



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM GENÉTICA**

STANLEY SILVANO SOUSA

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NA REGIÃO PROMOTORA -911 NO GENE DA 3-
HIDROXIMETILGLUTARIL-COA REDUTASE (HMGCR) EM PACIENTES COM
DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA**

Dissertação de Mestrado

Goiânia
2015

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM GENÉTICA**

STANLEY SILVANO SOUSA

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NA REGIÃO PROMOTORA -911 NO GENE DA 3-
HIDROXIMETILGLUTARIL-COA REDUTASE (HMGCR) EM PACIENTES COM
DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Genética.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vera Aparecida Saddi

Goiânia
2015

Dados Internacionais de Catalogação da Publicação (CIP)
(Sistema de Bibliotecas PUC Goiás)

S725a Sousa, Stanley Silvano.
Análise do polimorfismo na região promotora -911 no gene da 3-hidroximetilglutaril-coa redutase (HMGCR) em pacientes com doença arterial coronariana / Stanley Silvano Sousa – Goiânia, 2015.
xii, 80 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Genética.
“Orientadora: Profa. Dra. Vera Aparecida Saddi”.

Bibliografia.

1. Artérias coronárias – Doenças. 2. Coronariopatia. 3. Polimorfismo (Genética). 4. Colesterol. I. Título.

CDU 616.132.2:575(043)



**PUC
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Av. Universitária, 1069 ● Setor Universitário
Caixa Postal 86 ● CEP 74605-010
Goiânia ● Goiás ● Brasil
Fone: (62) 3946.1070 ● Fax: (62) 3946.1070
www.pucgoias.edu.br ● prope@pucgoias.edu.br

ATA COMPLEMENTAR Nº 110/2015


MESTRADO EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

DISCENTE: STANLEY SILVANO SOUSA


DEFENDIDA EM 27 DE AGOSTO DE 2015 E aprovado COM CONCEITO A.....

O título foi alterado () não (X)sim Análise do polimorfismo na região promotora -311 no gene da 3-hidroxi-metilglutaril-CoA redutase (HMGCR) em pacientes com doença arterial coronariana.

BANCA EXAMINADORA


 Profa. Dra. Vera Aparecida Saddi
 PUC Goiás (Presidente)


 Profª. Dra. Flávia Melo Rodrigues
 PUC Goiás


 Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres
 Membro externo/UEG

DEDICATÓRIA

Dedico este estudo aos meus filhos Felipe e Gustavo que alegram o meu dia e são a razão de tudo que sou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelas graças recebidas.

Aos meus pais e em especial à minha mãe que sempre me apoiou incondicionalmente em qualquer desafio na vida acadêmica e profissional.

Ao meu tio Jarbas que me incentivou e proporcionou, juntamente com meu pai, uma mudança significativa na minha vida ao possibilitar a conclusão dos meus estudos.

À Prof^a. Dr^a. Vera Aparecida Saddi por toda orientação.

Ao Dr. Eduardo Formiga e Percival Rebelo pela ajuda essencial para a realização deste trabalho.

Ao residente de clínica médica do Hospital Lúcio Rebelo, Gustavo Rodrigues Marques.

Ao Hospital Lúcio Rebelo representado pelo seu Presidente Dr. Percival que abriu as portas para coleta dos dados.

A toda equipe do laboratório do Hospital Lúcio Rebelo em especial ao biomédico Sandrino Junior que ajudou intensamente nas coletas.

À acadêmica de biomedicina Jéssica Cáceres que foi muito importante durante extração e análise dos casos, assim como a Hellen Cintra de Paula.

Aos professores e colegas do Programa de Mestrado em Genética pelas trocas de informações, conhecimentos e experiências no decorrer do curso.

Aos funcionários do Programa de Mestrado em Genética por todo o suporte e ajuda prestada durante o curso.

À PUC-GO pela estrutura e pelas condições propiciadas ao desenvolvimento deste e outros projetos.

E aos pacientes que participaram desse estudo, sem os quais nada disso seria possível.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1. Patogênese da placa aterosclerótica:** A) lesão inicial; B) remodelamento positivo e afilamento da capa fibrosa; C) Ruptura da capa fibrosa sem hemorragia intraplaca; D) Hemorragia intraplaca determinando ruptura da capa fibrosa (adaptado de ROHDE e LEE 2003). 17
- Figura 2. Formação do ateroma.** Representação ilustrativa de algumas interações celulares no decorrer da formação do ateroma (adaptado de FRANÇA et al., 2015). 18
- Figura 3. Aterosclerose coronariana.** Comparação entre as placas estável e instável (adaptado de van LAMMEREN, 2011). 19
- Figura 4 - Angiografia coronariana normal.** Angiografia coronariana de aspecto normal. A-artéria coronária esquerda e seus ramos. B-Artéria coronária direita (adaptado de CESÁRIO et al., 2012). 26
- Figura 5- Cateterismo cardíaco com lesões.** Cateterismo cardíaco com lesão grave (seta) de artéria descendente anterior (DA), um ramo da coronária esquerda. Adaptado de SARMENTO-LEITE et al., 2011..... 27
- Figura 6. Via do mevalonato.** Estágios da biossíntese do colesterol e ação das estatinas. A enzima 3-hidroximetilglutaril coenzima A redutase (HMGCR) catalisa a conversão de HMG-CoA em mevalonato; a ação de inibição dessa enzima pelas estatinas acarreta a redução de síntese do colesterol, bem como de demais intermediários (proteínas preniladas, dolicois e ubiquinona), os quais poderiam contribuir para as lesões musculares decorrentes do uso das estatinas. CoA: coenzima A; PP: pirofosfato (adaptado de BONFIM et al., 2015). 30
- QUADROS**
- Quadro 1 - Valores de referência para o diagnóstico de dislipidemia em indivíduos acima de 20 anos de idade.** 24
- Quadro 2: Estudos de associação da variável rs3761740 da região promotora 911 do gene da HMGCR em diferentes populações.** 37

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1- Características demográficas e clínicas do grupo de pacientes com DAC..... | 42 |
| Tabela 2 Características demográficas, clínicas e bioquímicas do grupo estudado..... | 43 |
| Tabela 3- Distribuição das características laboratoriais, idade e IMC de acordo com o sexo. | 44 |
| Tabela 4- Distribuição dos genótipos e alelos no polimorfismo da região promotora - 911(rs3716740) da HMGCR em pacientes com DAC. | 45 |
| Tabela 5- Características demográficas, clínicas e genótípicas de polimorfismos da HMGCR em pacientes com DAC..... | 46 |
| Tabela 6- Número de pacientes de acordo com as características pessoais e os genótipos. | 47 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------------|---|
| AI | Angina instável |
| AVC | Acidente vascular cerebral |
| CT | Colesterol total |
| DAC | Doença arterial coronariana |
| DCV | Doenças cardiovasculares |
| DIC | Doença isquêmica do coração |
| DM | Diabetes melitus |
| DNA | Ácido desoxirribonucléico |
| ECM | Eventos cardíacos maiores |
| HAS | Hipertensão arterial sistêmica |
| HDL | Lipoproteína de alta densidade (do inglês: <i>high density lipoprotein</i>). |
| HMGCR | Hidroximetilglutaril coenzima A redutase |
| IAM | Infarto agudo do miocárdio |
| IC | Insuficiência cardíaca |
| IDL | Lipoproteínas de densidade intermediária (do inglês: <i>intermediary density lipoprotein</i>) |
| IMC | Índice de massa corpórea |
| LDL | Lipoproteína de baixa densidade (do inglês: <i>Low density Lipoprotein</i>) |
| LDL-ox | Lipoproteína de baixa densidade oxidada |
| LDL-r | LDL receptor |
| Lp(a) | Lipoproteína A |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PB | Pares de base |
| RNA | Ácido ribonucleico |
| SBC | Sociedade Brasileira de Cardiologia |
| SCA | Síndrome Coronariana Aguda |
| SNP | Polimorfismo de Nucleotídeo Único (do inglês: <i>single nucleotide polymorphism</i>) |
| SREBP | Proteína ligadora do elemento regulatório do esteroide (do inglês: <i>sterol regulatory element binding protein</i>) |
| TG | Triglicérides |

| | |
|-------------|---|
| TTA | Polimorfismo de repetição (do inglês: <i>tandem repeats polymorphism</i>) |
| VLDL | Lipoproteínas de densidade muito baixa (do inglês: <i>very low density lipoprotein</i>) |
| VNTR | Variações no número de cópias ou de sequências repetidas (<i>VNTR</i> do inglês: <i>variable number of tandem repeat</i>) |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 1.1 Aterosclerose – definição | 13 |
| 1.2 Aterosclerose – epidemiologia | 13 |
| 1.3 Aterosclerose - história natural | 15 |
| 1.4 Aterosclerose - fatores de riscos | 19 |
| 1.5 Lipoproteínas e dislipidemias..... | 21 |
| 1.6 Doença aterosclerótica coronariana | 25 |
| 1.7 Tratamento da doença arterial coronariana | 28 |
| 1.8 Genética da aterosclerose e biossíntese do colesterol | 28 |
| 1.9 Polimorfismo genético e doença cardiovascular | 31 |
| 1.10 Estudos que avaliam polimorfismos da HMGCR e doença arterial coronariana. | 35 |
| 2. OBJETIVOS..... | 38 |
| 2.1 Objetivo geral | 38 |
| 2.2 Objetivos específicos | 38 |
| 3. METODOLOGIA..... | 39 |
| 3.1 Desenho do estudo | 39 |
| 3.2 Questões éticas..... | 39 |
| 3.3 Seleção de pacientes e coleta das amostras de sangue periférico: | 39 |
| 3.4 Dados clínicos e laboratoriais | 40 |
| 3.5 Extração de DNA | 40 |
| 3.6 Análise de polimorfismo genético do gene HMGCR | 40 |
| 3.7 Análise dos dados | 41 |
| 4. RESULTADOS | 42 |
| 4.1 Características clínicas, laboratoriais e sociodemográficas dos pacientes com DAC..... | 42 |
| 4.2 Frequências do polimorfismo -911 (rs3761740) na região promotora do gene HMGCR | 45 |
| 4.3 Associações avaliadas entre os aspectos clínicos e laboratoriais dos pacientes com DAC e o polimorfismo -911 (rs3761740) do gene HMGCR..... | 46 |
| 5. DISCUSSÃO..... | 48 |
| 6. CONCLUSÃO | 52 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 53 |
| ANEXOS | 66 |

RESUMO

A principal enzima regulatória da biossíntese do colesterol é a hidroximetilglutaril-CoA redutase (HMGCR) e vários polimorfismos são descritos no gene que codifica esta enzima. Atualmente, associações entre tais polimorfismos genéticos e as doenças cardiovasculares são investigadas no sentido de compreender melhor os fatores genéticos associados a essas doenças. O objetivo deste estudo foi avaliar a frequência do polimorfismo -911 (*rs3761740*) na região promotora do gene da HMGCR em pacientes com doença arterial coronariana (DAC), bem como as possíveis associações entre os genótipos encontrados e os aspectos clínicos dos pacientes com DAC. O DNA genômico isolado das amostras de sangue dos pacientes foi analisado para detecção do polimorfismo genético, por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) e análise de polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP). As frequências alélicas obtidas para o polimorfismo -911 (*rs3761740*) na região promotora do gene HMGCR foram: A (51,2%) e C (48,8%). As frequências genotípicas obtidas foram: AA (11,9%), AC (78,6%) e CC (9,5%). Associações significativas entre os genótipos encontrados e os aspectos clínicos dos pacientes com DAC não foram detectadas neste estudo. Nossos resultados permitem concluir que polimorfismo -911 (*rs3761740*) na região promotora do gene da HMGCR não esteve associado aos aspectos clínicos e laboratoriais em pacientes com doença arterial coronariana.

Palavras chave: Doença arterial coronariana, hidroximetilglutaril co-enzima A redutase (HMGCR), polimorfismo genético, biossíntese do colesterol.

ABSTRACT

The main regulatory enzyme of cholesterol biosynthesis is hydroxyl-methylglutaryl-CoA reductase (HMGCR) and several polymorphisms are described in the gene encoding this enzyme. Currently, associations between genetic polymorphisms and cardiovascular disease are investigated in order to better understand the genetic factors associated with such diseases. The objective of this study was to evaluate the frequency of -911 polymorphism (*rs3761740*) in the promoter region of HMGCR gene in patients with coronary artery disease (CAD), as well as the possible associations between the resultant genotypes and clinical features of patients with CAD. Genomic DNA isolated from patients' blood samples were analyzed for the detection of genetic polymorphism, by using polymerase chain reaction (PCR) analysis and restriction fragment length polymorphism (RFLP). Allele frequencies obtained for the -911 polymorphism (*rs3761740*) in the promoter region of the HMGCR gene were: A (51.2%) and C (48.8%). The genotype frequencies obtained were: AA (11.9%), AC (78.6%) and CC (9.5%). Significant associations between the different genotypes and clinical features of the patients with CAD were not detected in this study. Our results show that -911 polymorphism (*rs3761740*) in the promoter region of the HMGCR gene was not associated with clinical and laboratory characteristics in patients with coronary artery disease.

Key words: Coronary artery disease, hydroxyl-methylglutaryl co-enzyme A reductase (HMGCR), genetic polymorphism, cholesterol biosynthesis.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Aterosclerose - definição

O termo “ateroma” tem origem grega e significa “porridge”, uma papa ou mingau típico escocês à base de aveia em flocos. Inicialmente, foi proposto por Albrecht von Hallet, em 1755, para designar o processo degenerativo nas artérias. Em 1833, o patologista francês Jean Lobstein propôs o termo “arteriosclerose” para caracterizar tal processo que provocava proliferação de tecido conjuntivo e calcificação da íntima arterial (TEDGUI & MALLAT, 2006). Finalmente, em 1904, o patologista alemão Marchand usou pela primeira vez o termo “aterosclerose”, atualmente entendido como um processo inflamatório da camada íntima arterial (TEDGUI & MALLAT, 2006; LIBBY, 2008). Muitas lesões de aterosclerose são densas e fibrosas, enquanto outras podem conter grandes quantidades de lipídeos e restos necróticos, a maioria demonstrando combinações e variações de cada uma dessas características (LIBBY, 2008).

1.2 Aterosclerose - epidemiologia

Durante os últimos trinta anos, houve um declínio da mortalidade por doenças cardiovasculares (DCV) nos países desenvolvidos, enquanto que elevações relativamente rápidas e substanciais têm ocorrido nos países em desenvolvimento, entre os quais se inclui o Brasil (MANSUR et al., 2012). De acordo com as projeções da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2011), esta situação tende a persistir agravando ainda mais o quadro de morbidade e mortalidade elevadas nestes países. O risco de morte por doença isquêmica do coração (DIC) no Brasil, em 2009, foi de 149,36 (homens) e 84,82 (mulheres) para cada 100 mil habitantes (MANSUR et al., 2012).

No estado de Goiás, assim como no restante do país, as DCV representam maior causa de morbidade e mortalidade (JARDIM et al 2007), sendo que 25,5% dos pacientes com DCV morrem por infarto agudo do miocárdio (DATASUS, 2013).

Segundo a OMS, as DCV representam a principal causa de morte no mundo, perfazendo 30% das mortes globais. Doenças cardiovasculares são as principais

causas de morte no Brasil e, em 2011, foram responsáveis por 28,6% das 1.170.498 mortes ocorridas no país, sendo que as doenças isquêmicas do coração (DIC) e a insuficiência cardíaca (IC) foram responsáveis por 39,1% das mortes por doenças cardiovasculares (OMS, 2011). As DCV apresentam um grau de acometimento elevado e graves consequências para a população e para o sistema de saúde (GAUI et al., 2014).

As doenças cardiovasculares são importantes problemas de saúde pública e requerem ações emergenciais que possam reduzir taxas de prevalência, amenizar suas consequências físicas e sociais e reduzir os gastos dos serviços de saúde comprometidos com tais doenças (DATASUS, 2013). O colesterol elevado é considerado o principal fator de risco modificável para as doenças (LLOYD-JONES et al., 2010) e a base fisiopatológica para os eventos cardiovasculares é a aterosclerose que, para produzir sequelas clínicas, requer o acúmulo extenso na íntima da artéria afetada (V DIRETRIZ BRASILEIRA DE DISLIPIDEMIAS E PREVENÇÃO DA ATEROSCLEROSE, 2013).

As doenças cardiovasculares (DCV) são multifatoriais e sua prevenção é baseada na identificação de fatores de riscos associados, que se dividem em modificáveis e não modificáveis. Os fatores modificáveis são o diabetes mellitus (DM), tabagismo, sedentarismo, hipertensão arterial sistêmica (HAS), obesidade e as dislipidemias (JARDIM et al., 2007, MAZARRO et al., 2014). Os fatores não modificáveis são a idade, o sexo e a história familiar positiva para doença arterial coronariana (DAC) precoce (GIROLDO et al., 2007).

Cerca de 7,6 milhões de mortes prematuras no mundo estão relacionadas à HAS, sendo que 54% dos acidentes vasculares cerebrais e 47% dos eventos coronarianos isquêmicos estão relacionados a esta doença (LAWES et al., 2008).

As dislipidemias são citadas como um dos principais fatores de riscos para aterosclerose e suas complicações. A prevalência das dislipidemias é variável de acordo com a população estudada e depende dos hábitos dietéticos, culturais ou adquiridos, das características genéticas e do estilo de vida das pessoas (KOLANKIEWICZ et al., 2008). Ainda são poucos os estudos de prevalência das dislipidemias no Brasil, no entanto, alguns mostram alta prevalência no país, que varia de 3,1% a 46,5% em crianças e adolescentes de algumas regiões. Já os adultos apresentam uma prevalência de 12 a 26 % em moradores de capitais brasileiras (XAVIER et al., 2013).

1.3 Aterosclerose - história natural

A artéria normal é dividida em três camadas: uma camada íntima revestida por endotélio na superfície interna do vaso e limitada pela lâmina elástica interna na sua superfície externa; a camada média é limitada pela lâmina elástica interna e, em artérias elásticas e musculares bem desenvolvidas, pela lâmina elástica externa; a camada adventícia é limitada pela lâmina elástica externa e pelo exterior do vaso em si (MEDEIROS et al., 2001).

O endotélio representa o maior e mais extenso tecido do corpo. No sistema arterial, as células endoteliais, formam uma superfície lisa e contínua, ininterrupta e representa, a principal barreira entre os elementos do sangue e a parede arterial. As células endoteliais repousam sobre a membrana basal que provavelmente também atua como um tipo de filtro rudimentar (GUTIÉRREZ et al., 2013). As células endoteliais possuem receptores para muitas moléculas diferentes em sua superfície, incluindo receptores para lipoproteínas de baixa densidade (LDL, do inglês: *low density lipoprotein*), fatores de crescimento e, muitos agentes farmacológicos (STEIMBERG et al., 1983; HANSSON et al., 2005). A capacidade especial do endotélio de modificar lipoproteínas pode ser particularmente importante na aterogênese (STARY et al., 1995).

A aterosclerose é uma doença crônica de origem multifatorial e relacionada a respostas inflamatórias que ocorrem frente à agressão do endotélio, acometendo principalmente a camada íntima das artérias de médio e grande calibres (figura 1). Entretanto, toda a vasculatura é exposta aos efeitos da aterogênese por fatores de riscos sistêmicos como hiperlipidemia, tabagismo, hipertensão, diabetes mellitus, infecções crônicas e fatores genéticos (CHATZIZISIS et al., 2007).

