



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

**Análise do polimorfismo do gene *p53* (códon 72) em pacientes  
sintomáticos para aterosclerose**

**Goiânia – GO**

**2017**

**MAGDA HELENA LAGARES**

**Análise do polimorfismo do gene *p53* (códon 72) em pacientes  
sintomáticos para aterosclerose**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação de Mestrado em Genética - MGene, Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Genética.

ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. KÁTIA  
KARINA V. DE O. MOURA

Goiânia – GO

2017

L173a      Lagares, Magda Helena  
Análise do polimorfismo do gene p53 (códon 72) em  
pacientes sintomáticos para aterosclerose[ manuscrito]/  
Magda Helena Lagares.-- 2017.  
68 f.; il. 30 cm

Texto em português com resumo em inglês  
Dissertação (mestrado) -- Pontifícia Universidade  
Católica de Goiás, Programa de Pós-Graduação Stricto  
Sensu em Genética, Goiânia, 2017  
Inclui referências f.51-62

1. Arteriosclerose. 2. Polimorfismo (Genética). I.Moura,  
Katia Karina Verolli de Oliveira. II.Pontifícia Universidade  
Católica de Goiás. III. Título.

CDU: 616.13-004.6(043)



**PUC  
GOIÁS**

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

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário  
Caixa Postal 06 • 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 128/2017**

**MESTRADO EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS**

**DISCENTE: MAGDA HELENA LAGARES**

**DEFENDIDA EM 02 DE MARÇO DE 2017 E ARRO VÁDA COM CONCEITO.....4.....**

O título foi alterado (  ) não (  ) sim \_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dra. Kátia Karina Verolli de Oliveira Moura

PUC Goiás (Presidente)

Prof. Dr. Vinicius Barreto da Silva

PUC Goiás

Prof. Dra. Sabrina Fonseca Ingênilo Moreira Dantas

Membro externo (Fac. Alfredo Nasser)

Dedico esse trabalho a maior inspiração da minha vida: meus  
filhos amados, **Andressa, Henrique e Felipe.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que iluminou todo o meu caminho durante esta jornada que me trouxe até aqui.

À minha família por toda dedicação, incentivo e amor, aos meus filhos amados, Andressa, Henrique e Felipe que mesmo com minha ausência em muitos momentos que precisavam, aceitaram e entenderam a importância da realização desse trabalho.

Ao André pelo o incentivo e confiança de sempre.

Às minhas amigas e colegas do projeto Andreia e Monize pela paciência e companheirismo na execução das infinitas PCRs e géis.

À todos os meus amigos, especial José Victor, Débora Acyole e Cássia Olinto pelo incentivo, pela amizade incondicional e pelo apoio nas horas que mais precisei.

Aos professores do programa, em especial, Dr. Peixoto, Dr. Cláudio, Dra. Flávia e minha orientadora, Dra. Kátia, que tão importantes foram nesta etapa de minha vida me transmitindo humildemente seus conhecimentos.

Aos funcionários do Replicon, pela eficiência, prontidão e agilidade no auxílio sempre que solicitado, em especial a Lilia, Eduardo e Alessandra, sempre prontos a me auxiliar.

Aos meus colegas do projeto, Iasmim e Fábio que contribuíram com seus conhecimentos e experiências para que esse trabalho chegasse ao fim.

Ao Programa de Mestrado em Genética, MGene, pela oportunidade de aperfeiçoamento de conhecimento, eficiente assistência e pelo empenho em viabilizar o curso de pós-graduação.

Ao Núcleo de Pesquisa Replicon o qual viabilizou o desenvolvimento das pesquisas.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES pela bolsa de estudos concedida.

À FAPEG a qual disponibilizou recursos que tornou possível a realização desta pesquisa.

Aos membros da banca examinadora pela disposição para avaliar e discutir o presente trabalho.

E por fim, agradeço em especial a Silvani, minha fiel escudeira, por todo amor e pela imensurável dedicação aos meus filhos, pelo apoio, amizade e pela tranquilidade que me proporcionou para que eu pudesse realizar esse trabalho.

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

Sinceros agradecimentos à minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Dra. Katia Karina Verolli de Oliveira Moura, pela oportunidade e confiança oferecidos a mim desde a graduação até a execução do referido trabalho, pela viabilização na realização do mesmo e pela dedicação e paciência ao compartilhar seus conhecimentos, além da indiscutível amizade, compreensão e incentivo para que eu nunca desista, continue sempre nessa jornada em busca do conhecimento, jornada essa que não tem fim.

“Nenhum obstáculo é grande demais quando confiamos em DEUS.”  
Aristóteles



## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE APÊNDICES	XI
RESUMO	XII
ABSTRACT	XIII
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 ATEROSCLEROSE	14
2.1.1 HISTÓRICOS DA DOENÇA	14
2.1.2 CARACTERÍSTICA DA DOENÇA	14
2.1.3 CAUSA / GENÉTICA DA DOENÇA	16
2.1.4 ATEROTROMBOSE	19
2.1.5 FATORES DE RISCO	20
2.1.6 PREVALÊNCIA	25
2.2 POLIMORFISMO	26
2.3 GENE <i>p53</i>	27
2.4 POLIMORFISMO DO <i>p53</i> E A ATEROSCLEROSE	29
3. OBJETIVOS	32
3.1 OBJETIVOS GERAIS	32
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
4. MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1 CASUÍSTICA	32
4.2 EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO	33
4.3 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE – PCR	33
5. RESULTADOS	37
6. DISCUSSÃO	41
7. CONCLUSÃO	49
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
9. APÊNDICES	63
APÊNDICE I	64
APÊNDICE II	65
APÊNDICE III	67

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Gene p53, cromossomo: 17; Posição: 17p13\_\_\_\_\_26
- Figura 2.** Representação esquemática de organização genômica do gene *p53* e dos diferentes domínios proteicos da proteína p53\_\_\_\_\_27
- Figura 3.** Localização do Polimorfismo no códon 72 do gene *p53*\_\_\_\_\_28
- Figura 4.** Gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio contendo os possíveis genótipos para o Polimorfismo no códon 72 do gene *p53*\_\_\_\_\_33
- Figura 5.** Gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio - mostrando amplificação do primer da variante arginina\_\_\_\_\_34
- Figura 6.** Gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio - mostrando amplificação do primer da variante prolina \_\_\_\_\_34

