1/beta2 varia em número e localização. Nos átrios há 60-70% de beta 1 em relação a 40-30% de beta 2 e nos ventrículos é mantida a predominância dos beta1 (70-80%) em comparação aos beta 2 (20-30%).^{3,4} Os receptores beta 3 foram caracterizados em vários tecidos como: adiposo, gastrointestinal, musculatura lisa brônquica e miocárdio. Recentemente, foi sugerida a participação destes receptores no relaxamento do músculo liso vascular.⁵

Os receptores beta-adrenérgicos controlam a atividade da adenil ciclase via proteína G, alterando a concentração intracelular de AMP cíclico. Portanto, em todas as células-alvo do sistema beta-adrenérgico, o complexo receptor consta de três elementos básicos: receptor de superfície, adenil-ciclase e proteína G.⁴

O sinal intracelular produzido pela ocupação dos receptores beta-adrenérgicos, na superfície celular, é regulado pelas proteínas G. Estas proteínas (GMP-dependentes) são substâncias que realizam o acoplamento dos receptores de superfície à adenil-ciclase, podendo exercer atividade estimulatória (Gs) ou inibitória (Gi) sobre a unidade catalítica (adenil-ciclase). O efetor do complexo é a própria enzima adenil-ciclase, capaz de converter o ATP em AMPc, o qual tem a capacidade de ativar proteíno-quinases e, assim, fosforilar estruturas-alvo dentro da célula que regulam os fluxos de cálcio e sua ligação aos receptores intracelulares. O resultado final é a alteração nas propriedades elétricas e mecânicas do coração, aumentando o cronotropismo, inotropismo e o lusitropismo.⁶

Em indivíduos saudáveis, os receptores beta 1 (principal) e beta 2 têm importante papel em mediar a resposta inotrópica do coração à estimulação simpática. Há relativamente pouco receptor alfa e a influência destes nos efeitos inotrópicos tem menor importância. Na IC há um aumento do número de alfa 1 receptores, explicado como um mecanismo de reserva para manter a contratilidade cardíaca nesta doença.⁷ O quadro 1 sumariza as ações destes diferentes receptores.

QUADRO 1. Respostas biológicas mediadas pelos receptores adrenérgicos no coração (adaptado de Bristow MR⁷).

Resposta Biológica	Mediada por
Crescimento dos miócitos	$\beta 1, \beta 2, \alpha 1$
Inotropismo positivo	$\beta 1, \beta 2, \alpha 1$ (mínimo)
Cronotropismo positivo	$\beta 1, \beta 2$
Toxicidade miocitária	$\beta 1, \beta 2$ (< $\beta 1$ [?])
Apoptose miocitária	$\beta 1$

A ativação do sistema nervoso simpático adrenérgico é uma característica típica da IC. No repouso e, principalmente, no esforço, os pacientes portadores de IC apresentam maiores concentrações de norepinefrina circulante, acompanhado da elevação de dopamina e

epinefrina, independente dos sintomas e se relacionando com o prognóstico desta doença. A ativação adrenérgica acarretará o aumento do influxo de cálcio para dentro dos miócitos, o armazenamento, o aumento da liberação deste íon pelo retículo sarcoplasmático, a inibição reduzida da SERCA2 pela fosfolamban e a redução da afinidade da ligação do cálcio pela troponina.⁸ O aumento da automaticidade cardíaca resulta em isquemia miocárdica e arritmias.

A ativação simpática persistente, presente na IC, também causará o aumento da frequência cardíaca, vasoconstrição arteriolar com aumento da resistência vascular sistêmica periférica e renal, redução do fluxo sanguíneo e da excreção de sódio, com consequente, aumento da volemia, retorno venoso e das pressões e volumes ventriculares.⁹

A hiporresponsividade inotrópica e cronotrópica à estimulação adrenérgica, se deve à diminuição das Gs, aumento das Gi, dessensibilização da atividade da adenilato ciclase, diminuição, tanto no número como na sensibilidade, dos receptores beta 1 adrenérgicos e desacoplamento dos receptores beta 2.

A ativação do sistema adrenérgico é seguida de outros sistemas neuro-humorais, como do sistema renina-angiotensina-aldosterona e do aumento da liberação de citocinas.

Os mecanismos pelos quais os betabloqueadores produzem efeitos benéficos nos pacientes com IC não são adequadamente conhecidos. Entre os mecanismos propostos temos: redução do tônus simpático, aumento do tônus vagal, aumento do clearance de noradrenalina e bloqueio dos efeitos tóxicos das catecolaminas sobre os miócitos. A redução da sinalização apoptótica, da isquemia miocárdica, das alterações pós-receptor, o restabelecimento da densidade dos receptores beta e a melhoria da bioenergética cardíaca juntos colaboram para a maior eficiência das unidades contráteis. Outros benefícios seriam: redução da pós-carga, redução da falência cardíaca, menor consumo de oxigênio pelo miocárdico, melhora da função diastólica, aumento do fluxo coronariano e redução de isquemia, arritmias ventriculares e morte súbita. Além disso, há também a redução da liberação de renina e citocinas inflamatórias, antagonismo aos anticorpos contra os receptores adrenérgicos e efeito antioxidante.^{10,11}

1.3 Os polimorfismos dos receptores beta-adrenérgicos – o que a genética pode explicar?

“The genetic determinants of the responses to drugs have important implications for the clinical course and management of heart failure.” Eugene Braunwald, MD

Estudos sobre o sistema adrenérgico vêm fortalecendo a hipótese de que variantes genéticas dos adrenoreceptores centrais ou periféricos têm um papel na fisiologia de doenças cardiovasculares como hipertensão arterial e IC.⁴

A família de receptores beta-adrenérgicos (ADBR β 1, β 2 e β 3) é altamente polimórfica. Recentemente vários polimorfismos funcionalmente relevantes dos receptores adrenérgicos α 2, β 1 e β 2, e os seus genótipos específicos foram associados com incidência e severidade clínica da IC.¹²

Cinco comuns polimorfismos genéticos existem para os ADBR (dois para ADBR1 e três para ADBR2), os quais estão envolvidos na patogênese, na resposta terapêutica e no prognóstico da IC (figura 1).^{12,13}

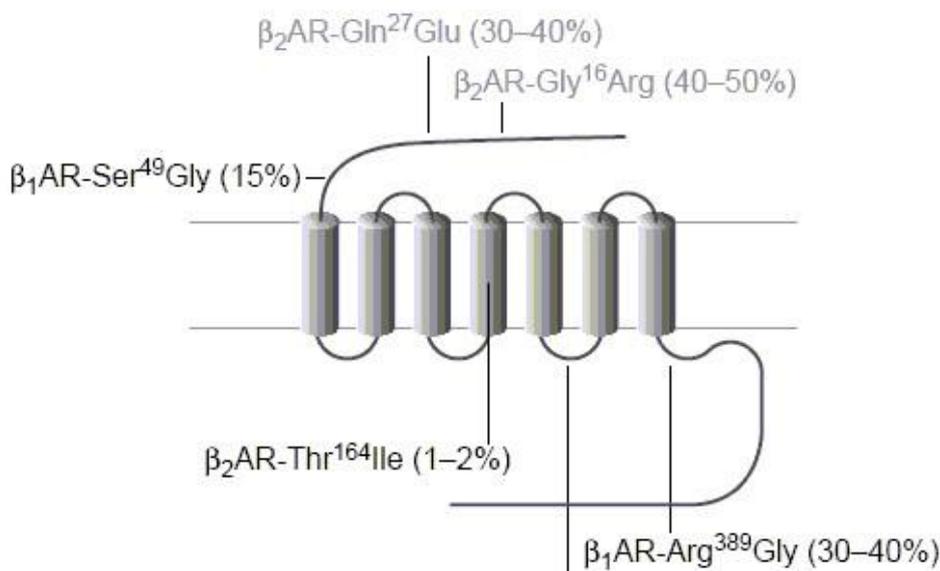


FIGURA 1.

Polimorfismos do sistema beta adrenérgico.

Os polimorfismos mais comuns para ADBR1 (Arg389Gly, Ser49Gly) e ADBR2 (Gln27Glu, Arg16Gly e Thr164Ile) estão dispostos nesta figura (adaptado de Lohse MJ¹³).

1.3.1 Polimorfismos dos receptores beta 1 adrenérgicos

O gene do ADBR1 está localizado no cromossomo 10q 24-26. Esse gene possui uma sequência de códons que codifica uma proteína com 477 aminoácidos intercalada por uma região não traduzida contendo 86 pares de base na extremidade 5' e uma região não traduzida contendo 900 pares de base na extremidade 3'.¹²

Foram descritos doze polimorfismos do tipo SNP (troca de um único par de base) para o gene ADBR 1, dentre os quais oito acarretam mudança de aminoácidos no receptor. Dois desses oito SNPs são os mais comuns e até hoje os mais descritos na literatura.

A posição 1165 do gene pode ser ocupada por uma citosina, mais frequentemente, ou por uma guanina; alternando o aminoácido da posição 389 da proteína, na extremidade carboxila terminal entre arginina (Arg) e glicina (Gly), respectivamente. Já a posição 145 do gene é mais frequentemente ocupada por uma adenina ou em menor frequência por uma guanina; alterando o aminoácido da posição 49 da proteína, na extremidade amino terminal, entre serina (Ser) e glicina (Gly), respectivamente (figura 2).^{14, 15}

Entre os outros SNPs descritos para o ADBR1 podemos citar: Ala59Ser, Arg318Ser, Lys324Arg, Ala343Thr, Glu352Asp, Arg399Cys, Arg400Leu, His402Arg, Thr404Ala e Pro418Ala, contudo tais polimorfismos são raros (frequência de 1-2%) e não há muitos estudos acerca dos mesmos.^{16, 17}

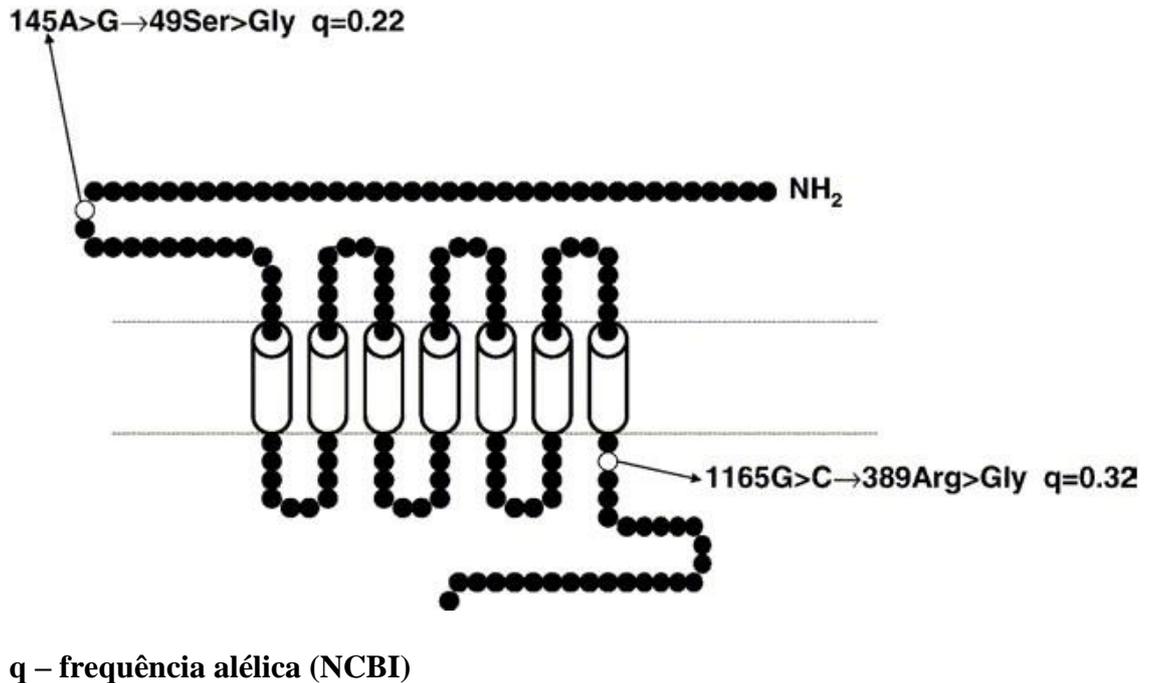


FIGURA 2.
Polimorfismos do gene ADBR1

Na posição 145 do gene há troca de uma arginina por uma guanina, resultado na troca do aminoácido Ser por Gly na posição 49, com frequência alélica de 0,22. Na posição 1165 do gene há troca de uma guanina por uma citosina levando a troca do aminoácido Arg por Gly na posição 389 e com frequência alélica de 0,32. (adaptado de Muthumala A¹⁸).

1.3.1.1 Arg389Gly

O aminoácido da posição 389 do ADBR1 está localizado próximo ao sétimo domínio transmembrana, na cauda intracitoplasmática e é um suposto domínio de ligação da proteína G_s.¹⁵

Quando esse polimorfismo foi clonado pela primeira vez, o alelo presente era o Gly389 e por isso esse alelo foi durante muito tempo considerado o selvagem, apesar de ser menos frequente. O alelo Arg389 é altamente conservado entre as espécies, o que sugere que ele é o alelo ancestral.¹⁸

A prevalência alélica é de aproximadamente 70% para ADBR1 Arg389 e de 30% para ADBR1 Gly389.¹⁹ A frequência do alelo Gly em caucasianos e asiáticos é de 27% enquanto em afro-americanos é de 42%.²⁰ O conhecimento da frequência dos polimorfismos nas

diferentes etnias é relevante, pois genótipos diferentes estão relacionados à susceptibilidade, resposta à terapia e prognóstico distintos em doenças cardíacas.

1.3.1.2 Ser49Gly

Na extremidade amino terminal do receptor beta 1 adrenérgico, no domínio extracitoplasmático, encontra-se o aminoácido da posição 49. A mudança do aminoácido nessa posição pode alterar a conformação das porções transmembrana e intracitoplasmática da proteína. Além disso, tem função nos processos de sinalização por catecolaminas e *down-regulation* desse receptor.^{2,21}

O polimorfismo do ADBR1 Ser49Gly está em desequilíbrio de ligação com o Arg389Gly em caucasianos e afro-americanos e todos os homozigotos para Gly389 são também homozigotos para Ser49 (Figura 3).¹⁸ Esse desequilíbrio foi demonstrado em um estudo com 700 mulheres, em que apenas três das quatro possibilidades genótípicas foram encontradas quando se analisaram 1.254 alelos. O genótipo Gly49/Gly389 foi o único não encontrado.¹⁴

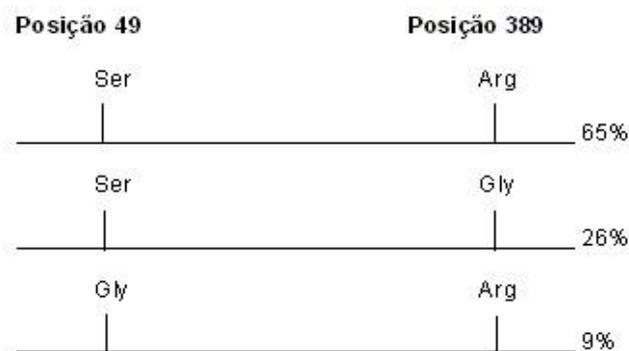


FIGURA 3

Frequências dos haplótipos dos polimorfismos dos receptores beta 1 adrenérgicos.

Frequência de 65% para a ocorrência de um alelo Ser na posição 49 (Ser49) e Arg na posição 389 (Arg389). Frequência de 26% para a ocorrência de Ser49 e Gly389, enquanto a de Gly49 e Arg389 é de apenas 9%. Não encontrado, até o momento, o haplótipo Gly49/Gly389. (adaptado de Muthumala A¹⁸).