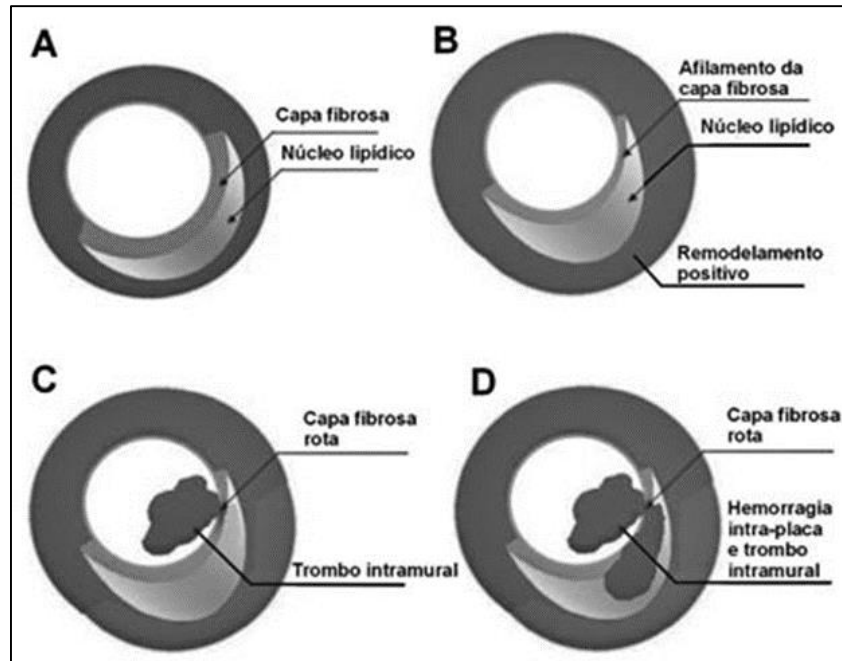


Figura 1. Patogênese da placa aterosclerótica: A) lesão inicial; B) remodelamento positivo e afinamento da capa fibrosa; C) Ruptura da capa fibrosa sem hemorragia intraplaca; D) Hemorragia intraplaca determinando ruptura da capa fibrosa (adaptado de ROHDE e LEE 2003).

Um aumento de LDL associado à uma diminuição dos níveis de HDL (do inglês: *high density lipoprotein*) tem sido reportado como importante preditor de doença arterial coronariana (MAEDA et al., 2014). Como consequência, a disfunção endotelial aumenta a permeabilidade da íntima às lipoproteínas plasmáticas, favorecendo a retenção das mesmas no espaço subendotelial. Retidas, as partículas de LDL sofrem oxidação, causando exposição de diversos neoepitopos e tornando-as imunogênicas (ROSS 1999; SPOSITO et al., 2007).

O depósito de lipoproteínas na parede arterial, processo-chave no início da aterogênese, ocorre de maneira proporcional à concentração dessas lipoproteínas no plasma (FRANÇA et al., 2015). Além do aumento da permeabilidade às lipoproteínas, outra manifestação da disfunção endotelial é o surgimento de moléculas de adesão leucocitária na superfície do endotelial, processo estimulado pela presença de LDL oxidada (LDL-ox). As moléculas de adesão são responsáveis pela ação de monócitos e linfócitos para a íntima da parede arterial (Figura 2). Induzidos por proteínas quimiostáticas, os monócitos migram para o espaço subendotelial onde se diferenciam em macrófagos, que por sua vez captam a LDL-ox, sem controle da quantidade recebida (ALBUQUERQUE et al., 2006).

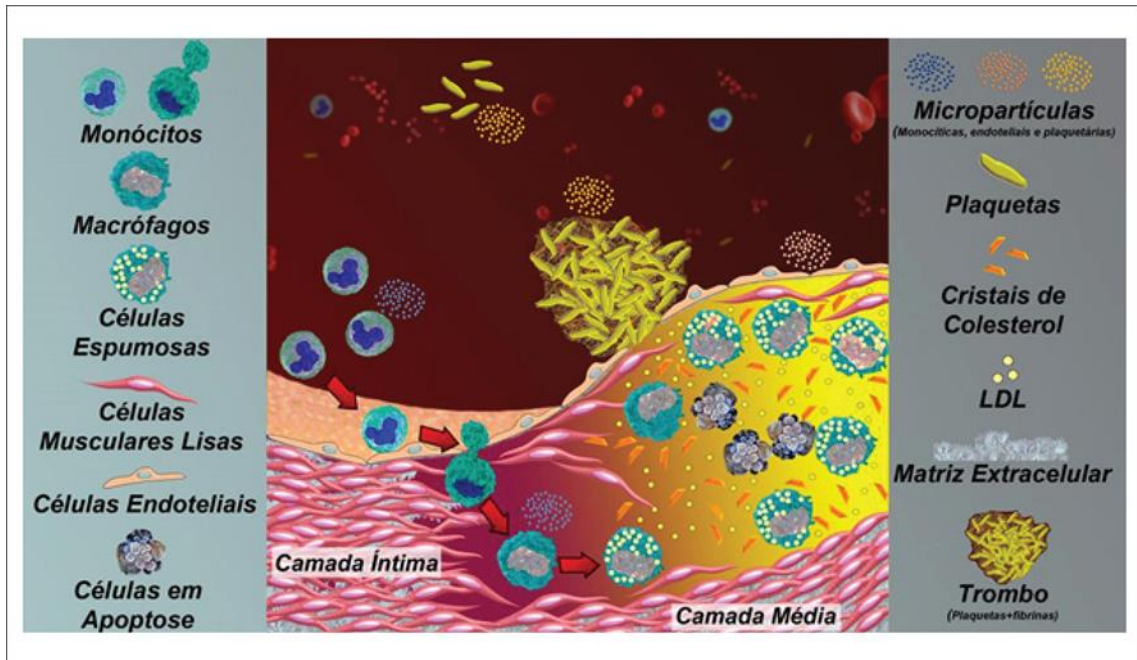


Figura 2. Formação do ateroma. Representação ilustrativa de algumas interações celulares no decorrer da formação do ateroma (adaptado de FRANÇA et al., 2015).

Os macrófagos repletos de lípedes são chamados de células espumosas e são os principais componentes das estrias gordurosas, lesões macroscópicas iniciais de aterosclerose (KOLANKIEWICZ et al., 2008). Uma vez ativados, os macrófagos são, em grande parte, responsáveis pela progressão da placa aterosclerótica mediante a secreção de citocinas, que amplificam a inflamação, e de enzimas proteolíticas, capazes de degradar colágeno e outros componentes teciduais locais (GIROLDO et al., 2007).

Outras células inflamatórias também participam do processo aterosclerótico. Os linfócitos T, embora menos numerosos que os macrófagos no interior do ateroma, são de grande importância na aterogênese. Mediante interação com macrófagos, por exemplo, as células T podem se diferenciar e produzir citocinas que modulam o processo inflamatório local (HANSSON 2005).

Alguns mediadores da inflamação estimulam a migração e proliferação das células musculares lisas da camada média arterial. Estas, ao migrarem para a íntima, passam a produzir não só citocinas e fatores de crescimento, mas também matriz extracelular, que forma parte da capa fibrosa da placa aterosclerótica (SPOSITO et al., 2007).

A placa aterosclerótica plenamente desenvolvida é constituída por elementos celulares, componentes da matriz extracelular e núcleo lipídico e necrótico, formado

principalmente por debris de células mortas. As placas estáveis caracterizam-se por predomínio de colágeno, organizado em capa fibrosa espessa, escassas células inflamatórias e núcleo lipídico e necrótico de proporções menores (figura 3). As instáveis apresentam atividade inflamatória intensa, especialmente nas suas bordas laterais, com grande atividade proteolítica, núcleo lipídico e necrótico proeminente e capa fibrótica tênue (LIBBY et al., 2005).

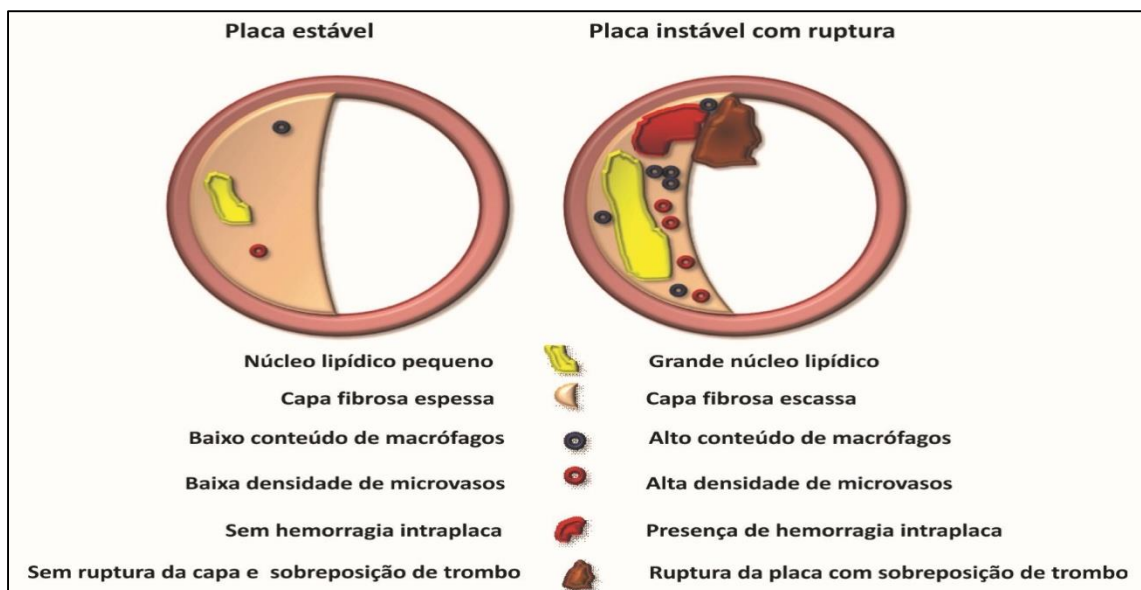


Figura 3. Aterosclerose coronariana. Comparação entre as placas estável e instável (adaptado de van LAMMEREN, 2011).

A ruptura desta capa expõe material lipídico altamente trombogênico, levando à formação de um trombo sobrejacente. Este processo, também conhecido como aterotrombose, é um dos principais determinantes das manifestações clínicas da aterosclerose e pode ter como consequência final a síndrome coronariana aguda (SCA) manifestando-se como infarto agudo do miocárdio (IAM), angina instável (AI) ou isquemia silenciosa (HAMM et al., 2011).

Resumidamente, com o desenvolvimento do processo aterosclerótico, os monócitos passam a acumular lipoproteínas, transformam-se em macrófagos ricos em colesterol, que sofrem apoptose, liberando alta quantidade de lípidos no meio extracelular, ocasionando um ciclo vicioso de inflamação, estresse oxidativo, apoptose de células endoteliais ou erosão endotelial, culminando com os desfechos aterotrombóticos, como infarto do miocárdio ou acidente vascular isquêmico, que ocorrem em razão do contato das substâncias do interior da placa com o sangue,

produzindo imediata coagulação e, conseqüentemente, obstrução total e súbita do vaso (NOMURA et al., 2002; FRANÇA et al 2015).

1.4 Aterosclerose - fatores de riscos

A formação de placa de ateroma na parede dos vasos sanguíneos (HERMANN et al., 2001) e suas conseqüências clínicas, infarto do miocárdio e acidente vascular encefálico (RUSH et al., 2007), associam-se intimamente com fatores de risco tais como: fatores genéticos, hipercolesterolemia com aumento da fração LDL-colesterol (LDL-c), hipertrigliceridemia, diminuição da fração HDL-colesterol (HDL-c), hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM) e obesidade (ALEXOPOULOS et al., 2009; SONODA et al., 2014).

Os principais fatores de risco para DAC foram estabelecidos em meados de 1960 através do estudo de Framingham (DAWBER et al., 1951). Neste estudo epidemiológico prospectivo, indivíduos entre 35 e 65 anos foram examinados para possíveis fatores de risco para doença cardiovascular e acompanhados por 16 anos para manifestações de doença coronariana ou morte (WILSON et al., 1994). Os fatores de risco suspeitos para doença cardiovascular, além da idade e sexo, foram hipertensão arterial, hiperglicemia, tabagismo, dislipidemia, e hipertrofia ventricular esquerda (WILSON et al., 1987).

Ainda no estudo de Framingham foi possível demonstrar que a presença de alguns fatores pode prever o desenvolvimento da doença aterosclerótica coronariana (OLIVEIRA et al., 2007). O diabetes mellitus tipo 1 e 2 é considerado um forte fator de risco independente para doença cardiovascular, duplicando em homens e triplicando em mulheres o risco idade-ajustado para doença cardiovascular. O diabetes tipo 1 acomete geralmente crianças e jovens, porém um número menor da população faz parte deste subgrupo (HAFFNER et al., 1998, ROSINI et al., 2015).

A prevalência do diabetes mellitus tipo 2 tem aumentado significativamente devido à elevada prevalência de obesos e sedentários, favorecendo o desenvolvimento desta doença numa faixa etária mais tardia da vida adulta (POYRAZOGLU et al., 2014). Porém, antes do aparecimento do diabetes, muitos desses indivíduos apresentam resistência insulínica, que associada a outros fatores de risco como dislipidemia, hipertensão e fatores pró-trombóticos, configuram a síndrome metabólica (ROSINI et al., 2015). Esta síndrome é constituída por vários

fatores de risco independentes para DAC. Portanto, antes de desenvolverem o diabetes, esses indivíduos já apresentam os fatores que predispõe à doença cardiovascular (GRUNDY et al., 1999).

Os fatores de risco para doença arterial coronariana (DAC) são classificados como fatores não modificáveis e fatores modificáveis. Dentre os fatores não modificáveis estão idade, sexo masculino e história familiar de DAC precoce (MARTÍNEZ-SELLÉS et al., 2008). Os fatores de risco modificáveis, que incluem a hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, tabagismo, obesidade, sedentarismo e dieta aterogênica, são analisados com grande interesse pela saúde pública devido à possibilidade de intervenções que diminuam o risco cardiovascular da população (KOSKINAS et al., 2013; MAGALHÃES et al 2014).

A dislipidemia é outro fator de risco independente para DAC, sendo a hipercolesterolemia um pré-requisito para aterogênese, especialmente o LDL-colesterol. Diversos estudos epidemiológicos, como o de Framingham, *Multiple Risk Factor Intervention Trial* (MRFIT), *Lipid Research Clinical Trial* (LRC) mostraram a relação direta que existe entre os níveis de LDL-colesterol e as taxas de incidência da doença aterosclerótica (*NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM*, 2002).

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é um dos fatores de risco modificáveis mais prevalentes na população mundial (LAWES et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2015). A HAS está associada ao aparecimento de eventos cardíacos maiores (ECM), e o seu controle é indicado na tentativa de melhorar o prognóstico em médio e longo prazo (GAO et al., 2011). Quanto ao sexo, a prevalência de HAS entre homens e mulheres é semelhante. Entretanto, nota-se uma taxa mais elevada nos homens até os 50 anos, invertendo-se a partir da quinta década de vida (LOPES et al., 2008).

Cerca de 7,6 milhões de mortes prematuras no mundo estão relacionadas à hipertensão arterial sistêmica, sendo que 54% dos acidentes vasculares cerebrais e 47% dos eventos coronarianos isquêmicos estão relacionados a esta patologia (LAWES et al., 2008).

O tabagismo foi definido em múltiplos estudos como um fator de risco importante para doença arterial coronariana (*NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM*, 2002; YUSUF et al., 2004) especialmente quando combinado à hipercolesterolemia (WILSON, 1987). Embora o número de fumantes tenha diminuído consideravelmente, ainda constitui importante fator de risco para DAC

e outras doenças do aparelho circulatório . Estudos observacionais demonstraram uma queda significativa do risco cardiovascular com a suspensão do hábito de fumar (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA SOBRE ANGINA INSTÁVEL E INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO SEM SUPRADESNÍVEL DO SEGMENTO ST-2014).

Outros dois fatores de risco modificáveis para DAC são a obesidade e sedentarismo, que aumentam o risco cardiovascular e estão comumente relacionados à síndrome metabólica (REZENDE et al., 2006). A síndrome metabólica cresceu absurdamente e um dos parâmetros de avaliação é o índice de massa corpórea (IMC) ou do inglês: *body mass index* (BMI). O IMC indica a relação entre o peso (em quilogramas) e a altura do paciente (em metros) ao quadrado. Estar acima do peso (IMC > 25) está associado com um maior risco de doença coronariana e acidente vascular cerebral (GRUNDY et al., 1999; REIBIS et al., 2012).

Dentre os fatores de risco não modificáveis, o risco de DAC aumenta progressivamente com a idade. O sexo masculino apresenta um risco absoluto maior que mulheres, mantendo o risco aumentado mesmo em mulheres após a menopausa (NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM, 2002).

Diversos trabalhos demonstraram que a história familiar precoce de DAC aumenta de forma significativa o risco de doença cardiovascular e sua gravidade (VAIDYA et al., 2007; GREENLAND et al., 2010; REIBIS et al., 2012; SUNMAN et al., 2013).

1.5 Lipoproteínas e dislipidemias

Os lípedeos, representados principalmente por triglicérides (TG), fosfolípidos e colesterol, são partículas hidrofóbicas transportadas na circulação sanguínea e linfática pelas lipoproteínas (PASSARELLI et al., 2007).

Existem quatro grandes classes de lipoproteínas separadas em dois grupos: (1) as ricas em TG, maiores e menos densas, representadas pelos quilomícrons, de origem intestinal, e pelas lipoproteínas de densidade muito baixa, do inglês: *very low density lipoprotein* (VLDL), de origem hepática; e (2) as ricas em colesterol, incluindo as de densidade baixa (LDL) e as de densidade alta, do inglês: *high density lipoprotein* (HDL). Existe ainda uma classe de lipoproteínas de densidade intermediária, do inglês: *intermediary density lipoprotein* (IDL) e a lipoproteína (a)

[Lp(a)], que resulta da ligação covalente de uma partícula de LDL à APO (a). A função fisiológica da Lp(a) não é conhecida, mas, em estudos mecanísticos e observacionais, ela tem sido associada à formação e progressão da placa aterosclerótica (KOLANKEWICZ et al., 2008; XAVIER et al., 2013).

A lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) é formada no fígado, rica em TG e possui pequena porção de colesterol. Os quilomícrons são as maiores lipoproteínas e as menos densas, formadas no intestino. Participam da via exógena de lípedes e transportam cerca de 90% dos TG provenientes da dieta. Já a IDL possui teor lipídico intermediário entre LDL e VLDL, sendo formada pela depleção do TG da VLDL e tem conteúdo formado predominantemente por colesterol estratificado (OLOFSSON et al., 2007).

Formada a partir da IDL, a LDL possui elevada concentração de colesterol esterificado (50%) e função fisiológica de fornecer substrato de colesterol às células do organismo pelo receptor de LDL (LDL-r). Quarenta anos após a descoberta de Goldstein e Brown do receptor, LDL-r, (GOLDSTEIN and BROWN, 2009) e 25 anos após a introdução das estatinas (ENDO, 1992), um marco do gerenciamento da aterosclerose, os olhos da comunidade científica se voltam novamente para o LDL-r (CORRAL, 2014).