## LISTA DE TABELAS

- Tabela I:** Sequência nucleotídica dos primers p53 (variante ARGININA) \_\_\_\_\_33
- Tabela II:** Sequência nucleotídica dos primers p53 (variante PROLINA) \_\_\_\_\_ 33
- Tabela III** - Protocolo para a amplificação do Polimorfismo no códon 72 do p53-ARGININA\_\_\_\_\_34
- Tabela IV** - Protocolo para a amplificação do Polimorfismo no códon 72 do p53-PROLINA\_\_\_\_\_35
- Tabela V** - Protocolo de termociclagem para amplificação dos primers p53 ARGININA\_\_\_\_\_36
- Tabela VI** - Protocolo de termociclagem para amplificação dos primers p53 PROLINA \_\_\_\_\_36
- Tabela VII** - Distribuição do Polimorfismo do gene *p53* nos grupos caso e controle\_\_\_\_\_36
- Tabela VIII** - Distribuição do Polimorfismo do gene *p53* em relação ao gênero nos grupos caso e controle\_\_\_\_\_ 37
- Tabela IX:** Associação do tabagismo com os genótipos do gene *p53* nos grupos caso e controle relacionado com o tempo de exposição ao tabaco\_\_\_\_\_38
- Tabela X:** Associação do etilismo com os genótipos do gene *p53* nos grupos caso e controle\_\_\_\_\_38
- Tabela XI:** Associação do fator de risco hipertensão com o polimorfismo do gene *p53* no grupo caso\_\_\_\_\_ 39
- Tabela XII:** Associação do fator de risco diabetes com o polimorfismo do gene *p53* no grupo caso\_\_\_\_\_39
- Tabela XIII:** Associação do fator de risco dislipidemia com o polimorfismo do gene *p53* no grupos caso\_\_\_\_\_40

## LISTA DE APÊNDICES

<b>APÊNDICE I:</b> Questionário_____	55
<b>APÊNDICE II:</b> Termo de consentimento livre e esclarecido – grupo caso_____	57
<b>APÊNDICE III:</b> Termo de consentimento livre e esclarecido – grupo controle_____	59

## RESUMO

A aterosclerose é um processo patológico multifatorial, durante o qual a morfologia e função das paredes arteriais são alteradas. O crescimento do ateroma, leva ao endurecimento dos vasos e ao estreitamento do lúmen, limitando o fluxo sanguíneo. Essa placa pode se romper levando à exposição de material altamente trombogênico, com a ativação plaquetária e posterior formação de trombos que podem bloquear o fluxo de sangue *in loco*, ou romper e entrar na corrente sanguínea, obstruindo outros vasos com diâmetro menor. Este processo é um dos principais determinantes das manifestações clínicas da aterosclerose: como por exemplo doença arterial coronariana, AVC isquêmico e doença arterial periférica. Embora a teoria inflamatória da aterosclerose é o mais proeminente, observações apontam para características biológicas comuns entre câncer e aterosclerose, essas características sugerem possível associação de *p53* com doenças ateroscleróticas. Foram Coletadas amostras de sangue periférico de 200 indivíduos portadores de algum tipo de doença aterosclerótica e 100 indivíduos livres da doença para formar o grupo controle. DNA foi submetido a análise molecular (PCR) para pesquisa do polimorfismo do gene *p53*. Não foi encontrado nenhuma relação entre o polimorfismo do gene *p53* e a aterosclerose na população estudada ( $p=0,36$ ). Não houve relação entre a DA, o polimorfismo do gene *p53* e as variantes estudadas: gênero ( $p=0,78$  masculino e  $0,37$  feminino), tabagismo ( $p= 0,72, 0,51$  e  $0,62$  para fumantes, não fumantes e ex fumantes respectivamente), etilismo ( $p=0,17$  para etilista e  $0,38$  para não etilista), hipertensão arterial sistêmica ( $p=0,60$ ), diabetes *mellitus* ( $p=0,34$ ) e dislipidemia ( $p=0,89$ ). Acredita-se que esses resultados seja em função da miscigenação da população estudada, o que favorece uma alta taxa de heterozigotos e, segundo estudos, a variante arginina está mais relacionada com a formação da placa por ter maior poder de apoptose quando comparada a variante prolina.

Palavras-chave: Aterosclerose. Polimorfismo. *p53*.

## ABSTRACT

Atherosclerosis is a multifactorial pathological disease that alter the morphology and function of arterial walls. The atheroma growth leads to vessel hardening and lumen narrowing, limiting the blood flow. The atheroma plaque can eventually break, exposing highly thrombogenic material and leading to platelet activation and subsequent formation of thrombus that may block blood flow *in loco*, or even leading to obstruction of other vessels with a smaller diameter. This process is one of the main determinants of the clinical manifestations of atherosclerosis such as coronary artery disease (CAD), ischemic stroke, and peripheral arterial disease. Although the inflammatory theory about atherosclerosis is the most renowned one, observations point to common biological characteristics between cancer and atherosclerosis suggesting a possible association between p53 and atherosclerotic diseases. We collected peripheral blood samples from 200 individuals with clinical manifestations of atherosclerotic disease and 100 individuals without manifestation of the disease to form the control group. DNA was subjected to molecular analysis (PCR) in order to identify the polymorphism of the p53 gene. We have not find any relationship between the polymorphism of the p53 gene and atherosclerosis in the population studied ( $p=0.36$ ). There was no relationship among AD, polymorphism of the p53 gene and variants studied: gender ( $p = 0.78$  male and 0.37 female), smoking ( $p = 0.72, 0.51$  and  $0.62$  for smokers, ( $P = 0.17$  for alcoholic and 0.38 for non-alcoholic), systemic arterial hypertension ( $p = 0.60$ ), diabetes mellitus ( $p = 0.34$ ), and dyslipidemia ( $p = 0.34$ ). = 0.89). Our population has a high rate of miscegenation and heterozygotes and, according to studies, the arginine variant is more related to plaque formation because it induces apoptosis more frequently when compared to the proline variant. According to our results there is no association between the polymorphism of the *p53* gene, atherosclerosis and its risk factors in the population studied.

## 1. INTRODUÇÃO

A Doença Aterosclerótica (DA) e as doenças cardiovasculares (DCV) fazem parte do grupo das doenças crônicas não-transmissíveis que compõem a síndrome plurimetabólica (obesidade, hipertensão, *diabetes mellitus* e dislipidemia); Essas doenças são causadas por fatores de risco resultantes de mudanças de hábitos de vida (CORONELLI et al. 2003).

Em geral, as manifestações clínicas dessas doenças, como infarto do miocárdio (MI), acidente vascular encefálico (AVE) e doença vascular periférica (DVP), são causadas por um processo de aterosclerose que tem início a partir da meia-idade (SÖDERSTRÖM et al. 2014; SANTOS et al. 2008). A probabilidade de alguma dessas doenças ocorrer aumenta na presença de múltiplos fatores de risco estabelecidos para aterosclerose (SANTOS et al. 2008).

A doença arterial coronariana (CAD) aterosclerótica compreende um amplo espectro de entidades clínicas que incluem aterosclerose subclínica assintomática e suas complicações clínicas, tais como angina de peito, infarto do miocárdio (MI) e morte súbita cardíaca (XUMING et al. 2016).

Na prática clínica o risco de aterosclerose é estabelecido através da identificação de fatores de risco para doença cardiovascular (DCV). A avaliação da função endotelial (dilatação fluxo-mediada; FMD) e a medição da espessura íntima-média da artéria carótida (IMT) também podem ser úteis na avaliação da progressão da aterosclerose e previsão de resultados futuros (SÖDERSTRÖM et al. 2014).

