

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA

Suemis Carlos Andrade

**ESTUDO DO POLIMORFISMO T786C DO GENE DA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE
NA DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA (DAC) E HIPERTENSÃO ARTERIAL
SISTÊMICA (HAS)**

Uberlândia MG

2019

Suemis Carlos Andrade

**ESTUDO DO POLIMORFISMO T786C DO GENE DA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE
NA DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA (DAC) E HIPERTENSÃO ARTERIAL
SISTÊMICA (HAS)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Licenciatura em Biologia.

Área de habilitação: Doenças Cardiovasculares

Orientador: Prof^a. Dr^a. Elisangela Rosa da Silva

Uberlândia MG

2019

Suemis Carlos Andrade

**ESTUDO DO POLIMORFISMO T786C DO GENE DA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE
NA DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA (DAC) E HIPERTENSÃO ARTERIAL
SISTÊMICA (HAS)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de
Licenciatura em Biologia.

Aprovado em: ____ de _____ de ____.

BANCA EXAMINADORA

Nome do professor - instituição

Nome do professor - instituição

Nome do professor - instituição (orientador)

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	4
1.1 – DOENÇAS CARDIOVASCULARES: DAC E HAS.....	4
1.2 – DEFINIÇÃO DAS DOENÇAS.....	4
1.3 – ÓXIDO NÍTRICO.....	6
1.4 – DIFERENÇAS ENTRE POLIMORFISMOS E MUTAÇÕES.....	9
2 – OBJETIVO.....	9
3 – JUSTIFICATIVA.....	9
4 – METODOLOGIA.....	10
4.1 – OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	10
4.2 – GRUPOS.....	10
4.3 – PROCEDIMENTOS.....	11
4.3.1 – EXTRAÇÃO DE DNA.....	11
4.3.2 – AMPLIFICAÇÃO DO POLIMORFISMO T786TC DO GENE DO ÓXIDO NÍTRICO SINTASE (ENOS).....	11
4.4 – ESTATÍSTICA.....	12
5 - RESULTADOS.....	12
5.1 – TESTE DE CORRELAÇÃO DE PEARSON.....	13
6 - DISCUSSÃO.....	14
7 – CONCLUSÃO.....	15
8– REFERÊNCIAS BIBIOGRÁFICAS.....	16
10 - ANEXO I - . Termo de Consentimento Informado.....	18
11 - Anexo II- Parecer do comitê de ética.....	20

- Lista de abreviaturas:

- DAC: Doença Arterial Coronariana;
- DCV: Doenças Cardiovasculares;
- DNA: Desoxirribonucleico Ácido, ou em português – ADN Ácido Desoxirribonucleico;
- e NOS: Óxido Nítrico Sintase Endotelial;
- ECA: Enzima Conversora de Angiotensina;
- HA: Hipertensão Arterial;
- HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica;
- HDL: É a sigla de *High Density Lipoproteins*, que significa **lipoproteínas de alta densidade**
- LDL: É a sigla de *Low Density Lipoproteins*, que significa **lipoproteínas de baixa densidade**;
- NO: Óxido Nítrico;
- NOS: Óxido Nítrico Sintase;

1 – Introdução:

1.1 – Doenças cardiovasculares: DAC e HAS

As doenças cardiovasculares são um importante problema de saúde não só no Brasil, mas em todo o mundo. Elas representam os mais altos custos em assistência médica, além de serem umas das maiores causas de morbi-mortalidade (GUS & ZIELINSKY, 1999).

Estudos populacionais com grande número na amostragem, como o estudo Framingham, determinaram com mais segurança, alguns fatores de risco, com um enfoque epidemiológico, tendo como meta à prevenção primária e/ou a prevenção secundária das cardiopatias isquêmicas e hipertensivas (GUS, *et al.*, 2002). No Brasil as doenças cardiovasculares são responsáveis por aproximadamente 195 mil mortes por ano (BORGES; LESSA, 2015)

Os principais fatores de risco cardiovascular são similares aos descritos em todo o mundo, como o tabagismo, diabetes, hipertensão, obesidade abdominal, dislipidemia e estilo de vida sedentário (PINHO *et al.*, 2010).

1.2 – Definição das doenças:

No Brasil as principais classes de doenças cardiovasculares (DCV), são DAC e HAS (LAURENTI, *et al.*, 2000). A doença arterial coronariana (DAC) é causada pela irrigação sanguínea insuficiente no coração por pelas artérias coronárias. Essa ocorre devido a obstrução do fluxo sanguíneo pelas placas ateroscleróticas (ateroma, HDL oxidado forma a placa e entope artérias e veias), resultando em estenose (estreitamento) das coronárias e queda da pressão de oxigênio no coração (PINHO, 2010).