A HDL é a menor das lipoproteínas em tamanho. Formada no fígado e no intestino, é responsável pelo transporte reverso do colesterol, retirando-o das células, e trocando-o com outras lipoproteínas ou levando-o diretamente para o fígado, onde este colesterol não utilizado pelos tecidos extra-hepáticos é excretado na bile ou utilizado para a produção de mais VLDL (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA- 2014)).

Vários estudos epidemiológicos, entre eles o clássico estudo de Framingham (WILSON et al., 1988; ASSMANN et al., 1996), revelam que a concentração de HDL-colesterol (HDL-C) é inversamente relacionada à incidência de doença aterosclerótica coronariana. Considerando-se que, atualmente, as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte e que estudos clínicos com estatinas revelam risco cardiovascular residual mesmo após correção das concentrações de LDL-colesterol (LDL-C), estratégias farmacológicas para elevar as concentrações de HDL-C tornaram-se alvo de intensas pesquisas (LEANÇA et al., 2010).

As dislipidemias se apresentam como um dos principais distúrbios metabólicos, podendo ser classificadas como alterações do metabolismo lipídico que modificam os

níveis das lipoproteínas na circulação sanguínea e as concentrações dos seus diferentes componentes (MINEO et al., 2006).

As dislipidemias estão relacionadas aos níveis anormais de TG, e/ou alterações do colesterol total (CT), colesterol ligado à HDL, LDL e Lp(a) plasmática (PRADO & DANTAS, 2002; XAVIER et al., 2013). Essas alterações lipídicas têm sido exaustivamente estudadas devido à sua forte relação com DCV e com exceção da idade, a dislipidemia, principalmente em relação às altas concentrações de LDL-c e baixas de HDL-c, é o fator preditivo mais importante para o desenvolvimento da DAC e de suas complicações (VAPAALATO & MERVAALA, 2001; FORTI & DIAMENT, 2006).

Classificam-se as dislipidemias em primárias ou secundárias de acordo com a sua etiologia (MCKENNEY, 2001; XAVIER et al., 2013). As dislipidemias primárias ou genéticas são decorrentes de alterações no metabolismo do LDL-c, HDL-c e TG, podendo se manifestar com a influência do ambiente (FORRESTER et al., 2010; GREGORI et al., 2013).

As dislipidemias secundárias estão associadas aos hábitos inadequados, como etilismo, sedentarismo, dieta inadequada (National Cholesterol Education Program-NCEP, 2002) e a uma série de co-morbidades com DM, obesidade, insuficiência renal crônica, hipotireoidismo, ou ao uso de medicamentos como anticoncepcionais, diuréticos, betabloqueadores, anabolizantes e corticosteroides (SBC, 2013).

Para a classificação fenotípica ou bioquímica (Quadro 1), são considerados os níveis plasmáticos de CT, LDL-c, TG e HDL-c. Estas dosagens bioquímicas compreendem o perfil lipídico (XAVIER et al., 2013).

A importância da classificação etiológica das dislipidemias em primária ou secundária deve-se ao fato de que muitos casos são revertidos com o controle da doença de base, enquanto as primárias são apenas controláveis com medicamentos e mudança no estilo de vida (SCHULZ, 2006).

Quadro 1 - Valores de referência para o diagnóstico de dislipidemia em indivíduos acima de 20 anos de idade.

| Lípedes | Valores(mg/dL) | categoria |
|---------|----------------|------------|
| CT | <200 | Desejável |
| | 200-239 | Limítrofe |
| | >239 | Alto |
| LDL-c | <100 | Ótimo |
| | 100-129 | Desejável |
| | 130-159 | Limítrofe |
| | 160-189 | Alto |
| | >189 | Muito alto |
| HDL-c | >60 | Desejável |
| | <40 | Baixo |
| TG | <150 | Desejável |
| | 150-200 | Limítrofe |
| | 200-499 | Alto |
| | >499 | Muito alto |

CT=colesterol total; LDL-c =Lipoproteína de baixa densidade; HDL-c= lipoproteína de alta densidade; TG= triglicérides. Adaptado da V DIRETRIZ BRASILEIRA DE DISLIPIDEMIAS E PREVENÇÃO DA ATEROSCLEROSE DO DEPARTAMENTO DE ATEROSCLEROSE DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA (SBC) Arq Bras Cardiol. 2013.

1.6 Doença aterosclerótica coronariana

A formação da placa ateromatosa em artérias que irrigam o coração resulta na doença arterial coronariana (DAC), diagnosticada por exames essenciais, incluindo a angiografia coronariana (LIBBY et al., 2005; DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2008) ou cateterismo cardíaco (figura 4) que é o método mais indicado para pacientes que apresentam *angina pectoris* com testes de imagem não invasivos sugestivos de doença coronariana e com suspeita ou conhecida doença coronariana (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2014).

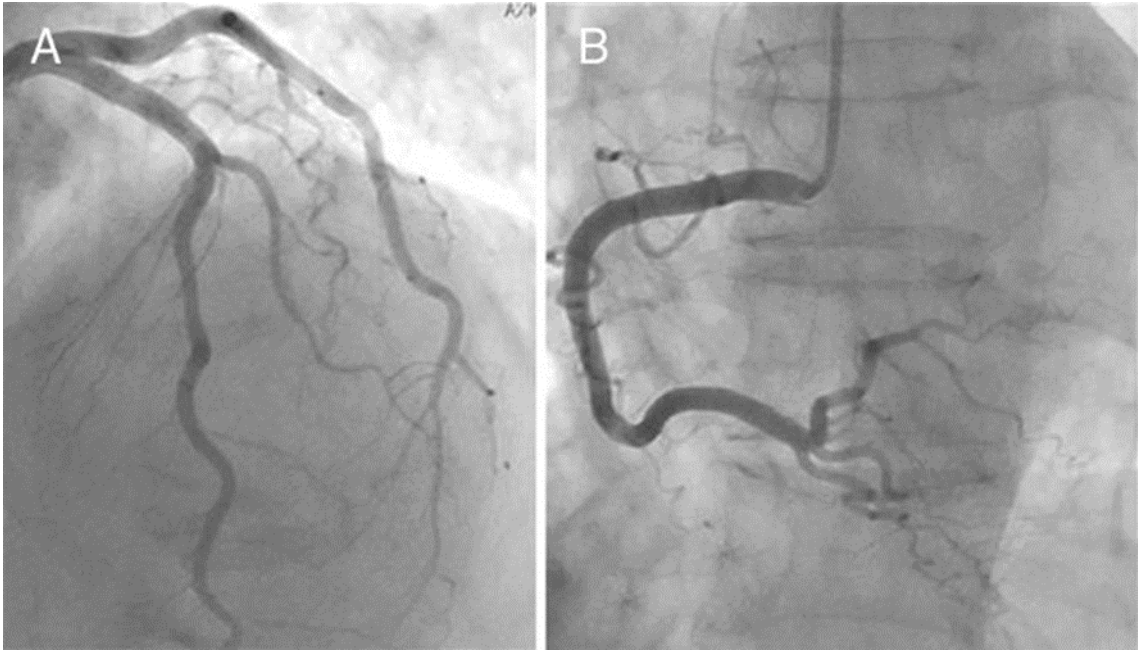


Figura 4 - Angiografia coronariana normal. Angiografia coronariana de aspecto normal. A-artéria coronária esquerda e seus ramos. B-Artéria coronária direita (adaptado de CESÁRIO et al., 2012).

As lesões coronarianas são significativas quando há obstrução de uma ou mais artérias com estenose de 70% e/ou lesão de tronco da coronária esquerda (TCE) com no mínimo, 50% de estenose. Tais obstruções são avaliadas e mensuradas pela cineangiocoronariografia, exame diagnóstico com baixas taxas de complicações (figura 5). Alguns pacientes devem ser submetidos a esse estudo invasivo, por ser o método mais acurado para diagnóstico de lesões coronarianas obstrutivas (LIBBY et al., 2005).

O mais simples e mais usado método para descrever a extensão da DAC separa os pacientes em uniarterial, biarterial, triarterial ou lesão em TCE (HIGGINS et al., 1988).

A angina é uma síndrome clínica caracterizada por dor ou desconforto em quaisquer das seguintes regiões: tórax, epigástrio, mandíbula, ombro, dorso ou membros superiores. É tipicamente desencadeada ou agravada com a atividade física ou estresse emocional, e atenuada com uso de nitroglicerina e derivados (CORREIA et al, 2012). A angina usualmente acomete portadores de DAC com comprometimento de, pelo menos, uma artéria epicárdica. Entretanto, pode também ocorrer em casos de doença cardíaca valvar, cardiomiopatia hipertrófica e hipertensão não controlada. Pacientes com coronárias normais e isquemia miocárdica relacionada ao espasmo ou disfunção endotelial também podem apresentar angina (CESAR et al., 2014).

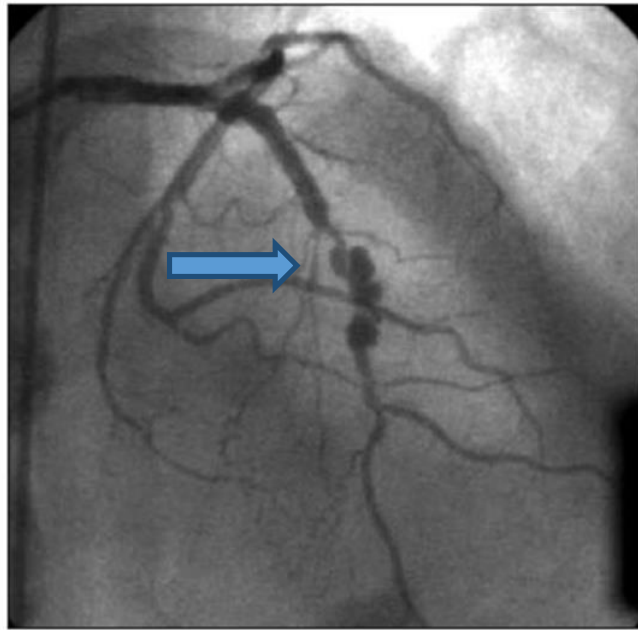


Figura 5- Cateterismo cardíaco com lesões. Cateterismo cardíaco com lesão grave (seta) de artéria descendente anterior (DA), um ramo da coronária esquerda. Adaptado de SARMENTO-LEITE et al., 2011.

As síndromes coronarianas agudas (SCA) podem levar a eventos de alta morbimortalidade como o infarto agudo do miocárdio, a angina instável e a morte súbita. O infarto agudo do miocárdio tem mortalidade em um terço dos casos, sendo que a metade desses óbitos ocorre na primeira hora do evento isquêmico por arritmia. Outro terço evolui com disfunção ventricular, tornando o indivíduo inapto para a realização de atividades laborativas ou mesmo pessoais (CARVALHO et al., 2005).

A alta mortalidade e morbidade da doença coronariana implicam em alto impacto socioeconômico, visto que tais casos incidem, em sua maioria, sobre indivíduos economicamente ativos (BONOW et al., 2008). A faixa etária mais frequentemente acometida é dos 50 aos 65 anos. Porém, tem-se observado um aumento significativo no número de casos em pacientes mais jovens (LONG et al., 2013; REIBIS, R., 2012). O estudo de Framingham (LLOYD-JONES et al., 1999) analisou dados para estimar o risco de um adulto desenvolver doença coronariana por faixa etária. De acordo com esta análise, o risco estimado para DAC em adultos na faixa etária de 40 anos foi de 48,6% para homens e 31,7% para mulheres. Aos 50 anos, o risco foi estimado em 51,7% e 39,2%, para homens e mulheres, e aos 70 anos 34,9% e 24,2% para homens e mulheres, respectivamente (LLOYD-JONES et al., 2006).

O espectro da DAC inclui: *angina pectoris* estável crônica, angina instável e infarto agudo do miocárdio (PEREIRA et al., 2009). Pacientes com DAC têm, alto risco de desenvolver eventos cardiovasculares, incluindo infarto do miocárdio (IAM), acidente vascular cerebral e morte por doença cardiovascular (DCV). Cerca de 80% das doenças cardíacas coronarianas e doença cerebrovascular são causadas por fatores de riscos comportamentais (AQUINO et al., 2012). De acordo com dados da OMS existe uma estimativa de que 75% da mortalidade por DCV pode ser diminuída com adequadas mudanças no estilo de vida e esse é o grande desafio das diversas diretrizes existentes em prevenção cardiovascular (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2014).

1.7 Tratamento da doença arterial coronariana

Os tratamentos propostos para as lesões ateroscleróticas que causam estenoses (estreitamentos do lúmen arterial) significativas são a revascularização cirúrgica ou percutânea para reestabelecimento do fluxo arterial e melhora da perfusão miocárdica (de SOUSA et al., 2015). Porém, estes tratamentos são paliativos, não impedindo a progressão da doença aterosclerótica em outros locais (KEMP et al., 2015). Vários estudos recentes mostram que a prevenção primária e secundária da doença aterosclerótica, por mudanças no estilo de vida e medicações, é capaz de reduzir a progressão ou até regredir as placas ateroscleróticas. Essas mudanças levam à redução nas taxas de mortalidade e eventos cardiovasculares como a morte súbita, o infarto agudo, angina e acidente vascular cerebral (GRUNDY et al., 2004).

As placas ateroscleróticas começam a se formar na infância e progridem durante a adolescência e a vida adulta (GREENLAND et al., 2010; TUZCU et al., 2001). Existe um longo tempo entre a formação das placas e as manifestações clínicas da DAC em que os indivíduos permanecem assintomáticos. Fatores genéticos e inflamatórios não são modificáveis. Porém, muitos dos fatores de risco para doença aterosclerótica são conhecidos e modificáveis, sendo possível intervir para uma redução efetiva da progressão da doença e suas manifestações (TULLY and BAKER, 2012).

1.8 Genética da aterosclerose e biossíntese do colesterol

A doença arterial coronariana (DAC), como consequência das alterações

ateroscleróticas nas artérias coronárias, também pode resultar da ação de múltiplos fatores genéticos e ambientais. Susceptibilidade genética a doenças cardíacas isquêmicas (DCI) pode ser determinada por variantes polimórficas específicas de genes que codificam isoformas envolvidas em processos que são importantes na patogênese da aterosclerose (THANASSOULIS et al., 2012).

Recentemente, um estudo amplo de associação do genoma (GWAS - do inglês: *genome wide association study*) relatou um grande número de *loci* candidatos que conferem risco ou proteção para DAC e infarto do miocárdio (RISK et al., 2015).

A biossíntese do colesterol é uma das vias bioquímicas mais intensamente estudadas devido à sua relevância bem conhecida para a saúde (GOLDSTEIN, 1993). O colesterol é uma molécula que contém 27 carbonos que é essencial para a estrutura e função das membranas lipídicas eucarióticas (YEAGLE, 1989). Em adição, o colesterol atua como precursor essencial de várias biomoléculas de importância fisiológica incluindo os ácidos biliares, hormônios esteroidais e oxisterol (ADLAKHA et al., 2013). A síntese de colesterol é essencial para a vida e defeitos na habilidade de sintetizar o colesterol pode resultar em condições clínicas severas (PORTER, 2003).

As células animais obtêm o colesterol por uma combinação de síntese e a captação da corrente sanguínea. A necessidade da inibição da biossíntese é primordial para prevenção de doenças cardiovasculares. A síntese do colesterol ou via do mevalonato foi elucidada graças ao trabalho pioneiro de muitos pesquisadores (SHARPE AND BROWN, 2013). Entretanto, de todas as enzimas envolvidas (BLOCK, 1965), uma recebe maior atenção, a 3-hidroxiacetilglutaril-CoA redutase (HMGCR).

O mecanismo de regulação da biossíntese do colesterol foi descoberto por Rudolf Schoenheimer e Fritz Breusch, que observaram que ratos produziam colesterol em proporção inversa à quantidade presente na dieta (SCHOENHEIMER et al., 1933). Com base nesta constatação, Marvin Siperstein e M. Joanne determinaram que o alvo de inibição da retroalimentação para a síntese do colesterol é a reação de redução (HMG-CoA) em mevalonato pela enzima HMGCR (SIPERSTEIN et al., 1960).

Avanços subsequentes revelaram que a HMGCR é regulada em vários níveis, incluindo a transcrição, tradução, modificação pós-translacional e degradação (GOLDSTEIN et al., 1990; GOLDSTEIN et al., 2006).

O colesterol do organismo é, portanto, em parte proveniente da alimentação e em parte produzido a partir de intermediários metabólicos (HIRASHIKI et al., 2003).

A enzima-chave da síntese do colesterol é a HMGCR, cujo gene localiza-se em 5q13.3-q14, compreendendo 19 exons (KAMSTRUP et al., 2009; KELLER et al., 2010; LICASTRO et al., 2007). A HMGCR é uma enzima que limita a síntese do colesterol e é regulada via mecanismo de *feedback* (PORCELLINE et al., 2007). A inibição da biossíntese de colesterol endógeno resulta em aumento da expressão e da atividade de receptores de LDL, o que contribui para uma maior captação de partículas LDL pelos tecidos que utilizam e armazenam o colesterol (CLARKE et al., 2009).

Além disso, a HMGCR é o principal alvo das estatinas, drogas usadas na redução do colesterol plasmático (ISTVAN et al., 2001). A resposta às estatinas pode variar de acordo com o indivíduo e a variação genética da HMGCR pode explicar esta variação de resposta (KATHIRESAN et al., 2008). Portanto, vários grupos vêm pesquisando a relação entre variantes do gene da HMGCR e a resposta ao uso de estatinas (SAMANI et al., 2007; JAWAID et al., 2010; BURG et al., 2011; CHASMAN et al., 2004; CHUNG et al., 2012; CHEN et al., 2009, AKADAM-TEKERAT et al., 2013).

A via do mevalonato (figura 6) leva à via do lanosterol que pode seguir a via de Bloch produzindo colesterol através do desmosterol, ou a via de Kandutsch-Russell, através do 7-desidrocolesterol. Dois outros ramos também divergem da via do mevalonato. Os isoprenóides são produzidos pela difosfato de geranylgeranyl sintase, que atua para converter a farnesil-difosfato a geranylgeranyl difosfato e daí a isoprenóides. E através da via de derivação, quando ocorre a conversão do 2,3-epóxido de esqualeno em diepoxiesqualeno, eventualmente, conduzindo à produção de 24 (S),25-epoxicolesterol (SHARPE AND BROWN, 2013).

O terceiro passo na via do mevalonato que é catalizada pela HMGCR é considerado a reação limitante para a velocidade de síntese do colesterol. Assim a HMGCR é o principal alvo das estatinas, drogas utilizadas para o tratamento de níveis elevados de colesterol e doenças cardiovasculares, justificando a concentração de esforços para desvendar a regulação da HMGCR (JO and DEBOSE-BOYD, 2010; BURG and ESPENSHADE, 2011).

Todas as células nucleadas são capazes de sintetizar o colesterol. Portanto, em condições normais não há necessidade da ingestão de colesterol. A quantidade de colesterol em uma alimentação típica ocidental pode variar em média de 300 a 500 mg por dia (WANG, 2007).