1.3.1.3 Frequência alélica

Não há diferença estatisticamente significativa na prevalência do alelo Gly49 entre caucasianos e asiáticos, sendo essa frequência de 15% em ambos. Já entre afro-americanos,

dois grupos encontraram frequências genotípicas diferentes. Moore e cols.²² encontraram uma frequência de 13% do alelo Gly49, enquanto Johnson e Terra encontraram uma frequência de 29% para o mesmo alelo.²⁰

1.3.1.4 O papel funcional dos polimorfismos dos receptores beta 1 adrenérgicos

Experimentos *in vitro* demonstraram que o alelo Arg389 está relacionado a uma atividade simpática basal ligeiramente maior que aquela apresentada pelo alelo Gly389. Além disso, Arg389 apresenta uma dessensibilização mais rápida, tem maior afinidade pela proteína G_s e produz uma ativação da enzima efetora adenil ciclase três vezes maior que aquela induzida pelo alelo Gly389.^{4, 23}

Experimentos realizados em ratos revelaram que a variante Arg se relaciona a uma maior e melhor sinalização em estágios agudos, mas que cronicamente torna-se reduzida, com menor capacidade de ligação do receptor. Esses mesmos experimentos demonstraram que essa variante está relacionada a uma melhora da atividade hemodinâmica e da função ventricular em resposta ao betabloqueio, o que evidencia a importância de tais estudos para o desenvolvimento de terapias mais eficazes e personalizadas.²⁴

O significado funcional dessa troca de aminoácidos está principalmente no controle da dessensibilização do receptor beta 1 adrenérgico. A variante do ADBR1 Ser 49 é relativamente mais resistente a *down-regulation* que a Gly49, pois é mais glicosilada, apresentando maiores níveis de expressão, particularmente nas doenças em que há ativação simpática aumentada. Conforme demonstrado por estudos anteriores de receptores acoplados à proteína G, o nível de N-glicosilação da proteína influencia a dessensibilização, tanto em exposição duradoura ao agonista quanto na curta exposição.²⁰

No entanto, verificou-se que o polimorfismo do ADBR1 na posição 49 não parece ter efeito na sinalização pelo ligante, no acoplamento à proteína G ou na internalização promovida pela exposição ao agonista. Na verdade, apesar da taxa de internalização de ambos os receptores ser igual, há 25% mais degradação do receptor naqueles portadores do alelo Gly49, favorecendo a *down-regulation*.²⁰

Enquanto para o polimorfismo ADBR1 da posição 389 há um consenso quanto à influência que tal polimorfismo exerce na ativação da adenil ciclase, o mesmo não se pode dizer do polimorfismo Ser49Gly. Rathz e cols.²¹ não encontraram em seus experimentos

diferenças nos níveis de ativação da enzima adenil ciclase entre as variantes. No entanto, Levin e cols.²⁵ demonstraram que, quando a densidade de receptores estava dez vezes aumentada, as células que expressavam Gly49 tinham uma atividade basal e agonista-dependente aumentada para a adenil ciclase. Além disso, Gly49 foi mais sensível aos antagonistas como o metoprolol e apresentaram afinidade aumentada para os agonistas.²⁶

1.3.1.5 Suscetibilidade para IC

Tendo em vista as alterações que as variações genéticas dos receptores beta-adrenérgicos podem causar na função do sistema adrenérgico e seu impacto na predisposição a enfermidades e na resposta terapêutica, esses polimorfismos têm sido relacionados à propensão, evolução e desfecho de diversas doenças cardíacas, entre elas a IC.

Conforme descrito anteriormente, o alelo Arg389 tem uma maior atividade estimulatória sobre o sistema simpático enquanto o alelo Gly389 apresenta aumento do “down-regulation” como um efeito protetor à atividade simpática aumentada na IC. Portanto, diversos estudos foram desenvolvidos para verificar se há uma correlação entre os polimorfismos do ADBR1 e a suscetibilidade à IC. Na maioria desses estudos não se conseguiu encontrar diferenças estatisticamente significativas nas frequências isoladas dos alelos Arg389 e Gly 389 em pacientes com IC quando comparado com controles.

1.3.1.6 Capacidade de exercício na IC

Quando comparados os alelos Gly e Arg na posição 389 com a capacidade de realização de exercício físico na IC, os portadores do alelo Gly obtiveram um menor desempenho, apesar do mesmo aumento de frequência cardíaca e pressão arterial ao esforço máximo.² Wagoner e cols.²⁷, avaliaram 263 pacientes com cardiopatia dilatada e demonstraram que homozigotos Arg389 tinham pico de volume de oxigênio (VO₂) significativamente maior. Isto sugere que a detecção precoce dos polimorfismos pode determinar aqueles com menor capacidade física e, portanto, direcionar programas de exercício individualizados.

Já para o polimorfismo ADBR1 Ser49Gly, a amostra não foi controlada para este códon isoladamente. Entretanto, percebeu-se que tal polimorfismo pode modular a responsividade funcional do códon 389. Dessa forma, verifica-se que a análise do haplótipo também deve ser realizada e talvez seja mais importante que o estudo dos SNP

isoladamente.¹⁷ Em pacientes com IC, o haplótipo Ser49/Gly389 apresentou menores picos de VO₂, enquanto os pacientes Gly49/Arg389 possuíam melhor pico de VO₂.²

1.3.1.7 Resposta ao betabloqueador e prognóstico na IC

Nos últimos 10 anos, os betabloqueadores (metoprolol, bisoprolol e carvedilol) têm sido associados à significativa redução em todas as causas de mortalidade e hospitalização em pacientes com IC, sendo recomendados nas diretrizes como terapia padrão. No entanto, como demonstrado no estudo MERIT-HF houve redução de mortalidade de apenas 34% dos pacientes em uso de metoprolol quando comparados com placebo.²⁸ Tal fato foi determinante para justificar os estudos com os polimorfismos no intuito de identificar pacientes respondedores a esta terapêutica, levando em conta as variações inter-individuais.

Terra e cols. avaliaram 61 pacientes com disfunção sistólica e FEVE <40%, titulando a dose de metoprolol até 200mg/d ou dose máxima tolerada e no seguimento ecocardiográfico após três meses do uso da medicação, observaram que os pacientes homozigotos Arg389Arg obtiveram melhora da FE, com redução dos diâmetros cavitários em sístole e em diástole, em comparação com os portadores do alelo Gly.^{29,30}

O estudo BEST avaliou o uso do betabloqueador não-seletivo (buncidolol) para tratamento da IC classe III-IV. Um subestudo BEST-Genetic analisou o impacto do polimorfismo do beta 1 adrenérgico no tratamento com o betabloqueador e foi notado uma melhora considerável na sobrevida e redução da hospitalização em pacientes homozigotos Arg389Arg, em contraste com os portadores do alelo Gly.¹² No entanto, em um subestudo do MERIT-HF com 600 pacientes, os resultados não confirmaram que as diferentes respostas ao uso de betabloqueador estiveram relacionadas a esses polimorfismos.³¹

Terra e cols. observaram que os portadores de Gly49 obtiveram melhora significativa do grau de remodelamento ventricular esquerdo após tratamento com metoprolol quando comparados com homozigotos Ser49Ser. Além disso, revelou que o genótipo Arg389Arg não afeta a tolerância do metoprolol na fase inicial de titulação, enquanto que pacientes portadores do alelo Gly389 assim como homozigotos Ser49 apresentaram maiores taxas de descompensação indicadas pela necessidade de aumento concomitante de outras medicações para IC.^{29,30}

Börjesson e cols.³² avaliaram 184 pacientes tratados por longa data com betabloqueadores e encontraram que os portadores de 1 ou 2 alelos Gly49 tiveram melhora mais acentuada na sobrevida em 5 anos do que pacientes homozigotos Ser49Ser, os quais possuíam maior probabilidade de apresentarem desfechos: hospitalização, transplante cardíaco e morte.

Em estudo prospectivo com 375 pacientes com IC, Magnusson e cols.³³ demonstraram que a influência do códon 49 no prognóstico e tratamento com betabloqueadores é mais pronunciada do que no códon 389. Então, pacientes portadores de 1 ou 2 alelos Gly49 tratados com baixas doses de betabloqueador tiveram menor taxa de mortalidade do que pacientes homozigotos Ser49.

Estudos com o polimorfismo do ADBR1 Arg389Gly não evidenciaram associação com a taxa de sobrevida.²⁴ Entretanto, isto acontece quando há o desequilíbrio de ligação entre os códons 49 e 389.

O quadro 2 resume os principais efeitos dos polimorfismos dos receptores beta 1 adrenérgicos no prognóstico e resposta ao betabloqueador na IC.

QUADRO 2. Polimorfismos do gene ADBR1 e seu efeito no prognóstico e resposta ao betabloqueador na IC.

Polimorfismo	Efeito	Estudo
Arg389Gly	Arg389Arg: ↑ FEVE após 3 meses de uso do metoprolol	Terra e cols. ²⁹
Arg389Gly	Arg389Arg: melhora da sobrevida e hospitalização com o uso do buncidolol.	BEST-Genetic ³⁴
Arg389Gly	Arg389=Gly389: resposta ao betabloqueador.	Subestudo MERIT-HF. ³¹
Ser49Gly	Gly49: melhora do remodelamento de VE com uso de metoprolol.	Terra e cols. ³⁰
Ser49Gly	Gly49: melhora da sobrevida em 5 anos em uso de betabloqueador	Börjesson e cols. ³²
Ser49Gly	Gly49: menor taxa de mortalidade com baixas doses de betabloqueador.	Magnusson e cols. ³³

1.3.2 Polimorfismos dos receptores beta 2 adrenérgicos

O receptor beta 2 adrenérgico é codificado por um gene destituído de íntrons e localizado no cromossomo 5q31-32. Até o momento, foram descritos 12 polimorfismos SNPs para o gene ADRB2. Destes, cinco (Arg16Gly, Gln27Glu, Trh164Ile, Val34Met e Ser220Cis) ocasionam alterações em aminoácidos do receptor e apresentam importância funcional (figura 4). As consequências do polimorfismo Ser220Cis ainda não são bem compreendidas e estima-se que o polimorfismo Val34Met, que é bastante raro, não provoque mudanças na função do receptor beta 2. Os demais, por outro lado, demonstram estar relacionados a alterações funcionais do receptor.¹⁷

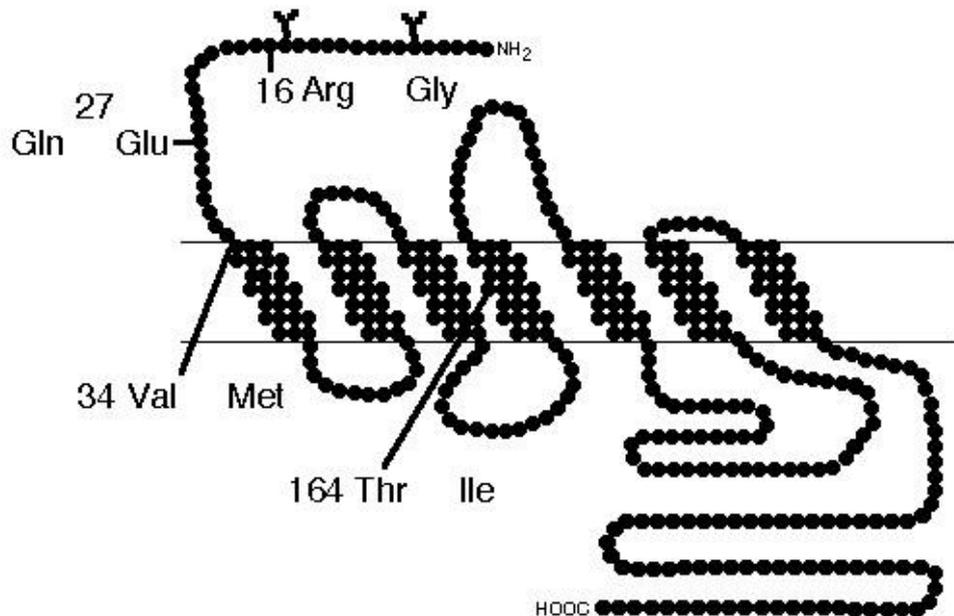


FIGURA 4.

Polimorfismos do gene ADRB2.

Representação esquemática do receptor beta 2 adrenérgicos e as posições onde ocorrem os polimorfismos tipo SNP (retirado de <http://receptors.med.uc.edu/FOverview.html>).

1.3.2.1 Arg16Gly

A substituição do nucleotídeo citosina pelo nucleotídeo guanina, na posição 46 do gene ADBR2, determina a substituição do aminoácido arginina (Arg) pelo aminoácido glicina (Gly) no códon 16. No início das investigações sobre o polimorfismo Arg16Gly, atribuía-se a arginina ser o alelo mais frequente na população (alelo selvagem). Entretanto, estudos posteriores demonstraram que o aminoácido glicina era, na verdade, o alelo mais frequente (Arg/Gly, frequência alélica 0,40/0,60). Contudo, por ter sido descrito inicialmente dessa forma, o alelo arginina permaneceu com a denominação selvagem e o alelo glicina continuou denominado alelo mutante.²

1.3.2.2 Gln27Glu

Na posição 79 do gene ADBR2, a alteração do nucleotídeo adenina pelo nucleotídeo guanina resulta em substituição do aminoácido glutamina pelo ácido glutâmico no códon 27. O alelo glutamina, por ser encontrado de forma mais frequente na população, é designado alelo selvagem. O ácido glutâmico, por ser o menos frequente, é denominado mutante (Gln/Glu, frequência alélica 0,55/0,45).²

1.3.2.3 Arg16Gly/Gln27Glu

Sabe-se hoje que há um notável desequilíbrio de ligação entre os códons 16 e 27, de modo que os indivíduos homozigotos Glu27Glu quase sempre apresentam o aminoácido glicina em homozigose no códon 16 (Gly16Gly). Os indivíduos homozigotos Gln27Gln podem ser homozigotos (Arg16Arg ou Gly16Gly) ou heterozigotos (Arg16Gly) para o códon 16. O haplótipo Arg16Glu27 é encontrado em menos de 1% da população sendo, portanto, muito raro.¹²

1.3.2.4 Frequência Alélica

A frequência dos alelos envolvidos nos polimorfismos do gene ADBR2 varia entre os diferentes grupos étnicos. Em afro-americanos, a frequência do alelo Arg16 é 49%, enquanto que em brancos e asiáticos a frequência desse mesmo alelo é 46% e 59%, respectivamente. No que diz respeito ao alelo Glu27, sua frequência alélica é de 20% entre indivíduos afro-americanos. Em brancos e asiáticos, a frequência do Glu27 é de 35% e 7%, respectivamente.²⁶

1.3.2.5 O papel funcional dos polimorfismos dos receptores beta 2 adrenérgicos

Está bem estabelecido que os polimorfismos nos códon 16 e 27 não alteram a capacidade de ligação das catecolaminas ao receptor beta 2 e nem a atividade da adenil ciclase. Porém, estudos demonstram que estes polimorfismos estão fortemente relacionados à susceptibilidade desses receptores ao fenômeno de *down-regulation*.¹⁷

Estudos *in vitro* revelaram uma maior dessensibilização na variante Gly16 em relação à Arg16, após administração de isoprenalina. O mesmo experimento indicou ainda que a variante Glu27, por ocasionar uma alteração na conformação do receptor beta 2, possui maior resistência ao fenômeno de *down-regulation* do que a variante Gln27.³⁵ Assim sendo, presume-se que o polimorfismo Glu27 produza um receptor beta 2 com maior responsividade aos agonistas adrenérgicos.² O haplótipo Gly16Glu27 demonstrou ser mais susceptível ao *down-regulation* quando comparado com o haplótipo Gly16Gln27. Uma hipótese para tal fato seria a preponderância do efeito do Gly16 sobre o efeito da variante Glu27. O haplótipo Arg16Glu27 é o que apresenta maior resistência à dessensibilização.³⁶

In vivo, três haplótipos foram estudados (Arg16Gln27Thr164, Gly16Glu27Thr164 e Gly16Gln27Thr164). Após duas semanas de tratamento com isoprenalina via oral, o haplótipo Gly16Glu27Thr164 foi o que apresentou menor dessensibilização.^{37,38} Em outros estudos, um tratamento intravenoso com isoprenalina resultou em maior dessensibilização do haplótipo Arg16Gln27Thr164.^{39,40}

Esses resultados que apontam menor resistência do Arg16 ao *down regulation* divergem dos resultados obtidos *in vitro*. Uma possível hipótese para isso seria a exposição dos receptores beta 2 adrenérgicos a um nível basal de catecolaminas endógenas em modelo humano, o que iria proporcionar uma maior dessensibilização endógena do Gly16. Assim, quando expostos a um agonista exógeno, o polimorfismo Gly16, já dessensibilizado, apresentaria menor susceptibilidade ao *down-regulation*.⁴¹

1.3.2.6 Suscetibilidade para IC

Muitos estudos investigaram uma possível associação entre IC e os polimorfismos do gene ADRB2, e diferentes resultados foram descritos na literatura. Sabe-se que a proporção entre receptores beta 1 e beta 2 é de 80 para 20 em corações saudáveis. No entanto, na IC, essa

proporção é de 60 para 40, o que indica que o polimorfismo de beta 2 pode modificar a progressão da doença.¹²

Heckbert e cols.⁴² realizaram estudos em uma amostra com mais de 5000 idosos em busca de uma possível relação entre os polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu e o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Seus resultados sugerem que os portadores do alelo Glu27 têm um menor risco de desenvolver eventos coronários que os pacientes portadores do alelo Gln27 em homozigose.