Dentre as doenças cardiovasculares, destacam-se também as cardiopatias, as quais levam, em caráter temporário ou permanente, à redução da capacidade funcional do coração, a ponto de acarretar risco à vida ou impedir o indivíduo de exercer as suas atividades (NETO et al. 2006). Na fisiopatologia da cardiopatia isquêmica dois processos estão implicados: a oferta e a demanda de oxigênio pelo miocárdio. A isquemia ocorre quando há desequilíbrios nesses dois processos (CARVALHO et al. 2001).

Apesar da contribuição de inúmeros fatores na determinação da isquemia, a doença aterosclerótica é o substrato anatômico mais importante na sua fisiopatogenia. A partir de estudos da literatura, sabemos hoje da importância do processo aterotrombótico não só no desencadeamento da isquemia aguda como também na progressão da doença aterosclerótica com relação à gravidade da obstrução da luz vascular (CARVALHO et al. 2001).

## **REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 ATEROSCLEROSE**

#### **2.1.1 HISTÓRICOS DA DOENÇA**

O século XX testemunhou uma extraordinária evolução nos conceitos relacionados à patogênese dessa doença. Aparentemente incomum na antiguidade, a aterosclerose tornou-se epidêmica com o aumento da sobrevivência da população às doenças infecciosas, além disso, várias sociedades adotaram hábitos alimentares que propiciam o desenvolvimento de aterosclerose, como excesso de gorduras saturadas e diminuição das práticas de atividades físicas (BEZERRA, 2008).

Em 1904, Felix Marchand introduziu o termo aterosclerose e sugeriu que seria responsável por quase todos os processos obstrutivos nas artérias (KONSTANTINOV et al. 2006), mas a investigação sobre as causas dessa doença só começou em 1907, quando Alexander Ignatowski fez uma experiência com coelhos, estes eram alimentados com uma dieta a base de leite, ovos e carne, onde verificou-se o desenvolvimento da placa de aterosclerose na aorta (KONSTANTINOV et al. 2013). Outro sinal de que o colesterol poderia estar envolvido na patogênese da aterosclerose veio dois anos mais tarde, quando Adolf Windaus mostrou que as lesões ateromatosas continham seis vezes mais colesterol livre e vinte vezes mais colesterol esterificado quando comparado a uma parede arterial normal (MEHTA et al. 2002).

Experiências pioneiras tornam-se clássicas e foram reproduzidas por muitos cientistas de todo o mundo, o que levou a compreensão atual do processo aterosclerótico (KONSTANTINOV et al. 2013).

A elucidação do papel do colesterol na patogênese da doença foi referido como uma das maiores descobertas do século XX (MEHTA et al. 2002), mas o estudo de Framingham mostrou que além dos níveis elevados de colesterol, a hipertensão e o tabagismo também são fatores importantes para o desenvolvimento de doenças do coração (KANNEL et al. 1961). O estudo de Framingham forneceu informações cruciais para o reconhecimento e manejo da aterosclerose, as suas causas e complicações, além disso, introduziu os conceitos de fatores de risco biológico, ambiental e comportamental para a doença (MEHTA et al. 2002; KANNEL et al. 1995).

#### **2.1.2 CARACTERÍSTICA DA DOENÇA**

A aterosclerose é um termo genérico que se refere ao espessamento e enrijecimento das artérias, independentemente do seu tamanho. É um processo inflamatório crônico que



afeta as artérias de diferentes leitos vasculares e é caracterizada por um espessamento da camada íntima e média com perda de elasticidade. A lesão básica é a placa de ateroma constituída predominantemente por lipídios, tecido fibroso e células inflamatórias (STARY et al. 1995), que invadem e obstruem o lúmen vascular e enfraquece a túnica média subjacente (MARTINELLE et al. 2014). Embora qualquer artéria possa ser afetada, a aorta e os sistemas vasculares cerebral e coronários são os alvos principais (LINDEN et al. 2014; SPOSITO et al. 2007).

É uma doença crônica multifatorial, lenta e progressiva, resultante de uma série de respostas celulares e moleculares altamente específicas (MARTINELLE et al. 2014). Tem mostrado uma característica heterogênea ao longo do tempo, sendo uma doença com manifestações tanto agudas quanto crônicas (MOTTA et al. 2013; STEIN et al. 2010).

Doença sistêmica que afeta artérias em diferentes locais simultaneamente, mas com diferentes graus de progressão, ela tende a instalar-se nas artérias que irrigam o coração (artérias coronárias), cérebro (carótidas, vertebral e cérebro) e as extremidades inferiores (ilíacas e femoral). Portanto, a presença de envolvimento vascular num local em particular está associada com um risco aumentado de desenvolvimento em outros leitos vasculares (GONZALEZ et al. 2004). A obstrução da luz vascular resulta em síndromes isquêmicas agudas, que compreendem os quadros de doença arterial coronariana, doença cerebrovascular e doença vascular periférica (FRANÇOSO et al. 2002).

Suas manifestações clínicas dependem do leito vascular afetado. Na coronária manifesta pelo aparecimento da síndrome coronária aguda, enfarte agudo do miocárdio ou morte súbita. No cérebro atende clinicamente como acidente vascular cerebral agudo ou ataque isquêmico transitório, e episódios repetidos podem levar a uma demência multi-enfarte. Nas artérias periféricas, a expressão clínica é a claudicação intermitente ou isquemia aguda dos membros inferiores. Estas manifestações clínicas podem ocorrer estenose cronicamente do lúmen arterial e angina estável ou claudicação intermitente, ou de forma aguda por ruptura abrupta da formação de placa e trombo como nas síndromes coronárias acidente vascular cerebral agudo ou isquêmico (LAHOZ et al. 2007; GONZALEZ et al. 2004).

Com grande relevância em todo mundo a aterosclerose é uma doença não transmissível (DCNT), sendo este processo patológico mais relacionado à idade avançada, apesar de, em muitos casos, se desenvolver em crianças e adolescentes (MOTTA, 2013; PARPINELLI et al. 2010).

É um processo insidioso, iniciando-se na infância e progredindo para complicações trombóticas na idade adulta e na população geriátrica (CIMADON et al. 2010; CARVALHO et al. 2001) inclusive existem evidências anatomopatológicas de que a formação da placa aterosclerótica inicia-se na infância e progride lentamente até a vida adulta (FRANÇOSO et al. 2002).

### **2.1.3 CAUSA / GENÉTICA DA DOENÇA**

Por muito tempo, a fisiopatologia da aterosclerose foi considerada meramente um acúmulo de lipídios na parede arterial. No entanto, nas últimas duas décadas, o crescente desenvolvimento no campo da biologia vascular tem esclarecido que as lesões ateroscleróticas são de fato uma série de respostas celulares e moleculares altamente específicas e dinâmicas, essencialmente inflamatórias por natureza (GOMES et al. 2010; ROCHA et al. 2009).