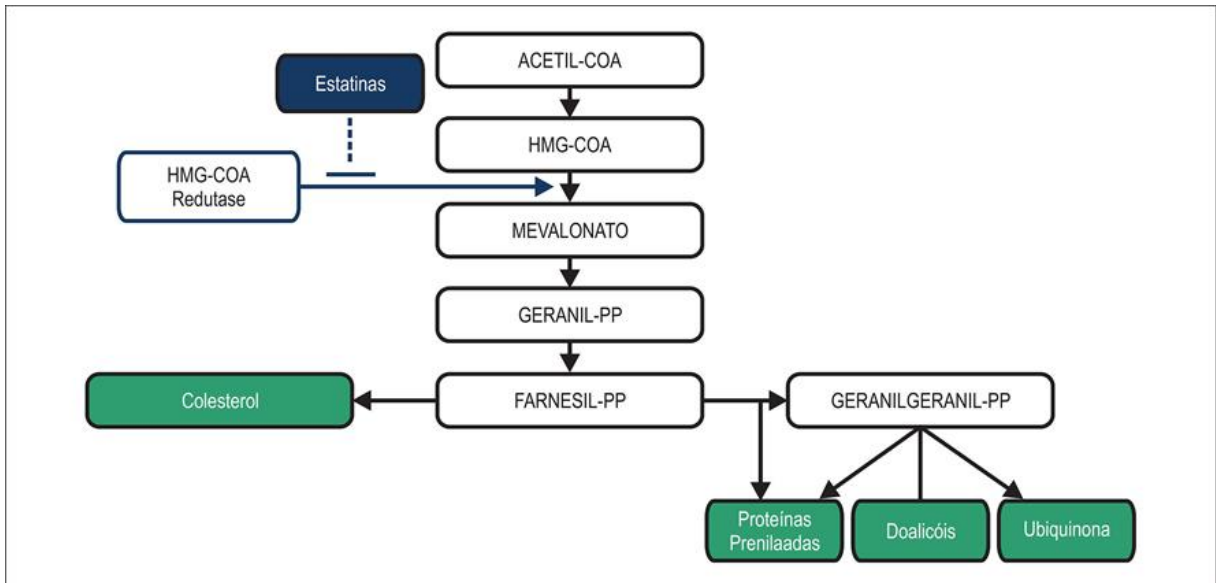


Figura 6. Via do mevalonato. Estágios da biossíntese do colesterol e ação das estatinas. A enzima 3-hidroximetilglutaril coenzima A redutase (HMGCR) catalisa a conversão de HMG-CoA em mevalonato; a ação de inibição dessa enzima pelas estatinas acarreta a redução de síntese do colesterol, bem como de demais intermediários (proteínas preniladas, dolicolis e ubiquinona), os quais poderiam contribuir para as lesões musculares decorrentes do uso das estatinas. CoA: coenzima A; PP: pirofosfato (adaptado de BONFIM et al., 2015).

O colesterol é absorvido no intestino delgado e distribuído para a maioria dos tecidos do corpo pela ação de lipoproteínas. O cérebro é um bom exemplo, onde a barreira hemato-encefálica impede a passagem do colesterol carregado pelas lipoproteínas. O colesterol do cérebro é proveniente da síntese local (BJÖRKHEM AND MEANEY, 2004). O excesso de colesterol pode ser armazenado com ésteres de colesterol ou eliminado via oxidação e/ou convertido em ácidos biliares (BJÖRKHEM, 2013).

Apesar da eficácia considerável das estatinas, um número significativo de eventos cardiovasculares ocorre em indivíduos tratados com esta droga, indicando uma persistência da fisiopatologia subjacente, apesar do tratamento (CHASMAN et al., 2004). Variações na resposta do LDL-colesterol para o tratamento com estatinas tem sido atribuídas a fatores genéticos e não genéticos e incluem polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) e haplótipos dos principais genes, reguladores do metabolismo do colesterol, incluindo a HMGCR, entre outros, assim como preditores fenotípicos, tais como raça, idade e tabagismo (CHASMAN et al., 2004; SIMON et al., 2006; DONNELLY et al. 2008, KRAUSS et al. 2008, THOMPSON et al., 2009). No entanto, a eficácia das estatinas por estes polimorfismos ainda é pouco estudada. Além disso, as abordagens do genoma inteiro ainda não identificaram SNPs

estatisticamente significativas associadas a uma resposta às estatinas (THOMPSON et al., 2009).

A HMGCR é altamente regulada por mecanismos múltiplos, incluindo a transcrição, a estabilidade do RNAm, degradação de proteínas e a fosforilação, e há evidência genética para a regulação por *splicing* alternativo da HMGCR (GOLDSTEIN e BROWN, 1990; CHASMAN et al., 2004).

1.9 Polimorfismo genético e doença cardiovascular

Ao considerar a base genética da doença coronariana, é necessário estabelecer uma distinção entre suas causas mais raras, causas monogênicas, e as causas mais comuns, ou seja, as poligênicas, nas quais estão envolvidos vários fatores, entre eles genéticos, comportamentais e ambientais. Embora a investigação sobre a DAC foi por décadas tratada apenas como monogênica, sabe-se que a maioria dos casos de DAC são de etiologia complexa. Um exemplo de doença monogênica que predispõe à DAC precoce é a hipercolesterolemia familiar, causada por uma mutação no gene que codifica o receptor LDL, a qual se caracteriza por concentrações elevadas de LDL no plasma (SWERDLOW et al., 2012).

Polimorfismos genéticos são descritos em todo genoma humano. Além de serem responsáveis pelas diferenças genéticas individuais, muitas vezes, estão associados a uma maior predisposição às doenças, à resistência aos diferentes tratamentos e ao aparecimento de efeitos colaterais frente aos procedimentos clínicos específicos (PORCELLINI et al., 2007).

Ao longo dos últimos anos, os avanços das técnicas de biologia molecular, em grande parte proporcionados pelo aparecimento e generalização do uso da terceira geração de sequenciadores, implementaram os GWAS para a linha da frente dos estudos populacionais, com enfoque na identificação de moduladores genéticos de doenças, em especial de doenças complexas (SAMANI et al., 2007). Os GWAS baseiam-se na premissa de que, em muitas dessas doenças, as variantes hereditárias que concorrem para explicar o desenvolvimento do processo patogênico podem ser relativamente comuns, com frequência do alelo minoritário (*minor allele frequency*, MAF) superior a 5%, o que torna possível identificar associações entre doenças e variações genômicas através de grandes rastreios populacionais. Essas variações não são necessariamente codificantes e, de facto, através de GWAS têm sido

identificadas associações com uma série de variantes genéticas localizadas em zonas não codificantes do genoma (SAMANI et al., 2008). A interpretação do significado destas associações depende, em grande parte, do conhecimento fino sobre as regiões em que se encontram as variantes. No fundo, questiona-se se uma variante para a qual se detetou um sinal positivo de associação não influenciará a expressão de um gene ou se o sinal não será consequência da ocorrência de desequilíbrio de ligação com outras variações em genes localizados nessa mesma região genómica. Procura-se, então, identificar os genes com potencial para explicar a associação detetada, seguindo-se um outro desafio, que é compreender a base biológica dos sinais revelados pelos GWAS.

Embora as expectativas nem sempre sejam alcançadas, os estudos de GWAS tem desvendado importantes fatores genéticos que estão por detrás de uma série de doenças complexas. Um dos casos de maior sucesso é ilustrado pela identificação de *single nucleotide polymorphism* (SNP) relevantes em doenças cujos quadros patogénicos dependem dos níveis de lípidos e de lipoproteínas no plasma, como são exemplo a dislipidemia ou o infarto agudo do miocárdio (IAM). Ao longo dos últimos anos, foram já descritos mais de 100 *loci* associados a variação dos níveis de triglicéridos, c-LDL e colesterol HD. Relativamente a DAC ou IAM, os GWAS levaram à identificação de um menor número de *loci*, alguns dos quais igualmente associados a alterações nos fatores de risco tradicionais (SANDHU et al., 2008; SAMANI et al., 2008).

Quando genomas de diferentes humanos são comparados, a grande maioria dos nucleotídeos é quase sempre a mesma em todo o mundo. Esta é a razão pela qual é possível falar de forma generalizada sobre o genoma humano (LICASTRO et al., 2010). Variantes de forma ocasionais podem ser vistas na posição de qualquer nucleotídeo, mas são quase sempre raras e cerca de um nucleotídeo a cada 300 é polimórfico, isto é, mais de uma forma é comum na população. Estes polimorfismos de nucleotídeo único são catalogados no banco de dados público dbSNP ([HTTP://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP)) e designados por números iniciados por RS (do inglês: *reference SNP*). As formas mais comuns de polimorfismos genéticos incluem deleções e inserções, substituição de nucleotídeos únicos (SNPs), além de variações no número de cópias ou de sequências repetidas (*VNTR* do inglês: *variable number of tandem repeat*) de micro e minissatélites (ZULLIANI et al., 1990)..

Cerca de 92-94% dos genes humanos podem sofrer *splicing* alternativo, que é um processo pós-transcricional capaz de gerar múltiplos RNAs mensageiros a partir de um único gene (NEMBAWARE et al., CLARK et al., 2007, 2004, WANG et al. 2008). Assim, o impacto do *splicing* alternativo no risco de DCV pode se estender para além do seu papel na determinação da sensibilidade da HMGCR à estatina (BURKHARDT et al., 2008, KATHIRESAN et al., 2008).

O *splicing* alternativo tem sido reportado em importantes genes envolvidos na captação e produção celular de colesterol (BURKHARDT et al., 2008; MEDINA et al., 2008). A HMGCR é codificada por um único gene no cromossomo 5 (5q13.3-q14) e duas variantes transcricionais estão catalogadas no Centro Nacional de Biotecnologia e Informação (NCBI do inglês: *National Center for Biotechnology Information*). Uma transcrição longa composta por 20 exons (NM_000859.2) e uma variante de *splicing* alternativo do exon 13 (NM_001130996.1), (Johnson et al., 2003, BURKHARDT et al., 2008; MEDINA et al., 2008).

O gene que codifica a HMGCR sofre *splicing* alternativo no *exon* 13, ou seja, quando o gene da HMGCR é transcrito, uma região chamada de *exon* 13 é excluída, o que prejudica a atividade enzimática da HMGCR, podendo acarretar uma inibição de sua sensibilidade à ação das estatinas. Durante o *splicing*, algumas partes do primeiro produto do gene, RNAm, são removidas e outras são combinadas. A enzima que é produzida pelo padrão *splicing* convencional desempenha um papel crucial no início da produção de colesterol no organismo, e a sua atividade pode ser fortemente inibida por estatinas. A isoforma resultante de *splicing* alternativo, em vez disso, é mais resistente à inibição da produção de colesterol pela estatina (BURKHARDT et al., 2008).

Adicionalmente estudos de microarranjos sugerem a presença de pelo menos mais três isoformas resultantes de *splicings* alternativo da HMGCR (Johnson et al., 2003). Estas envolvem o *exon* 8 (AY429542), *exon* 18 (AY429543) e os *exons* 17 e 18 (AY429544).

A diversidade genômica é grandemente ampliada pelo processo de *splicing* alternativo, por introns que são removidos e exons que são ligados para formar vários RNAm. O *splicing* alternativo tem sido sugerido como outro mecanismo de regulação subjacente da HMGCR e homeostase do colesterol (MEDINA et al., 2011).

Um painel de 12 SNPs associados com os níveis de LDL-colesterol ou HDL-

colesterol foi relatado como fator preditivo de risco de DCV, independentemente dos níveis lipídicos (KATHIRESAN et al. 2008). O impacto potencial do *splicing* alternativo de fatores de risco para DCV é ainda sugerido pela evidência de *splicing* alternativo de outros genes na via biossintética do colesterol tais como inibidores da HMG-CoA-sintase e da mevalonato-quinase (GIL et al. 1987, HOUTEN et al., 2001).

Além disso, uma vez que as estatinas são conhecidas por inibirem a biossíntese do colesterol, é possível que o *splicing* alternativo possa ser um importante mecanismo de regulação dos efeitos pleiotrópicos das estatinas, ou seja, além dos efeitos hipolipimiantes como outras propriedades antiinflamatórias, ações imunomoduladoras, antitrombogênicas e de melhora da função endotelial (WANG et al. 2008).

O conhecimento dos polimorfismos genéticos que predisõem ou agravam a doença arterial coronariana (DOEVENDANS et al., 2001) é um instrumento importante para a prevenção primária, abordagem diagnóstica, tratamento e aconselhamento genético em cardiologia (O'DONNELL et al., 2011). Estudos de epidemiologia genética mostram uma variedade de alterações genéticas, incluindo polimorfismos, que estão associados à maior prevalência da DAC (HIRASHIKI et al., 2003; RIZK et al 2015). Entretanto, poucos estudos correlacionam polimorfismos da HMGCR e DAC. Entender a regulação genética destes efeitos e o papel do *splicing* alternativo da HMGCR e de outros genes na via de colesterol pode levar ao desenvolvimento de novos medicamentos para reduzir o risco de doença cardíaca (KELLER et al., 2010; LICASTRO et al., 2010).

Dentre os polimorfismos mais estudados da HMGCR relacionados com DAC, tem-se o da região promotora 911 C>A (rs3761740), o polimorfismo de repetição (TTA)_n (do inglês: *tandem repeats polymorphism*) localizado no intron 2 e o 8302 A/C (TONG et al., 2004; NORIEGA et al., 2008; BHANUSHALI et al., 2012; AKADAM-TEKER et al., 2013).

1.10 Estudos que avaliam polimorfismos da HMGCR e doença arterial coronariana.

Um estudo de varredura genômica (GWAS), no qual foram analisadas milhares de variáveis ao longo do genoma humano, a procura de genes importantes para doenças multifatoriais, identificou uma forte associação entre a DAC e a região

cromossômica 9p21. Esta região é a primeira variável de risco para DAC descoberta por GWAS, que também foi confirmada por numerosos estudos de replicação. Esta região é também sítio comum para DAC e infarto do miocárdio, tendo os polimorfismos rs1333049, em que ocorre a troca de base G>C e o rs10757274 A>G fortemente associados à doença (SCHEFFOLD et al., 2011; GIOLI-PEREIRA et al., 2012).

O polimorfismo de nucleotídeo único na região promotora da HMGCR foi reportado como fator de risco para Doença de Alzheimer (KELLER et al., 2010). Este polimorfismo (rs3761740) influencia a região promotora da HMGCR, que tem sua atividade transcricional regulada pela proteína ligadora do elemento regulatório do esterol (SREBP do inglês: *sterol regulatory element binding protein*), acima dos níveis basais (PORCELLINI et al., 2007).

Dentre os trabalhos analisados que estudaram a relação de polimorfismos da HMGCR e DAC, foi considerado de relevância para o desenvolvimento deste estudo, uma pesquisa realizada na Turquia (AKADAM-TEKER et al., 2013), que analisou a idade e o gênero em relação ao SNP da região promotora 911(rs3761740) da HMGCR e os lipídeos séricos em pacientes com DAC. Demonstrou que na população turca existe uma associação significativa entre o polimorfismo da região promotora 911 (rs3761740) no gene da HMGCR e a presença de doença cardiovascular e hipercolesterolemia.

Em outro estudo (NORIEGA et al., 2008), o polimorfismo de repetição (TTA)_n da HMGCR foi relacionado com doença arterial coronariana e hiperlipidemia em pacientes fazendo uso de estatina (atorvastatina).

O estudo de BHANUSHALI et al., 2012, avaliou a região promotora da HMGCR C>A em pacientes com DAC e níveis de colesterol na população da Índia. Este estudo concluiu que não havia associação do polimorfismo -911 (rs3761740) C>A com as alterações dos níveis de colesterol e o risco de DAC.

No Brasil, o estudo MASS II (do inglês: *Medical Angioplasty or Surgery Study II*) investigou a associação dos polimorfismos rs1333649, rs10757274, rs10757278, rs2383206, da região cromossômica 9p21, com eventos cardiovasculares, porém não foi encontrado nenhum estudo brasileiro que avalia a região promotora 911 (rs3761740) da HMGCR com níveis lipídicos e doença arterial coronariana (GIOLI-PEREIRA et al., 2012).

No presente estudo a hipótese de que o polimorfismo da região promotora -911(rs3761740) da HMGCR possa estar associado aos aspectos clínicos e

laboratoriais de pacientes com DAC foi investigada (LIPKIN et al., 2010; MAGRAVITE et al., 2010; MEDINA et al., 2011). Poucos estudos no Brasil investigam polimorfismos da HMGCR, porém a nível mundial, existe um número crescente de estudos sobre esta região promotora, investigando a relação de polimorfismo da HMGCR e o risco de doença arterial coronariana (BHANUSHALI et al., 2012; AKADAM-TEKER et al., 2013).

O quadro 2 mostra os estudos de associação entre a variável rs3761740 da região promotora 911 da HMGCR, níveis lípidicos e DAC em diferentes populações.

Quadro 2: Estudos de associação da variável rs3761740 da região promotora 911 do gene da HMGCR em diferentes populações.

| | Tamanho amostral | Etnia | Fenótipo avaliado | Variante genética | Principais achados | Referências |
|--|--|---------|---|-------------------|--|----------------------------|
| The effects of age and gender on the relationship between HMGCR promoter-911 SNP (rs3761740) and serum lipids in patients with coronary heart disease. | 365 pacientes com DAC 365 pacientes controles saudáveis | Turquia | Pacientes com DAC e controles saudáveis relacionado à variante rs3761740 | rs3761740 | Mostra que o polimorfismo na região promotora 911 da HMGCR pode ter diversos efeitos nos níveis de colesterol plasmático e risco de DAC dependendo do sexo e da idade. | Akadam-Teker et al., 2013. |
| Evaluation of the promoter polymorphism - 911 C>A in the HMGCR gene with coronary artery disease risk and cholesterol levels in a population from Wester Índia | 220 pacientes com DAC e 150 pacientes controles saudáveis. | Índia | Pacientes com DAC e controles saudáveis relacionados à variante rs3761740 | Rs3761740 | Observou que não há associação do polimorfismo 911C>A com níveis de colesterol e o risco de DAC. | Bhanushali et al., 2012. |

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a frequência do polimorfismo na região promotora -911(rs3761740) do gene da HMGCR em pacientes com DAC, comprovada por angiografia coronariana.

2.2 Objetivos específicos

- Investigar os aspectos clínicos e epidemiológicos de 84 pacientes com DAC.
- Investigar a frequência do polimorfismo -911(rs3761740) da região promotora do gene HMGCR em pacientes com DAC comprovada.
- Avaliar as possíveis associações entre os genótipos do gene da HMGCR avaliado e os aspectos clínicos dos pacientes com DAC.