Forleo e cols.⁴³, em seus estudos, concluíram que pacientes Gly16Glu27 com miocardiopatia dilatada apresentavam maior risco de desenvolver IC do que pacientes Gly16Gln27. Entretanto, assim como para o polimorfismo de beta 1, parece não haver diferença significativa entre a frequência dos alelos do receptor beta 2 em pacientes com e sem IC, o que indica que esse polimorfismo não deve estar associado à susceptibilidade para essa doença. Covolo e cols.⁴⁴ não encontrou diferenças significativas na distribuição dos diferentes alelos entre pacientes com IC e o grupo controle.

1.3.2.7 Capacidade de exercício na IC

Alguns estudos verificaram a relação dos diferentes polimorfismos do receptor beta 2 com a capacidade de realizar exercício.

Wagoner e cols.²⁷, após determinarem o genótipo de 230 pacientes ambulatoriais com IC, submeteram estes pacientes a testes de capacidade cardiopulmonar. Os resultados demonstraram que os homozigotos Gly16 apresentaram piores picos de VO₂, quando comparados aos homozigotos Arg16. Além disso, ao avaliar os genótipos das posições 16 e 27 de forma simultânea, os homozigotos Gly16Gln27 foram os que apresentaram piores desempenhos, sendo os melhores relacionados aos homozigotos para Arg16Glu27.

1.3.2.8 Resposta ao betabloqueador e prognóstico na IC

No que diz respeito à resposta a medicamentos, estudos mostraram que o Arg16 e o Glu27, quando em homozigose, promovem maior vasodilatação em resposta a agonistas adrenérgicos. Por outro lado, estudos *in vivo* demonstraram que as combinações dos alelos Arg16 e Gln27 exibiram maior dessensibilização mediada pelo agonista durante a resposta vasodilatadora.²⁰

Estudos realizados por Kayne e cols.⁴⁵, envolvendo pacientes com IC tratados com betabloqueadores, indicaram que o risco de morte ou transplante cardíaco era significativamente maior naqueles que possuíam haplótipo Arg16Gln27. Ao se analisar o polimorfismo do gene ADBR2 Gln27Glu de forma isolada, pacientes homozigotos para o alelo Gln27 manifestaram pouca melhora da função cardíaca mediante administração de carvedilol, quando comparados com pacientes portadores do alelo Glu27. Esses resultados foram confirmados por Metra e cols.⁴⁶. Na ocasião, os pacientes com IC crônica foram tratados por mais de um ano com carvedilol, e foi constatado que a FEVE em homozigotos Glu27 foi muito maior do que em homozigotos Gln27. Não foi obtida significância estatística para estudos que tentaram correlacionar a resposta ao carvedilol e o polimorfismo Arg16Gly de forma isolada. Entretanto, devido ao desequilíbrio de ligação, pacientes homozigotos para Glu27, que apresentam melhor resposta ao carvedilol, quase sempre são portadores do alelo Gly16 em homozigose.²⁶

De Groote e cols.⁴⁷ em seus experimentos observaram para pacientes com o haplótipo Gly16Gln27 uma tendência à menor sobrevida quando comparada com pacientes com os dois outros haplótipos, demonstrando, mais uma vez, que a análise dos SNP isoladamente pode não ser suficiente para caracterizar a evolução da doença e que talvez mais estudos sejam necessários antes que se possa estabelecer uma relação entre o polimorfismo do beta 2 e o prognóstico na IC.

Pacientes homozigotos para o haplótipo Arg16Gln27 tiveram alto risco de mortalidade, enquanto aqueles homozigotos para o haplótipo Gly16Glu27 tinham este risco reduzido. Dados similares foram recentemente publicados por Shin e cols.⁴⁸ que encontraram em 227 pacientes portadores de IC crônica tratados com betabloqueadores que os homozigotos para o haplótipo Arg16Gln27 tinham *hazard ratio* para eventos adversos (definido por morte ou transplante cardíaco) de 1.91.

No entanto, outros estudos não comprovaram que os polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu estão associados com o risco do desenvolvimento de IC ou com o prognóstico.⁴⁹

O quadro 3 resume os principais efeitos dos polimorfismos do gene ADBR2 no prognóstico e resposta ao betabloqueador na IC.

QUADRO 3. Polimorfismos do gene ADBR2 e seu efeito no prognóstico e resposta ao betabloqueador na IC.

Polimorfismo	Efeito	Estudo
Arg16Gln27	Arg16Gln27: maior risco de óbito ou transplante cardíaco.	Kayne e cols. ⁴⁵
Gln27Glu	Gln27: melhor resposta ao carvedilol.	Kayne e cols. ⁴⁵
Gln27Glu	Glu27: melhora FE com uso de carvedilol.	Metra e cols. ⁴⁶
Arg16Gly e Gln27Glu	Sem correlação com o prognóstico na IC.	Ligget e cols. ⁴⁹
Gly16Gln27	Gly16Gln27: menor sobrevida	De Groote e cols. ⁴⁷
Arg16Gln27/ Gly16Glu27	Homozigotos Arg16Gln27: risco de mortalidade e transplante cardíaco.	Shin e cols. ⁴⁸

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo primário:

(1) Avaliar a associação dos polimorfismos dos receptores beta adrenérgicos com a melhora ecocardiográfica com o uso de carvedilol e o impacto prognóstico em pacientes ambulatoriais da rede pública de saúde portadores de IC, com disfunção sistólica do ventrículo esquerdo.

2.2 Objetivos secundários:

(1) Comparar a prevalência dos genótipos e a frequência alélica dos polimorfismos dos receptores beta adrenérgicos em pacientes portadores de IC, com um grupo controle de voluntários sadios.

(2) Avaliar a associação do sexo e cor autodeclarada em relação aos polimorfismos dos receptores beta adrenérgicos e desfechos estudados.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo

Estudo observacional, coorte prospectivo, multicêntrico, realizado no Ambulatório de IC do HUAP e no Hospital Geral da Faculdade de Medicina de Valença, no período de dezembro de 2005 a março de 2009.

O estudo envolveu as seguintes etapas:

- a. Registro dos dados clínicos e demográficos dos pacientes e controles.
- b. Coleta de sangue para a análise genética dos receptores beta adrenérgicos.
- c. Análise dos dados genéticos correlacionando-os com as características clínicas.
- d. Análise dos dados genéticos correlacionando-os com o remodelamento reverso avaliado pelo ecodopplercardiograma no seguimento de seis meses e com os desfechos óbito e internação hospitalar em um seguimento mínimo de doze meses.

3.2 Caracterização das amostras do estudo

3.2.1 Grupo I: Pacientes com IC Sistólica

Foram incluídos 146 pacientes ambulatoriais da rede pública, portadores de IC com disfunção predominante sistólica do VE, que preenchessem os critérios de inclusão

do presente estudo. Cento e sete foram originários do HUAP/UFF da cidade de Niterói e 39 do Hospital Geral da Faculdade de Medicina de Valença.

Os dados demográficos registrados foram: sexo, idade e cor autodeclarada. Os dados clínicos avaliados foram: tabagismo, IMC, presença de hipertensão arterial, doença arterial coronariana, diabetes mellitus, insuficiência renal crônica, anemia, fibrilação atrial e uso de medicamentos cardiovasculares. Os pacientes com história prévia de infarto agudo do miocárdio (IAM), angioplastia e cirurgia de revascularização miocárdica foram considerados portadores de doença arterial coronariana (DAC).

Os pacientes encontravam-se em acompanhamento ambulatorial especializado, em uso de tratamento padronizado para IC, adaptado da II Diretriz Brasileira de IC Crônica⁵⁰ (quadro 4):

QUADRO 4. Tratamento farmacológico da IC a partir da classe funcional da NYHA.

CF NYHA 1	CF NYHA 2	CF NYHA 3	CF NYHA 4
IECA/BRA Betabloqueador*	IECA/BRA Betabloqueador*	IECA/BRA Betabloqueador* Antagonista da Aldosterona; Nitrato-Hidralazina; Digoxina; Diuréticos	Tratamento otimizado como descrito na CF NYHA 3.

IECA=inibidor da enzima de conversão da angiotensina/ BRA= bloqueador do receptor de angiotensina II/ NYHA= New York Heart Association.

* O betabloqueador de escolha foi o carvedilol, considerada dose otimizada de 50mg/dia em duas tomadas diárias ou dose máxima tolerável. Ajuste realizado a cada duas semanas, ou conforme critério médico.

3.2.2 Grupo II: Controle

Para responder o objetivo secundário quanto à prevalência dos polimorfismos em voluntários saudáveis, foram selecionados 83 indivíduos sadios, afastada cardiopatia estrutural através da avaliação clínica direcionada por um questionário específico (anexo 1), exame físico e eletrocardiograma.

Os critérios de exclusão do grupo controle foram: idade < 18 anos e presença de fatores de risco cardiovasculares (dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, doença aterosclerótica, história familiar de cardiomiopatia).

Os indivíduos do grupo II foram equiparados com aqueles do grupo I quanto à cor autodeclarada.

3.3 **Avaliação clínica e exames complementares do grupo I (pacientes)**

3.3.1 Critérios de Inclusão

- a) Idade \geq 18 anos;
- b) Pacientes com história e exame físico compatíveis com IC;
- c) FEVE menor ou igual a 50%, utilizando o método de Simpson.

3.3.2 Critérios de Exclusão

Os critérios de exclusão considerados foram aqueles que pudessem influenciar no prognóstico ou resposta medicamentosa, independente do uso do beta-bloqueador.

- a) Pacientes com indicação ou submetidos à terapia de ressincronização cardíaca.
- b) Miocardite em atividade.
- c) Episódio de morte súbita abortada ou presença de desfibrilador implantável.
- d) Indicação de angioplastia ou cirurgia de revascularização miocárdica, planejada para os próximos meses.
- e) Intolerância ao carvedilol na terapia admissional.

3.3.3 Avaliação Ecocardiográfica

Os exames ecocardiográficos foram executados por dois ecocardiografistas experientes e com titulação na área, realizados na admissão e após seis meses de acompanhamento de acordo com as normas do Departamento de Ecocardiografia da Sociedade Brasileira de Cardiologia. As análises feitas no estudo em questão foram: diâmetros cavitários do VE em sístole e em diástole e do átrio esquerdo, expressos em milímetros e FEVE pelo cálculo de volume (Simpson). O aparelho utilizado foi o Vivid 3, GE Medical Systems Ultrasound, Wisconsin USA.

3.3.4 Exames Laboratoriais

Foram realizados exames laboratoriais na admissão, os quais consistiram em dosagem de hemoglobina, glicose, uréia, creatinina, sódio, potássio, perfil lipídico, ácido úrico.

3.3.4.1 Hemoglobina

Foi considerado presença de anemia, quando os níveis de hemoglobina encontravam-se menor ou igual a 12 g/dl para mulheres e menor ou igual a 13g/dl para homens.

3.3.4.2 Glicemia de admissão

Foi considerada a presença de diabetes naqueles pacientes com história progressa, uso de hipoglicemiante e/ou insulina subcutânea ou presença de uma glicemia de jejum maior ou igual a 126mg/dl.⁵¹

3.3.4.3 Creatinina de admissão

Conforme definido na revisão de Biesen e cols.⁵², considera-se função renal normal para valores de creatinina sérica inferiores a 1,5 mg/dl.

3.3.4.4 Sódio de admissão

Foi considerado sódio baixo para valores abaixo de 135mEq/L, na ausência de outros fatores que pudessem contribuir para tal.

3.3.4.5 Potássio de admissão

Valores normais de potássio, segundo referência do laboratório de bioquímica do HUAP, foram considerados entre 3,6 e 5,0 mEq/L.

3.3.4.6 Perfil lipídico de admissão

Baseado na Diretriz Brasileira para o tratamento de dislipidemias e prevenção da aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia - 2001⁵³ foram utilizados os valores de referência do perfil lipídico, como se segue no quadro 5.

QUADRO 5. Valores de referência do perfil lipídico em adultos

PERFIL LIPÍDICO - VALORES DE REFERÊNCIA EM ADULTOS (>ou = 20 ANOS)				
	COLESTEROL TOTAL	LDL-C	HDL-C	TRIGLICERÍDEOS
Valores em mg/dL				
Desejáveis	< 200	< 130	> 40	< 150

3.3.4.7 Ácido úrico de admissão

Utilizados os valores de referência do laboratório de bioquímica do HUAP para definição de hiperuricemia, de acordo com o sexo: de 3,0 a 6,6 mg/dl para homens e de 2,4 a 5,7 mg/dl para mulheres.

3.3.5 Seguimento

Os pacientes foram acompanhados por um período mínimo de doze meses e máximo de 40 meses para avaliação dos desfechos internação hospitalar e óbito, os quais foram registrados através das visitas subsequentes (no caso de internação) ou telefônico e/ou registro em prontuário (no caso de óbito).

Para aqueles pacientes que preencheram os critérios de inclusão e consentiram sua participação no estudo foi preenchida uma ficha de inclusão (anexo 2). Eles foram submetidos à coleta de exames laboratoriais e avaliação genética, e consecutivamente era iniciada a terapia farmacológica ou otimizada aquela de uso prévio.

Após seis meses de inclusão no estudo, os pacientes foram reavaliados clinicamente, laboratorialmente e através da ecocardiografia (anexo 3). Foram considerados três graus de melhora ecocardiográfica, em comparação ao exame admissional, quanto ao remodelamento reverso (esses três níveis foram os determinantes da resposta terapêutica):

- 1) aumento da FEVE maior ou igual a 20% ;
- 2) aumento da FEVE maior ou igual a 10%;
- 3) redução de diâmetros cavitários esquerdos menor ou igual a 5%.

A sequência racional do estudo encontra-se detalhado na figura 5.

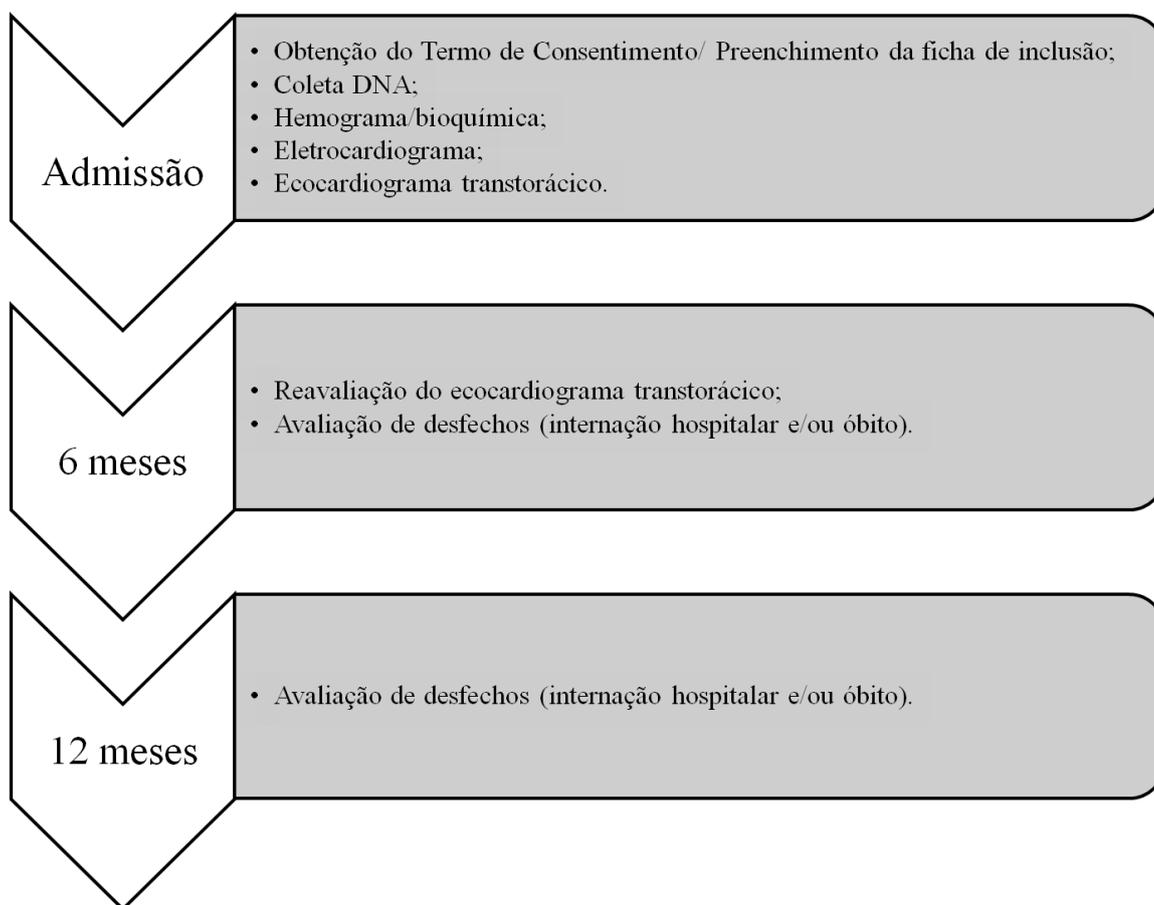


FIGURA 5.
Sequência racional do estudo.
Da admissão aos 12 meses de seguimento.