A DAC é classificada em duas formas clínicas: angina estável e instável. A angina estável mantém as características de quadro anginoso inalteradas por várias semanas, ou seja, não apresenta piora evolutiva. A angina instável tem três apresentações: angina em repouso, angina de aparecimento recente e angina acelerada ou em progressiva (RAMOS, 2010).

Os principais fatores de risco pra desenvolver DAC são similares aos das DCV, como o tabagismo, diabetes, hipertensão, obesidade abdominal, dislipidemia e estilo de vida sedentário (PINHO *et al.*, 2010).

A DAC é uma doença multifatorial. Seu prognóstico depende da terapêutica farmacológica e aspectos não farmacológicos, que são fundamentais para o tratamento. Após evento cardíaco, a terapêutica envolve medidas de modificação no estilo de vida, uso de medicamentos como anti-agregantes plaquetários, inibidores da enzima conversora de

angiotensina (ECA) e beta-bloqueadores, objetivando reduzir a recorrência de eventos coronarianos (LUNELLI, 2009).

A prevalência da DAC é estimada, no Brasil, em 5% a 8% em média em adultos com idade acima de 40 anos (PINHO *et al*, 2010), sendo que 140 mil evoluem com óbito (RAMOS, 2010).

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma doença vascular prevalente no mundo e um dos principais fatores de risco para a DAC, acidente vascular encefálico (LESSA, 2010) e doenças cardíacas (EID *et al*, 2015).

O aparecimento e desenvolvimento da HAS são decorrentes da idade, alimentação inadequada, obesidade, ingestão de álcool, sedentarismo, hiperglicemia, dislipidemia (alteração das taxas de colesterol HDL, LDL), fatores ambientais e predisposição genética (DIRETRIZES 2007).

O endotélio vascular desempenha um papel crucial para os mecanismos fisiopatológicos da HAS. As células endoteliais sintetizam e liberam fatores de relaxamento e contração vascular, como o NO (EID *et al*, 2015). Ele também é responsável por manter o fluxo sanguíneo e controlar o extravasamento tecidual. (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000).

A HAS é uma doença crônica, onde há persistência de níveis de pressão arterial acima dos valores definidos como limite de normalidade. (MONEGO; JARDIM, 2006). A pressão arterial de um indivíduo, maior de 18 anos, pode ser classificada conforme Tabela 1.

Tabela 1: Classificação da pressão arterial em adultos (> 18 anos).

Classificação	Pressão Arterial	
	Sistólica (mmHg)	Diastólica (mmHg)
Ótima	<120	<80
Normal	<130	<85
Limítrofe	130-139	85-89
Hipertensão estágio 1	140-159	90-99
Hipertensão estágio 2	160-179	100-109
Hipertensão estágio 3	≥180	≥110
Hipertensão sistólica isolada	≥140	<90

(DIRETRIZES, 2016)

O tratamento pode ser medicamentoso ou não medicamentoso. O tratamento não

medicamentoso consiste em controlar o peso, melhorar a alimentação de forma a reduzir o consumo do sal, moderar o consumo de bebidas alcoólicas (PONTES JÚNIOR *et al*, 2010), praticar exercícios físicos, abandonar o tabagismo e controlar o estresse psicoemocional (DIRETRIZES, 2016).

Estimativas de estudos realizados a respeito da hipertensão arterial no Brasil, indicam que 35% da população, acima dos 40 anos em 2004, apresentaram a doença, representando cerca de 17 milhões de pessoas (VICENTE-SERRANO; LASANTA; GRACIA, 2013).

Algumas destas doenças, como as dislipidemias, a aterosclerose e a hipertensão arterial (HA), apresentam em sua gênese e/ou em seus mecanismos, alterações na função endotelial. Assim, a disfunção endotelial, caracterizada por menor produção e/ou biodisponibilidade de NO, é um dos fatores que contribuem para o aparecimento das doenças cardiovasculares (KINGWELL, 2000).

1.3 – Óxido Nítrico:

O Óxido Nítrico (NO) é uma molécula gasosa simples, que pode ser encontrada em pequenas quantidades no ar atmosférico, podendo ser considerada uma espécie reativa de nitrogênio (figura 1).