3. METODOLOGIA

3.1 Desenho do estudo

O presente estudo é descritivo e analisou um polimorfismo genético da região promotora -911(rs3761740) do gene HMGCR em amostras de sangue periférico obtidas de um grupo de pacientes com DAC estabelecida e documentada por meio de angiografia coronariana, no Serviço de Cardiologia do Hospital Lúcio Rebelo, em Goiânia. Os pacientes que concordaram em participar do projeto assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), responderam a um questionário sobre os fatores de risco para a DAC e doaram uma amostra de sangue periférico para as análises moleculares. As amostras de sangue foram transferidas para o Laboratório de Diversidade Genética da PUC Goiás, onde foram processadas para extração de DNA e análise dos polimorfismos genéticos. Para as análises dos polimorfismos genéticos foi utilizada a reação em cadeia da polimerase (do inglês: *polymerase chain reaction, PCR*) e a análise de polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição (do inglês: *restriction fragment length polymorphism, RFLP*). Os resultados obtidos para as frequências dos polimorfismos os aspectos clínicos e epidemiológicos foram analisados por meio de testes estatísticos apropriados. O SNP (do inglês: *single nucleotide polymorphism*) foi o 911 C>A (rs3761740) na região promotora do gene da HMGCR.

3.2 Questões éticas

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, recebendo o parecer em anexo CAAE: 36241814.4.0000.0037 de 24 de Setembro de 2014.

3.3 Seleção de pacientes e coleta das amostras de sangue periférico:

Durante suas consultas de rotina, um total de 84 pacientes com DAC, comprovada por angiografia coronariana, atendidos no Serviço de Cardiologia do Hospital Lúcio Rebelo, foram convidados, pelo pesquisador (Médico cardiologista,

Stanley S. Sousa), a participar do estudo.

3.4 Dados clínicos e laboratoriais

As informações sobre as variáveis consideradas como fatores de risco para DAC (tabagismo, diabetes melitus, hipertensão arterial) foram obtidas a partir da ficha clínica e avaliada com base nas recomendações da V DIRETRIZ BRASILEIRA SOBRE DISLIPIDEMIAS E PREVENÇÃO DE ATROSCLEROSE (SBC, 2013). A obesidade foi medida pelo índice de massa corporal (IMC), preconizado pela OMS (Rezende et al., 2006). A análise bioquímica do perfil lipídico foi obtida no exame de rotina do paciente. Os dados coletados foram tabulados e analisados em relação ao polimorfismo genético estudado.

3.5 Extração de DNA

As amostras de sangue periférico coletadas foram usadas para extração de DNA, no Laboratório de Diversidade Genética da PUC Goiás. A extração de DNA total utilizou o kit comercial *PureLINK*, distribuído pela INVITROGEN, de acordo com as recomendações dos fabricantes. As alíquotas de DNA foram identificadas por um número, rotuladas e mantidas em freezer -80°C até a realização das análises moleculares.

3.6 Análise de polimorfismo genético do gene HMGR

O DNA genômico isolado das amostras de sangue foi analisado para detecção do polimorfismo genético por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) e análise de polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição de acordo com procedimento descrito por Percellini et al (2007). A amplificação da região promotora foi feita com os oligonucleotídeos iniciadores HMGRF (SNP 911): 5'TTGAGTGAAATACAGATCCTGTCC3'/HMGRR(SNP911):5'CCATAGACCTGCA TCAGCGT 3'. O mix usado na reação de PCR continha tampão 10X 10mM , dNTP 0,2 mM, MgCl₂ 1,5 mM, 0,8 pM/ul de cada primer e 1 U de *Taq polymerase*. O protocolo de ciclagem incluiu: uma etapa a 96°C por 5 minutos, para desnaturação inicial; 30 ciclos com etapas a 96°C por 45 segundos, 56°C por 45 segundos e 72°C

por 45 segundos; mais uma etapa de 72°C. O produto de PCR foi digerido com a enzima *BsuRI* (*MBI Fermentas, Italy*; 10U/amostra). Os produtos de digestão foram analisados em gel de poliacrilamida a 8%, corado pela prata. De acordo com os três diferentes genótipos, os fragmentos obtidos foram: 261 e 139 pares de bases (genótipo AA), 261, 70 e 69 pares de bases (genótipo CC) ou 261, 139, 70 e 69 pares de bases (genótipo AC).

3.7 Análise dos dados

A análise estatística dos dados foi realizada com o uso do software SPSS versão 15.0. teste *t Student* com significância de 5%. A utilização deste programa permitiu avaliar as frequências alélicas e genóticas do grupo e investigar as possíveis associações com as características genéticas e laboratoriais dos pacientes.

4. RESULTADOS

4.1 Características clínicas, laboratoriais e sociodemográficas dos pacientes com DAC.

A maioria dos pacientes (tabela 1) estudados (61,9%) era do sexo masculino e história familiar de DAC foi registrada para a maior parte do grupo (61,9%). A hipertensão arterial sistêmica (HAS) foi observada na maioria dos pacientes (84,5%).

Tabela 1- Características demográficas e clínicas do grupo de pacientes com DAC.

| Aspecto | Número de pacientes (N=84) | |
|-----------|----------------------------|------|
| | n | % |
| Sexo | | |
| Masculino | 52 | 61,9 |
| Feminino | 32 | 38,1 |
| HF de DAC | | |
| Não | 32 | 38,1 |
| Sim | 52 | 61,9 |
| Tabagismo | | |
| Não | 67 | 79,8 |
| Sim | 17 | 20,2 |
| DM | | |
| Não | 58 | 69,0 |
| Sim | 26 | 31,0 |
| HAS | | |
| Não | 13 | 15,5 |
| Sim | 71 | 84,5 |

DAC, doença arterial coronariana; HF, história familiar; DM, diabetes melitus; HAS, hipertensão arterial sistêmica.

As características de IMC e perfil lipídico são descritos na tabela 2. A média do IMC descrita para o grupo foi de 26,22 kg/m², caracterizando o sobrepeso dos participantes, uma vez que os valores desejáveis de IMC estão abaixo de 25kg/m².

Tabela 2 Características demográficas, clínicas e bioquímicas do grupo estudado.

| Fator | n | Média | Desvio Padrão | IC (95%) | |
|--------------------------|----|--------|---------------|----------|----------|
| | | | | Inferior | Superior |
| Idade (anos) | 84 | 62,65 | 11,23 | 60,22 | 65,09 |
| IMC (kg/m ²) | 84 | 26,22 | 4,17 | 25,32 | 27,13 |
| CT (mg/dL) | 84 | 145,83 | 46,20 | 135,81 | 155,86 |
| TG (mg/dL) | 84 | 131,42 | 59,22 | 118,57 | 144,27 |
| LDL (mg/dL) | 84 | 82,18 | 40,85 | 73,31 | 91,04 |
| VLDL (mg/dL) | 84 | 26,26 | 11,84 | 23,69 | 28,83 |
| HDL (mg/dL) | 84 | 40,77 | 10,13 | 38,57 | 42,97 |

LDL, lipoproteína de baixa densidade; IMC, índice de massa corpórea; CT, colesterol total; LDL, lipoproteína de baixa densidade; HDL, lipoproteína de alta densidade; VLDL, lipoproteína de densidade muito baixa e TG, triglicerídeos.

As características como idade, perfil lipídico e IMC foram comparadas com relação ao sexo dos pacientes (tabela 3). Os níveis de HDL foram significativamente mais elevados nas mulheres avaliadas ($p=0,03$).

Tabela 3- Distribuição das características laboratoriais, idade e IMC de acordo com o sexo.

| Variável / Sexo | n | Média | Desvio Padrão | IC (95%) | | P |
|-----------------|----|--------|---------------|----------|----------|-------|
| | | | | Inferior | Superior | |
| Idade | | | | | | |
| Masculino | 52 | 61,06 | 11,26 | 57,92 | 64,19 | 0,097 |
| Feminino | 32 | 65,25 | 10,84 | 61,34 | 69,16 | |
| IMC | | | | | | |
| Masculino | 52 | 25,99 | 3,67 | 24,97 | 27,01 | 0,509 |
| Feminino | 32 | 26,61 | 4,91 | 24,84 | 28,38 | |
| CT | | | | | | |
| Masculino | 52 | 141,88 | 42,28 | 130,11 | 153,66 | 0,321 |
| Feminino | 32 | 152,25 | 52,01 | 133,50 | 171,00 | |
| TG | | | | | | |
| Masculino | 52 | 137,67 | 54,46 | 122,51 | 152,84 | 0,219 |
| Feminino | 32 | 121,25 | 65,85 | 97,51 | 144,99 | |
| LDL | | | | | | |
| Masculino | 52 | 78,60 | 36,34 | 68,48 | 88,71 | 0,308 |
| Feminino | 32 | 88,00 | 47,32 | 70,94 | 105,06 | |
| VLDL | | | | | | |
| Masculino | 52 | 27,52 | 10,90 | 24,48 | 30,55 | 0,217 |
| Feminino | 32 | 24,22 | 13,15 | 19,48 | 28,96 | |
| HDL | | | | | | |
| Masculino | 52 | 38,90 | 6,76 | 37,02 | 40,79 | 0,030 |
| Feminino | 32 | 43,81 | 13,58 | 38,92 | 48,71 | |

LDL, lipoproteína de baixa densidade; IMC, índice de massa corpórea; CT, colesterol total; LDL, lipoproteína de baixa densidade; HDL, lipoproteína de alta densidade; VLDL, lipoproteína de densidade muito baixa e TG, triglicerídeos.

4.2 Frequências do polimorfismo -911 (rs3761740) na região promotora do gene HMGCR

As frequências alélicas e genóticas avaliadas para o polimorfismo -911 (rs3761740) na região promotora do gene HMGCR são apresentadas na tabela 4. Na análise de distribuição dos genótipos e alelos, houve uma predominância do genótipo heterozigoto (AC) em relação aos genótipos AA e CC.

Tabela 4- Distribuição dos genótipos e alelos no polimorfismo da região promotora - 911(rs3716740) da HMGCR em pacientes com DAC.

| HMGCR | Frequência | |
|----------|------------|-------|
| | f | fr(%) |
| GENÓTIPO | | |
| AA | 10 | 11,9 |
| AC | 66 | 78,6 |
| CC | 8 | 9,5 |
| Alelos | | |
| A | 86 | 51,2 |
| C | 82 | 48,8 |

HMGCR, hidroximetilglutaril coenzima A redutase; DAC, doença arterial coronariana.

4.3 Associações avaliadas entre os aspectos clínicos e laboratoriais dos pacientes com DAC e o polimorfismo -911 (rs3761740) do gene HMGCR.

As associações investigadas entre as frequências alélicas obtidas e as características demográficas e clínicas dos pacientes com DAC são apresentadas na tabela 5. Os aspectos demográficos e clínicos avaliados não foram significativamente associados aos genótipos analisados.

Tabela 5- Características demográficas, clínicas e genótípicas de polimorfismos da HMGCR em pacientes com DAC.

| Variável | n | Média | Desvio Padrão | IC (95%) | | P |
|--------------|----|--------|---------------|----------|----------|-------|
| | | | | Inferior | Superior | |
| Idade | | | | | | |
| AA | 10 | 68,30 | 12,02 | 59,70 | 76,90 | 0,173 |
| AC | 66 | 62,26 | 11,03 | 59,55 | 64,97 | |
| CC | 8 | 58,88 | 10,78 | 49,87 | 67,88 | |
| IMC | | | | | | |
| AA | 10 | 24,59 | 3,67 | 21,96 | 27,22 | 0,190 |
| AC | 66 | 26,66 | 4,36 | 25,59 | 27,73 | |
| CC | 8 | 24,69 | 2,03 | 22,99 | 26,38 | |
| CT | | | | | | |
| AA | 10 | 154,60 | 71,10 | 103,74 | 205,46 | 0,641 |
| AC | 66 | 145,97 | 43,98 | 135,16 | 156,78 | |
| CC | 8 | 133,75 | 23,88 | 113,79 | 153,71 | |
| TG | | | | | | |
| AA | 10 | 155,70 | 87,51 | 93,10 | 218,30 | 0,216 |
| AC | 66 | 130,73 | 56,20 | 116,91 | 144,54 | |
| CC | 8 | 106,75 | 29,45 | 82,13 | 131,37 | |
| LDL | | | | | | |
| AA | 10 | 87,90 | 67,32 | 39,74 | 136,06 | 0,617 |
| AC | 66 | 82,85 | 37,81 | 73,55 | 92,14 | |
| CC | 8 | 69,50 | 21,15 | 51,82 | 87,18 | |
| VLDL | | | | | | |
| AA | 10 | 31,20 | 17,52 | 18,66 | 43,74 | 0,205 |
| AC | 66 | 26,12 | 11,22 | 23,36 | 28,88 | |
| CC | 8 | 21,25 | 5,97 | 16,26 | 26,24 | |
| HDL | | | | | | |
| AA | 10 | 41,80 | 15,92 | 30,41 | 53,19 | 0,685 |
| AC | 66 | 40,30 | 8,73 | 38,16 | 42,45 | |
| CC | 8 | 43,38 | 13,15 | 32,38 | 54,37 | |

HMGCR, hidroximetilglutaril coenzima A redutase; DAC, doença arterial coronariana. LDL, lipoproteína de baixa densidade; IMC, índice de massa corpórea; CT, colesterol total; LDL, lipoproteína de baixa densidade; HDL, lipoproteína de alta densidade; VLDL, lipoproteína de densidade muito baixa e TG, triglicerídeos.

A distribuição dos pacientes de acordo com os genótipos e características demográficas e clínicas, tais como genero, história familiar de DAC, tabagismo, diabetes melitus e hipertensão são mostrados na tabela 6. Diferenças significativas entre os genótipos avaliados e as características demográficas e clínicas não foram demonstradas.

Tabela 6- Número de pacientes de acordo com as características pessoais e os genótipos.

| Variável | AA (N=10) | | AC (N=66) | | CC (N=8) | | p |
|-----------|-----------|-------|-----------|------|----------|------|-------|
| | n | % | n | % | n | % | |
| Sexo | | | | | | | |
| Masculino | 5 | 50,0 | 42 | 63,6 | 5 | 62,5 | |
| Feminino | 5 | 50,0 | 24 | 36,4 | 3 | 37,5 | 0,710 |
| HF de DAC | | | | | | | |
| Não | 4 | 40,0 | 26 | 39,4 | 2 | 25,0 | |
| Sim | 6 | 60,0 | 40 | 60,6 | 6 | 75,0 | 0,725 |
| Tabagismo | | | | | | | |
| Não | 9 | 90,0 | 53 | 80,3 | 5 | 62,5 | |
| Sim | 1 | 10,0 | 13 | 19,7 | 3 | 37,5 | 0,343 |
| DM | | | | | | | |
| Não | 6 | 60,0 | 46 | 69,7 | 6 | 75,0 | |
| Sim | 4 | 40,0 | 20 | 30,3 | 2 | 25,0 | 0,768 |
| HAS | | | | | | | |
| Não | 0 | 0,0 | 10 | 15,2 | 3 | 37,5 | |
| Sim | 10 | 100,0 | 56 | 84,8 | 5 | 62,5 | 0,091 |

DAC, doença arterial coronariana; HF, história familiar; DM, diabetes melitus; HAS, hipertensão arterial sistêmica. Teste qui-quadrado.

5. DISCUSSÃO

Considerando a atividade limitante da biossíntese do colesterol pela enzima HMGCR, acredita-se que variações genéticas deste gene são importantes para o desenvolvimento da doença aterosclerótica assim como de outras doenças associadas ao metabolismo do colesterol (GOLDSTEIN e BROWN, 2009). Diante disso, este estudo avaliou a frequência do polimorfismo na região promotora -911(rs3761740) do gene da HMGCR em pacientes com DAC, buscando possíveis associações entre os genótipos encontrados e os aspectos clínicos da doença.

As estatinas têm sido utilizadas clinicamente para reduzir os níveis de colesterol total e LDL e têm como principal alvo a HMGCR, que apresenta papel fundamental na via do mevalonato. As diferenças farmacológicas interindividuais observadas neste tratamento clínico têm sido atribuídas a diferenças genéticas (NORIEGA et al., 2009).

Em virtude da alta incidência de doenças cardiovasculares no mundo, torna necessária a busca de marcadores genéticos que possam determinar o risco de desenvolvimento de tais doenças (BANUSHALI et al., 2012). Inúmeros polimorfismos foram identificados no *locus* da HMGCR e seus efeitos foram estudados em associação aos níveis de lipídeos no sangue (LIPKIN et al., 2010; MAGRAVITE et al., 2010; CHUNG et al., 2012).

Diferentes estudos investigaram polimorfismos desta enzima em outras doenças como a Doença de Alzheimer (PORCELLINE et al., 2007). Visto que os protocolos de estudo de polimorfismo da HMGCR são poucos detalhados, as reações realizadas neste estudo foram ajustadas para obtenção de melhores resultados.

Considerando que um elevado teor lipídico no organismo pode indicar alto risco para eventos cardiovasculares, um estudo multiétnico MESA (do inglês: *Multi-Ethnic Study-Americans*) avaliou 10 SNPs da HMGCR e níveis de lipídeos em uma população de 2.444 pacientes formada por americanos descendentes de chineses, espanhóis, africanos e europeus. Os resultados apontaram que a variação genética da HMGCR estava associada à níveis de baixos de HDL, e níveis elevados de LDL e triglicérides (CHEN et al., 2009).

Alguns estudos sugerem que o polimorfismo na região promotora -911 pode ser fator de risco para desenvolver infarto agudo do miocárdio (LICASTRO et al., 2007, 2010), contudo o impacto no nível de lipídeos na aterosclerose ainda não foi

adequadamente elucidado. No presente estudo foi detectado que o polimorfismo de nucleotídeo único na região promotora -911 do gene da HMGCR não possui associação com DAC. Este achado está em concordância com um estudo que também demonstrou que tal polimorfismo não é fator preditivo de DAC (BHANUSHALI et al., 2012). Para Bhanushali et al. (2012), em uma avaliação das associações entre o polimorfismo da região promotora -911 C>A (rs3761740) da HMGCR em doentes com DAC e níveis de colesterol na população da Índia, não foi observada diferença estatística entre os genótipos avaliados em relação aos níveis de colesterol ou à presença de DAC.

Entretanto, segundo Akadam-Teker et al. (2013), em um estudo realizado com uma população da Turquia, existe uma significativa associação entre o polimorfismo na região promotora -911 (rs3761740) no gene da HMGCR, a presença de DAC e dislipidemia. Estas associações são influenciadas pela idade e o sexo. Esse estudo concluiu que níveis elevados de colesterol estão associados ao genótipo CC na região promotora 911C>A da HMGCR e idade menor que 55 anos em homens, porém sem afetar o risco para DAC. Mostrou também que existe uma relação importante entre o genótipo CC e o risco de DAC independente do nível de lipídeos em mulheres (AKADAM-TEKER et al., 2013).

Ao analisar os dados obtidos no presente estudo foi verificada uma média de idade igual a 62,65 anos para os casos avaliados, valor considerado superior em relação às médias observadas por Akadam-Teker et al (2013), que foi de 52,20 anos e Bhanushali et al (2012) que foi de 55 anos.

O índice de massa corpórea (IMC) no presente estudo evidenciou sobrepeso (IMC>25) dos participantes com valor médio igual a 26,22. Este mesmo índice foi de 22,20 na população turca, segundo dados da pesquisa de Akadam-Teker et al (2013) e não foi avaliado na população indiana no estudo de Bhanushali et al (2012).