3.4 Avaliação genético molecular

3.4.1 Extração do DNA Genômico

A extração de DNA genômico a partir de sangue total foi feita com reagentes comerciais, de acordo com procedimento descrito pelo fabricante ou pelo método manual de precipitação salina. Resumidamente, na técnica manual, as amostras foram submetidas à lise celular com 1000 μ L do tampão Tris-1 (Tris-HCl 10 mM pH 8,0, KCl 10 mM, MgCl₂ 10 mM, EDTA 2 mM pH 8,0) contendo Triton X-100 a 2,5%. Após centrifugação a 5.000 rpm por 5 minutos em centrífuga Beckman[®], os núcleos celulares foram lisados com 200 μ L do tampão Tris-2 contendo SDS a 1%. As proteínas foram removidas por precipitação salina com 100 μ L de NaCl 5M. O DNA presente no sobrenadante foi isolado por precipitação etanólica e finalmente, ressuspenso em 100 μ L do tampão TE (Tris-HCl 10 mM e 1mM EDTA, pH 8,0) e mantidos a -20°C até o momento do uso.

3.4.2 Avaliação em gel de agarose e quantificação do DNA.

Após a extração, a integridade das amostras de DNA foi analisada por eletroforese (sistema de eletroforese BIO RAD) em gel de agarose a 0,8 % em tampão TBE 1X (Tris-HCl 90 mM, ácido bórico 90 mM e EDTA 2 mM), corado com brometo de etídio.

3.4.3 Análise dos Polimorfismos dos Receptores Beta Adrenérgicos.

Os polimorfismos do gene ADBR1 Arg389Gly e Ser49Gly e do gene ADBR2 Gln27Glu e Arg16Gly do receptor beta 2 adrenérgico foram analisados por PCR-RFLP. A reação de PCR foi realizada em um volume total de 25 μ L, sendo utilizados: 50 –100 ng de DNA genômico, após ajuste da concentração, 1 U de *Taq* DNA polimerase Fermentas, tampão de reação (KCl 50 mM, MgCl₂ 1,5 mM, Tris-HCl 10 mM), 200 μ M de cada desoxinucleotídeo (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) e 15 pmol de cada oligonucleotídeo. Após desnaturação a 94°C por 5 minutos, as amostras foram amplificadas em um programa de 30 ciclos de 30 segundos a 94°C (desnaturação) para os polimorfismos do ADBR1 e 1 minuto para os do ADBR2, anelamento em temperaturas e tempos específicos para cada variante (quadro 6) e 1 minuto a 72°C para extensão, em um termociclador Techne modelo Progen. Em seguida as amostras foram submetidas à extensão final em um ciclo de 7 minutos a 72°C. Os amplicons foram

avaliados em gel de agarose a 2%, usando como indicador de tamanho, um marcador de 100 pares de base.

QUADRO 6. Sequências de oligonucleotídios utilizadas de acordo com as variantes.

Gene	Variante	Oligonucleotídios	T _{ANELAMENTO}
ADBR1	Arg389Gly ¹	Sense 5'-CGCTCTGCTGGCTGCCCTTCTTCC-3'	58oC/30s
		Antisense 5'-TGGGCTTCGAGTTCACCTGCTATC-3'	
	Ser49Gly ¹	Sense 5'-CCGGGCTTCTGGGGTGTTC-3'	61oC/30s
		Antisense 5'-GGCGAGGTGATGGCGAGGTAGC-3'	
ADBR2	Gln27Glu ²	Sense 5'-GAATGAGGCTTCCAGGCGTC-3'	56oC/60s
		Antisense 5'-AGGCCATGACCAGATCAGC-3'	
	Gly16Arg ²	Sense 5'-CTTCT TGCTGGCAGCAAT-3'	56oC/60s
		Antisense 5'-CCAATACTTCATCACTTCACTGG-3'	

1-Maqbool e cols.⁵⁴; 2-de Groote e cols.⁴⁷

3.4.3.1 Análise dos Polimorfismos dos Receptores Beta 1 Adrenérgicos

a) Análise Molecular do Polimorfismo ADBR1 Arg389Gly

O fragmento de 530 pares de base amplificado foi digerido com a enzima de restrição (RFLP) BCG I que reconhece o sítio 5'...10(N)CGA(N)6TGC(N)12...3', onde N representa qualquer nucleotídeo. Desta forma, a presença do alelo polimórfico Gly codificado pelo códon GGA abole o sítio de reconhecimento da enzima BCG I. A identificação genotípica foi baseada no seguinte padrão de fragmentos revelados em gel de agarose a 2%: 342 e 154 bp para os homozigotos Arg389Arg, 530bp para os homozigotos Gly389Gly e 530, 342 e 154 bp para os heterozigotos Arg389Gly. O fragmento de 34 bp era muito pequeno para ser visualizado neste sistema de eletroforese.

b) Análise Molecular do Polimorfismo ADBR1 Ser49Gly

O fragmento de 564 pares de base amplificado foi digerido com a enzima de restrição (RFLP) Eco 0109 I que reconhece o sítio 5'...PuG↓GNCCPy ...3', onde Pu indica a presença de uma purina (adenina ou guanina) e Py indica uma pirimidina (timina ou citosina) e N representa qualquer nucleotídeo. Desta forma, a presença do alelo polimórfico Gly codificado

pelo códon GGC cria o sítio de reconhecimento para a enzima Eco 0109 I, possibilitando a identificação do homozigoto Gly49Gly pela presença no gel de agarose a 2% de fragmentos contendo 345 e 219 pares de base. Os indivíduos homozigotos Ser49Ser, que possuem apenas o códon AGC serão identificados pelo fragmento de 564 bp, enquanto a presença de fragmentos contendo 564, 345 e 219bp identificará os heterozigotos Ser49Gly.

3.4.3.2 Análise dos Polimorfismos dos Receptores Beta 2 Adrenérgicos

a) Análise Molecular do Polimorfismo ADBR2Glu27Gln

O fragmento de 353 pares de base amplificado foi digerido com a enzima de restrição (RFLP) Fnu4HI que reconhece o sítio 5'...GC↓NGC...3', onde N representa qualquer nucleotídeo. Desta forma, a presença do alelo polimórfico Glu codificado pelo códon GAA abole o sítio de reconhecimento da enzima. A identificação genotípica foi baseada no seguinte padrão de fragmentos revelados em gel de agarose a 2%: 27, 55, 97 e 174bp para os homozigotos Gln27Gln, 27, 55, 97,174 e 229 para os heterozigotos Gln389Glu e 27,97 e 229 bp para os homozigotos Glu27Glu. O fragmento de 27 bp era muito pequeno para ser visualizado neste sistema de eletroforese⁵⁵.

b) Análise Molecular do Polimorfismo ADBR2 Arg16Gly

O fragmento de 201bp amplificado foi digerido com a enzima de restrição (RFLP) BsrDI que reconhece o sítio 5'...GCAATGNN...3', onde N representa qualquer nucleotídeo. Desta forma, a presença do alelo polimórfico Gly codificado pelo códon GGA cria um sítio de reconhecimento para a enzima BsrDI, possibilitando a identificação do homozigoto Gly16Gly pela presença no gel de agarose a 3% de fragmentos contendo 14, 23, 56 e 108bp. Os indivíduos homozigotos Arg16Arg, que possuem apenas o códon AGA serão identificados pelos fragmentos de 14, 56 e 131bp, enquanto a presença de fragmentos contendo 14, 23, 56, 108, 131 identificará os heterozigotos Arg16Gly. Os fragmentos de 14 e 23 bp são muito pequenos para serem visualizados neste sistema de eletroforese, porém isto não prejudica a identificação dos genótipos.

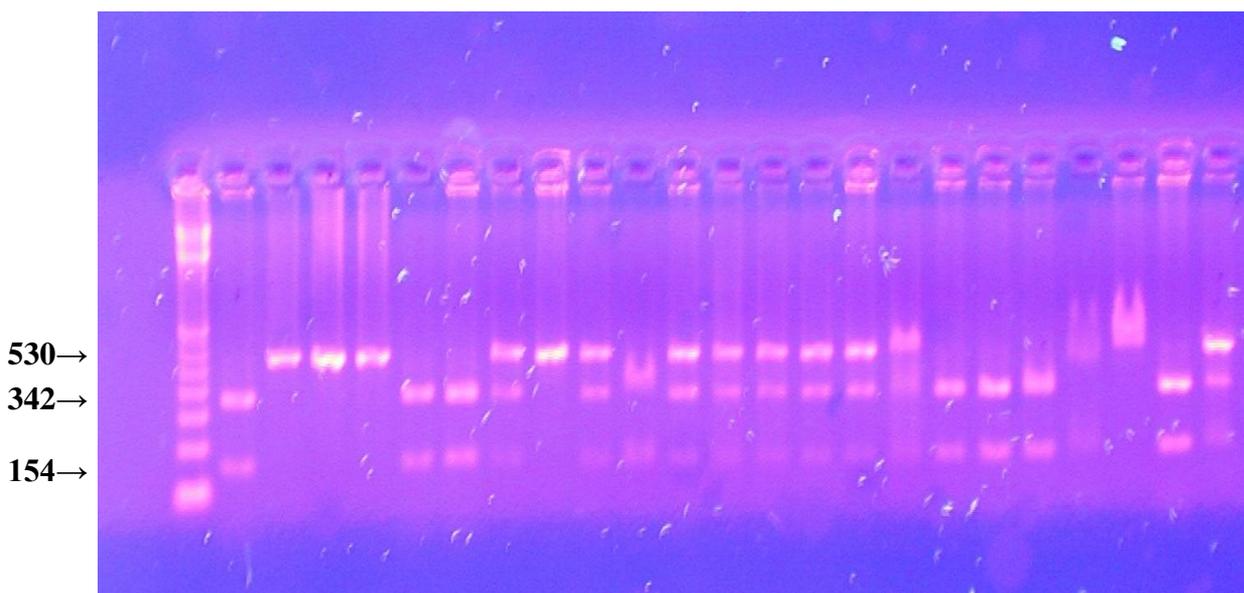


FIGURA 6:

Exemplo da análise molecular do polimorfismo ADBR1 Arg389Gly.

O fragmento de 530 pares de base amplificado foi digerido com a enzima de restrição (RFLP). Identificação genotípica: 342 e 154 bp para os homozigotos Arg389Arg, 530bp para os homozigotos Gly389Gly e 530, 342 e 154 bp para os heterozigotos Arg389Gly.

3.5 Aspectos bioéticos

Em conformidade com a Declaração de Helsinki todos os participantes da pesquisa assinaram, após leitura, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (anexo4).

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense (CEP CMM/HUAP 121/05) e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP – Brasília (DF), Brasil (registro 12411).

3.6 Conflito de interesses

O presente estudo teve financiamento da FAPERJ.

O Laboratório Baldacci forneceu medicamento (carvedilol), no entanto, não participou no desenho, análise ou divulgação do estudo.

O grupo de pesquisadores responsáveis pela coleta dos dados bem como a autora deste estudo e professores orientadores não foram subvencionados para a realização do mesmo.

3.7 Análise estatística

A análise estatística foi composta pelos seguintes métodos:

- para verificar se existe variação significativa nas respostas terapêuticas (dados numéricos) da admissão para seis meses foi utilizado o teste *t* de Student pareado;
- a variação (delta) das respostas terapêuticas entre os subgrupos de genótipos foi avaliada pela Análise de Variância “*one-way*”;
- para analisar a variação da CF NYHA (dado categórico) após seis meses foi realizada a ANOVA para medidas repetidas de dados categóricos pelo procedimento CATMOD⁵⁶ do pacote estatístico SAS[®] *System*.
- para verificar se existe variação significativa no uso das medicações após seis meses foi aplicado o teste de Mc Nemar corrigido.

A relação entre as variáveis clínicas e de genótipo com os desfechos e respostas terapêuticas (análise uni e multivariada) foi avaliada pelos seguintes métodos:

- i) comparação com dados categóricos foram aplicados os testes de χ^2 ou exato de Fisher;
- ii) comparação com dados numéricos foi usado o teste *t* de *Student* para amostras independentes; e
- iii) para identificar as variáveis independentes que predizem (ou explicam) os desfechos ou respostas terapêuticas foi utilizada a Análise de Regressão Logística.

A curva de sobrevida ou livre de eventos foi ajustada pelo método de Kaplan-Meier. A estatística de *log-rank* foi aplicada para verificar se existe diferença significativa na curva estratificada pelos polimorfismos ADBR1 Ser49Gly e Arg389Gly e cor auto-declarada.

Foi realizada a análise do desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg em relação à distribuição dos genótipos dos polimorfismos dos receptores beta-adrenérgicos utilizando-se o teste do χ^2 .

O critério de determinação de significância adotado foi o nível de 5%. A análise estatística foi processada pelo *software* estatístico SAS[®] *System*

4. RESULTADOS

4.1 Descrição geral da amostra estudada

Dos 146 pacientes incluídos no estudo, 140 permaneceram até a finalização deste, tendo ocorrido 06 perdas devido à perda do contato ou desistência no acompanhamento. A tabela 1 apresenta as características basais da amostra estudada.

A média de idade dos 140 pacientes que seguiram o acompanhamento foi de 59 ± 13 anos, 50,7% autodeclarados afro-brasileiros, 102 pacientes do sexo masculino, 46% de etiologia isquêmica, 23,6% tabagistas.

Quanto às comorbidades associadas à IC, houve predomínio da hipertensão arterial (73,6%), seguindo-se a doença arterial coronariana (42,1%), diabetes mellitus tipo II (34,3%), anemia (25,7%), insuficiência renal crônica (16,4%) e fibrilação atrial (15,7%).

Na avaliação da classe funcional, na inclusão do projeto, observou-se que a maioria dos pacientes incluídos encontrava-se em classe funcional I (33%) ou II (42%), com apenas 1% em classe funcional IV, segundo a classificação NYHA.

O índice de massa corpórea (IMC) revela tendência ao sobrepeso entre os pacientes, com média de 25,9 e mediana de 25.

Quanto os exames laboratoriais, apenas as médias dos níveis séricos de ácido úrico para ambos os sexos encontravam-se superior à faixa da normalidade.

O ecodopplercardiograma transtorácico realizado na inclusão do estudo apontou para a predominância de pacientes com disfunção sistólica grave do VE (média da FEVE = 35,3%)

TABELA 1. Características Clínicas e Laboratoriais dos pacientes com IC (grupo 1).

Variável	n	Média	DP
Idade (anos)	140	58,5	13,0
Peso (kg)	138	70,5	16,6
Altura (m)	138	1,6	0,1
IMC (kg/m²)	138	25,9	5,2
Pressão Arterial (mmHg)			
Sistólica	140	129,7	26,1
Diastólica	140	80,2	15,3
FC (bpm)	140	75,4	11,6
Ecocardiograma -Admissão			
Átrio Esquerdo (mm)	140	4,6	0,8
VED (mm)	139	6,8	1,0
VES (mm)	139	5,5	1,1
FEVE (%)	140	35,3	9,3
Hemoglobina (g/dl)			
Homens	99	13,9	1,8
Mulheres	43	12,7	1,5
Glicose (mg/dL)	139	125,2	63,1
Uréia (mg/dL)	139	46,7	28,6
Creatinina (mg/dL)	139	1,3	1,0
Ácido úrico (mg/dL)			
Homens	101	7,0	2,1
Mulheres	43	6,3	2,3
Colesterol Total (mg/dL)	138	194,8	71,5
LDL (mg/dL)	133	120,5	42,2
HDL (mg/dL)	136	42,9	15,2
Triglicerídeos (mg/dL)	137	144,6	103,7
Sódio sérico (mEq/L)	139	139,2	3,7
Potássio sérico (mEq/L)	139	4,6	0,5

4.2 Terapia medicamentosa

Na avaliação da terapia em uso prévio notou-se que considerável percentual de pacientes que vinham em uso de IECA (81,4%) e betabloqueador (71,4%), no entanto com 66,4% dos casos com necessidade do uso de diurético alça e 25% tiazídico concomitante.

Ao analisar, a terapêutica após seis meses de seguimento (figura 7), observou-se que existiu aumento significativo no uso dos antagonistas da angiotensina II ($p = 0,0006$), espironolactona ($p = 0,014$), betabloqueador ($p < 0,0001$) e estatina ($p = 0,003$); e queda significativa no uso de inibidores da enzima de conversão da angiotensina ($p = 0,037$) e de diuréticos tiazídicos ($p = 0,025$)

Não houve diferenças significativas quanto à terapia aos seis e doze meses.