Investigações epidemiológicas indicam que a doença aterosclerótica deriva de uma complexa interação de múltiplos fatores de risco e cada uma das doenças cardiovasculares ateroscleróticas é claramente multifatorial e envolve uma variedade de fatores de risco de predisposição metabolicamente ligados (KANNEL et al. 1995).

Embora permaneça incerta a etiologia da doença, as evidências indicam que o evento fundamental para o início das lesões é o acúmulo de lipoproteínas derivadas do plasma na íntima arterial (MARTINELLI et al. 2014; CASELLA et al. 2003). Desencadeia reações celulares específicas, das quais a disfunção endotelial e o estado inflamatório são os componentes principais associados à ativação do sistema imunológico (REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO 2003; JANCZURA et al. 2015, CASELLA et al. 2003), em que há uma interação entre as células endoteliais ativadas, lipoproteínas de baixa densidade modificada (LDLm), macrófagos, derivados de monócitos, células T, e a parede do vaso (MOTTA et al. 2013; CASELLA et al. 2003 ).

Células endoteliais ativadas expressam moléculas de adesão que atraem e recrutam monócitos e linfócitos sanguíneos. Após a ligação à camada endotelial, estes monócitos transmigram para o espaço sub intimal, e diferenciam-se em macrófagos. Macrófagos de placas interagem com as células linfáticas, principalmente as células T, ingerem LDL modificada via receptores de varredura e tornam-se células espumosas, promovendo, assim, a formação de placas (MOTTA et al. 2013; CASELLA et al. 2003).

O início da doença localiza-se preferencialmente em junções e curvas de artérias, em que o fluxo é turbulento e as forças oscilam, o que provoca uma diminuição da produção de óxido nítrico (NO), com um consequente aumento na permeabilidade endotelial, expressão de

moléculas de adesão e citocina inflamatória como fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ). Nessas áreas, as condições hemodinâmicas junto com fatores de risco cardiovasculares causam disfunção endotelial vascular, sendo a primeira fase da formação de lesões ateroscleróticas (BERK et al. 2001).

O processo-chave para o início da aterogênese é o depósito de lipoproteínas na parede arterial e isso ocorre de maneira proporcional à concentração dessas lipoproteínas no plasma (HANSSON, 2005; ROSS, 1999).

A injúria causada no endotélio também aumenta a adesão de leucócitos e plaquetas no local da lesão, bem como a sua permeabilidade, favorecendo a infiltração dessas células no espaço subendotelial além de fazer com que o endotélio exerça propriedades pró-coagulantes ao invés de anticoagulantes (SPOSITO et al. 2007; CASELLA et al. 2003).

Várias teorias foram propostas para explicar o início do processo inflamatório, a mais aceita é a união da hipótese de resposta à lesão endotelial (SPOSITO et al. 2007) somada à hipótese oxidativa (HANSSON, 2005).

O evento inicial também pode ser caracterizado pela diminuição da produção de óxido nítrico (NO) concomitante à liberação de vários mediadores inflamatórios e moléculas quimioatraentes em resposta à injúria tecidual (SPOSITO et al. 2007).

Níveis altos de lipoproteína de alta densidade HDL-C são considerados como importante bio-marcador de prevenção ao desenvolvimento e evolução da doença aterosclerótica (BUCKLEY et al. 2015). A elevação dessa lipoproteína auxilia na remoção de LDL-ox da parede vascular, inibe a fixação de moléculas de adesão, diminuindo a passagem de monócitos para a camada sub intimal, além disso, estimula a liberação de NO. (BUCKLEY et al. 2015).

A morte celular também é um evento importante que ocorre durante o desenvolvimento da placa aterosclerótica e pode ser associado com a proliferação celular. Após décadas de pesquisas sobre os mecanismos de proliferação de células do músculo liso vascular (VSMC), estudos têm sido realizados para compreender os mecanismos e papéis da sobrevivência / apoptose das células do músculo liso no desenvolvimento normal de vasos e patologia. O crescimento VSMC é agora visto como o resultado dos efeitos opostos da proliferação celular e apoptose (MALLAT et al. 2000).

O componente genético da DA tem sido cada vez mais investigado e algumas características genéticas foram a ele associados (GUIMARÃES, 2002).

A DA, e suas diversas formas de apresentação, seja assintomática ou sintomática, tem como fator genético associado uma relação de aproximadamente 20-60% (YANG et al. 2014; XUMING et al. 2016). Uma complexa relação entre os fatores genéticos, fatores ambientais e idade também merecem destaque no processo fisiopatológico da doença (XUMING et al. 2016).

Além de fatores de risco para a aterosclerose tradicionais bem estabelecidos estudos de associação ampla de genoma (*GWAS*) descobriram muitos loci genéticos que estão fortemente associados com traços de doença cardiovascular (DCV), incluindo a CAD clinicamente aparente (GUIMARÃES, 2002).

Atualmente, inúmeras são as características genéticas descritas e diretamente relacionadas com o processo da aterogênese e trombogênese (SANTOS et al. 2011) e diversos genes têm sido associados. Estudo sugere que, no futuro, ela poderá ser utilizada para a identificação de indivíduos de alto risco (ZHANG et al. 2014).

Apesar dos progressos substanciais no tratamento e prevenção de aterosclerose e as complicações tromboembólicas relacionadas, continua a existir uma necessidade urgente de desenvolver ferramentas de prognóstico e planos terapêuticos individualizados. Os progressos nessa direção defendem que uma melhor compreensão da base genética da doença (GIBBONS, 1996).

Tal como acontece com outras doenças humanas complexas, aterosclerose provavelmente resulta da interação entre vários fatores genéticos e ambientais. Ao contrário das doenças mendelianas, a aterosclerose não é atribuível a genes individuais. O mais provável, é a herança de um conjunto de variantes de genes na forma de um único polimorfismo de nucleotídeo (SNPs) que definem um indivíduo de susceptibilidade aterosclerótica por respostas de modulação a fatores ambientais, como dieta e uso de fumo (SEO et al. 2004).

Sendo a aterosclerose uma doença de base multifatorial, os fatores genéticos atuam como determinantes de risco para o desenvolvimento da mesma. Vários fatores genéticos se relacionam à doença, considera-se que mais de 400 genes possam estar envolvidos nos processos de regulação da função endotelial, hidratos de carbono, inflamação, coagulação e o metabolismo dos aminoácidos e lipídeos (MARINKOVIĆ et al. 2013; MARQUES e SÁ, 2011).

Grande parte destes genes relacionados à doença aterosclerótica são polimórficos, e por codificarem proteínas envolvidas na fisiologia normal do endotélio, suas variações em

determinadas situações poderão contribuir para etiopatogênese molecular na doença cardiovascular (GAIO et al. 2014).