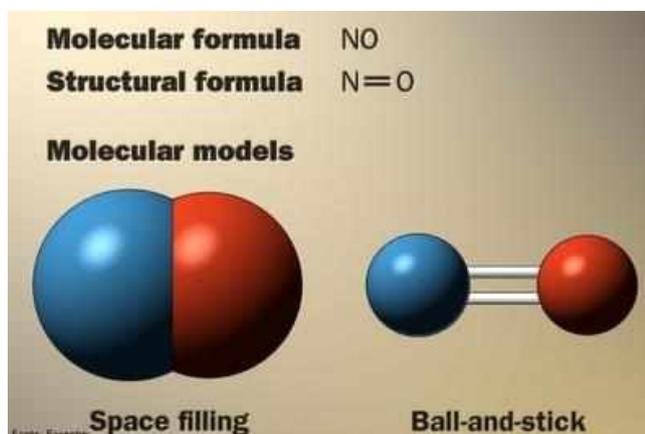


Figura 1: imagem tridimensional do óxido nítrico

No nosso organismo, a síntese ocorre a partir do aminoácido L-arginina, que por uma ativação enzimática, produz por sua vez a L-citrulina mais o Óxido Nítrico (Figura 2) (MALAGRINO *et al*, 2013). O NO têm funções anabólicas ao corpo, como o vasorrelaxamento do endotélio (vasos sanguíneos), regulação da pressão sanguínea, potencializador da transmissão de sinapses (longo prazo), adesão a agregação plaquetária e outros eventos que são resultado de um maior fluxo sanguíneo (ZAGO *et al*, 2015).

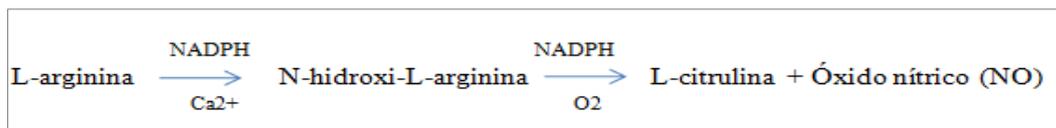


Figura 2: Síntese do óxido nítrico (flora filho; Zilberstein, 2000).

Quando a enzima eNOS (Óxido Nítrico Sintase endotelial) é ativada, o metabolismo da L-arginina é aumentado gerando a formação de L-citrulina e de NO pelas células endoteliais. Uma vez sintetizado, ocorre liberação do NO para a célula muscular lisa vascular gerando aumento da atividade da guanilato ciclase e conseqüentemente diminuição de cálcio e relaxamento da musculatura lisa vascular. Alguns polimorfismos têm sido identificados como potenciais candidatos para o desenvolvimento da hipertensão arterial. Um exemplo é o alelo C do polimorfismo T-786C que tem sido capaz de reduzir a produção de NO (ZAGO *et al*, 2010).

Atualmente observa-se o crescimento significativo no número de informações sobre as variações genéticas naturais presentes no genoma humano. Esse crescimento é atribuído a grande influência da genética sobre as doenças crônico-degenerativas. As variações naturalmente observadas na seqüência do DNA podem assumir diversas formas como: substituição de um único nucleotídeo (*single nucleotide polymorphism-SNP*), inserção ou deleção de únicos ou múltiplos nucleotídeos, mudanças no número de seqüências repetidas (*variable number tandem repeats-VNTR*) ou grandes mudanças na estrutura dos cromossomos (BALASUBRAMANIAN *et al*, 2004).

A síntese máxima de eNOS depende diretamente do genótipo que a pessoa apresenta, pois isso irá interferir na quantidade basal de NO e sua função na homeostase cardíaca (MASON *et al*, 2012). Sua biodisponibilidade está associada a alterações de glicemia, perfil lipídico, dieta hipercalórica e sedentarismo, dentre outros (MALAGRINO *et al*, 2013). Para que a síntese do NO se realize é necessário que uma enzima seja ativada, desencadeando todo o processo de sua formação. Assim, a síntese de NO ocorre somente a partir da ativação do óxido nítrico sintase (NOS) que existe em duas isoformas: a isoforma constitutiva e a induzível (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003).

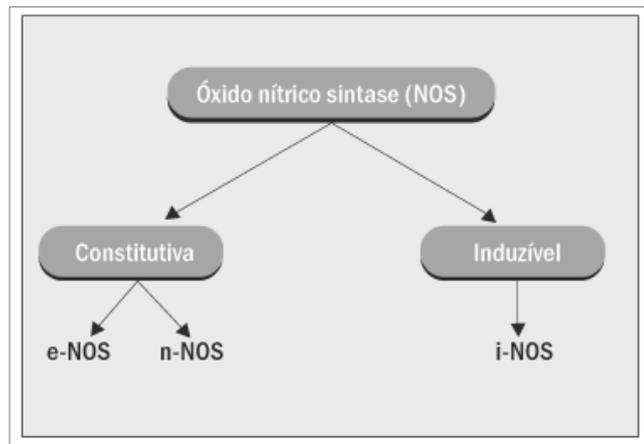


Figura 3: Isoformas da NOS (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003).

Uma das grandes diferenças entre a NOS constitutiva e a induzível é que a iNOS é capaz de liberar grandes quantidades de NO por períodos de tempo relativamente longos, podendo gerar alguns efeitos exagerados, produzindo respostas tóxicas ao organismo, enquanto que a cNOS produz pequenas quantidades de NO e por tempo menor. Apesar de existirem diferenças entre as isoformas de NOS, todas elas atuam no sentido de catalisar a oxidação do átomo de nitrogênio terminal do grupamento guanidina do L-arginina, formando quantidades equimolares de NO e L-citrulina (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003).