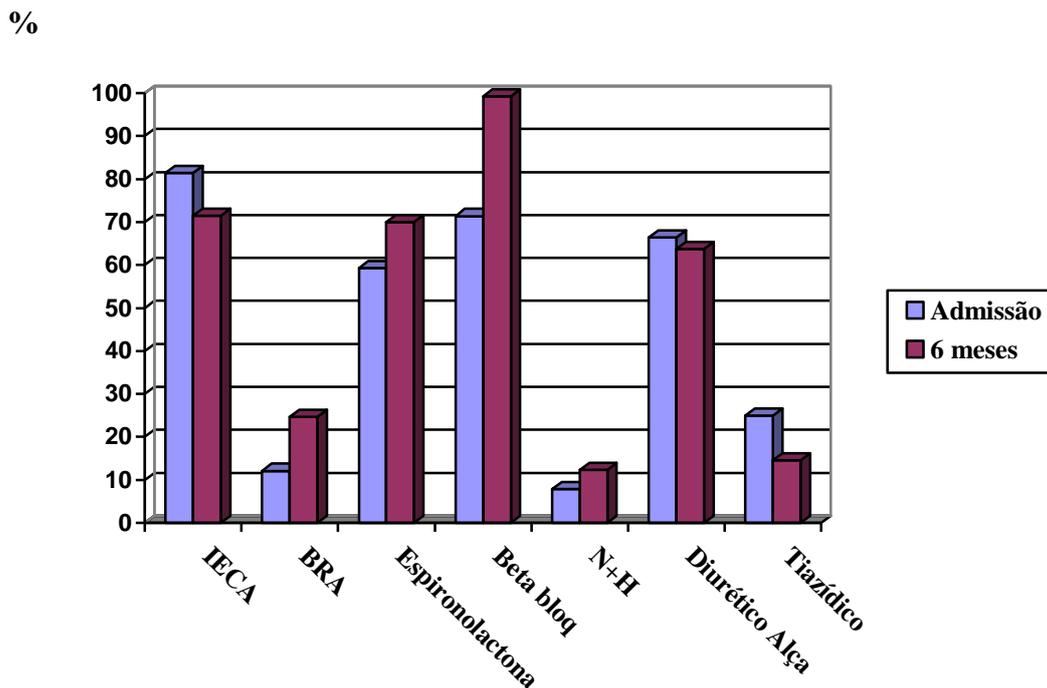


FIGURA 7.

Comparação da terapêutica admissional e após seis meses de seguimento.
(IECA = inibidor da enzima de conversão de angiotensina; BRA = bloqueador do receptor da angiotensina II;
N+H = associação nitrato e hidralazina)

4.3 Variáveis ecocardiográficas na admissão e após seis meses

Quanto à comparação das variáveis ecocardiográficas na admissão e em seis meses observou-se que não existe variação significativa no AE após seis meses. Em média, reduziu 0,07 cm ($p = 0,16$), que corresponde, em média a 0,83% ($p = 0,46$).

Houve queda significativa no VED após seis meses, em média, de -0,20 unidades ($p = 0,0004$), que corresponde, em média a 3,1% ($p = 0,0005$) e do VES em média, de -0,33 unidades ($p = 0,0001$), que corresponde, em média a 6,3% ($p = 0,0001$). No entanto, embora estas quedas sejam estatisticamente significantes não são clinicamente relevantes.

Foi verificado, como demonstrado na tabela 2, que existiu um aumento estatístico e clinicamente significativo na FEVE após seis meses, que corresponde em média a 20,9% ($p = 0,0001$).

A tabela 2 fornece a média, desvio padrão/erro padrão (DP/EP), mediana, mínimo e máximo da FEVE, respectivamente, na admissão, seis meses após, a correspondente variação absoluta (delta) e relativa (delta %), e o respectivo nível descritivo (p valor) do teste t pareado.

TABELA 2. Análise da FEVE após seis meses.

Variável	n	Média	<i>p</i> valor
FEVE (%)			
admissão	129	35,45	
FEVE (%) - 6m	129	41,64	
Delta absoluto	129	6,19	0,0001
Delta (%)	129	20,89	0,0001

4.4 Análise da classe funcional segundo NYHA na admissão e após 6 meses

A ANOVA para medidas repetidas de dados categóricos, mostrou que existe variação significativa na **CF NYHA** ($p < 0,0001$), ou seja, houve melhora significativa na CF após seis meses (tabela 3).

TABELA 3. Análise da classe funcional NYHA após seis meses.

CF NYHA	admissão		6 meses		<i>p</i> valor ^a
	n	%	n	%	
I	43	33,1	61	46,9	< 0,0001
II	56	43,1	60	46,2	
III/IV	31	23,8	9	6,9	

^a ANOVA para medidas repetidas
(procedimento CATMOD do SAS®).

4.5 Equilíbrio de Hardy-Weinberg dos polimorfismos dos receptores beta-adrenérgicos.

O teste do χ^2 mostrou que as frequências genótípicas dos polimorfismos dos genes ADBR1 e ADBR2 estavam em concordância com os pressupostos de Hardy-Weinberg. Os valores de *p* estão sumarizados na tabela 4.

TABELA 4. Equilíbrio de Hardy Weinberg dos polimorfismos estudados.

Polimorfismos dos genes ADBR1 e ADBR2 (valor de <i>p</i>)				
	Arg389Gly	Ser49Gly	Gln27Glu	Arg16Gly
Paciente IC	0,099	1,000	0,344	0,186
Controle	0,797	0,173	0,248	1,000

4.6 Análise da prevalência genotípica entre os grupos estudados

A fim de estabelecer a prevalência dos genótipos para ADBR1 e ADBR2 entre casos e controles, foram analisados 83 indivíduos saudáveis. Observou-se que existe relação significativa com o polimorfismo do gene ADBR2 **Gln27Glu** ($p = 0,007$), ou seja, o grupo controle apresentou o genótipo **Gln27Gln** (45,8%) significativamente maior que o grupo de casos (32,9%), por outro lado, o grupo de casos apresentou o genótipo **Glu27Glu** (24,7%) significativamente maior que o grupo controle (8,4%) (tabela 5).

TABELA 5. Associação entre genótipos ADBR1 e ADBR2 em controles e pacientes.

Gene	Polimorfismo	Genótipo	Controle		Pacientes		<i>p</i> valor
			n	%	n	%	
ADBR1	Arg389Gly	ArgArg	43	51,8	71	48,6	0,11
		ArgGly	37	44,6	58	39,8	
		GlyGly	3	3,6	17	11,6	
	Ser49Gly	SerSer	16	19,3	33	22,6	
		SerGly	42	50,6	64	43,8	
		GlyGly	25	30,1	49	33,6	
ADBR2	Gln27Glu	GlnGln	38	45,8	48	32,9	0,007
		GlnGlu	38	45,8	62	42,4	
		GluGlu	7	8,4	36	24,7	
	Arg16Gly	ArgArg	63	75,9	106	72,6	
		ArgGly	18	21,7	37	25,3	
		GlyGly	2	2,4	3	2,1	

4.7 Análise das variáveis ecocardiográficas e classe funcional em relação aos genótipos.

Observou-se que não existe diferença significativa no delta relativo do AE, VED, VES e FEVE entre os subgrupos de genótipos, ou seja, os diâmetros e a FEVE variam (melhoram) de forma semelhante entre os subgrupos de genótipos. No entanto, a ANOVA para medidas repetidas de dados categóricos (tabela 6), mostrou que existe melhora significativa na CF NYHA apenas do subgrupo ADBR1 Ser49Ser ($p = 0,0001$). Entretanto, não se observou diferença significativa na evolução da CF entre os subgrupos Ser49Ser *versus* Ser49Gly ($p = 0,87$).

TABELA 6. Análise da CF NYHA após seis meses (6m) por subgrupos de genótipos ADBR1 Ser49Gly.

CF	Ser49Ser				Ser49Gly				Gly49Gly			
	admissão		6m		admissão		6m		admissão		6m	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I	28	30,8	42	46,2	14	38,9	18	50,0	1	33,3	1	33,3
II	41	45,1	43	47,3	14	38,9	15	41,7	1	33,3	2	66,7
III/IV	22	24,2	6	6,6	8	22,2	3	8,3	1	33,3	0	0,0
<i>p valor</i> ^a	0,0001				0,11				<i>poucos casos</i>			
<i>p valor</i> ^b					0,87							

^a ANOVA para medidas repetidas no interior de cada subgrupo do genótipo Ser49Gly (efeito do tempo).

^b ANOVA para medidas repetidas entre subgrupos do genótipo Ser49Gly (Ser49Ser *versus* Ser49Gly) (efeito da interação: subgrupo*tempo).

4.8 Regressão Logística

A Análise de Regressão Logística foi realizada para avaliar a influência simultânea das variáveis sobre os desfechos e respostas terapêuticas, desta amostra em estudo.

O processo de seleção dos fatores foi o de “*stepwise*”, ao nível de 5%, o qual seleciona o menor subgrupo de variáveis independentes que melhor explica (ou prediz) os desfechos e respostas terapêuticas.

Inicialmente entraram nos modelos todas as variáveis avaliadas em todos os 140 pacientes: idade, sexo, cor autodeclarada, IMC, PAS, FC, classe funcional NYHA, presença de FA, FEVE admissional, hemoglobina, glicemia, creatinina, ácido úrico, sódio, dose de betabloqueador, genótipos. Em cada modelo, o número total de pacientes variou de acordo com a perda de informação de cada variável.

Nas tabelas 7, 8 e 9 estão as análises de algumas variáveis do estudo em relação a internação hospitalar, óbito e melhora da FEVE $\geq 20\%$, respectivamente.

TABELA 7. Análise das variáveis clínicas e de genótipo ADBR1 e ADBR2 segundo internação hospitalar

Variável	categoria	com internação		sem internação		p valor
		n	%	n	%	
Sexo	masculino	31	67,4	65	69,9	0,76
	feminino	15	32,6	28	30,1	
Cor autodeclarada	não afro	21	45,7	48	51,6	0,50
	afro	25	54,4	45	48,4	
FA	sim	8	17,4	14	15,1	0,72
	não	38	82,6	79	85,0	
NYHA	III / IV	19	41,3	16	17,2	0,002
	I / II	27	58,7	77	82,8	
Hb	alterado	14	30,4	22	24,4	0,45
	normal	32	69,6	68	75,6	
Sódio	< 135	2	4,4	8	8,6	0,30
	>= 135	43	95,6	85	91,4	
Etiologia	isquêmica	20	43,5	44	47,3	0,67
	não isquêmica	26	56,5	49	52,7	
Dose B-bloq	alta	18	50,0	58	67,4	0,070
	baixa	18	50,0	28	32,6	
ADBR1 Arg389Gly	ArgArg	11	23,9	34	36,5	0,31
	ArgGly	21	45,7	37	39,8	
	GlyGly	14	30,4	22	23,7	
ADBR1 Ser49Gly	SerSer	31	67,4	69	74,2	0,57 ^a
	SerGly	13	28,2	23	24,7	
	GlyGly	2	4,4	1	1,1	
ADBR2 Gln27Glu	GlnGln	21	45,7	46	49,5	0,69
	GlnGlu	21	45,6	36	38,7	
	GluGlu	4	8,7	11	11,8	
ABR2 Arg16Gly	ArgArg	11	23,9	21	22,6	0,38
	ArgGly	17	37,0	45	48,4	
	GlyGly	18	39,1	27	29,0	
Idade (anos)	Média ± DP	59,7 ± 14,9		57,7 ± 11,8		0,38
FEVE adm (em %)	média ± DP	35,2 ± 9,7		35,4 ± 9,2		0,94
Sódio (mEq/L)	média ± DP	139,2 ± 3,4		139,2 ± 3,9		0,99

pc: poucos casos < 10 pacientes sem uso de B-Bloq.

^a teste de χ^2 para AA versus AG.

Variáveis numéricas foi aplicado o teste *t* para amostra independentes.

TABELA 8. Análise das variáveis clínicas e de genótipo ADBR1 e ADBR2 segundo **óbito**.

Variável	categoria	óbito		não óbito		p valor
		n	%	n	%	
Sexo	masculino	9	60,0	87	69,6	0,31
	feminino	6	40,0	38	30,4	
Cor autodeclarada	não afro	8	53,3	61	48,8	0,74
	afro	7	46,7	64	51,2	
FA	sim	2	13,3	20	16,0	0,57
	não	13	86,7	105	84,0	
NYHA	III / IV	6	40,0	29	23,2	0,13
	I / II	9	60,0	96	76,8	
Hb	alterado	3	20,0	34	27,9	0,38
	normal	12	80,0	88	72,1	
Sódio	< 135	0	0,0	10	8,0	0,33
	>= 135	14	100,0	115	92,0	
Etiologia	isquêmica	7	46,7	57	45,6	0,93
	não isquêmica	8	53,3	68	54,4	
Dose B-bloq	alta	3	75,0	74	62,2	pc
	baixa	1	25,0	45	37,8	
ADBR1 Arg389Gly	ArgArg	2	13,3	43	34,4	0,24
	ArgGly	9	60,0	50	40,0	
	GlyGly	4	26,7	32	25,6	
ADBR1 Ser49Gly	SerSer	14	93,3	86	68,8	0,048^a
	SerGly	1	6,7	36	28,8	
	GlyGly	0	0,0	3	2,4	
ADBR2 Gln27Glu	GlnGln	7	46,7	61	48,8	0,94
	GlnGlu	6	40,0	51	40,8	
	GluGlu	2	13,3	13	10,4	
ADBR2 Arg16Gly	ArgArg	3	20,0	29	23,2	0,83
	ArgGly	6	40,0	56	44,8	
	GlyGly	6	40,0	40	32,0	
Idade (anos)	média ± DP	61,7 ± 15,3		58,2 ± 12,8		0,31
FEVE adm (em %)	média ± DP	32,2 ± 10,7		35,6 ± 9,1		0,17
Sódio (mEq/L)	média ± DP	139,4 ± 3,8		139,2 ± 3,7		0,84

pc: poucos casos < 10 pacientes sem uso de B-Bloq.

^a teste exato de Fisher para Ser49Ser versus Ser49Gly.

TABELA 9. Análise das variáveis clínicas e de genótipos ADBR1 e ADBR2 segundo **aumento FEVE \geq 20%**.

Variável	categoria	Aumento FEVE \geq 20%		Aumento FEVE < 20%		p valor
		n	%	n	%	
Sexo	masculino	43	74,1	48	67,6	0,41
	feminino	15	25,9	23	32,4	
Cor autodeclarada	não afro	29	50,0	37	52,1	0,81
	afro	29	50,0	34	47,9	
FA	sim	11	19,0	8	11,3	0,22
	não	47	81,0	63	88,7	
NYHA	III / IV	12	20,7	19	26,8	0,42
	I / II	46	79,3	52	73,2	
Hb	alterado	18	31,6	17	24,6	0,38
	normal	39	68,4	52	75,4	
Sódio	< 135	1	1,7	9	12,7	0,019
	\geq 135	57	98,3	62	87,3	
Etiologia	isquêmica	21	36,2	39	54,9	0,034
	não isquêmica	37	63,8	32	45,1	
Dose B-bloq	alta	35	64,8	39	60,9	0,66
	baixa	19	35,2	25	39,1	
ADBR1 Arg389Gly	ArgArg	17	29,3	24	33,8	0,74
	ArgGly	23	39,7	29	40,9	
	GlyGly	18	31,0	18	25,4	
ADBR1 Ser49Gly	SerSer	43	74,1	47	66,2	0,36 ^a
	SerGly	14	24,1	22	31,0	
	GlyGly	1	1,7	2	2,8	
ADBR2 Gln27Glu	GlnGln	30	51,7	29	40,9	0,46
	GlnGlu	22	37,9	33	46,5	
	GluGlu	6	10,3	9	12,7	
ADBR2 Arg16Gly	ArgArg	14	24,1	15	21,1	0,76
	ArgGly	27	46,6	31	43,7	
	GlyGly	17	29,3	25	35,2	
Idade (anos)	média \pm DP	57,4 \pm 13,0		59,4 \pm 13,1		0,39
FEVE adm (em %)	média \pm DP	32,0 \pm 8,9		38,3 \pm 8,4		0,0001
Sódio (mEq/L)	média \pm DP	139,9 \pm 3,5		138,4 \pm 3,8		0,019

pc: poucos casos < 10 pacientes sem uso de B-Bloq.

^a teste de χ^2 para Ser49Ser *versus* Ser49Gly.