Individualmente, SNPs geralmente têm um ligeiro a moderado efeito sobre a função ou a quantidade de proteínas codificadas. No entanto, as combinações específicas de SNPs pode ter um efeito dominante no desenvolvimento da aterosclerose. Conhecimento dos genes cruciais e de genes variantes nos permitem gerar um fenótipo genômico do paciente que fornece o nível de detalhe necessário para auxiliar no diagnóstico e prognóstico, e para o desenvolvimento de protocolos de tratamento personalizado (SEO et al, 2004).

Segundo MARQUES e SÁ (2011), nos últimos 20 anos publicações sobre a patogênese da doença cardiovascular relacionada com a genética aumentaram em cinco vezes visando compreender melhor os polimorfismos dos genes e marcadores de inflamação, a fim de elucidar os aspectos intrínsecos envolvidos na aterosclerose e na doença coronária.

#### **2.1.4 ATEROTROMBOSE**

A migração e proliferação das células musculares lisas da camada média arterial para a íntima estimuladas por mediadores da inflamação passam a produzir citocinas, fatores de crescimento e também matriz extracelular, que formará parte da capa fibrosa da placa aterosclerótica (HANSSON, 2005).

A formação dessa placa é um processo irreversível, na qual é observado a destruição da arquitetura da parede vascular, e se constitui de células espumosas, detritos celulares (provenientes de apoptose e consequente necrose), ésteres de colesterol, cálcio, musculatura lisa e matriz extracelular (responsável pela capa fibrosa) (CASELLA et al. 2003; XAVIER et al. 2013).

Dependendo da atividade inflamatória apresentada podemos classificar as placas ateromatosas como instáveis e estáveis. 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 (HANSSON, 2002).

As placas instáveis apresentam atividade inflamatória intensa, com grande atividade proteolítica, núcleo lipídico e necrótico proeminente e capa fibrótica tênue (HANSSON, 2002). A ruptura da placa aterosclerótica leva à exposição do material do núcleo necrótico altamente trombogênico, com a ativação plaquetária e posterior formação de trombos que podem bloquear o fluxo de sangue *in loco*, ou romper e entrar na corrente sanguínea, impedindo outros vasos com diâmetro menor. Este processo, também conhecido por

aterotrombose, é um dos principais determinantes das manifestações clínicas da aterosclerose (GAMBARDELLA et al. 2016; XAVIER et al. 2013).

Essa resulta do enfraquecimento da lesão aterosclerótica por maior conteúdo de lipídeos, eventos inflamatórios, apoptose e aumento da degradação da matriz na lesão vascular já formada. A ativação do receptor AT1 aumenta a deposição de lípidos, inicia o processo inflamatório por produção de interleucina (IL-6), estimula a apoptose da célula muscular lisa vascular e aumenta a atividade de metalo proteinases da matriz, todos processos contribuintes para o enfraquecimento da cápsula da placa e para a consequente ruptura (FAVARATO, 2003).

### **2.1.5 FATORES DE RISCO**

Diversos fatores de risco como dislipidemia, hipertensão arterial ou tabagismo levam a uma agressão no endotélio vascular. Como consequência, à disfunção endotelial, a permeabilidade da íntima às lipoproteínas plasmáticas aumenta, favorecendo assim a retenção das mesmas no espaço subendotelial (HANSSON, 2005; ROSS, 1999).

A relação entre estilo de vida individual, em particular o tabagismo, estresse psicossocial ou trabalho e falta de atividade física regulam com morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares (SÖDERSTRÖM et al. 2014; JANCZURA et al. 2015). A presença da doença está associada a fatores de risco, como hipercolesterolemia, *Diabetes Mellitus* (DM), hipertensão arterial sistêmica, história familiar, hipertrigliceridemia, hiperhomocisteinemia e infecção por vírus e bactérias intracelulares (JANCZURA et al. 2015).

Os hábitos alimentares inadequados e o sedentarismo, que caracterizam a sociedade atual, constantemente englobam, além da inflamação vascular como fatores que também desencadeiam a aterosclerose (POPE et al. 2003).

Sexo, idade, raça e genética, são as características inerentes ao indivíduo e, portanto não passíveis de modificações já as características comportamentais, estilo de vida, tabagismo, dieta, sedentarismo, ingestão de álcool e uso de anticoncepcionais, são formas de comportamento e hábitos determinados pelo ambiente psico-sócio-econômico do indivíduo, portanto passíveis de modificações (MOTTA et al. 2013).

As patologias ou distúrbios metabólicos, a exemplo da hipertensão arterial sistêmica (HAS), obesidade, hiperlipidemia, *Diabetes Mellitus* representam desvios e alterações hemodinâmicas, endócrinas ou metabólicas geradas por uma combinação de características genéticas e ambientais que aumentam o risco da doença, isoladamente ou interagindo com outros fatores de risco cardiovascular (MOTTA et al. 2013).

Considerado como um distúrbio endócrino por apresentar um defeito de secreção e/ou ação da insulina produzida pelo pâncreas, o que leva a utilização inadequada de glicose pelos tecidos resultando na hiperglicemia, o *Diabetes Mellitus* está associada ao risco relativo de morte por eventos cardiovasculares, ajustado para a idade. Em diabéticos esse risco é três vezes maior do que o da população em geral (VIANA et al. 2011; SANTOS et al. 2008).

A doença arterial coronariana ocorre mais comumente em diabéticos do que na população em geral, afetando mais de 55% dos pacientes. O *Diabetes Mellitus* é fator de risco maior para a doença cardiovascular independente, mesmo após ajustada para idades mais avançadas, hipertensão arterial sistêmica e tabagismo (GUS et al. 2002).

O *Diabetes Mellitus* (DM) contribui para a aterosclerose através a formação de produtos avançados de glicação (AGE) que prejudica o transporte de colesterol dos macrófagos arteriais ao fígado. A albumina-AGE reduz a remoção de colesterol celular pelas HDL e apo A-I, por diminuir a expressão dos receptores de HDL, ABCA-1 (AHMED et al., 2007; CARNEIRO et al. 2003).

Do ponto de vista etiopatogênico, a glicolisação excessiva das proteínas decorrente de níveis elevados de glicemia gera uma resposta inflamatória em nível endotelial, derivada da união desses produtos a receptores específicos na superfície endotelial, cuja produção é estimulada pela presença dessas glicoproteínas (AHMED et al. 2009). A intensidade da participação destes fatores de risco no desenvolvimento da doença coronariana depende dos componentes ambientais e das características genéticas de cada indivíduo ou de uma população (GUIMARÃES, 2002).