O número elevado de hipertensos no grupo estudado (84,5%) evidencia a hipertensão como fator de risco para o desenvolvimento de DAC. A história familiar para o desenvolvimento de DAC foi maior no presente estudo (61,9%) em relação ao estudo turco (42,19%) de Akadam-Teker et al. (2013), que também verificou que o padrão de alelos C>A na região promotora -911(rs3761740) do gene HMGCR foi: C=89,1% e A= 10,89%. Na população da Índia, segundo Bhanushali et al. (2012), a proporção dos alelos foi: C=90% e A=10%. Já na amostra de pacientes estudados no estado de Goiás, a proporção dos alelos A e C foi praticamente semelhante (51,2 e

48,8 respectivamente). O genótipo predominante na população turca foi CC (80,5%), na população indiana foi CC (80,5%), e neste estudo predominou o genótipo AC (78,6%). Tal diferença enfatiza a importância do estudo populacional brasileiro, cuja população é extremamente heterogênea e resultante de cruzamentos entre vários grupos populacionais (SUAREZ-KURTZ, 2009).

O número de tabagistas vem decrescendo na população mundial, como resultado das campanhas de conscientização do risco de DCV associada ao tabagismo. Neste estudo, a amostra de fumantes foi de 20,2%, significativamente menor quando comparado com o estudo turco (AKADAM-TEKER et al., 2013), que foi de 62,1%. No estudo indiano de Bhanushali et al.(2012), esta variável não foi analisada.

No presente estudo, foi possível verificar que os níveis de HDL colesterol foram significativamente mais elevados ($p=0,03$) em indivíduos do sexo feminino em relação ao masculino (38,90/43,81). Também foi observado um sobrepeso maior nas mulheres em relação aos homens, quando analisado o IMC (26,61/25,99), dado também observado na população turca (27,0/26,8), (AKADAM-TEKER et al., 2013).

Os níveis de lipídeos detectados no presente estudo se apresentaram dentro da normalidade, sendo este resultado ocasionado, provavelmente, pelo tratamento instituído ao diagnóstico de DAC, que consiste, entre outros fatores, na mudança do estilo de vida (dieta hipolipídica e atividade física) e o uso de estatina.

Quando analisado o perfil lipídico e os genótipos neste estudo, não houve associação significativa, porém, observou-se que o grupo de genótipo AC apresentava uma média de 40,30 mg/dL de colesterol HDL mais próximo do limítrofe (>40 mg/dL) quando comparado com os genótipos AA e CC (41,80 mg/dL e 43,38 mg/dL respectivamente).

Os resultados obtidos neste estudo descritivo de polimorfismo da região promotora -911(rs3761740) da HMGCR, demonstraram que para os genótipos AA, AC e CC, nenhuma associação significativa, foi observada em relação aos níveis de lipídeos de pacientes com DAC.

No futuro próximo, estudos farmacogenéticos poderão trazer elevados impactos na área clínica e permitirão a identificação de indivíduos com maior probabilidade em desenvolver uma determinada doença. Dada à importância da HMGCR e a alta incidência de DAC, o presente estudo se torna de grande valia para que novas pesquisas, com maior casuística e utilizando grupo controle, sejam

realizadas para uma avaliação mais ampla da população. E à medida que os estudos de varredura do genoma vão definindo novos marcadores para DAC, torna-se importante as descobertas das associações dos polimorfismos genéticos com as doenças nos seres humanos.

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, é possível concluir que:

1 - Nos pacientes com DAC avaliados nesse estudo, o polimorfismo 911(rs3761740) da região promotora da HMGCR apresentou uma frequência de 51,2% para o alelo A e de 48,8% para o alelo C.

2 - Dentre as características clínicas e laboratoriais avaliadas para os pacientes com DAC, a história familiar foi descrita em 61,9% dos casos, a hipertensão arterial sistêmica em 84,5% dos casos e os níveis de HDL foram significativamente diminuídos nas mulheres.

3 - Nos pacientes com DAC avaliados neste estudo, a análise do polimorfismo -911(rs3761740) da região promotora do gene da HMGCR resultou nas frequências gênicas: AA (11,9%), AC (78,6%) e CC (9,5%).

4 - Não foram demonstradas associações significativas entre os genótipos avaliados e as características clínicas e laboratoriais dos pacientes com DAC avaliados neste estudo.

5 - Uma vez que vários mecanismos regulatórios controlam a expressão e a atividade bioquímica da HMGCR, estudos mais amplos devem ser conduzidos no sentido de explicar melhor o papel das variações genéticas na atividade desta enzima e no controle da DAC.

BIBLIOGRAFIA

ADLAKHA Y.K., KHANNA S., SINGH R., SINGH V.P., AGRAWAL A., SAINI N. Pro-apoptotic miRNA-128-2 modulates ABCA1, ABCG1 and RXR α expression and cholesterol homeostasis. *Cell Death Dis.* 2013 Aug 29;4:e780.

AKADAM-TEKERAT, B., et al., 2013. The effects of age and gender on the relationship between HMGCR promoter-911 SNP (rs3761740) and serum lipids in patients with coronary heart disease. *Gene* 528, 93-98.

ALBUQUERQUE, L.C et al. Vulnerabilidade da doença aterosclerótica de carótidas: do laboratório à sala de cirurgia - parte 1. *Rev Bras Cir Cardiovasc [online]*. 2006, vol.21, n.2, pp. 127-135.

ALEXOPOULOS N., RAGGI P. Calcification in atherosclerosis. *Nat.Rev. Cardiol.* 2009;6(11):681-8.

AQUINO E. M. L., BARRETO S. M., BENSE NOR I. M., CARVALHO M. S., CHOR D., DUNCAN B. B., et al. (2012). Brazilian longitudinal study of adult health (ELSA-Brasil): objectives and design. *Am. J. Epidemiol.* 175 315–324 10.

ASSMANN G., SCHULTE H., VON ECKARDSTEIN A., HUANG Y. High-density lipoprotein cholesterol as a predictor of coronary heart disease risk. The PROCAM experience and pathophysiological implications for reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis.* 1996;124:S11-20.

BHANUSHALI A.A., CONTRACTOR A., DAS B.R. Evaluation of the promoter polymorphism -911C>A in the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A reductase gene with coronary artery disease risk and cholesterol levels in a population from Western India. *Transl Res.* 2012 Dec;160(6):445-6.

BJÖRKHEM, I. (2013). Five decades with oxysterols. *Biochimie* 95, 448–454.

BJÖRKHEM, I., and MEANEY, S. (2004). Brain cholesterol: long secret life behind a barrier. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 24, 806–815.

BLOCH, K. 1965. The biological synthesis of cholesterol. *Science* 150, 19-28.

BONFIM, M.R., OLIVEIRA, A.S.B., AMARAL, S.L., MONTEIRO, H.L. Tratamento das Dislipidemias com Estatinas e Exercícios Físicos: Evidências Recentes das Respostas Musculares. *Arq. Bras. Cardiol.* vol.104 no.4 São Paulo Apr. 2015 Epub Feb 13, 2015.

BONOW, R.O. et al. Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. 9. ed. Amsterdam: Elsevier Saunders, 2008. BRASIL.

- BURG, J.S., AND ESPENSHADE, P.J. 2011. Regulation of HMG-CoA reductase in mammals and yeast. *Prog. Lipid Res.* 50,403-410.
- BURKHARDT R, KENNY EE, LOWE JK, BIRKELAND A, JOSOWITZ R, NOEL M, et al. Common SNPs in HMGCR in micronesians and whites associated with LDL-cholesterol levels affect alternative splicing of exon13. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:2078–2084.
- CARVALHO, G., MACHADO, M.N., MAIA, L.N. Acute myocardial infarction and documented sudden death. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 2005, vol.84, n1.
- CESAR, L.A., FERREIRA, J.F., ARMAGANIJAN, D., GOWDAK, L.H., MANSUR, A.P., BODANESE, L.C., SPOSITO, A., SOUSA, A.C., CHAVES, A.J., MARKMAN, B., CARAMELLI, B., VIANNA, C.B, OLIVEIRA, C.C., MENEGHETTI, C., ALBUQUERQUE, D.C., STEFANINI, E., NAGIB, E., PINTO, I.M.F., CASTRO, I., SAAD, J.A., SCHNEIDER, J.C., TSUTSUI, J.M., CARNEIRO, J.K.R., TORRES, K., PIEGAS, L.S., DALLAN, L.A., LISBOA, L.A.F., SAMPAIO, M.F., MORETTI, M.A., LOPES, N.H., COELHO, O.R., LEMOS, P., SANTOS, R.D., BOTELHO, R., STAICO, R., MENEGHELLO, R., MONTENEGRO, S.T., VAZ, V.D. Diretriz de doença coronária estável. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 2014.
- CHASMAN, D. I., POSADA, D., SUBRAHMANYAN, L., COOK, N.R., STATON JR., V.P., RIDKER, P.M., 2004. Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. *JAMA* 291 (23), 2821-2827.
- CHATZIZISIS YS, COSKUN AU, JONAS M, et al. Role of endothelial shear stress in the natural history of coronary atherosclerosis and vascular remodeling: molecular, cellular, and vascular behavior. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:2379–93.
- CHEN, Y.C., et al., 2009. The HMG-CoA reductase gene and lipid and lipoprotein levels: the Multi-Ethnic Study of atherosclerosis. *Lipids* 44 (8), 733-743.
- CHUNG, J.Y., et al., 2012. Effect of HMGCR variant alleles on low-density lipoprotein cholesterol-lowering response to atorvastatin in healthy Korean subjects. *J. Clin. Pharmacol.* 52 (3), 339-346.
- CLARK, T.A., SCHWEITZER, A.C., CHEN, T.X., STAPLES, M.K., LU, G., WANG, H., et al. Discovery of tissue-specific exons using comprehensive human exon microarrays. *Genome Biol* 2007;8:R64.
- CLARKE R., PENDEN J.F., et al. Genetics variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease. *N Engl J Med.* 2009;361:2518.

- CORRAL, P. De Volta ao Básico: PCSK9 como um Novo Alvo para o Receptor LDL. Arq. Bras. Cardiol. vol.102 no.1 São Paulo Jan. 2014.
- CORREIA, L.C.L. et al. Análise de causalidade da relação entre sangramento e letalidade de Síndromes Coronarianas Agudas. Arq. Bras. Cardiol., Jun 2012, vol.98, no.6, p.488-496
- DAWBER, T.R., MEADORS, G.F., MOORE, F.E.J. Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. Am J Public Health 1951;41:279-86.
- DE SOUSA, A.G., FICHINO, M.Z.S., DA SILVA, G.S., BASTOS, F.C.C., PIOTTO, R.F. Epidemiology of coronary artery bypass grafting at the Hospital Beneficência Portuguesa, São Paulo. Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular: órgão oficial da Sociedade Brasileira de Cirurgia Cardiovascular. 2015;30(1):33-39.
- DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA – Intervenção Coronária Percutânea e Métodos Adjuntos Diagnósticos em Cardiologia Intervencionista (II Edição-2008).
- DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA SOBRE ANGINA INSTÁVEL E INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO SEM SUPRADESNÍVEL DO SEGMENTO ST (II Edição, 2007) – atualização 2013/2014.
- DOEVENDANS P.A., JKEMA W., et al. Molecular genetics and gene expression in atherosclerosis. Int J Cardiol. 2001;80:161-72
- DONNELLY, L.A., DONEY, A.S., DANNFALD, J., WHITLEY, A.L., LANG, C.C., MORRIS, A.D., et al. A paucimorphic variant in the HMG-CoA reductase gene is associated with lipid lowering response to statin treatment in diabetes: a GoDARTS study. Pharmacogenet Genomics 2008;18:1021–1026.
- ENDO, A. The discovery and development of HMG Co-A reductase inhibitors. J Lipid Res. 1992;33(11):1569-82.
- FRANÇA, C.N., IZAR, M.C.O., AMARAL, J.B., TEGANI, D.M., FONSECA, F.A.H. Micropartículas como Possíveis Biomarcadores da Doença Cardiovascular. Arq. Bras. Cardiol. vol.104 no.2 São Paulo Feb. 2015.
- FORRESTER, J.S. Redefining normal low-density lipoprotein cholesterol: a strategy to unseat coronary disease as the nation's leading killer. J Am Coll Cardiol. 2010; 56(8):630-6.
- FORTI N, DIAMENT J. High-density lipoproteins: metabolic, clinical, epidemiological and therapeutic intervention aspects. An update for clinicians. Arq Bras Cardiol. 2006 Nov;87(5):671-9.

- GAO, D., GUO, Y., NING, W., NIU, X., YANG, J. Computed tomography for detecting coronary artery plaques: a meta-analysis. *Atherosclerosis*.2011; 219(2):603–9.
- GIL, G., SMITH, J.R., GOLDSTEIN, J.L., BROWN, M.S. Optional exon in the 5'-untranslated region of 3-hydroxy-3- methylglutaryl coenzyme A synthase gene: conserved sequence and splicing pattern in humans and hamsters. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:1863–1866.
- Gioli-Pereira L, Santos PCJL, Ferreira NE, Hueb WA, Krieger JE, Pereira AC. Higher incidence of death in multi-vessel coronary artery disease patients associated with polymorphisms in chromosome 9p21. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2012;12:61.
- GIROLDO, M.L.; ALVES, A.S; BATISTA,F. Doença aterosclerótica: uma patologia multifatorial. *SaBios. Rev. Saúde e Biol.*, v. 2, n.1, p 32-41. 2007.
- GOLDSTEIN, J.L., BROWN, M.S. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature*. 1990;343:425–30.
- GOLDSTEIN, J.L. A Receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. In: Frängsmyr T, Lindsten J, editors. *Nobel Lectures, Physiology or Medicine 1981–1990*. Singapore: World Scientific Publishing Co; 1993.
- GOLDSTEIN J.L, DeBose-Boyd RA, Brown MS. Protein sensors for membrane sterols. *Cell*. 2006;124:35–46.
- GOLDSTEIN, J.L., BROWN, M.S. The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(4):431-8.
- GREENLAND, P. et al. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: executive summary. *Journal of the American College of Cardiology*, New York, v. 56, n. 25, p. 2182-2199, Dec 2010.
- GREGORI, F. DE, ZIULKOSKI, A.L., ANDRIGHETTI, L.H., LOURENÇO, E.D. PERASSOLO, M.S. Acompanhamento farmacoterapêutico em pacientes dislipidêmicos de um lar de idosos da cidade de Novo Hamburgo-RS. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 2013, vol.16, n. 1
- GRUNDY, S. M. et al. Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*, Dallas, v. 100, n. 10, p. 1134-1146, Sep 1999.
- GUTIERREZ E., FLAMMER A. J., LERMAN L. O., ELIZAGA J., LERMAN A., FERNANDEZ-AVILES, F. (2013). Endothelial dysfunction over the course of coronary artery disease. *Eur. Heart J*. 34, 3175–3181 10.1093/eurheartj/eh351.

- HAFFNER, S.M., LEHTO, S., RONEMAA, T., PYORALA, K., LAAKSO, M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and non-diabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998;339:229-34.
- HAMM, C.W., BASSAND, J.P., AGEWALL, S., BAX, J., BOERSMA, E., BUENO, H., CASO, P., DUDEK, D., GIELEN, S., HUBER, K., OHMAN, M., PETRIE, M.C., SONNTAG, F., UVA, M.S., STOREY, R.F., WIJNS, W., ZAHGER, D.; esc committee for practice guidelines, BAX, J.J., AURICCHIO, A., BAUMGARTNER, H., CECONI, C., DEAN, V., DEATON, C., FAGARD, R., FUNCK-BRENTANO, C., HASDAI, D., HOES, A., KNUUTI, J., KOLH, P., MCDONAGH, T., MOULIN, C., POLDERMANS, D., POPESCU, B.A., REINER, Z., SECHTEM, U., SIRNES, P.A., TORBICKI, A., VAHANIAN, A., WINDECKER, S.; document reviewers, WINDECKER, S., ACHENBACH, S., BADIMON, L., BERTRAND, M., BØTKER, H.E., COLLET, J.P., CREA, F., DANCHIN, N., FALK, E., GOUDEVENOS, J., GULBA, D., HAMBRECHT, R., HERRMANN, J., KASTRATI, A., KJELDSSEN, K., KRISTENSEN, S.D., LANCELLOTTI, P., MEHILLI, J., MERKELY, B., MONTALESCOT, G., NEUMANN, F.J., NEYSES, L., PERK, J., ROFFI, M., ROMEO, F., RUDA, M., SWAHN, E., VALGIMIGLI, M., VRINTS, C.J., WIDIMSKY, P. Esc Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for 161 the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2011 Dec;32(23):2999-3054.
- HANSSON, G.K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *The New England journal of medicine*. 2005; 352(16):1685–1695.
- HERMANN, J., LERMAN, A., The endothelium: dysfunction and beyond. *J. Nucl. Cardiol*. 2001; 8: 197-206.
- HIGGINS, C.B. Coronary angiography a decade of advances. *Am J Cardiol*. 1988;62(18):7K-10K.
- HIRASHIKI, A., YAMADA, Y. , et al. Association of Gene Polymorphisms With Coronary Artery Disease in Low- or High-Risk Subjects Defined by Conventional Risk Factors. *J Am Col Cardiol*, 42(8):1429-37, 2003.
- HOUTEN, S.M., KOSTER, J., ROMEIJN, G.J., FRENKEL, J., DI ROCCO, M., CARUSO, U., et al. Organization of the mevalonate kinase (MVK) gene and identification of novel mutations causing mevalonic aciduria and

hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever syndrome. *Eur J Hum Genet* 2001;9:253–259.

ISTVAN, E.S., DEISENHOFER, J., 2001. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. *Science* 292, 1160-1164.

JAWAID, S., GERTZ, M., CORSINO, C., CHEUNG, J., SEIDLE, H., COUCH, R.D., 2010. Human hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase(HMGCR) and statin sensitivity. *Indian J. Biochem. Biophys.* 47 (6) , 331-339.

JARDIM, T.S.V. et al. Evolução dos fatores de risco cardiovasculares em profissionais da área de saúde em um intervalo de 15 anos. *Arq Bras Cardiol* 2010;95(3) :p. 332-338.

JO, Y., DEBOSE-BOYD, R. A. 2010. Control of cholesterol synthesis through regulated ER- associated degradation of HMG-CoA reductase. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Bio.* 45,185-198.

Johnson J.M., Castle J., Garrett-Engle P., Kan Z., Loerch P.M., Armour C.D., Santos R., Schadt E.E., Stoughton R., Shoemaker D.D.: Genome-wide survey of human alternative pré-mRNA splicing with exon junction microarrays. *Science* 2003, 302:2141-2144.

KAMSTRUP P.R., TYBJAERG-HANSEN A., et al. Genetically elevated lipoprotein(a) and increase risk of myocardial infarction. *JAMA.* 2009;301:2331.

KATHIRESAN, S., MELANDER, O., ANEVSKI, D., GUIDUCCI, C., BURTT, N.P., ROOS. C., et al. Polymorphisms associated with cholesterol and risk of cardiovascular events. *N Engl J Med* 2008;358:1240–1249.

KELLER, L., et al., 2010. A functional polymorphism in the HMGCR promoter affects transcriptional activity but not the risk for Alzheimer disease in Swedish populations. *Brain Res.* 1344, 185-191.

KEMP, A.H., BRUNONI, A.R., NUNES, M.A., et al. The association between mood and anxiety disorders, and coronary heart disease in Brazil: a cross-sectional analysis on the Brazilian longitudinal study of adult health (ELSA-Brasil). *Frontiers in Psychology.* 2015;6:187.