As tabelas 10, 11 e 12 fornecem alguns dos parâmetros das variáveis significativas selecionadas pelo método de Regressão Logística para os desfechos e respostas terapêuticas. Os parâmetros são: coeficiente, erro padrão (EP) e nível descritivo (p valor) e o risco relativo (RR) com seu respectivo intervalo de confiança de 95% (IC de 95%).

Analisando as variáveis simultaneamente, segundo a Regressão Logística, observou-se que apenas **CF III/IV** ($p = 0,001$) foi significativa para prever a internação, com risco de 3,9. As demais variáveis não apresentaram *contribuição independente*, ao nível de 5%.

Em relação ao óbito, observou-se que apenas o genótipo **ADBR1 Ser49Ser** ($p = 0,09$) apresentou uma tendência para prever o óbito, ao nível de 10%. As demais variáveis não apresentaram *contribuição independente*, ao nível de 10% (tabela 10). Neste momento, foi utilizado o nível de 10% para fins de exploração analítica.

TABELA 10. Regressão Logística para o desfecho óbito:

Variável significativa	coeficiente	EP	p valor	RR	IC de 95%
ADBR1 Ser49Ser	1,7682	1,0540	0,093	5,86	0,74 - 46,2

Analisando as variáveis simultaneamente, segundo a Regressão Logística, observou-se que apenas a **FEVE menor** ($p = 0,034$) foi significativa para prever a melhora do $AE \geq 5\%$, ou seja quanto menor a FEVE maior a proporção de melhora $AE \geq 5\%$ (relação inversa). As demais variáveis não apresentaram *contribuição independente*, ao nível de 5%.

A dose B-bloq alta ($p = 0,016$) e **sexo feminino** ($p = 0,037$) foram significativos para prever redução do $VED \geq 5\%$.

A **ausência de sódio < 135** ($p = 0,046$) e **ausência de etiologia isquêmica** ($p = 0,042$) foram significativas para prever aumento da $FE \geq 20\%$ (tabela 11).

TABELA 11. Regressão Logística para a resposta aumento FEVE $\geq 20\%$.

Variável significativa	coeficiente	EP	<i>p</i> valor	RR	IC de 95%
Sódio < 135	-2,1560	1,0780	0,046	0,12	0,01 - 0,96
Etiologia isquêmica	-0,7597	0,3743	0,042	0,47	0,22 - 0,97

Foi avaliada a influência simultânea das variáveis sobre os desfechos e respostas terapêuticas, desta amostra em estudo. As variáveis consideradas nesta análise foram uso de **IECA ou ARAII e Espironolactona**.

Analisando as variáveis simultaneamente, segundo a Regressão Logística, observou-se que apenas o uso de **espironolactona** ($p = 0,031$) foi significativo para predizer a melhora na CF NYHA (tabela 12).

TABELA 12. Regressão Logística para a melhora da CF NYHA.

Variável significativa	coeficiente	EP	<i>p</i> valor	RR	IC de 95%
Espironolactona	0,8334	0,3872	0,031	2,30	1,08 - 4,91

Não existe mudança na Análise de Regressão Logística para as outras respostas terapêuticas com a inclusão do IECA/ARAII e espironolactona.

A frequência de IECA ou ARAII na amostra em estudo é de 93,8% ($n = 137$), talvez justifique a perda de significância na influência das respostas terapêuticas (quase todos fizeram uso, independente da resposta).

4.9 Análise dos desfechos em relação à frequência alélica

Não foi encontrada significância estatística na análise da relação entre a melhora ecocardiográfica $> 20\%$ e as frequências alélicas dos diferentes polimorfismos dos receptores beta-adrenérgicos.

Na análise dos desfechos clínicos e o polimorfismo ADBR1 Arg389Gly, observou-se, que segundo o teste de χ^2 , não existe associação significativa ($p = 0,065$) entre óbito após 12 meses e frequência alélica Arg/Gly, ao nível de 5%. Porém, segundo o teste exato de

Fisher, observou-se que os pacientes que morreram apresentaram frequência alélica **Gly389** (61,1%) significativamente maior que o grupo que não morreu (44,7%), com $p = 0,047$.

Adicionalmente e reforçando o primeiro achado, observou-se, que os pacientes com internação após 12 meses apresentaram frequência alélica **Gly389** (54,9%) significativamente maior que o grupo sem internação após 12 meses (42,1%), com $p = 0,039$.

Quando avaliado o polimorfismo ADBR1 Ser49Gly, verificamos uma tendência ao óbito, ao nível de 10%, dentre aqueles pacientes portadores do alelo Ser49, com $p=0,081$.

A avaliação dos polimorfismos do gene ADBR2 não mostrou diferença estatisticamente significativa para a análise dos desfechos clínicos e frequência alélica.

4.10 Avaliação da sobrevida ou livre de eventos em relação aos polimorfismos dos genes ADBR1 e ADBR2

A estatística de *log-rank* foi aplicada para verificar se existe diferença significativa na curva estratificada pelo polimorfismo ADBR1 Ser49Gly e Arg389Gly.

Observou-se que não existe diferença significativa ($p = 0,085$) na sobrevida entre os dois subgrupos do ADBr1 Ser49Gly [Ser49Ser (AA) *versus* Ser49Gly + Gly49Gly (AG+GG)]. Podemos dizer que existe uma tendência do subgrupo com genótipo Ser49Ser apresentar sobrevida menor que o subgrupo com genótipo não Ser49Ser (figura 8).

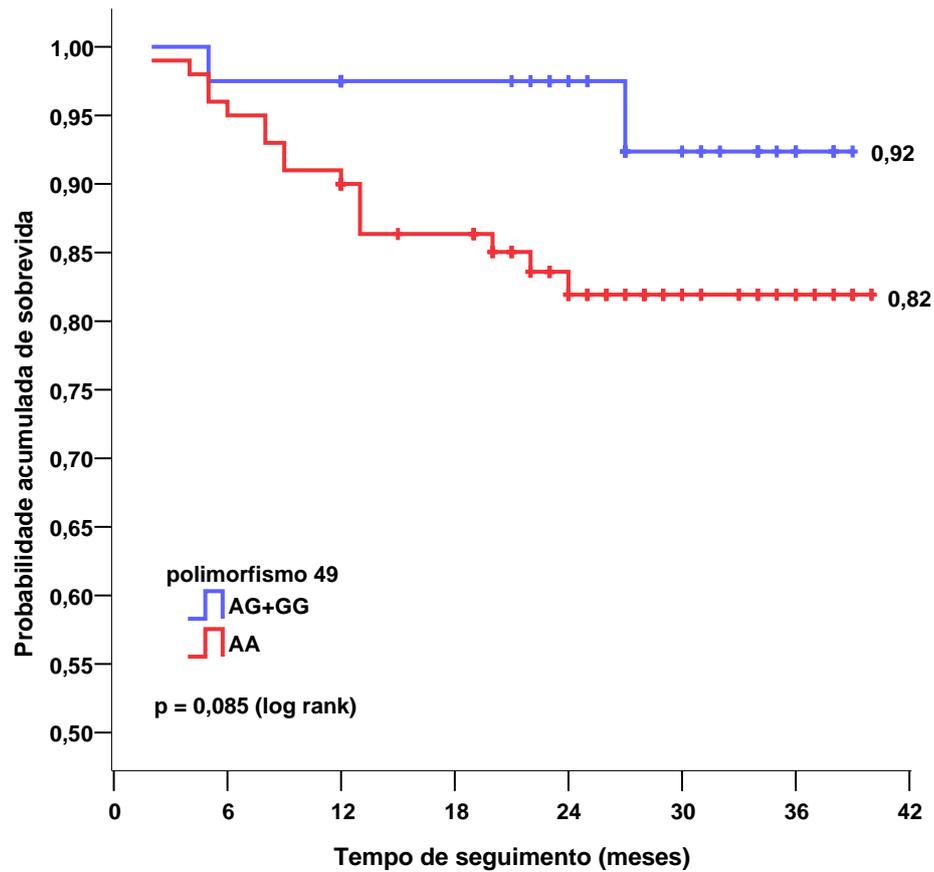


FIGURA 8.
Curva de sobrevivida estratificada pelo polimorfismo ADBR1 Ser49Gly.
(AG+GG = Ser49Gly + Gly49Gly/ AA= Ser49Ser).

A figura 9 demonstra que existe diferença significativa ($p = 0,054$) na sobrevivida entre os dois subgrupos de polimorfismo ADBR1 Arg389Gly (Gly389Gly + Arg389Gly *versus* Arg389Arg). O subgrupo com a presença do alelo Gly389 apresentou sobrevivida menor que o subgrupo sem alelo Gly389 (Arg389Arg).

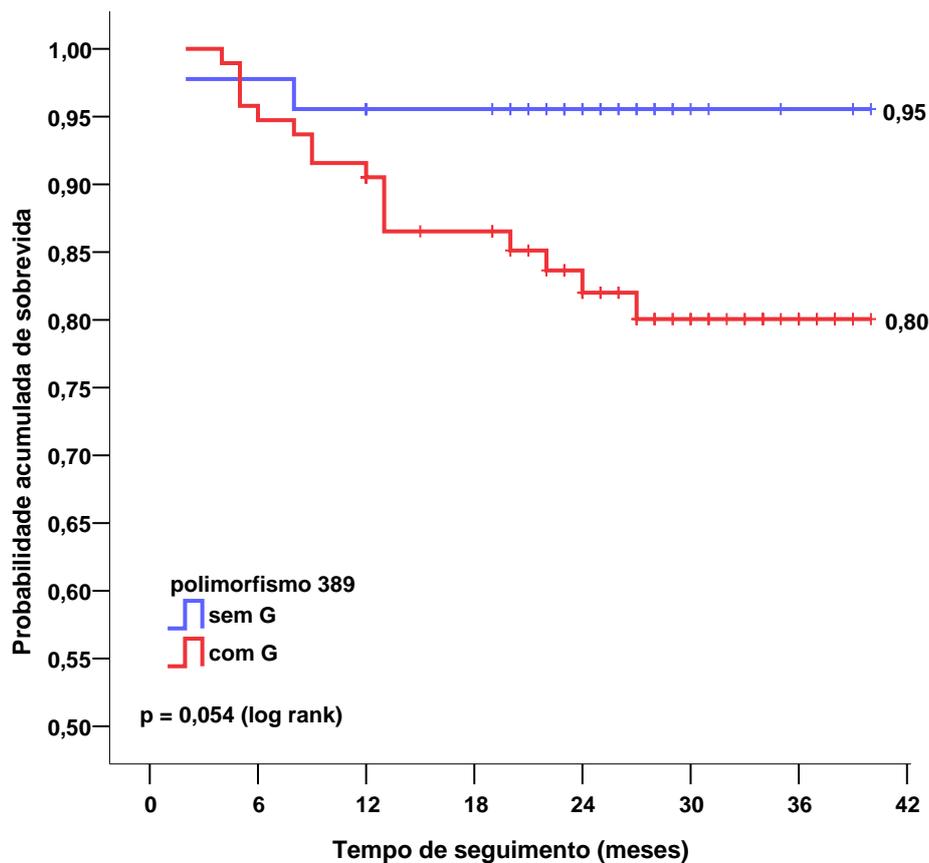


FIGURA 9.
Curva de sobrevida estratificada pelo polimorfismo ADBR1 Arg389Gly.
(Sem G=Arg389Arg Com G= Gly389Gly + Arg389Gly).

Não houve diferença significativa na avaliação dos polimorfismos estudados para o gene ADBR2 e a sobrevida livre de eventos.

4.11 Avaliação da sobrevida em relação aos polimorfismos dos receptores beta adrenérgicos e a cor autodeclarada

Na análise do desfecho internação hospitalar em relação aos polimorfismos dos receptores beta-adrenérgicos, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos. No entanto, na análise da sobrevida, quanto aos óbitos, foi observado, conforme a figura 10 que os pacientes autodeclarados afro-brasileiros e homozigotos ADBR1 Ser49Ser apresentaram menor sobrevida quando comparados aos homozigotos Gly49Gly e heterozigotos Ser49Gly ($p=0,03$). Não foi observada esta diferença entre os pacientes autodeclarados não afro-brasileiros ($p=0,92$).

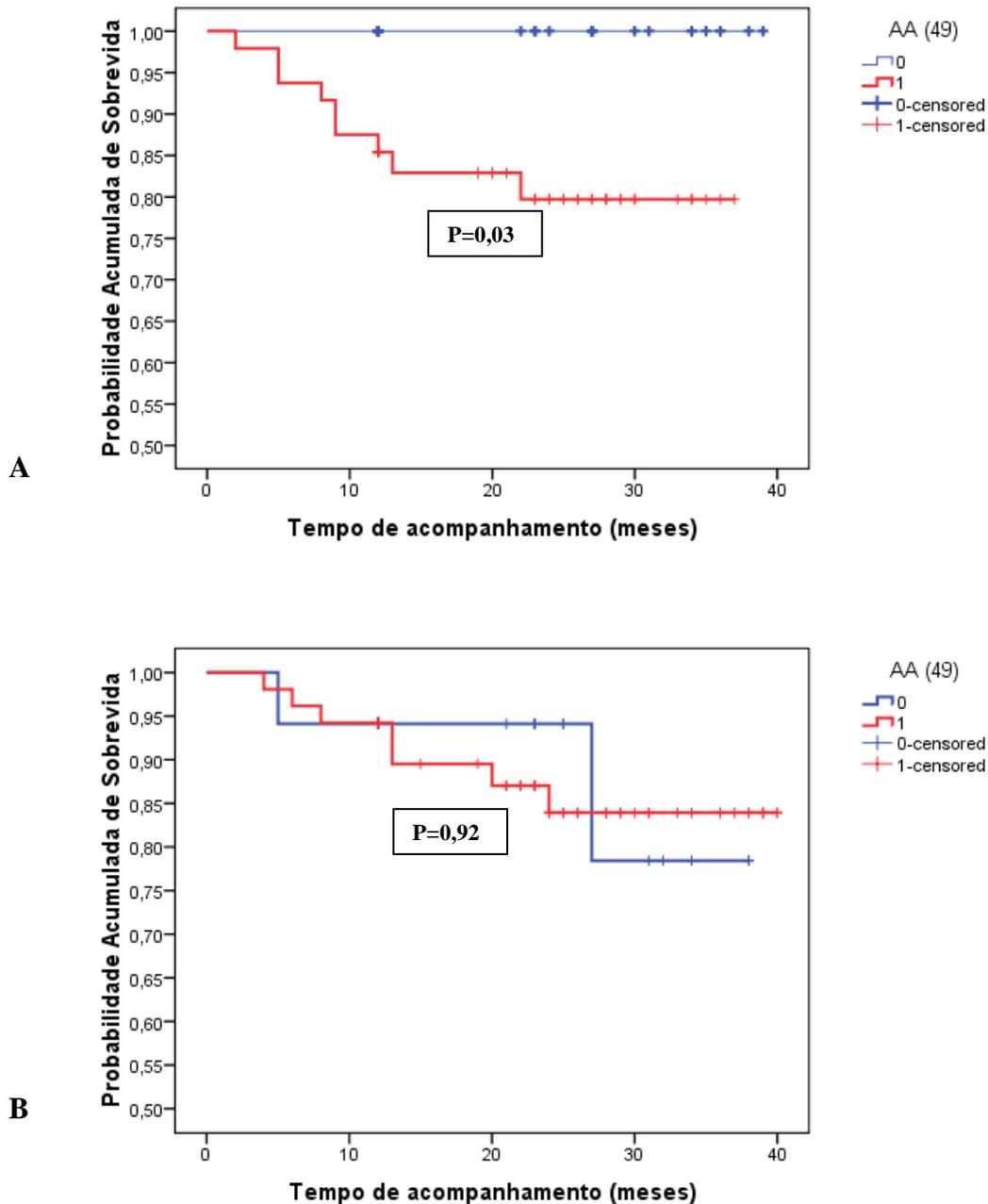


FIGURA 10.

Probabilidade acumulada de sobrevida segundo o polimorfismo
ADBR1 Ser49Gly e a cor autodeclarada.

(Ser49Ser (AA) = 1/ Ser49Gly (AG) + Gly49Gly (GG)=0). A= Afro-brasileiros B= Não afro-brasileiros

Na análise para o polimorfismo Arg389Gly, encontramos uma tendência ao óbito entre os pacientes autodeclarados afro-brasileiros e com presença de 1 ou 2 alelos Gly389 ($p=0,06$), sendo que o mesmo fato não foi observado entre os pacientes autodeclarados não afro-brasileiros (figura 11).