Mecanismos tóxicos da glicose direta sobre a vasculatura, a resistência à insulina e a associação do *Diabetes Mellitus* a outros fatores de risco contribuem para o desenvolvimento da doença aterosclerótica (VIANA et al. 2011; SANTOS et al. 2008; RABELLO, 2001)

A hipertensão contribui significativamente para o desenvolvimento de todas as doenças cardiovasculares ateroscleróticas, incluindo acidente vascular cerebral, doença coronariana, insuficiência vascular periférica e insuficiência cardíaca (ALMEIDA et al. 2003). Ela acelera a aterogênese, aumentando o risco de eventos cardiovasculares em duas a três vezes, incluindo o risco de doença arterial coronariana, sua sequela mais comum (ALMEIDA et al. 2003).

A angiotensina II é um potente vaso constritor e está frequentemente elevada em pacientes com hipertensão. Além de causar hipertensão, que podem contribuir para a aterogênese através da estimulação do crescimento do musculo liso ligando-se a receptores

específicos, resultando na ativação de fosfolipase C, o que pode levar a um aumento das concentrações do cálcio intracelular e contração do músculo, aumento da síntese de proteínas, e hipertrofia do músculo liso. Também aumenta a atividade lipoxigenase do músculo liso, o que pode aumentar a inflamação e a oxidação de LDL (GUIMARÃES, 2002).

Um importante elo entre o sistema angiotensina e a aterosclerose é a produção de radicais livres de O<sub>2</sub> pela ativação dos receptores AT<sub>1</sub>, o que pode levar ao estresse oxidativo, fenômeno que está na base da disfunção endotelial e aterosclerose. Os radicais de O<sub>2</sub> são responsáveis pela oxidação de lípidos e pela expressão de um variado elenco de genes responsáveis pela modulação e transcrição de moléculas pró-inflamatórias, tais como as moléculas de adesão das células vasculares (VCAM-1), de adesão intercelular (ICAM-1) e atratoras de monócitos (MCP-1), todas participantes da gênese e progressão do processo aterosclerótico (FAVARATO et al. 2003).

Os radicais livres do oxigênio participam de várias vias sinalizadoras metabólicas celulares normais, inclusive aquelas relacionadas ao crescimento normal de células musculares lisas. Contudo, quando em excesso, como no chamado estresse oxidativo, levam à disfunção endotelial e à aterosclerose (FAVARATO et al. 2003).

A relação de risco de hipertensão arterial e aterosclerose ocorre de modo direto e através do aglomerado de outros fatores de risco intimamente relacionados com a presença de hipertensão, além do fator mecânico representado pela elevação da pressão arterial, a mesma funciona como um marcador da presença de outros fatores de risco de aterosclerose (JANCZURA, 2015). A hipertensão é um fator maior de risco de aterosclerose, juntamente com dislipidemia, tabagismo e diabetes (LAHOZ et al. 2007; MANSUR, 2000). A sua importância clínico-epidemiológica é decorrente de uma elevada prevalência e incidência aliadas a uma potente ação direta como fator de agressão vascular (FAVARATO et al. 2003).

As células endoteliais vasculares são continuamente expostas a uma gama de forças hemodinâmicas que têm um grande impacto sobre a sua estrutura e função celular. As variações no fluxo sanguíneo desempenham um papel importante no crescimento ou regressão dos vasos, e no desenvolvimento da aterosclerose focal. A ligação entre a estimulação mecânica e sobrevivência ou morte celular foi, portanto, sugerido (MALLAT et al. 2000).

Risco agregado à hipertensão e que concorre para a aterosclerose é a presença de dislipidemia. Hipercolesterolemia (CT  $\geq$  200 mg/dL), pode estar presente em até 80% dos hipertensos, dependendo do grupo estudado, sendo mais frequente acima dos 50 anos, principalmente em mulheres. Atualmente, com a epidemia de sobrepeso/obesidade, a qual é



muito frequente em hipertensos, um outro padrão de perfil lipídico vem aumentando a sua prevalência, caracterizado por hipertrigliceridemia ( $\geq 150$  mg/dL), frequentemente mais intensa que a hipercolesterolemia, associada a valores diminuídos do HDL-C ( $< 40$  mg/dL) (JANCZURA, 2015).

A presença desse perfil lipídico, denominado dislipidemia aterogênica, aumenta ainda mais o risco de aterosclerose no hipertenso por se associar a uma produção mais elevada de LDL pequenas e densas, de elevado poder aterogênico (JANCZURA, 2015), esses penetram com maior facilidade na parede dos vasos, causando uma lesão no endotélio dando início a formação da placa (HANSSON, 2005; ROSS, 1999), evidências indicam que o evento fundamental para o início das lesões é o acúmulo de LDL derivadas do plasma na íntima arterial (MARTINELLI et al. 2014; CASELLA et al. 2003) e isso ocorre de maneira proporcional à concentração dessas lipoproteínas no plasma (HANSSON, 2005; ROSS, 1999).

A elevação da lipoproteína de alta densidade (HDL-C) circulante auxilia na remoção de LDL-ox da parede vascular, inibe a fixação de moléculas de adesão, diminuindo a passagem de monócitos para a camada sub intimal, além disso, estimula a liberação de óxido nítrico (NO) (SANTOS et al. 2008; BUCKLEY et al. 2015), sendo assim níveis diminuídos de HDL-C é um fator de risco para o desenvolvimento e evolução da doença aterosclerótica (BUCKLEY et al. 2015).

Apesar de no Brasil sociedade ainda conviver com a fome que atinge milhões de pessoas, existem também milhões de brasileiros que apresentam um consumo energético excessivo, levando ao sobrepeso/obesidade, importante fator de risco cardiovascular, que envolve crianças, adolescentes e adultos (GUIMARÃES, 2003).

A obesidade é considerada doença crônica de caráter multifatorial. Fatores ambientais e estilos de vida não-saudáveis, como por exemplo, maus hábitos alimentares e sedentarismo desempenham um papel preponderante, apesar dos fatores genéticos atuarem como co-fatores, aumentando a susceptibilidade de ganho de peso (SANTOS, 2008).

A qualidade da energia consumida também condiciona o risco cardiovascular pelo excesso de gordura saturada, colesterol, açúcar e sal. Dessa equação de risco participa o sedentarismo, favorecendo o acúmulo de energia, que leva ao sobrepeso/obesidade (SANTOS, 2008; GUIMARÃES, 2003).

Além disso, o tecido adiposo libera um grande número de mediadores bioativos que influenciam não só a homeostase do peso corporal, mas também a resistência à insulina, bem

como alterações em lipídios, pressão arterial, coagulação, fibrinólise e inflamação, levando à disfunção endotelial e aterosclerose (GAAL et al. 2006).

Dentre os hábitos sociais desponta o tabagismo, outro fator de risco maior, cuja causalidade em relação à aterosclerose está diretamente relacionada à liberação de radicais de O<sub>2</sub> livres, altamente agressivos para o endotélio vascular e que se adiciona ao risco de aterosclerose em muitos hipertensos (JANCZURA, 2015; GUIMARÃES, 2003). O cigarro duplica o risco na doença arterial coronariana e 30% delas são atribuídas ao número de cigarros fumados (GUS et al. 2002)

O tabagismo está entre os fatores de risco mais importantes para o desenvolvimento da aterosclerose pois diminui as concentrações sanguíneas de HDL, o que está associado a uma disfunção endotelial significativa, sendo fortemente associado à prevalência de lesões ateroscleróticas avançadas, principalmente na aorta abdominal (RABELO, 2001; SANTOS et al. 2008).