O papel do óxido nítrico no sistema cardiovascular foi extensamente pesquisado, sendo atribuído a ele um papel protetor na HA, na aterosclerose, na doença arterial coronariana e nas doenças tromboembólicas (SCOTT-BURDEN T, VANHOUTTE PM. 1993; ROSSELLI M, IMTHURN B, KELLER PJ, JACKSON EK, DUBEY RK. 1995; KINGWELL BA. FASEB J. 2000; MCARDLE WD. 2003).

A expressão do gene da eNOS e sua funcionalidade é regulada através de várias etapas e envolve diversos polimorfismos. Sendo que alguns destes podem estar envolvidos com disfunções, o que comprometeria sua função e, por consequência acarretaria danos ao sistema circulatório (ROSSI *et al*, 2003) como doença arterial coronariana, hipertensão e aterosclerose (NOVAIS *et al*, 2010).

O gene da eNOS está localizado no cromossomo 7, mais especificamente no braço longo do cromossomo, na região 7q35-36 apresentando este um comprimento genômico de 4.4 kb compreendendo 25 íntrons e 26 éxons, sintetizando um RNAm de 4052 nucleotídeos (NOVAIS *et al*, 2010).

O NO endotelial é capaz de promover tônus vasodilatador moderado e constante, em

indivíduos saudáveis e em condições basais. Quando a formação basal de NO cessa, resulta em vasoconstrição reduzindo a perfusão tecidual e conseqüentemente, ocorre a formação de trombo. Através de exercício físico aeróbico, ocorre um aumento da produção de NO, o que promove efeitos tanto na prevenção quanto no tratamento de doenças cardiometabólicas (MONCADA S, PALMER RM, HIGGS EA. 1991; VANHOUTTE PM. CIRC J. 2003).

É inquestionável o papel que o NO exerce sobre o sistema cardiovascular. Por esse motivo, têm sido alvo de estudos as variações do gene da eNOS, principalmente a influência que a atividade física aeróbica tem sobre os portadores do polimorfismo. Apesar de haver alguns estudos sobre o papel do NO no sistema cardiovascular, ainda não é o bastante para determinar os mecanismos bioquímicos que contribuem para a melhora de indivíduos. Portanto, faz-se necessário o aprofundamento do assunto já que as doenças cardiovasculares assumem umas das principais causas de morbimortalidade.

1.4 – Diferenças entre polimorfismos e mutações:

Dependendo da frequência e ocorrência, para o desenvolvimento de doenças, essas variações são classicamente definidas como: polimorfismos (quando a frequência é maior que 1% na população normal) ou mutações (quando a frequência é menor que 1%) que normalmente resultam em uma patologia. Entretanto, este conceito apresenta algumas limitações, uma vez que nem todas as mutações resultam em doenças, e alguns polimorfismos são funcionalmente importantes, podendo estes estar envolvidos na fisiopatologia de algumas doenças (NOVAIS *et al*, 2010)

O polimorfismo T-786C do gene da eNOS vem sendo estudado na correlação de vários distúrbios que contribuem para predisposição de doenças cardiovasculares. Esse polimorfismo se caracteriza por redução da atividade promotora do gene, o que influencia a produção de NO. (NOVAIS *et al*, 2010).

2 – Objetivo

O objetivo do presente trabalho é analisar o polimorfismo T786C do gene da óxido nítrico sintase em portadores de Doença Arterial Coronariana (DAC) e na hipertensão arterial sistêmica (HAS).

3 - Justificativas:

Este trabalho é de grande relevância, pois as doenças cardiovasculares, como a HAS e, em especial a DAC (Doença Arterial Coronariana), representam um problema de saúde pública, por aumentar as taxas de morbimortalidade.

Desta forma, torna-se necessário realizar um estudo da influência do polimorfismo T786C na síntese do NO em portadores de doenças cardiovasculares, já que pesquisas têm mostrado associação entre a DAC e a presença desses polimorfismos genéticos, dessa maneira esta pesquisa ampliará os horizontes científicos a que se refere aos conhecimentos etiopatogênicos da DAC e poderá ajudar no aperfeiçoamento da farmacogenômica, pois cerca de 50% dos pacientes com DAC não apresentam os fatores de risco convencionais.

4 - Metodologia:

4.1 - Obtenção das amostras:

Amostras de sangue periférico foram obtidas no Setor de Cardiologia (Dor Torácica / Laboratório de Hemodinâmica) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU).

A coleta foi realizada em tubo vacutainer de 3 ml com EDTA, mediante termo de consentimento (anexo I) assinado pelos pacientes e autorização da Comissão de Ética Humana da UFU parecer 189.679 (anexo II).