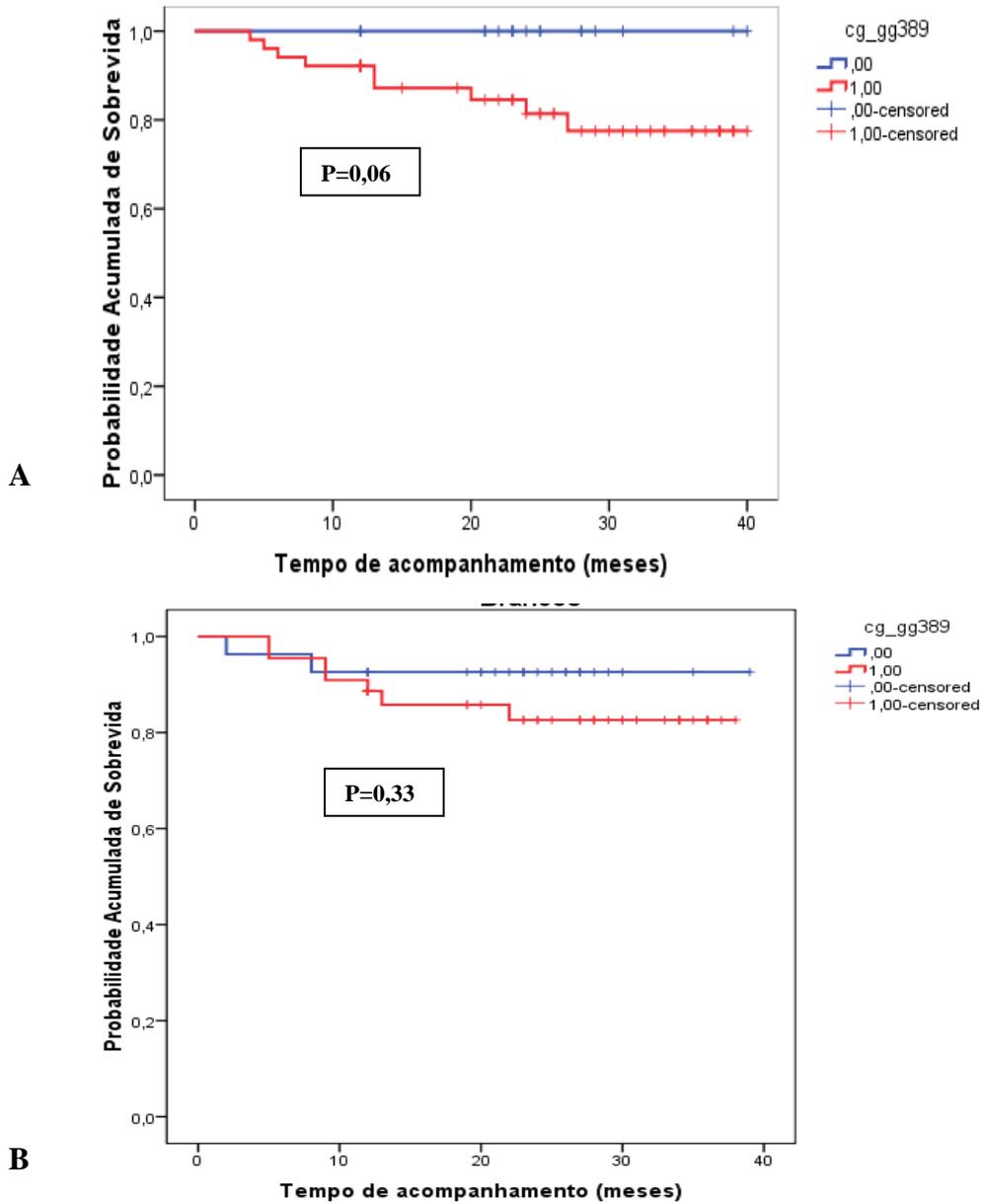


FIGURA 11.
 Probabilidade acumulada de sobrevida segundo o polimorfismo
 ADBR1 Arg389Gly e a cor autodeclarada.
 (Arg389Gly (CG) + Gly389Gly (GG)= 1/ Arg389Arg (CC) =0). A= Afro-brasileiros B= Não afro-brasileiros.

5. DISCUSSÃO

Na avaliação clínica dos pacientes estudados foi possível observar o impacto do tratamento especializado para IC na otimização da terapia medicamentosa com consequente melhora da classe funcional, FEVE e sobrevida, o que é concordante com as evidências atuais. Estas têm demonstrado que o acompanhamento dos pacientes nas clínicas de IC melhora a adesão ao tratamento farmacológico e não farmacológico, determina melhor otimização da terapêutica, diminui o número de hospitalizações relacionadas diretamente à doença, com consequências diretas na qualidade de vida. Quanto à mortalidade total, os dados ainda são menos consistentes.⁵⁷

Quanto ao perfil dos pacientes portadores de IC, nota-se mudança nos últimos anos. Uma pesquisa realizada na atenção primária - Programa Médico de Família - da cidade de Niterói, encontrou elevada prevalência de síndrome metabólica em pacientes com IC⁵⁸. No presente estudo encontram-se níveis elevados de IMC entre os indivíduos estudados, com média de 25, comprovando a mudança do perfil nutricional.

Embora a doença arterial coronariana e HAS têm sido tradicionalmente considerados um dos mais importantes fatores de risco modificáveis para o desenvolvimento da IC, estudos recentes têm destacado a importância de fatores de risco metabólicos cada vez mais prevalentes: glicemia, diabetes, obesidade e síndrome metabólica. Dados do estudo de Framingham mostraram, com base na análise de 5881 pessoas, com média de idade de 55 anos, sendo 54% mulheres, que o aumento do IMC em uma unidade aumentaria o risco de apresentar IC em 5% para os homens e em 7% para as mulheres.⁵⁹

Se a obesidade é um fator de risco para o desenvolvimento da IC, é interessante, entretanto, notar que ela confere uma possível proteção quanto à mortalidade aos pacientes portadores de IC, como demonstrado por Horwich e cols.⁶⁰

Diferentemente, a hiponatremia no paciente portador de IC confere risco adicional na mortalidade. Um estudo com pacientes com IC e sódio sérico menor ou igual a 135mEq/L evidenciou um aumento de óbito em pacientes hospitalizados.

A atividade da renina apresenta relação linear inversa com a concentração plasmática de sódio, de modo que a presença de hiponatremia identifica um grupo de indivíduos com grande ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona.⁶¹ Assim, pacientes com as duas condições associadas (IC e hiponatremia) têm predisposição a níveis elevados de renina, angiotensina II, aldosterona, vasopressina circulantes, além de catecolaminas.⁶²

Este fato poderia justificar, no presente estudo, que a ausência de sódio < 135 esteve associada ao aumento da FEVE >20%, assim como a presença da cardiopatia não isquêmica. Outros estudos têm mostrado que a terapia com betabloqueador aumenta significativamente mais a FEVE em pacientes com cardiomiopatia idiopática do que naqueles com etiologia isquêmica, corroborando os achados.^{63,64,65}

Em relação à genética, para um considerável número de doenças cardiovasculares foi proposto que tanto a susceptibilidade à doença, quanto a variabilidade “interindividual” em relação ao tratamento se relacionavam, em parte, aos polimorfismos genéticos, particularmente àqueles polimorfismos relacionados a receptores de neurotransmissores.

O papel central do sistema nervoso simpático e de seus receptores na IC torna os polimorfismos genéticos destes receptores fortes candidatos a fatores de risco e preditores de resposta ao tratamento da IC.

Os estudos de prevalência alélica nas diferentes populações demonstram que para o polimorfismo ADBR1 Arg389Gly, a frequência alélica do Arg389 é maior do que para o Gly389, 70% e 30% respectivamente. Como há variação entre as diversas etnias, foi observada maior frequência para o alelo Gly389 em afro-americanos (42%) em comparação aos caucasianos (27%).⁶⁶ Na amostra estudada do grupo 2 (controle) encontrou-se distribuição semelhante aos caucasianos, com 26% para a frequência alélica do Gly389. O mesmo fato

ocorreu para a frequência alélica do polimorfismo do gene ADBR2 Gln27Glu, onde a frequência do alelo Glu27 é 35% em caucasianos e o achado neste estudo foi de 31,3%.

No que diz respeito às distribuições alélicas dos polimorfismos do gene ADBR1 Ser49Gly e do ADBR2 Arg16Gly em indivíduos saudáveis, encontrou-se nesta população as frequências para os alelos Gly49 (55,4%) e Arg16 (86,7%) significativamente maior do que o encontrado em outras populações de diferentes etnias.^{12,22,67}

Quanto à investigação dos polimorfismos do gene ADBR1 e risco para desenvolvimento de IC, não foi encontrada associação entre os polimorfismos Arg389Gly e Ser49Gly e suscetibilidade para IC. O mesmo achado já havia sido demonstrado para o polimorfismo Arg389Gly por Small e cols.⁶⁸ na avaliação de 159 pacientes com IC (isquêmica e idiopática) e 189 controles; e por Tesson e cols.⁶⁹ em 426 portadores de cardiomiopatia dilatada idiopática. Para o polimorfismo Ser49Gly, Borjesson e cols.³² concluíram que a prevalência do Ser49Gly foi similar em 184 pacientes com IC idiopática e 77 controles. No entanto, Podlowski S e cols.¹⁵, observaram que a presença do alelo Gly49 foi mais prevalente em pacientes com cardiomiopatia idiopática.

Em relação à suscetibilidade para a IC e os polimorfismos do gene ADBR2, Liggett e cols.⁴⁸ estudaram a influência destes em 259 pacientes com IC idiopática ou isquêmica e concluíram que os polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu não estiveram associados com o risco do desenvolvimento de IC ou com o prognóstico, assim como a conclusão de outros estudos que fizeram esta análise. Já Forleo e cols.⁴³, ao analisarem haplótipos, concluíram que pacientes Gly16Glu27 com miocardiopatia dilatada apresentavam maior risco de desenvolver IC.

Nesta população encontrou-se maior prevalência do genótipo Glu27Glu entre os portadores de IC em comparação com os voluntários sadios. O mesmo fato foi encontrado por Mogara e cols.⁷⁰ em estudo realizado em população latino-americana, onde a presença do alelo Glu foi considerado possível preditor de risco para IC.

Não existem na literatura estudos brasileiros que analisassem a prevalência dos polimorfismos do gene ADBR2 na IC. Mas, em relação à HAS, estudos em outras populações apontam para uma maior suscetibilidade em desenvolver HAS nos portadores do alelo Glu27. Bray e cols.⁷¹ evidenciaram frequências mais altas para os alelos Gly16 e Glu27 em

hipertensos do que em normotensos e o odds ratio para a ocorrência de hipertensão foi de 1.80 ($p=0,023$) para o alelo Glu27. Assim, como temos uma prevalência de 74% de HAS entre os indivíduos portadores de IC, poder-se-ia atribuir à maior prevalência do genótipo Glu27Glu a esta comorbidade e não diretamente à IC.

Quanto ao remodelamento reverso em pacientes com IC e os polimorfismos dos receptores beta-adrenérgicos, os estudos são controversos. Embora alguns tenham mostrado que a melhora da FEVE e redução de diâmetros cavitários com o uso do betabloqueador esteja associado à presença do alelo Arg389, subestudos como o MERITH não encontrou associação desses polimorfismos com o remodelamento reverso. Outros estudos associaram a melhora da FEVE com a presença do alelo Gly49 e Glu27, no entanto não confirmado por estudos maiores.^{30,31}

Nesta população não se encontrou associação de nenhum dos polimorfismos estudados, tanto na avaliação dos genótipos quanto da frequência alélica, com a melhora da FEVE após seis meses de tratamento com carvedilol.

Quanto à avaliação do prognóstico e os polimorfismos do gene ADBR1, o subestudo BEST, na análise de 1040 pacientes para o polimorfismo Arg389Gly, demonstrou que aqueles homozigotos Arg389 e tratados com buncidolol, obtiveram redução significativa da mortalidade comparada com placebo, enquanto não houve diferença na mesma avaliação para os homozigotos Gly389.³⁴ A partir deste estudo, foi liberado pelo FDA o uso deste teste genético para pacientes com IC.

Uma análise retrospectiva, envolvendo 375 pacientes com cardiomiopatia dilatada, recebendo betabloqueador e 492 controle, revelou significativa associação entre sobrevida e o polimorfismo Ser49Gly, com a variante Ser49 associada à redução de sobrevida em cinco anos. No entanto, este estudo foi limitado por pacientes com IC com FEVE preservada e dado não especificado quanto ao betabloqueador usado no estudo.³³ No presente estudo, quanto à avaliação do prognóstico em relação aos desfechos óbito e internação hospitalar, em um tempo médio de 23 meses, observou-se menor sobrevida nos portadores do alelo Gly389 e tendência ao óbito para aqueles que possuíam o genótipo Ser49Ser.

Diferenças raciais em indicadores de nível socioeconômico não conseguem explicar totalmente o excesso de mortes na população de raça negra, comparativamente à população de

raça branca, particularmente mortes por doença cardiovascular e complicações como a insuficiência cardíaca. Este achado tem reforçado a idéia de que parte das diferenças raciais em eventos cardiovasculares são mediadas por fatores genéticos que determinam a gravidade da doença e resposta a medicamentos específicos⁷².

Na análise da sobrevida e o polimorfismo Ser49Gly quanto à cor autodeclarada, observou-se que os pacientes afro-brasileiros e homocigotos Ser49Ser apresentaram pior sobrevida em relação aos não afro-brasileiros com o mesmo genótipo. Isso corrobora a interação gene-etnia-resposta medicamentosa que já havia sido descrita em relação ao polimorfismo da óxido nítrico sintetase e a resposta favorável a associação nitrato-hidralazina na IC em afro-americanos. Resultados do Genetic Risk Assessment of Heart Failure Study (GRAHF) sugeriram que as variações genéticas para a enzima óxido nítrico sintetase 3 influencia a progressão para a IC e pode impactar na eficácia terapêutica da associação nitrato-hidralazina.⁷³

Os estudos são controversos em relação à resposta ao betabloqueador de acordo com a etnia. O estudo BEST revelou um aumento de 18% na sobrevida para não afro-americanos ($p=0,01$) *versus* 17% na redução da sobrevida de afro-americanos ($p=0,27$) com o uso do bucindolol comparado com placebo.⁷⁴ Já os estudos US Carvedilol e COPERNICUS não mostraram diferença na resposta medicamentosa favorável ao beta-bloqueador em relação a ser ou não afro-americano.^{75,76}

É válido lembrar que os estudos realizados para avaliação da eficácia do beta-bloqueador na IC incluíram um número significativamente menor de afro-americanos, o que pode comprometer a análise da resposta medicamentosa segundo a etnia. Além do mais, nenhum dos estudos foi desenvolvido especificamente para testar se existia diferença na resposta terapêutica entre os grupos étnicos, sendo as comparações feitas através de análises de subgrupos, não participando do desenho original do estudo.

Outro fato que deve ser levado em conta são as diferentes ações farmacológicas dos beta-bloqueadores. O carvedilol é um antagonista neuro-hormonal de ação múltipla, com propriedade betabloqueadora não seletiva e alfabloqueadora. Não possui atividade simpaticomimética intrínseca, mas propriedade estabilizadora de membrana e potente ação antioxidante e neutralizador de radicais de oxigênio, o que pode justificar melhor em afro-americanos. Já o bucindolol também não-seletivo, possui propriedade vasodilatadora leve.⁷⁷

Finalmente, diferenças étnicas na resposta medicamentosa podem ser decorrentes de diferenças genéticas e ambientais dos indivíduos, assim como, da própria patogênese da doença. As diferenças genéticas entre grupos étnicos, por sua vez, decorrem das diversidades na distribuição de polimorfismos que estão relacionados tanto a enzimas responsáveis pelo metabolismo de fármacos bem como aos receptores dessas medicações. Por exemplo, afro-americanos e africanos têm uma alta frequência do alelo CYP2D6, que codifica uma enzima deficiente. Esse alelo é virtualmente ausente em brancos e asiáticos. Isto é particularmente interessante no que se concerne a resposta ao carvedilol em negros, pois CYP2D6 é responsável pelo metabolismo de um dos isômeros deste medicamento, podendo contribuir na eficácia e toxicidade deste, de acordo com o genótipo.⁷⁸

Validações prospectivas do impacto preditivo das variações genéticas são necessárias antes da implementação rotineira de tratamentos geneticamente individualizados.

6. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Alguns resultados do presente estudo podem ter sido influenciados pelo número amostral reduzido para uma avaliação genética ideal, limitando inclusive a avaliação dos haplótipos.

Aspectos sócio-econômicos podem interagir com fatores genéticos e interferir nos desfechos da IC. Os achados neste estudo, onde apenas pacientes da rede pública foram estudados podem impedir que os dados sejam reproduzidos em outras populações.