O efeito do consumo de bebidas alcoólicas sobre a incidência da doença aterosclerótica é um caso particular, pois não só a intensidade do efeito, mas as interações com os outros fatores de risco dificultam a compreensão de seu impacto real, seja ele benéfico ou deletério (FOPPA et al, 2001). Décadas de pesquisas epidemiológicas têm demonstrado que a aterosclerose tem uma etiologia multifatorial, dificultando a análise quantitativa e qualitativa de um fator de risco isoladamente, os quais interagem entre si (DAMIANI et al. 2004).

Estudos populacionais sugerem que o consumo moderado de bebidas alcoólicas protege contra doença coronariana e cardiovascular (TABARA et al. 2016; DAMIANI et al. 2004; RIMN et al, 1996; MARMOT et al, 1991,). O consumo de 1-2 doses diárias de álcool propicia uma redução de 20-40% de eventos cardiovasculares em relação aos indivíduos abstêmios, observando-se um aumento progressivo das doenças atribuídas ao consumo de álcool com doses maiores (FOPPA et al, 2001).

Embora haja evidências de efeitos benéficos do uso moderado das bebidas alcoólicas (KIECHL et al 1998), há estudos apontando um maior risco de doença coronariana associado ao padrão de uso do álcool do tipo “beber excessivo” (MCKEE ; BRITON 1998). McKee e Britton (1998) observaram que os indivíduos com alto consumo de álcool (tipo “beber excessivo”) adquiriram alterações nas lipoproteínas de baixa densidade, sem apresentar os efeitos cardioprotetores nas lipoproteínas de alta densidade.

A compreensão dos inúmeros efeitos do consumo de bebidas alcoólicas, sobre os fatores de risco e a própria doença cardiovascular é indispensável para o desenvolvimento de estratégias e intervenções que visem a redução de morbimortalidade (FOPPA et al. 2001).

A maioria das doenças cardiovasculares é poligênica, onde as características herdadas sofrem influência de fatores ambientais (LEE et al 2006). O fator de risco define que certos estilos de vida promovem traços aterogênicos em pessoas geneticamente susceptíveis e que, depois de exposição prolongada, resultam em uma circulação arterial comprometida e culmina com eventos clínicos (KANNEL et al. 1995).

Na prática clínica, a investigação do provável componente hereditário, influenciando o desenvolvimento da aterosclerose, faz-se basicamente pela presença de doença coronariana precoce nos pais (pai com menos de 55 anos e mãe com menos de 65 anos), ou irmãos com doença coronariana (MANSUR, 2000).

#### **2.1.6 PREVALÊNCIA**

A Doença Aterosclerótica (DA), em suas diversas apresentações, que inclui doença coronariana, acidente vascular encefálico isquêmico, doença obstrutiva crônica periférica, aneurismas, e demais complicações, são responsáveis pela principal causa de incapacidade e mortalidade no Brasil e no mundo (YANG et al. 2014; LOTUFO, 1998; GUS et al. 2002).

As doenças cardiovasculares são responsáveis por 18 milhões de mortes ao ano no mundo, sendo as doenças isquêmicas do coração e as doenças cerebrovasculares responsáveis por dois terços desses óbitos e por, aproximadamente, 22% dos 55 milhões de óbitos por todas as causas (BEAGLEHOLE et al 2001).

As cardiopatias representam importante problema de saúde em todo o mundo, representando os mais altos custos em assistência médica (GUS et al, 2002). No Brasil são responsáveis por cerca de 20% de todas as mortes em indivíduos acima de 30 anos (MANSUR et al. 2012).

Os dados apresentados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), através da síntese de indicadores de saúde, em 2010, com coleta de dados em 2008, confirmam que as doenças circulatórias apresentam maior percentual de óbito no adulto, 29,5%, enquanto a segunda maior, as neoplasias, respondem por pouco mais da metade, 15,6%. De acordo com distribuição demográfica por região, a que apresentou maior índice de doenças circulatórias foi a região sul (30,2%), seguida pelas regiões sudeste (30%), nordeste (29,7%), centro-oeste (28,8%) e norte (22,6%). Em relação a distribuição por gênero os homens apresentaram 26,9% e as mulheres 33%.

Segundo o Ministério da Saúde, ocorreram 962.931 mortes em indivíduos com mais de 30 anos no ano 2009. As doenças isquêmicas do coração (DIC) foram responsáveis por 95.449 mortes e as doenças cerebrovasculares (DCbV) por 97.860 no total as causas cardiovasculares atribuíveis à aterosclerose foram responsáveis por 193.309 mortes (MANSUR et al. 2012).

## **2.2 POLIMORFISMO**

Todos os seres humanos são praticamente idênticos no nível genético, e o conjunto completo de genes e outros aspectos da sequência do DNA são essencialmente os mesmos. A maior parte do DNA de qualquer indivíduo, por volta de 99,5%, é exatamente a mesma comparada com qualquer outro indivíduo (GOLDSTEIN et al. 2005).

Dentro de uma espécie, os cromossomos homólogos são bastante similares entre si, mas em determinadas localizações do cromossomo (*loci*) pode haver variabilidade na sequência do DNA (ROCHA et al. 2007), essas diferenças entre indivíduos são chamadas de polimorfismos (COSTA et al. 2007).

Polimorfismos são definidos como variantes genéticas que estão presentes na população em uma frequência maior que 1%. Já as variantes de sequência de DNA que estão presentes em uma frequência menor que 1% na população são arbitrariamente chamados de mutação (COSTA et al. 2007) (ROCHA et al. 2007).

A frequência de alelos heterozigotos para o polimorfismo genético ocorre em mais de 2% da população. Algumas dessas alterações ocorrerem em sequências não codificadoras do gene, que na maioria dos casos não terão efeito em suas funções; outras ocorrerão em sequências codificadoras, levando à produção de proteínas defeituosas (LIMA, 2006).

Os polimorfismos são responsáveis pela diversidade humana, diferentes fenótipos são decorrentes de diferentes polimorfismos, como, por exemplo, o sistema ABO (OLSSON et al., 2001), mas também podem influenciar diretamente sobre fatores de risco associados a doenças comuns (ROCHA et al. 2007). Podem atuar como marcadores genéticos, já que são transmitidos associados a outros genes localizados na região cromossômica próxima a eles (linkage) (XAVIER et al. 2013).

Existem milhões de polimorfismos no genoma humano e o número de estudos na tentativa de associar o polimorfismo genético com uma doença ou a susceptibilidade a doença vem crescendo exponencialmente (XAVIER et al. 2013).