4.2-Grupos:

As amostras de sangue foram obtidas a partir de 71 indivíduos, sendo dividido em dois grupos (A – 45 pacientes e B – 26 controles):

A: Pacientes: Foram elegíveis os indivíduos com o diagnóstico de síndrome coronariana aguda (Angina Instável, IAM) baseada em dados clínicos, eletrocardiográficos, enzimáticos e com a DAC comprovada pela angiografia coronária.

B: Controles: Indivíduos submetidos à angiografia coronária e que não apresentem lesões coronárias.

-Critérios de exclusão:

1. Doenças malignas sistêmicas.
2. Enfermidades crônicas terminais.

4.3 – Procedimentos

4.3.1 - Extração de DNA:

A extração do DNA foi feita com o reagente Brazol segundo especificações do fabricante (LGC Biotecnologia Ltda) e protocolo de Chomczynski (1993). Após a extração de DNA, a integridade das amostras obtidas foi verificada em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo. Foram genotipadas 71 amostras, sendo 45 pacientes e 26 controles.

4.3.2 – Amplificação do polimorfismo T786C do gene da óxido nítrico sintase (eNOS):

As reações de PCR foram realizadas com o procedimento padrão, amplificando o fragmento de 180pb correspondente à variante T786C (rs2070744). Esse fragmento foi visualizado após eletroforese a 120 volts em gel de agarose 2,5%, corado com brometo de etídeo. (figura 4).

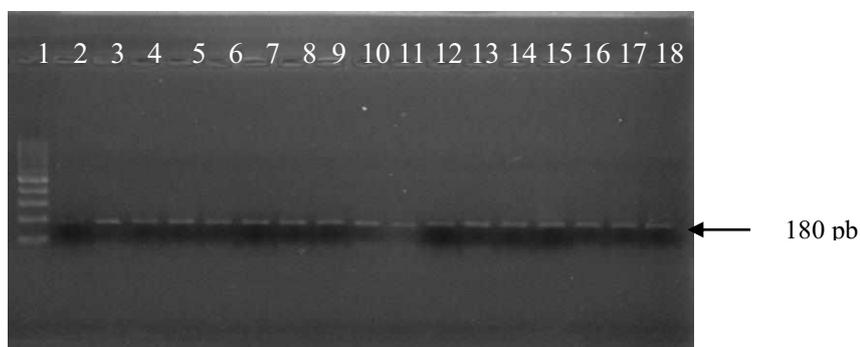


Figura 4: gel de agarose 2,5% com amostras amplificadas
Coluna 1- Marcador de peso molecular de 100 pb
Colunas 2 a 18- fragmento de 180 pb

A variante T786C (rs2070744) foi amplificada segundo Serrano et. al, 2004, com os seguintes iniciadores:

- Sense- 5'-TGG AGA GTG CTG GTG TAC CCC A-3' e
- Anti sense- 5'-GCC TCC ACC CCC ACC CTG TC-3'

Os produtos amplificados foram digeridos com a enzima MspI, durante 3 horas a 37°C,

produzindo fragmentos de 140 e 40 pb para o alelo T e fragmentos de 90, 50 e 40 bp para o alelo C. Estes fragmentos foram analisados em gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo. (Figura 5).

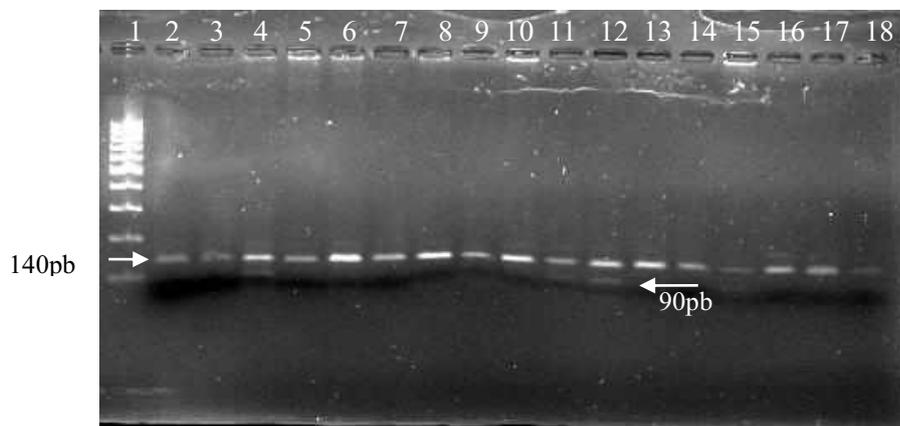


Figura 5: Eletroforese em gel de agarose 3% após restrição enzimática

Coluna 1- Marcador de peso molecular de 100pb

Colunas 2,3,5,6,7,8,9, 10, 13, 14, 16,17 e 18 de 140pb Indivíduos homozigotos para o alelo T.

Colunas 4, 11, 12 e 15- indivíduos heterozigotos fragmentos de 140 pb alelo T e de 90pb para o alelo C.

4.4- Estatística:

A análise das frequências gênicas e genóticas do polimorfismo em estudo foram feitas pelo programa BioSTAT versão 5.