KOLANKEWICZ , F., GIOVELLI, F.M.H., BELLINASSO, M.L. Estudo do perfil lipídico e da prevalência de dislipidemias em adultos. *RBAC* 2008; 40(4): 317-320.

KOSKINAS KC, CHATZIZISIS YS, PAPAFAKLIS MI, et al. Synergistic Effect of Local Endothelial Shear Stress and Systemic Hypercholesterolemia on Coronary

Atherosclerotic Plaque Progression and Composition in Pigs. *International journal of cardiology*. 2013;169(6):394-401.

KRAUSS, R.M., MANGRAVITE, L.M., SMITH, J.D., MEDINA, M.W., WANG, D., GUO, X., et al. Variation in the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase gene is associated with racial differences in lowdensity lipoprotein cholesterol response to simvastatin treatment. *Circulation* 2008;117:1537–1544.

LAWES, C. M., VANDER HOORN, S., RODGERS, A. Global burden of bloodpressure-related disease, 2001. *Lancet*, London, v. 371, n. 9623, p. 1513-1518, May 2008.

LEANÇA, C.C., PASSARELLI, M., NAKANDAKARE, E.R., QUINTÃO, E.C.R. HDL: o yin-yang da doença cardiovascular. *Arq Bras Endocrinol Metab* vol.54 no.9 São Paulo Dec. 2010.

LIBBY, P., THEROUX, P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation*. 2005;111(25):3481-8.

LICASTRO, F., et al., 2007. Acute Myocardial infarction and proinflammatory gene variants. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1119, 227-242.

LICASTRO, F., et al., 2010. Gene-gene and gene-clinical factors interaction in acute myocardial infarction: a new detailed risk chart. *Curr. Pharm. Des.* 16, 783-788.

LIPKIN, S.M., et al., 2010. Genetic variation in 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase modifies the chemopreventive activity of statins for colorectal cancer. *Cancer Prev. Res. (Phila.)* 3 (5), 597-603.

LIU, J. L. Y. et al. The economic burden of coronary heart disease in the UK. *Heart*, London, v. 88, n. 6, p. 597-603, 2002.

LLOYD-JONES, D. M. et al. Lifetime risk of developing coronary heart disease. *Lancet*, London, v. 353, n. 9147, p. 89-92, 1999.

LLOYD-JONES, D. M. et al. Prediction of Lifetime Risk for Cardiovascular Disease by Risk Factor Burden at 50 Years of Age. *Circulation*, Hagerstown, v. 113, n. 6, p. 791-798, Feb 2006.

LLOYD-JONES D., ADAMS R.J., BROWN T.M., CARNETHON M., DAI S., DE SIMONE G., et al; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Executive summary: heart disease and stroke statistics 2010 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2010;121(7):948-54. Erratum in *Circulation*. 2010;121(12):e259.

- LONG, Y. et al. Analysis of the prevalence of cardiovascular disease and associated risk factors for European-American and African-American populations in the state of Pennsylvania 2005-2009. *The American journal of cardiology*, New York, v. 111, n. 1, p. 68-72, Jan 2013.
- LOPES, N.H., PAULITSCH, F.S., PEREIRA, A.C., GOIS, A.F., GAGLIARDI, A., GARZILLO, C.L., et al. Impact of metabolic syndrome on the outcome of patients with stable coronary artery disease: 2-year follow-up of the MASS II study. *Coron Artery Dis.*2008;19(6):383-8.
- MAEDA, Y. et al. Brachial-Ankle Pulse Wave Velocity Predicts All-Cause Mortality and Cardiovascular Events in Patients With Diabetes: The Kyushu Prevention Study of Atherosclerosis *Diabetes Care* 2014;37:2383–2390 .
- MAGALHÃES, F.J. et al. Fatores de risco para doenças cardiovasculares em profissionais de enfermagem: estratégias de promoção da saúde. *Rev Bras Enferm* [online]. 2014, vol.67, n.3 .
- MAGRAVITE, L.M., et al., 2010. Combined influence of LDLR and HMGCR sequence variation on lipid-lowering response to simvastatin. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 30 (7) , 1485-1492.
- MANSUR, A. P. and FAVARATO, D. Mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil e na região metropolitana de São Paulo: atualização 2011. *Arq. Bras. Cardiol.* [online]. 2012, vol.99, n.2, pp. 755-761.
- MAZZARO, C. C. et al., Intervenções em dieta e pressão arterial na américa latina - revisão sistemática e meta-análise. *Arq. Bras. Cardiol.*, v. 102, n. 4, p. 345-354, 2014.
- MCKENNEY, J.M. Pharmacotherapy of dyslipidemia. *Cardiovasc Drugs Ther* 2001;15(5):413-22.
- MEANEY, S. Epigenetic regulation of cholesterol homeostasis. *Front Genet.* 2014 Sep 24;5:311.
- MEDEIROS, C. R. ; CAIXETA, A. m. ; MATTOS, Cláudia and RATI, Miguel Antônio Neves. O uso do ultra-som intravascular na cardiologia intervencionista. *Arq. Bras. Cardiol.* [online]. 2001, vol.77, n.1 pp. 87-94 .
- MEDINA NW, et al., 2008. Alternative splicing of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase is associated with plasma low density lipoprotein cholesterol response to simvastatin. *Circulation* 118:355-362.
- MEDINA, M.W., et al., 2011. PharmGKB: very important pharmacogenese-HMGCR. *Pharmacogenet. Genomics* 21 (2), 98-101.

- MEDINA MW, Gao F, Naidoo D, Rudel LL, Temel RE, McDaniel AL, Marshall SM, Krauss RM: Coordinately regulated alternative splicing of genes involved in cholesterol biosynthesis and uptake. *PLoS One* 2011, 6:e19420.
- MINEO, C., DEGUCHI, H., GRIFFIN, J.H., SHAUL, P.W. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. *Circ Res.* 2006;98(11):1352-64.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. DATASUS. INDICADORES E DADOS BÁSICOS – Brasil-2013.
- National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation.* 2002;106(25):3143-421.
- NEMBAWARE, V., WOLFE, K.H., BETTONI, F., KELSO, J., SEOIGHE, C. Allele-specific transcript isoforms in human. *FEBS Lett* 2004;577:233–238.
- NOMURA, S., KANAZAWA, S., FUKUHARA, S. Effects of efonidipine on platelet and monocyte activation markers in hypertensive patients with and without type 2 diabetes mellitus. *J Hum Hypertens.* 2002;16(8):539-47.
- NORIEGA, V., PENNANEN, C., SÁNCHEZ, M.P., CHIONG, M., LLANCAQUEO, M., LAVANDERO, S., PRIETO, J.C. (TTA)n polymorphism in 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A and response to atorvastatin in coronary artery disease patients. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2009 Mar;104(3):211-5.
- O'DONNELL, C. J. and NABEL, E. G. Genomics of Cardiovascular Diseases. *N Engl J Med.* 2011;365:2098-109
- OLIVEIRA, D.S. et al. Avaliação do risco cardiovascular segundo os critérios de Framingham em pacientes com diabetes tipo 2. *Arq Bras Endocrinol Metab* [online]. 2007, vol.51, n.2, pp. 268-274.
- OLIVEIRA, J.L.M. et al. Sexo Masculino e Hipertensão Arterial São Preditores de Placa à Angiotomografia das Coronárias. *Arq. Bras. Cardiol.* [online]. 2015, vol.104, n.5, pp. 409-416. Epub 03-Abr-2015.
- OLOFSSON, S.O., WIKLUND, O., BORÉN, J. Apolipoproteins A-I and B: biosynthesis, role in the development of atherosclerosis and targets for intervention against cardiovascular disease. *Vascular Health and Risk Management* 2007; 3(4): 491-502.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Cardiovascular Diseases (CVDs). Fact Sheet nº 317; 2011.

- PASSARELLI M, NAKANDAKARE ER, QUINTÃO ECR. Dislipidemias. In: Saad MJA, Maciel RMB, Mendonça BB, editors. *Endocrinologia*. São Paulo: Atheneu; 2007. p1031-51.
- PEREIRA, J.C., BARRETO, S.M., PASSOS, V.M.A. Perfil de risco cardiovascular e autoavaliação da saúde no Brasil: estudo de base populacional. *Rev Panam Salud Publica*. 2009;25(6):491–8.
- PRADO ES, DANTAS EH. Effects of aerobic and of strength physical exercises on HDL and LDL lipoproteins and lipoprotein(a). *Arq Bras Cardiol*. 2002 Oct;79(4):429-33.
- PORCELLINI, E., et al., 2007. Alzheimer's disease: cholesterol, membrane rafts, isoprenoids and statins. *J. Cell. Mol. Med*. 11, 383-392.
- PORTER, J.A., YOUNG, K.E., BEACHY, P.A. Cholesterol modification of hedgehog signaling proteins in animal development. *Science*. 1996;274:255–9.2.
- PORTER,F.D.(2003). Humann malformation syndromes due to in born errors of Cholesterol synthesis. *Curr.Opin.Pediatr*. 15, 607–613.
- POYRAZOGLU, S., BAS, F., DARENDELILER, F. Metabolic syndrome in young people. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2014;21(1):56-63
- REIBIS, R. T. A. et al. Disparity in risk factor pattern in premature versus late-onset coronary artery disease: a survey of 15,381 patients. *Vascular health and risk management*, Auckland, v. 8, p. 473-481, Aug 2012.
- REZENDE, F.A., ROSADO, L.E., RIBEIRO, R.de C., VIDIGAL, F.de C., VASQUES, A.C., BONARD, I.S., de CARVALHO C.R. Body mass index and waist circumference: association with cardiovascular risk factors. *Arq Bras Cardiol*. 2006 Dec;87(6):728-34.
- RIZK, N.M., EL-MENYAR, A., EGUE, H. , SOULEMAN WAIS, I., MOHAMED, BALULI H. , ALALI, K., FARAG, F. , YOUNES, N., AL SUWAIDI, J. The Association between Serum LDL Cholesterol and Genetic Variation in Chromosomal Locus 1p13.3 among Coronary Artery Disease Patients. *Biomed Res Int*. 2015.
- ROSINI, N., MOURA, S.A.Z.O., ROSINI, R.D., MACHADO, M.J., DA SILVA, E.L. Metabolic Syndrome and Importance of Associated Variables in Children and Adolescents in Guabiruba - SC, Brazil. *Arq. Bras. Cardiol*. ahead of print Epub May 08, 2015.

- RUSH J.W., FORD R.J. Nitric oxide, oxidative stress and vascular endothelium in health and hypertension. *Clin. Hemorheol Microcirc.* 2007; 37 (1-2): 185-92.
- ROHDE, L.E., LEE, R.T. Pathophysiology of atherosclerotic plaque development and rupture: an overview. *Semin Vasc Med.* 2003.
- SANDHU MS, WATERWORTH DM, DEBENHAM SL, et al. LDL-cholesterol concentrations: A genome-wide association study. *Lancet.* 2008; 371:483-91.
- SAMANI , N. J., ERDMANN, J, et al. Genomewide Association Analyses of coronary artery Disease. *N Engl J Med.* 2007;357:43-53.
- SAMANI NJ, BRAUND PS, ERDMANN J, et al. The novel genetic variant predisposing to coronary artery disease in the region of the PSRC1 and CELSR2 genes on chromosome 1 associates with serum cholesterol. *J Mol Med (Berl).* 2008; 86:1233-41.
- SCHEFFOLD T, KULLMANN S, HUGE A, BINNER P, OCHS HR, SCHÖLS W, THALE J, MOTZ W, HEGGE FJ, STELLBRINK C, DORSEL T, GÜLKER H, HEUER H, DINH W, STOLL M, HALTERN G. Six sequence variants on chromosome 9p21.3 are associated with a positive family history of myocardial infarction: a multicenter registry. *BMC Cardiovasc Disord.* 2011;11:9.
- SCHOENHEIMER, R., BREUSCH, F. Synthesis and destruction of cholesterol in the organism. *J Biol Chem.* 1933;103:439–48.
- SCHULZ, I. Tratamento das dislipidemias: como e quando indicar a combinação de medicamentos hipolipemiantes. *Arq Bras Endocrinol Metab,* Abr 2006, vol.50, no.2, p.344-359.
- SHARPE , L.J. and BROWN A.J. 2013. Controlling Cholesterol Synthesis beyond 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA Reductase (HMGCR). *J Biol Chem.* 2013 Jun 28;288(26):18707-15.
- SIMON, J.A., LIN, F., HULLEY, S.B., BLANCHE, P.J., WATERS, D., SHIBOSKI, S., et al. Phenotypic predictors of response to simvastatin therapy among African-Americans and Caucasians: the Cholesterol and Pharmacogenetics (CAP) Study. *Am J Cardiol* 2006;97:843–850.
- SIPERSTEIN, M.D., GUEST, M.J. Studies on the site of the feedback control of cholesterol synthesis. *J Clin Invest.* 1960;39:642–52.
- SPOSITO, A.C., CARAMELLI, B., FONSECA, F.A., BERTOLAMI, M.C., AFIUNE NETO, A., SOUZA, A.D., et al. 2007. [IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia and

Atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology]. Arquivos brasileiros de cardiologia 88 Suppl 1, 2-19. 217.

STARY H.C., CHANDLER A.B., DINSMORE R.E., FUSTER V., GLAGOV S., INSULL W. JR., et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *ArteriosclerThromb Vasc Biol.* 1995; 15 (9): 1512-31.

STEIMBERG, D.: Lipoproteins and atherosclerosis: A look back and a look ahead. *Atherosclerosis* 3:283, 1983.

SUNMAN, H. et al. Association between family history of premature coronary artery disease and coronary atherosclerotic plaques shown by multidetector computed tomography coronary angiography. *International journal of cardiology, Amsterdam*, v. 164, n. 3, p. 355-358, Apr 2013.

SWERDLOW DI, HOLMES MV, HARRISON S, HUMPHRIES SE. The genetics of coronary heart disease. *Br Med Bull.* 2012;102:59–77. doi: 10.1093/bmb/lds009.

TEDGUI, A., MALLAT, Z. Cytokines in Atherosclerosis: Pathogenic and Regulatory Pathways. *Physiol Rev.* v. 86. p. 515-581. 2006

THANASSOULIS, G., PELOSO, G.M., PENCINA, M.J., et al. A Genetic Risk Score is Associated with Incident Cardiovascular Disease and Coronary Artery Calcium - The Framingham Heart Study. *Circulation Cardiovascular Genetics.* 2012;5(1):113-121.

THOMPSON, J.F., HYDE, C.L., WOOD, L.S., PACIGA, S.A., HINDS, D.A., COX, D.R., et al. Comprehensive Whole-Genome and Candidate Gene Analysis for Response to Statin Therapy in the Treating to New Targets (TNT) Cohort. *Circulation Cardiovascular Genetics* 2009;2:173–181.

TONG, Y., ZHANG, S., LI, H., SU, Z., KONG, X., LIU, H., XIAO, C., SUN, Y., SHI, J.J. 8302A/C and (TTA)_n polymorphisms in the HMG-CoA reductase gene may be associated with some plasma lipid metabolic phenotypes in patients with coronary heart disease. *Lipids.* 2004 Mar;39(3):239-41.

TULLY, P.J., BAKER, R.A. Depression, anxiety, and cardiac morbidity outcomes after coronary artery bypass surgery: a contemporary and practical review. *Journal of Geriatric Cardiology : JGC.* 2012;9(2):197-208.

TUZCU, E.M. et al. High prevalence of coronary atherosclerosis in asymptomatic teenagers and young adults: evidence from intravascular ultrasound. *Circulation, Dallas*, v. 103, n. 22, p. 2705-2710, Jun 2001.

- VAN LAMMEREN, G.W., MOLL, L.F., BORST, G.J., DE KLEIJN, D.P., DE VRIES, J.P., PASTERKAMP, G. Atherosclerotic plaque biomarkers: beyond the horizon of the vulnerable plaque. *Curr Cardiol Rev.* 2011;7(1):22-7.
- VAIDYA, D. et al. Incidence of coronary artery disease in siblings of patients with premature coronary artery disease: 10 years of follow-up. *The American journal of cardiology*, New York, v. 100, n. 9, p. 1410-1415, Nov 2007.
- VAPAATALO H, MERVAALA E. Clinically important factors influencing endothelial function. *Med Sci Monit.* 2001 Sep-Oct;7(5):1075-85.
- V DIRETRIZ BRASILEIRA DE DISLIPIDEMIAS E PREVENÇÃO DA ATEROSCLEROSE. Sociedade Brasileira de Cardiologia • ISSN-0066-782X • Volume 101, Nº 4, Supl. 1, Outubro 2013.
- XAVIER, H.T., IZAR, M.C., FARIA NETO, J.R., ASSAD, M.H., ROCHA, V.Z., SPOSITO, A.C. Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101(4 supl. 1):1-22.
- ZULIANNI G., and HOBBS, H.H. A High Frequency of Length Polymorphisms in Repeated Sequences Adjacent to Alu Sequences. *Am. J. Hum. Genet.* 1990; 46:963-969.
- WANG, D.Q. Regulation of intestinal cholesterol absorption. *Annu.Rev.Physiol.* 2007. 69, 221–248.
- WANG, E.T., SANDBERG, R., LUO, S., KHREBTUKOVA, I., ZHANG, L., MAYR, C., et al. Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes. *Nature* 2008b;456:470–476.
- WILSON, P. W., CASTELLI, W. P., KANNEL, W. B. Coronary risk prediction in adults (the Framingham Heart Study). *The American journal of cardiology*, New York, v. 59, n. 14, p. 91G-94G, May 1987.
- WILSON, P.W., ABBOTT, R.D., CASTELLI, W.P. High density lipoprotein cholesterol and mortality. The Framingham Heart Study. *Arteriosclerosis.* 1988;8(6):737-41.
- WILSON, P.W. Established risk factors and coronary artery disease: The Framingham Study. *Am. J.Hypertenses.* 1994;7:75
- YEAGLE, P.L. Lipid regulation of cell membrane structure and function. *FASEB J.* 1989;3:1833–42.

ANEXOS

ANEXO A - TCLE do grupo Caso

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar voluntariamente de um projeto de pesquisa intitulado: **ANÁLISE DO POLIMORFISMO NA REGIÃO PROMOTORA - 911 NO GENE DA 3-HIDROXIMETILGLUTARIL-COA REDUTASE (HMGCR) EM PACIENTES COM DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA**, meu nome é Stanley Silvano Sousa, sou o pesquisador do projeto, mestrando em genética pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC).