7. CONCLUSÕES

Baseados nos resultados obtidos, concluiu-se que:

- Pacientes com IC, sob terapia betabloqueadora e portadores do alelo Gly389 do polimorfismo para o gene ADBR1 Arg389Gly apresentam pior evolução, com redução da sobrevida livre de eventos em comparação àqueles portadores do alelo Arg389, na população estudada.
- Pacientes com IC, tratados com carvedilol, afro-brasileiros e homozigotos para Ser49Ser apresentam sobrevida reduzida em relação aos pacientes não afro-brasileiros com o mesmo genótipo.
- Na amostra estudada, não houve associação dos polimorfismos estudados para os genes ADBR1 (Arg389Gly, Ser49Gly) e ADBR2 (Gln27Glu, Arg16Gly) e o remodelamento cardíaco reverso com a terapia betabloqueadora.
- O genótipo ADBR2 Glu27Glu apresentou maior prevalência no grupo de pacientes com IC quando comparado ao grupo controle.
- A ausência de sódio baixo e de etiologia isquêmica predisse melhora da FEVE > que 20%.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- ¹ El Armouche A, Eschenhagen T. β -Adrenergic stimulation and myocardial function in the failing heart. *Heart Fail Rev* 2009; 14:225-241.
 - ² Cohn, JN, Levine TB, Olivari MT. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med* 1984; 311: 819.
 - ³ Bristow MR, Hershberger RE, Port JD, et al. Beta-adrenergic pathways in nonfailing and failing human ventricular myocardium. *Circulation* 1990; 82(2 Suppl):I12-25.
 - ⁴ Atala MM, Consolim-Colombo FM. Influência dos polimorfismos dos genes dos receptores b-adrenérgicos na regulação cardiovascular e no desenvolvimento das doenças cardiovasculares. *Rev Bras Hipertens* 2007;14(4):258-64.
 - ⁵ Neto MA, Rascado RR, Bendhack LM. Receptores b-adrenérgicos no sistema cardiovascular. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2006; 39(1):3-12.
 - ⁶ Vatner DE, Asai K, Iwase M, et al. Beta-adrenergic receptor-G protein-adenylyl cyclase signal transduction in the failing heart. *Am J Cardiol* 1999; 83(12A):80H-85H.
 - ⁷ Bristow MR. Beta-adrenergic receptor blockade in chronic heart failure. *Circulation* 2000;101:558-69.
 - ⁸ Libby P, Bonow RO, Zipes DP, Mann DL. Braunwald's Heart Disease: a Textbook of Cardiovascular Medicine, 8ª ed. Saunders; 2007.
 - ⁹ Bristow MR. Pathophysiologic and pharmacologic rationales for clinical management of chronic heart failure with beta-blocking agents. *Am J Cardiol* 1993; 71:12C-22C.
 - ¹⁰ Silke B. Beta-blockade in CHF: pathophysiological considerations. *Eur Heart J Suppl* 2006; 8 (C):C13–C18.
 - ¹¹ de Figueiredo Neto JA, Mady C, Grupi C. Efeitos do Tartarato de Metoprolol em pacientes portadores de insuficiência cardíaca. *Arq. Bras. Cardiol* 2006; 87(3):329-35.
 - ¹² McNamara DM. Emerging role of pharmacogenomics in heart failure. *Curr Opin Cardiol.* 2008; 23(3):261-8.
 - ¹³ Lohse MJ. Beta-adrenoceptor polymorphisms and heart failure. *Trends Mol Med* 2004;10:55-8.
 - ¹⁴ Fu C, Wang H, Wang S, et al. Association of beta (1)-adrenergic receptor gene polymorphisms with left ventricular hypertrophy in human essential hypertension. *Clin Biochem* 2008;41(10-11):773-8.
 - ¹⁵ Podlowski S, Wenzel K, Luther HP, et al. Beta1-adrenoceptor gene variations: a role in idiopathic dilated cardiomyopathy? *J Mol Med* 2000;78(2):87–93.
 - ¹⁶ Sandilands AJ, O'Shaughnessy KM. The functional significance of genetic variation within the β 1-adrenoceptor. *Br J Clin Pharmacol* 2005; 60(3): 235–43.

-
- ¹⁷Taylor MR. Pharmacogenetics of the human beta-adrenergic receptors. *Pharmacogenomics J* 2007;7(1):29-37.
- ¹⁸Muthumala A, Drenos F, Elliott PM, et al. Role of β adrenergic receptor polymorphisms in heart failure: Systematic review and meta-analysis. *Eur J Heart Fail* 2008;10(1):3-13.
- ¹⁹Mason DA, Moore JD, Green SA, et al. A gain-of-function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human beta1- adrenergic receptor. *J Biol Chem* 1999; 274:12670-74.
- ²⁰Johnson JA, Terra SG. Beta-adrenergic receptor polymorphisms: cardiovascular disease associations and pharmacogenetics. *Pharm Res* 2002;19(12):1779-87.
- ²¹Rathz DA, Brown KM, Kramer LA, et al. Amino acid 49 polymorphisms of the human beta(1)-adrenergic receptor affect agonist promoted trafficking. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002;39:155–60.
- ²²Moore JD, Mason DA, Green SA, et al. Racial differences in the frequencies of cardiac beta(1)-adrenergic receptor polymorphisms: analysis of c145A>G and c1165G>C. *Hum Mutat* 1999;19;14(3):271.
- ²³Rathz DA, Gregory KN, Fang Y, et al. Hierarchy of polymorphic variation and desensitization permutations relative to beta(1)- and beta(2)-adrenergic receptor signaling. *J Biol Chem* 2003;278:10784–9.
- ²⁴Biolo A, Rosa AS, Mazzotti NG, et al. The role of adrenergic receptor polymorphisms in heart failure. *Braz J Med Biol Res* 2006;39(10): 1281-90.
- ²⁵Levin MC, Marullo S, Muntaner O, et al. The myocardium protective Gly-49 variant of the beta 1-adrenergic receptor exhibits constitutive activity and increased desensitization and down-regulation. *J Biol Chem* 2002; 277: 30429-30435.
- ²⁶Brodde OE. β -1 and β -2 adrenoceptor polymorphisms: Functional importance, impact on cardiovascular diseases and drug responses. *Pharmacol Ther* 2008;117(1):1-29.
- ²⁷Wagoner LE, Craft LL, Singh B, et al. Polymorphisms of the β 2-adrenergic receptor determine exercise capacity in patients with heart failure. *Circ Res* 2000;86; 834–40.
- ²⁸Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet* 1999;353:2001-7.
- ²⁹Terra SG, Pauly DF, Lee CR, et al. β -Adrenergic receptor polymorphisms and responses during titration of metoprolol controlled release/extended release in heart failure. *Clin Pharmacol Ther* 2005;77:127–37.
- ³⁰Terra SG, Hamilton KK, Pauly DF, et al. β 1-Adenergetic receptor polymorphisms and left ventricular remodeling changes in response to β -blocker therapy. *Pharmacogenet Genom* 2005; 15:227–34.
- ³¹White HL, de Boer RA, Maqbool A, et al. An evaluation of the beta-1 adrenergic receptor Arg389Gly polymorphism in individuals with heart failure: a MERIT-HF sub-study. *Eur J Heart Fail* 2003;5(4):463-8.
- ³²Börjesson M, Magnusson Y, Hjalmarson A, et al. A novel polymorphism in the gen coding for the beta1-adrenergic receptor associated with survival in patients with heart failure. *Eur Heart J* 2000;21:1853–58.

-
- ³³ Magnusson Y, Levin MC, Eggertsen R, et al. Ser49Gly of β 1-adrenergic receptor is associated with effective β -blocker dose in dilated cardiomyopathy. *Clin Pharmacol Ther* 2005;78:221–31.
- ³⁴ Liggett SB, Mialet-Perez J, Thaneemit-Chen S, et al. A polymorphism within a conserved beta1adrenergic receptor motif alters cardiac function and betablocker response in human heart failure. *PNAS* 2006;103:11288–93.
- ³⁵ Green SA, Turki J, Innis M, Liggett SB. Amino-terminal polymorphisms of the human beta 2-adrenergic receptor impart distinct agonist promoted regulatory properties. *Biochemistry* 1994; 33: 9414-19.
- ³⁶ Leineweber K, Büscher R, Bruck H, et al. Beta-adrenoceptor polymorphisms. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004;369(1):1-22.
- ³⁷ Bruck H, Leineweber K, Buscher R, et al. The Gln27Glu β 2 adrenoceptor polymorphism slows the onset of desensitization of cardiac functional responses in vivo. *Pharmacogenetics* 2003;13:59–66.
- ³⁸ Bruck H, Leineweber K, Ulrich A, et al. The Thr164Ile polymorphism of the human β 2-adrenoceptor exhibits blunted desensitization of cardiac functional responses in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285:H2034–H2038.
- ³⁹ Bruck H, Leineweber K, Park J, et al. Human beta2-adrenergic receptor gen haplotypes and venodilation in vivo. *Clin Pharmacol Ther* 2005;78:232–38.
- ⁴⁰ Dishy V, Sofowora GG, Xie HG, et al. The effect of common polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor on agonist-mediated vascular desensitization. *N Engl J Med* 2001; 345:1030–35.
- ⁴¹ Liggett SB. Beta(2)-adrenergic receptor pharmacogenetics. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(3 Part 2): S197–S201.
- ⁴² Heckbert SR, Hindorff LA, Edwards KL, et al. β 2-Adrenergic receptor polymorphism and risk of incident cardiovascular events in the elderly. *Circulation* 2003;107:2021–24.
- ⁴³ Forleo C, Resta N, Sorrentino S, et al. Association of β -adrenergic receptor polymorphisms and progression of heart failure in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Med* 2004; 117: 451–58.
- ⁴⁴ Covolo L, Gelatti U, Metra M, et al. Role of beta1- and beta2-adrenoceptor polymorphisms in heart failure: a case-control study. *Eur Heart J* 2004;25(17):1534-41.
- ⁴⁵ Kayne DM, Smirk B, Williams C, et al. β -Adrenoceptor genotype influences the response to carvedilol in patients with congestive heart failure. *Pharmacogenetics* 2003; 13:379–82.
- ⁴⁶ Metra M, Nodari S, Pezzali N, et al. Beta-2 adrenergic receptors polymorphisms influence the effects of carvedilol in the patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2007; 6(Suppl 1), 100 (abstr).
- ⁴⁷ De Groot P, Lamblin N, Helbecque N, et al. The impact of beta-adrenoreceptor gen polymorphisms on survival in patients with congestive heart failure. *Eur J Heart Fail* 2005;7:966–73.
- ⁴⁸ Shin J, Lobmeyer MT, Gong Y, et al. Relation of beta(2)-adrenoceptor haplotype to risk of death and heart transplantation in patients with heart failure. *Am J Cardiol* 2007 Jan 15;99(2):250-5. Epub 2006 Nov 21.

-
- ⁴⁹ Liggett SB, Wagoner LE, Craft LL, et al. The Ile164 beta2-adrenergic receptor polymorphism adversely affects the outcome of congestive heart failure. *J Clin Invest* 1998; 102: 1534-1539.
- ⁵⁰ II Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica. *Arq Bras Cardiol* 2002
- ⁵¹ Sociedade Brasileira de Diabetes. Consenso Brasileiro sobre Diabetes 2002. Diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito tipo 2. São Paulo; 2003.
- ⁵² Van Biesen W, Vanholder R, and Lameire N. Defining Acute Renal Failure: RIFLE and Beyond. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:1313-1319.
- ⁵³ III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretriz da Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq.Bras.Cardiol* Volume 77, Suplemento III, 2001.
- ⁵⁴ Maqbool A, Hall A, Ball S, Balmforth A. Common polymorphisms of beta-adrenoceptor: Identification and rapid screening assay. *Lancet* 1999; 353:897.
- ⁵⁵ Large V, Hellstrom L, Reynisdottir S, et al. Human Beta-2 Adrenoceptor Gen Polymorphisms are highly frequent in obesity and associate with altered adipocyte beta-2 adrenoceptor function. *J. Clin. Invest* 1997; 100 (12):3005-3013.
- ⁵⁶ Stanish, W.M. and Koch, G.G., "The use of CATMOD for Repeated Measurent Analysis of Categorical Data," Proceedings of the Ninth Annual SAS Users Group International Conference 1984, Cary, NC: SAS Institute, Inc.
- ⁵⁷ Bocchi EA, Marcondes-Braga FG, Ayub-Ferreira SM, et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica. *Arq Bras Cardiol* 2009; 93(1 supl.1): 1-71.
- ⁵⁸ Coelho FAC, Moutinho MAE, Miranda V. Associação da síndrome metabólica e seus componentes na insuficiência cardíaca encaminhada da atenção primária. *Arq Bras Cardiol* 2007;89(1):42-51.
- ⁵⁹ Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, et al. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347: 305-13.
- ⁶⁰ Horwich TB, Fonarow GC. Glucose, obesity, metabolic syndrome, and diabetes relevance to incidence of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2010;55(4):283-93.
- ⁶¹ Packer M, Lee WH, Kessler PD, et al. Role of neurohormonal mechanisms in determining survival in patients with severe chronic heart failure. *Circulation* 1987; 75(suppl IV): IV80-IV92.
- ⁶² Farmakis D, Filippatos G, Parissis J, et al. Hyponatremia in heart failure. *Heart Fail Rev* 2009; 14 (2): 59-63.
- ⁶³ Woodley SL, Gilbert EM, Anderson JL, et al. Beta-blockade with bucindolol in heart failure caused by ischemic versus idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1991;84:2426-41.
- ⁶⁴ Bristow MR. Pathophysiologic and pharmacologic rationales for clinical management of chronic heart failure with beta-blocking agents. *Am J Cardiol* 1993;71:12C-22C.
- ⁶⁵ Bristow MR, Gilbert EM, Abraham WT, et al. Carvedilol produces dose-related improvements in left ventricular function and survival in subjects with chronic heart failure. MOCHA Investigators. *Circulation* 1996;94:2807-16.

-
- ⁶⁶ Xie HG., Dishy V, Sofowora G, et al. Arg389Gly beta 1-adrenoceptor polymorphism varies in frequency among different ethnic groups but does not alter response in vivo. *Pharmacogenetics* 11:191–197 (2001).
- ⁶⁷ Small KM, McGraw DW, Liggett SB. Pharmacology and physiology of human adrenergic receptor polymorphisms. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2003;43:381-411.
- ⁶⁸ Small KM, Wagoner LE, Levin AM, et al. Synergistic polymorphisms of β 1- and α 2C-adrenergic receptors and the risk of congestive heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347: 1135–42.
- ⁶⁹ Tesson F, Charron P, Peuchmaurd M, et al. Characterization of a unique genetic variant in the beta1-adrenoceptor gen and evaluation of its role in idiopathic dilated cardiomyopathy. *CARDIGEN Group. J Mol Cell Cardiol* 1999; 31:1025-1032.
- ⁷⁰ Moraga F, Troncoso R, Mellado R, et al. Interactions between beta1 and beta2 adrenergic receptor polymorphisms as risk factors for chronic heart failure. *Rev Med Chil.* 2008;136(11):1371-80.
- ⁷¹ Bray MS, Krushkal J, Li L, et al. Positional genomic analysis identifies the beta(2)-adrenergic receptor gen as a susceptibility locus for human hypertension. *Circulation* 2000;27;101(25):2877-82.
- ⁷² Latado AL, Lopes MB, Passos LCS, et al. Existe evidência para tratar insuficiência cardíaca baseada na raça ou etnia? *Ver. Assoc. Med. Bras* 2009;55(2):110-6.
- ⁷³ McNamara DM, Tam W, Sabolinski ML, et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase (NOS3) polymorphisms in African Americans with heart failure: results from the A-HEFT Trial. *J Card Fail* 2009 (in press).
- ⁷⁴ Beta-Blocker Evaluation of Survival Trial Investigators. A trial of the beta-blocker bucindolol in patients with advanced chronic heart failure. *N Engl J Med* 2001;344(22):1659-67.
- ⁷⁵ Cohn JN, Fowler MB, Bristow MR, et al. Safety and efficacy of carvedilol in severe heart failure. The U.S. Carvedilol Heart Failure Study Group. *J Card Fail* 1997;3(3):173-9.
- ⁷⁶ Packer M, Fowler MB, Roecker EB, et al. Effect of carvedilol on the morbidity of patients with severe chronic heart failure: results of the carvedilol prospective randomized cumulative survival (COPERNICUS) study. *Circulation* 2002;106(17):2194-9.
- ⁷⁷ López-Sendón J, Swedberg K, McMurray J, et al. Expert consensus document on beta-adrenergic receptor blockers. *Eur Heart J* 2004;25(15):1341-62.
- ⁷⁸ Wood AJ. Racial differences in the response to drugs-pointers to genetic differences. *N Engl J Med* 2001;344:1394-6.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)