5-Resultados

Em relação aos genótipos obtidos e sua ocorrência nos pacientes portadores pela DAC e nos controles, obtivemos o seguinte resultado (tabela 2):

Polimorfismo	Caso (45)	Controle (26)
tt	20 (44,45%)	15(57,69%)
tc	21(46,65%)	10(38,46%)
cc	4(8,9%)	1(3,85%)

Tabela 2- Frequência dos genótipos nos grupos caso e controle

Analisamos também os genótipos do polimorfismo T786C da eNOS e sua ocorrência nos indivíduos portadores de HAS (tabela 3)

Polimorfismo	Com HAS(41)	sem HAS (30)
tt	19 (46,34%)	16 (53,3%)
tc	17(41,46%)	13(43,33%)
cc	5(12,20%)	1(3,34%)

Tabela 3- A frequência dos genótipos nos grupos com hipertensão arterial sistêmica (HAS) e sem HAS

5.1 – Teste de Correlação de Pearson

Para uma melhor precisão nos resultados, foi feito o teste de Correlação de Pearson. Neste foram considerados os elementos a seguir:

- 1) H0: o polimorfismo T/C do gene NOs não influencia o desenvolvimento da DAC e da HAS: $\beta = 0$;
- 2) H1: o polimorfismo T/C do gene NOs contribui para o desenvolvimento da DAC e da HAS : $\beta \neq 0$;
- 3) Nível de decisão: alfa = 0.05.

Após análise, pode-se concluir que o polimorfismo T/C do gene NOs não influencia o desenvolvimento da DAC e da HAS, já que H0 foi aceito em todos os casos, conforme mostra a figura 6.

Matriz de coeficiente de correlação				
Tamanho da amostra	70	Valor crítico (0,1%)	3,4394	
		Paciente Caso	genotipos	HAS
Paciente Caso	Coefficiente de correlação de Pearson	1		
	Erro-padrão R			
	t			
	valor p			
	H0 (0,1%)			
genotipos	Coefficiente de correlação de Pearson	0,1183	1	
	Erro-padrão R	0,0145		
	t	0,9821		
	valor p	0,3295		
	H0 (0,1%)	aceito		
HAS	Coefficiente de correlação de Pearson	0,0137	-0,029	1
	Erro-padrão R	0,0147	0,0147	
	t	0,1131	-0,2392	
	valor p	0,9103	0,8116	
	H0 (0,1%)	aceito	aceito	
R				
Séries vs. Séries	R			
genotipos vs. Paciente Caso	0,1183			
HAS vs. genotipos	-0,029			
HAS vs. Paciente Caso	0,0137			

Figura 6: Matriz de coeficiente de correlação de Pearson

Os valores de p não são significativos ($p = 0.3295$ Genótipo X DAC, $p = 0,9103$ DAC X HAS e $p = 0,8116$ genótipo X HAS) ;aceitando-se a hipótese de nulidade (o polimorfismo T/C do gene NOS não influencia no desenvolvimento da DAC e da HAS) e rejeitando-se a alternativa. Consta-se pelo coeficiente correlação que as variáveis dependentes não são explicadas pela variável preditiva, devendo outros fatores atuar como preditores da DAC e da HAS.

6- Discussão

A Doença Arterial Coronariana é problema de saúde pública, responsável por um grande número de mortes e gastos públicos, a mesma tem gerado bastante preocupação e ganhado a atenção no meio acadêmico científico. A DAC é composta por uma série de fatores que levam ao seu acometimento, alguns já bastantes conhecidos e comprovados. (GUS & ZIELINSKY, 1999).

No presente trabalho foi analisado um dos fatores genético possivelmente correlacionado com a prevalência da DAC e também a influencia deste fator no surgimento ou não de HAS nos grupos estudados. O fator genético experimentado no trabalho foi o polimorfismo T786C do gene da eNOS. (NOVAIS *et al*, 2010).

A análise dos resultados obtidos pela maioria dos autores citados neste trabalho demonstra que o alelo C do polimorfismo T786C é capaz de reduzir a produção de NO causando um importante comprometimento na saúde humana. (NOVAIS *et al*, 2010).

Porém nossos achados não demonstraram tal associação. A análise estatística feita na amostra estudada demonstrou que não houve correlação entre o polimorfismo T786C e a presença de DAC e HAS, ou seja, a presença do alelo C do polimorfismo T786C não explica sozinha a ocorrência dessa patologia, provavelmente outros fatores contribuem para o desenvolvimento dessas condições, que são multifatoriais. De acordo com os dados literários de (SILVA, ROBERTA FERNANDA, RIBEIRÃO PRETO, 2016) também não há associação do polimorfismo com doença arterial coronariana e hipertensão arterial sistêmica.