O convite está sendo feito porque você tem o diagnóstico de Doença Arterial Coronariana (DAC) e é acompanhado no Serviço de Cardiologia do Hospital Lúcio Rebelo em Goiânia, assim você fará parte do nosso grupo de casos com DAC já previamente documentada em seus exames no serviço de cardiologia deste hospital. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra a sua vontade. Antes de decidir se você quer participar, é importante que você entenda porque esta pesquisa está sendo realizada, os seus objetivos, todos os procedimentos a serem realizados, os possíveis benefícios, riscos e desconfortos. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, este documento deverá ser assinado em duas vias, sendo a primeira de guarda e confidencialidade do pesquisador responsável e a segunda ficará sob sua responsabilidade para quaisquer fins. Em caso de recusa, você não será penalizado de forma alguma. A qualquer momento, antes, durante e depois da pesquisa, você poderá solicitar maiores esclarecimentos. Em caso de dúvidas sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com a orientadora da pesquisa, Dra. Vera Aparecida Saddi, nos telefones: (62) 3946-1346 ou (62) 3212-0012, ou com o pesquisador responsável, Dr. Stanley Silvano Sousa, telefone: (62) 82312928. Se você tiver alguma dúvida sobre os seus direitos ou questões éticas como participante de pesquisa, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, situado no endereço: Av. Universitária, nº 1.069, setor Universitário, área IV (Bloco D da Reitoria), Goiânia, Goiás, pelo telefone (62) 3946-1512 no horário de 8:00 às 17:00 h ou pelo e-mail: cep@pucgoias.edu.br.

Durante a sua internação no Hospital Lúcio Rebelo, você está sendo convidado a participar da pesquisa. Você tem total liberdade para recusar sua participação no estudo. Esta recusa não interfere na assistência que você receberá e você não será penalizado(a) ou responsabilizado de forma alguma. Se aceitar participar e depois retirar seu consentimento, em nada será prejudicado (a). Caso você queira, você pode retirar seu consentimento à qualquer momento durante o desenvolvimento da pesquisa.

Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente o pesquisador e/ou equipe de pesquisa terão conhecimento de sua identidade e nos comprometemos a mantê-la em sigilo ao publicar os resultados dessa pesquisa.

Os resultados dessa pesquisa serão usados para elaboração de dissertações/teses e artigos científicos, que se tornarão públicos, por meios de publicações científicas. Porém, você pode consultar os pesquisadores responsáveis à qualquer momento e buscar informações sobre o andamento e os resultados da pesquisa.

Se você tiver interesse em conhecer os resultados das análises realizadas com a amostra de sangue colhida para este estudo, você poderá entrar em contato com os pesquisadores responsáveis, a qualquer momento.

À princípio, esta pesquisa não trará nenhum benefício direto ou mudança no seu tratamento. Entretanto, os resultados poderão beneficiar pacientes e familiares com características genéticas que possam aumentar o risco da doença do coração, permitindo a mudança de hábitos e a prevenção dessa doença.

Após ser esclarecido sobre as informações abaixo descritas, no caso de aceitar fazer parte do estudo, você deverá rubricar todas as páginas e assinar ao final deste documento elaborado em duas vias, que também será rubricado em todas as páginas e assinado pelo Pesquisador Responsável, devendo uma via ficar com você ou com seu representante legal e uma com o pesquisador para que você possa consultar sempre que necessário.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

De acordo com o nosso conhecimento, não existe outra forma de obter dados sobre o procedimento em questão e que possa ser mais vantajoso. A doença cardiovascular é a principal causa de morte no mundo, e as mortes decorrentes dessas doenças são ainda muito frequentes. O colesterol elevado é o principal fator de risco que pode ser mudado por meio de hábitos alimentares, exercícios físicos e medicamentos, dentre outros fatores de risco como tabagismo, obesidade, sedentarismo e diabetes mellitus. As doenças do coração e suas complicações, como infarto do miocárdio, são problemas de saúde pública e metas para redução dessas doenças estão estabelecidas. A produção de colesterol no organismo depende de uma proteína chamada 3-hidroximetilglutaril-CoA redutase (HMGCR). A inibição dessa proteína diminui a produção de colesterol pelas suas células, diminuindo assim o risco de ataque cardíaco, popularmente conhecido como o “entupimento das veias do coração”. Como essa proteína é muito importante para a produção de colesterol, ela foi escolhida para ser investigada neste estudo. O estudo proposto visa identificar diferenças genéticas entre indivíduos (polimorfismos genéticos) que podem afetar a função dessa proteína, em um grupo de pacientes com doença coronariana documentada pelo cateterismo cardíaco e um outro grupo de controles, incluindo indivíduos saudáveis. Só entrarão no estudo os pacientes que concordarem em participar e que assinarem o Termo de Consentimento Livre Esclarecido. Caso você aceite participar, deverá assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e doar uma amostra de sangue que será coletada durante a realização dos seus exames de rotina. A amostra de sangue coletada será transferida ao Laboratório

de Diversidade Genética-PUC Goiás, sob a responsabilidade da coordenadora do laboratório, Profa. Dra. Vera Aparecida Saddi, que é a pesquisadora responsável pelo presente projeto. As amostras de sangue colhidas de todos os participantes da pesquisa serão congeladas e mantidas em um freezer e formarão uma coleção de amostras, que é chamada de biorrepositório, ou seja, um repositório de material biológico (amostras de sangue). Essas amostras de sangue serão usadas para a análise genética da proteína HMGCR, associada à produção do colesterol.

Apesar do cronograma deste projeto prever seu desenvolvimento por um período de 24 meses, as amostras de sangue coletadas serão armazenadas por um período de cinco anos. Essas amostras não serão utilizadas para o desenvolvimento de outras pesquisas, porém, caso haja necessidade de repetição das análises moleculares de laboratório e das análises estatísticas para esclarecimentos de possíveis dúvidas, as amostras estarão disponíveis. Após o período de cinco anos previsto para o armazenamento, o material biológico coletado (amostras de sangue) deverá ser descartado, conforme as normas vigentes de órgãos técnicos competentes, mantendo em sigilo a identidade dos participantes da pesquisa.

O material genético (DNA) de cada amostra de sangue será devidamente identificado e usado para a análise das diferenças genéticas (polimorfismos genéticos). Os dados clínicos e epidemiológicos serão colhidos a partir de uma busca ativa dos prontuários, lançados em fichas clínicas que serão mantidas pelo pesquisador por um período de cinco anos, sendo posteriormente incineradas.

Esse estudo não acarretará nenhuma despesa para o paciente, pois a conversa com o pesquisador, a assinatura do TCLE e as coletas de sangue serão realizadas durante sua internação no Serviço de Cardiologia do Hospital Lúcio Rebelo. Assim, não será fornecida nenhuma compensação financeira adicional, caso o paciente aceite participar do estudo.

Os riscos ou transtornos previstos para você incluem aqueles relacionados à coleta de sangue, obtida por punção venosa, que pode causar desconforto físico ou emocional. Porém, o procedimento de coleta deverá ser realizado por profissionais treinados, seguindo as normas de segurança estabelecidas e evitando maiores riscos. Entretanto, caso você apresente algum problema médico durante ou após a coleta da amostra de sangue periférico, o pesquisador lhe prestará assistência, encaminhando-o para o ambulatório de emergência da instituição onde você se encontra para atendimento e acompanhamento médico.

Você tem o direito garantido de requerer indenização em caso de danos, comprovadamente decorrentes da sua participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

A sua participação no estudo se resumirá ao período de leitura do TCLE e coleta da amostra de sangue periférico realizado durante sua estadia na hemodinâmica, não sendo necessário seu comparecimento em qualquer consulta médica extra para este estudo. Assim, o estudo não prevê nenhum pagamento ou ressarcimento em função de sua participação na pesquisa.

Declaro para os devidos fins que cumprirei com legitimidade os itens IV. 3 e IV. 4 da Resolução do Conselho Nacional de Saúde 466/12.

Eu, _____, RG _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo “**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NA REGIÃO PROMOTORA -911 NO GENE DA 3-HIDROXIMETILGLUTARIL-COA REDUTASE (HMGCR) EM PACIENTES COM DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA**” como participante de pesquisa. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador, Dr. Stanley Silvano Sousa, sobre a pesquisa, sobre os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Ficou claro também que a minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar desse estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu tratamento e que todas as informações obtidas serão mantidas sob sigilo. Recebi uma cópia deste documento com todas as páginas rubricadas e assinadas por mim e pelo pesquisador responsável. Assim, autorizo a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização do material biológico colhido e o descarte desse material, cinco anos depois da data de coleta. Autorizo também a divulgação dos dados obtidos neste estudo, na forma de apresentações em congressos e artigos científicos publicados em revistas especializadas.

Goiânia, __, de _____, de 2014.

| | |
|---------------------------------------|----------|
| _____ | __/__/__ |
| Assinatura do participante | Data |
| _____ | __/__/__ |
| Assinatura da testemunha | Data |
| _____ | __/__/__ |
| Assinatura do responsável pelo estudo | Dat |

ANEXO B - Questionário e dados laboratoriais.**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NA REGIÃO PROMOTORA -911 NO GENE DA 3-HIDROXIMETILGLUTARIL-COA REDUTASE (HMGCR) EM PACIENTES COM DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA**

NOME: _____ DN: __/__/____
EXAME Nº _____ DATA __/__/____
ENDEREÇO: _____ TEL.: _____
SEXO: (1) MASCULINO (2) FEMININO
IDADE: _____ ANOS
HISTÓRIA FAMILIAR PARA DAC: (1) SIM (2) NÃO.
TABAGISMO (1) SIM (2) NÃO
DIABETES MELITUS (1) SIM (2) NÃO
HAS (1)SIM (2) NÃO
PESO: _____ ALTURA _____ IMC _____
COLESTEROL TOTAL _____
TRIGLICERÍDEOS _____
LDL _____
HDL _____
VLDL _____

COLETADO POR: _____ DATA _____

ANEXO C- Protocolo de PCR da HMGCR-911 seguido do protocolo de ciclagem.

| Reagentes | Concentração Inicial | Concentração Final | Volume para 1 reação | Volume para 12 reações |
|------------------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| H2O miliq (autoclavada) | | | 13,5 µL | 162 |
| Tampão 10x MgCl ₂ | 10x | 1x | 2,5µL | 30 |
| MgCl ₂ | 50mM | 1,0mM | 0,5µL | 6 |
| dNTP | 2nM | 0,2mM | 2,5µL | 30 |
| GC enhancer | - | - | 1,0µL | 12 |
| Primer1(sense) | 25 µM/L | 1 µM/L | 1,0µL | 12 |
| Primer2(anti-sense) | 25 µM/L | 1 µM/L | 1,0µL | 12 |
| Taq polimerase | 5u/ µL | 0,25 U/µL | 1,0µL | 12 |
| DNA | 50ng/µL | 2ng/µL | 2,0µL | 24µL |
| Total | | | 25µL | 280µL |

ANEXO D - Protocolo de ciclagem da PCR:

96°C _____ 5min
96°C _____ 45segundos
57°C _____ 30segundos →35 ciclos
72°C _____ 1minuto
72°C _____ 7minutos
4°C _____ α

ANEXO E - Protocolo da restrição RFLP.

| Reagente | Volume para 1 reação | Volume para 11 reações |
|-----------------|-----------------------------|-------------------------------|
| Água milliq | 12,5 μ L | 137,5 μ L |
| Enzima | 0,5 μ L | 5,5 μ L |
| Tampão 10 x | 2,0 μ L | 22 μ L |
| Produto de PCR | 10 μ L | 110 μ L |
| Total | 25 μ L | 175 μ L |

ANEXO F- Protocolo de ciclagem

37°C _____ 2horas

80°C _____ 20minutos

4°C _____ α

ANEXO G – PARECER DO CEP



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DE GOIÁS -
PUC/GOIÁS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DE POLIMORFISMOS NO GENE DA 3-HIDROXIMETILGLUTARIL-COA REDUTASE (HMGCR) EM PACIENTES COM DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA E CONTROLES SAUDÁVEIS

Pesquisador: VERA APARECIDA SADDI

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 36241814.4.0000.0037

Instituição Proponente: Pontifícia Universidade Católica de Goiás - PUC/Goiás

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 816.611

Data da Relatoria: 24/09/2014

Apresentação do Projeto:

O estudo proposto é epidemiológico, do tipo caso-controle e visa à análise dos polimorfismos genéticos da HMGCR em amostras de sangue periférico obtidas de dois grupos de pacientes. O grupo dos casos incluirá sujeitos com DAC estabelecida e documentada por meio de angiografia coronariana, no Serviço de Cardiologia do Hospital Lúcio Rebelo, em Goiânia. Esses sujeitos serão convidados a doar uma parte da amostra de sangue periférico (2 ml), a ser coletada para os exames de rotina, para a realização das análises moleculares. As amostras de sangue serão transferidas para o Laboratório de Diversidade

Genética da PUC Goiás, onde serão processadas para extração de DNA e análise dos polimorfismos genéticos. As análises dos polimorfismos genéticos utilizarão a reação em cadeia da polimerase (do inglês :PCR) e a análise de polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição (do inglês: RFLP). Os resultados obtidos para as frequências dos polimorfismos estudados serão comparados entre os dois grupos, por meio de testes

estatísticos apropriados. Os polimorfismos genéticos a serem estudados incluem o SNP 911 C>A (rs3761740) na região promotora do gene, o SNP 8302 A/C no íntron 2 e o polimorfismo de

Endereço: Av. Universitária, N.º 1.069

Bairro: Setor Universitário

CEP: 74.605-010

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3946-1512

Fax: (62)3946-1070

E-mail: cep@pucgoias.edu.br



Continuação do Parecer: 816.611

repetição (TTA)_n no exon 2 do gene da HMGCR.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Comparar o perfil de polimorfismos do gene da HMGCR em pacientes com DAC, comprovada por angiografia coronariana, e pacientes sem história de doença coronariana.

Objetivo Secundário:

1-Investigar os aspectos clínicos e epidemiológicos de 100 pacientes com DAC. 2. Investigar o perfil de polimorfismos do gene da HMGCR :SNP 911 C>A(rs3761740), SNP 8302 A/C no íntron 2 e o polimorfismo de repetição (TTA)_n no exon 2 do gene da 3-Hidroximetilglutaril-CoA Redutase (HMGCR) em pacientes com DAC e em controles sem história de doença coronariana comprovada.

3-Avaliar as possíveis associações entre o perfil polimórfico do gene da HMGCR e os aspectos clínicos dos pacientes com DAC.

4- Identificar polimorfismos específicos do

gene da HMGCR associados à DAC. 4.2.5-Produzir informações a respeito dos polimorfismos genéticos da HMGCR passíveis de serem usados na prevenção e diminuição dos casos de DAC.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos e benefícios apresentados dentro do previsto pela Resolução 466/12.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante, pois os resultados permitirão o conhecimento das características da população estudada, colaborando com novas estratégias na prevenção e tratamento da DAC.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos de acordo com a Resolução 466/12.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

A aprovação deste, conferida pelo CEP, não isenta o Pesquisador de prestar satisfação sobre sua

Endereço: Av. Universitária, N.º 1.069

Bairro: Setor Universitário

CEP: 74.605-010

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3946-1512

Fax: (62)3946-1070

E-mail: cep@pucgoias.edu.br



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DE GOIÁS -
PUC/GOIÁS



Continuação do Parecer: 816.611

Pesquisa em casos de alteração de amostra ou centros de coparticipação. É exigido a entrega do relatório final após conclusão da pesquisa.

GOIANIA, 02 de Outubro de 2014

Assinado por:
NELSON JORGE DA SILVA JR.
(Coordenador)

Endereço: Av. Universitária, N.º 1.069

Bairro: Setor Universitário

CEP: 74.605-010

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3946-1512

Fax: (62)3946-1070

E-mail: cep@pucgoias.edu.br



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DE GOIÁS -
PUC/GOIÁS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DE POLIMORFISMOS NO GENE DA 3-HIDROXIMETILGLUTARIL-COA REDUTASE (HMGCR) EM PACIENTES COM DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA E CONTROLES SAUDÁVEIS

Pesquisador: VERA APARECIDA SADDI

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 36241814.4.0000.0037

Instituição Proponente: Pontifícia Universidade Católica de Goiás - PUC/Goiás

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 816.611

Data da Relatoria: 24/09/2014

Apresentação do Projeto:

O estudo proposto é epidemiológico, do tipo caso-controle e visa à análise dos polimorfismos genéticos da HMGCR em amostras de sangue periférico obtidas de dois grupos de pacientes. O grupo dos casos incluirá sujeitos com DAC estabelecida e documentada por meio de angiografia coronariana, no Serviço de Cardiologia do Hospital Lúcio Rebelo, em Goiânia. Esses sujeitos serão convidados a doar uma parte da amostra de sangue periférico (2 ml), a ser coletada para os exames de rotina, para a realização das análises moleculares. As amostras de sangue serão transferidas para o Laboratório de Diversidade

Genética da PUC Goiás, onde serão processadas para extração de DNA e análise dos polimorfismos genéticos. As análises dos polimorfismos genéticos utilizarão a reação em cadeia da polimerase (do inglês :PCR) e a análise de polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição (do inglês: RFLP). Os resultados obtidos para as frequências dos polimorfismos estudados serão comparados entre os dois grupos, por meio de testes

estatísticos apropriados. Os polimorfismos genéticos a serem estudados incluem o SNP 911 C>A (rs3761740) na região promotora do gene, o SNP 8302 A/C no íntron 2 e o polimorfismo de

Endereço: Av. Universitária, N.º 1.069

Bairro: Setor Universitário

CEP: 74.605-010

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3946-1512

Fax: (62)3946-1070

E-mail: cep@pucgoias.edu.br



Continuação do Parecer: 816.611

repetição (TTA)_n no exon 2 do gene da HMGCR.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Comparar o perfil de polimorfismos do gene da HMGCR em pacientes com DAC, comprovada por angiografia coronariana, e pacientes sem história de doença coronariana.

Objetivo Secundário:

1-Investigar os aspectos clínicos e epidemiológicos de 100 pacientes com DAC. 2. Investigar o perfil de polimorfismos do gene da HMGCR :SNP 911 C>A(rs3761740), SNP 8302 A/C no íntron 2 e o polimorfismo de repetição (TTA)_n no exon 2 do gene da 3-Hidroximetilglutaril-CoA Redutase (HMGCR) em pacientes com DAC e em controles sem história de doença coronariana comprovada.

3-Avaliar as possíveis associações entre o perfil polimórfico do gene da HMGCR e os aspectos clínicos dos pacientes com DAC.

4- Identificar polimorfismos específicos do

gene da HMGCR associados à DAC. 4.2.5-Produzir informações a respeito dos polimorfismos genéticos da HMGCR passíveis de serem usados na prevenção e diminuição dos casos de DAC.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos e benefícios apresentados dentro do previsto pela Resolução 466/12.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante, pois os resultados permitirão o conhecimento das características da população estudada, colaborando com novas estratégias na prevenção e tratamento da DAC.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos de acordo com a Resolução 466/12.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

A aprovação deste, conferida pelo CEP, não isenta o Pesquisador de prestar satisfação sobre sua

Endereço: Av. Universitária, N.º 1.069

Bairro: Setor Universitário

CEP: 74.605-010

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3946-1512

Fax: (62)3946-1070

E-mail: cep@pucgoias.edu.br



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DE GOIÁS -
PUC/GOIÁS



Continuação do Parecer: 816.611

Pesquisa em casos de alteração de amostra ou centros de coparticipação. É exigido a entrega do relatório final após conclusão da pesquisa.

GOIANIA, 02 de Outubro de 2014

Assinado por:
NELSON JORGE DA SILVA JR.
(Coordenador)

Endereço: Av. Universitária, N.º 1.069

Bairro: Setor Universitário

CEP: 74.605-010

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3946-1512

Fax: (62)3946-1070

E-mail: cep@pucgoias.edu.br