Nossos resultados estão de acordo também com a meta-análise publicada por LI et AL 2010, que não foi capaz de deduzir associações significativas para T786-C da eNOS, mas apenas mostrou associação significativa para o polimorfismo Glu298Asp da eNOS, sob condições genéticas dominantes.

O estudo da DAC é um assunto de suma importância, principalmente nacionalmente. Estima-se que a prevalência da DAC no Brasil, é de 5% a 8% em média presente em adultos

com idade acima de 40 anos (PINHO *et al*, 2010), sendo que 140 mil evoluem com óbito (RAMOS, 2010) ou seja, trata-se de um grave problema de saúde pública que demanda muitos leitos e gastos exorbitantes.

Os resultados encontrados não nos permitem afirmar que o polimorfismo T786C não esteja relacionado às causas das doenças arteriais coronariana (DAC) e hipertensão arterial sistêmica (HAS), mas apenas que esta correlação não foi encontrada no n amostral estudado.

Pelo fato de a DAC ser uma doença multifatorial, seu prognóstico depende da terapêutica farmacológica e aspectos não farmacológicos, que são fundamentais para o tratamento. Os estudos genéticos e farmacológicos são de suma importância para melhorar este prognóstico e possibilitar uma melhora nas condições de saúde do indivíduo, permitindo um tratamento individualizado e mais efetivo.

7 – Conclusão:

No presente estudo não foi possível obter correlação estatisticamente significativa entre as frequências genotípicas das variantes do gene da eNOS, (T/T; T/C e C/C), com a DAC, nem com a prevalência de HAS nos grupos, pacientes e controles, analisados. Foi utilizada para o experimento uma amostra de apenas 71 indivíduos, o que ao se considerar uma população tão miscigenada o n amostral pode não ter sido representativo para esse tipo de estudo. Desta forma, devido às divergências encontradas na literatura é de suma importância que se prossiga com os estudos, aumentando o n amostral e posteriormente relacionar os resultados ao polimorfismo T786C, para ver se realmente há uma relação deste e o processo de desenvolvimento da DAC e, quão expressiva é esta influência.

8 - Referências Bibliográficas:

Cirurgia não cardíaca. Rev Bras Anesthesiol. P 659-665. 2010

Cott-Burden T, Vanhoutte PM. The endothelium as a regulator of vascular smooth muscle proliferation. Circulation. 1993; 87 (Suppl. 5): 51-5.

Dusse, I.m.s.; vieira, I.m.;carvalho, M.G. Revisão sobre óxido nítrico. J. Bras. Patol. Med. Lab., Rio de Janeiro, v. 39, n. 4, 2003.

Flora filho, R.; Zilberstein, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. Rev. Assoc. Med. Bras., São Paulo, v. 46, n. 3, jul/set. 2000.

Gian Paolo Rossi, MD, FACC, FAHA,* Stefano Taddei, MD,† Agostino Viridis, MD,†

Gus I. Expectativa de vida do idoso e fatores de risco coronariano. Rev Soc Cardiol do RS, Porto Alegre, 1999; 8: 5-10.

Gus, I., Zielinski, P. (1999).As Cardiopatias no Brasil - Epidemiologia. In: C.Ferreira, R. Pova. Cardiologia para o Clínico Geral (p.131-143). Rio de Janeiro, Atheneu.

Iane de Paiva Novais | Guilherme Morais Puga. Carlos Henrique Grossi Sponton | Pamella. Araujo Mallagrino. Rodrigo Degli Esposti | Pedro Renato Zaros. Angelina Zanesco. Associação entre o polimorfismo do gene do óxido nítrico sintase na posição -786T>C com os níveis plasmáticos de triglicérides em mulheres. 2010.

Junqueiro, D. C. T. Scott-burden. V. B. Schini and P. M. Vanhoutte. Inhibition of cytokine-induced nitric oxide production by transforming growth factor- β 1 in human smooth muscle cells. Journal of Physiology. pp. 451-465. 1992.

Kingwell BA. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. *FASEB J*. 2000; 14: 1685-96.

Kingwell ba. Nitric oxidemediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. *FASEB J*. 2000; 14: 168596.

Laurenti R, Buchalla CM, Caratin Vde S. Ischemic heart disease: hospitalization, length of stay and expenses in Brazil from 1993 to 1997. *Arq Bras Cardiol*. 2000;74(6):483-92.

Li j, wu x, li x, feng g, he l, et al. The endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary artery disease: a meta-analysis. *Cardiology* 2010; 116(4): 271–278

Lunelli, R. P. Adesão medicamentosa e não medicamentosa de pacientes com doença arterial coronariana.

Martina Cavallin, BIOLD,* Lorenzo Ghiadoni, MD,† Stefania Favilla, BIOLD,† Daniele Versari, MD,† Isabella Sudano, MD,† Achille C. Pessina, MD, PHD,* Antonio Salvetti, MD†. The T-786C and Glu298Asp Polymorphisms of the Endothelial Nitric Oxide Gene Affect the Forearm Blood Flow. Responses of Caucasian Hypertensive Patients. *Journal of the American College of Cardiology* Vol. 41, No. 6, 2003.

Mcardle WD, Katch FI, Katch VL. *Fisiologia do exercício*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.

Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991; 43: 109-42.

Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-42

Pinho R.A.; Araújo M.C; Ghisi G.L.M.; Benetti M. Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. *Arq. Bras. Cardiol*. vol.94 no.4 São Paulo Apr. 2010.

Ramos GC – Aspectos Relevantes da Doença Arterial Coronariana em Candidatos à Cirurgia não Cardíaca. *Rev Bras Anesthesiol*.2010.

Rosselli M, Imthurn B, Keller PJ, Jackson EK, Dubey RK. Circulating Nitric Oxide (nitrite/nitrate) levels in postmenopausal women substituted with 17 β -estradiol and norethisterone acetate – A two-year follow-up study. *Hypertension*. 1995; 25: 848-53.

Serrano, N. C.; Casas, J. P.; Díaz, L. A.; Páez, C.; Mesa, C. M.; Cifuentes, R.; Monterrosa, A.; Bautista, A.; Hawe, E.; Hingorani, A. D.; Vallance, P.; López-Jaramillo, P. Endothelial NO synthase genotype and risk of preeclampsia: a multicenter case-control study. *Hypertension*, 44:702–7, 2004.

Silva, Roberta Fernanda, R Preto, 2016;

Sociedade Brasileira de Cardiologia • ISSN-0066-782X • Volume 107, Nº 3, Supl. 7º diretrizes brasileiras de hipertensão arterial. 3, Setembro 2016

Vanhoutte PM. Endothelial control of vasomotor function - From health to coronary disease. *Circ J*. 2003; 67: 572-5

✧ 9 - Anexo I

✧ Termo de Consentimento Informado

Título do estudo: Polimorfismos de Genes do Sistema Renina-Angiotensina, do gene da eNOS e atividade das angiotensinas – II e 1,7 na Doença Arterial Coronariana.

Este estudo tem o objetivo de avaliar alguns polimorfismos gênicos do sistema renina-angiotensina, do gene da eNOS e a atividade das Angiotensinas II e 1,7, no desenvolvimento da doença aterosclerótica coronária.

Para esta investigação, é necessário a coleta de dois tubos de 3 ml de sangue periférico, empregando-se material descartável. Não há desconforto ou risco adicional nestes procedimentos, pois já fazem parte da rotina clínica e laboratorial.

O material coletado será enviado ao laboratório de Genética Molecular da Universidade Federal de Uberlândia, onde serão realizados os exames bioquímicos e de DNA.

É importante enfatizar que os resultados obtidos terão apenas implicação diagnóstica e não terapêutica.

Se você concordar em participar do estudo isto não vai implicar em nenhuma vantagem pessoal ou financeira para você ou para a sua família. Garantimos ainda que todos os seus dados são confidenciais, sua identidade não será revelada publicamente em hipótese alguma e somente os pesquisadores envolvidos neste projeto terão acesso a essas informações que poderão ser usadas apenas para esta pesquisa e publicações científicas.

Você pode se recusar a participar do estudo ou mesmo retirar o seu consentimento a qualquer momento sem que isto altere o seu tratamento no Hospital das Clínicas.

Você dispõe de total liberdade para esclarecer qualquer dúvida que possa surgir durante o decorrer do estudo ou obter informações diretas com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFU, situado na Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação Bloco A - Sala 224-Campus Santa Mônica Avenida João Naves de Ávila, 2121 Santa Mônica - Uberlândia - MG 38400-098. Além disso, você poderá obter com os pesquisadores, por meio do telefone : (34)- 3218 2200 ou email; os resultados conseguidos no estudo.

Você receberá uma cópia deste Termo de Consentimento e se quiser, antes de assiná-lo, poderá consultar alguém de sua confiança.

Os pesquisadores podem decidir sobre a sua saída do estudo por razões científicas, sobre as quais você será devidamente informado

▲ **Termo de consentimento**

Eu, _____
voluntariamente, aceito participar desta pesquisa, realizada no Instituto de Ciências Biomédicas e no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.

Pelo presente termo apresentado,

Eu, _____, concordo em colaborar com a pesquisa declarando estar ciente dos riscos, benefícios e direitos.

Paciente _____

Médico responsável _____

Local e Data: _____, _____ de _____ de 2016

Testemunhas: _____

10 – Anexo II

Parecer do comitê de ética:

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Polimorfismos Genéticos na Doença Coronariana

Instituição Proponente: Universidade Federal de Uberlândia/ UFU/ MG

Versão: 3

CAAE: 01736412.9.0000.5152

Área Temática: Área 1. Genética Humana.

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 189.679

Data da Relatoria: 01/02/2013