### 2.3 GENE *p53*

O *p53* é um gene supressor tumoral clássico, conhecido como “guardião do genoma”, age na regulação do desenvolvimento e do crescimento celular. Localizado no locus 17p13 (braço curto do cromossoma 17, região 1 banda 3), esse gene possui 20 Kb e é composto por 11 éxons, sendo o primeiro não codificante, é altamente conservado, apresentando homologia estrutural entre diferentes espécies. O gene *p53* codifica a síntese de uma fosfoproteína nuclear de 53 kDa e 393 aminoácidos, denominada proteína *p53* em função de seu peso molecular ( KUNG; MURPHY, 2016; LIMA, 2006; CAVALCANTI et al. 2002; SYVÄNEN, 2001; LEVINE, 1997; CHANG, 1995).

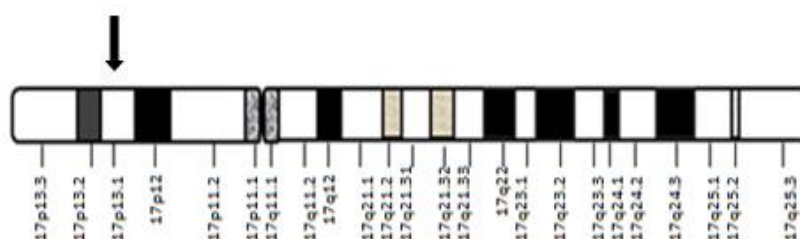


Figura 1: Gene *p53*, cromossomo: 17; Posição: 17p13.1 (LAGARES, 2017)

A proteína *p53* foi descrita pela primeira vez em 1979 em estudo com o vírus "simian 40 (SV40)" e o antígeno T (LIMA, 2006; KRESS, 1979) e desde então foram publicados mais de 35.000 artigos sobre este tema (KRESS, 1979). Esta proteína tem elevado nível de expressão em tumores e em células transformadas (CAVALCANTI et al. 2002; SYVÄNEN, 2001).

A forma funcionalmente ativa (tipo selvagem), apresenta uma estrutura molecular tetramérica, ou seja, com quatro subunidades básicas idênticas que se juntam, constituindo a forma funcionalmente ativa da molécula (CAVALCANTI et al. 2002; LEVINE et al. 2006).

Cada unidade básica da proteína *p53* é formada por quatro domínios: (1) domínio de transativação localizado na região amino-terminal, que compreende os oitenta primeiros aminoácidos; (2) domínio de ligação ao DNA (localizado entre os resíduos 100 e 300) representa a parte central, sendo responsável pela capacidade de ligação com a molécula de DNA; (3) domínio de oligomerização e (4) domínio de tetramerização. Os dois últimos estão localizados na porção carboxi-terminal da proteína (CAVALCANTI et al. 2002; SYVÄNEN, 2001). Células normais apresentam níveis extremamente baixos de *p53*, pelo fato dessa proteína ser rapidamente degradada após a síntese (SYVÄNEN, 2001).

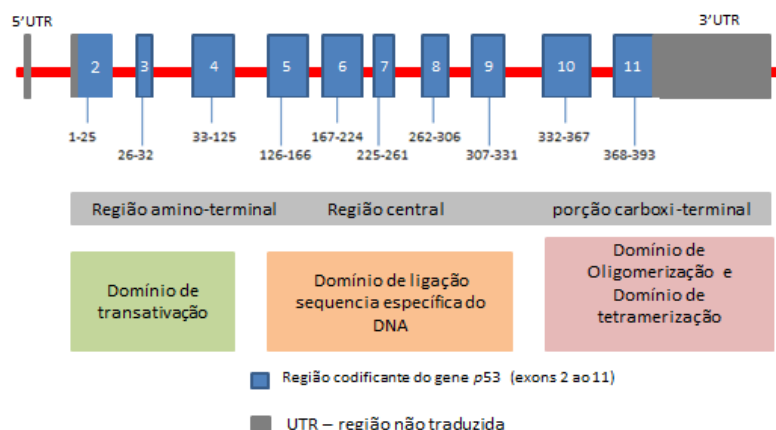


Figura 2: Representação esquemática de organização genômica do gene TP53 e dos diferentes domínios proteicos da proteína p53 (LAGARES, 2017).

A *p53* é ativada quando ocorre dano ao DNA, por sinais exógenos e endógenos (SYVÄNEN, 2001). A consequência da regulação biológica positiva da *p53* é a indução de vias que conduzem a parada do ciclo celular ou apoptose (YONISH, 1997). A *p53* desacelera a progressão do ciclo celular quando se liga ao local danificado do DNA (SYVÄNEN, 2001), ativada ela causa então a transativação do gene *p21-waf* e ativação da proteína *p21*, que interage com o receptor de ciclina dependente de quinases 2 (*cdk2*), que estimula a divisão celular. Quando a *p21* forma complexos com *cdk2*, a célula é impedida de avançar para o próximo estágio da divisão celular bloqueando as células na fase G1 do ciclo celular (EL-DEIRY, 1998; LEVINE, 1997; DULIĆ, 1994) dando tempo para que ocorra o reparo do DNA. Caso o dano seja irreparável, a proteína *p53* atua causando apoptose das células e isso contribui para proteção do organismo contra acúmulo de mutações genéticas dificultando assim a ocorrência de células geneticamente instáveis e com predisposição à transformação maligna. Quando mutada, a *p53* deixa de ativar a produção de *p21*, tornando a divisão celular processo descontrolado (SYVÄNEN, 2001).

O polimorfismo ocorre por simples substituição de uma base no códon 72 que resulta em alteração estrutural da proteína *p53* (SYVÄNEN, 2001). As proteínas *p53* mutantes, que diferem do tipo selvagem em apenas um resíduo de aminoácido, geralmente perdem a capacidade de se ligar ao DNA e são, assim, funcionalmente inativas. As mutações da *p53* geralmente são encontradas nas regiões conservadas da proteína, e cerca de 74% dessas mutações são missense (troca de um nucleotídeo) ( PIETENPOL et al. 1994). Havendo uma alteração funcional de *p53*, não há reparo eficiente do DNA, e as mutações acumulam-se nas

células em divisão, que podem então, em um dado momento, sofrer transformação maligna (SIGAL et al. 2000).

No códon 72 do éxon 4 do gene *p53* mostra um polimorfismo caracterizado por uma substituição de guanina (G) por uma citosina (C) que determina a alteração do aminoácido arginina por prolina na proteína. A mudança de aminoácido afeta propriedades bioquímicas e funcionais de *p53* (BOTTINI et al. 2012). Assim o códon 72 codifica um aminoácido arginina (CGC) e um prolina (CCC), correspondendo a arginina/prolina (arg/pro) (SYVÄNEN, 2001) (Figura 3). De acordo com a possibilidade desses alelos existente, é possível criar três genótipos diferentes, tais como arg/arg, pro/arg, pro/pro (KUNG; MURPHY, 2016; LEVINE, 1997).

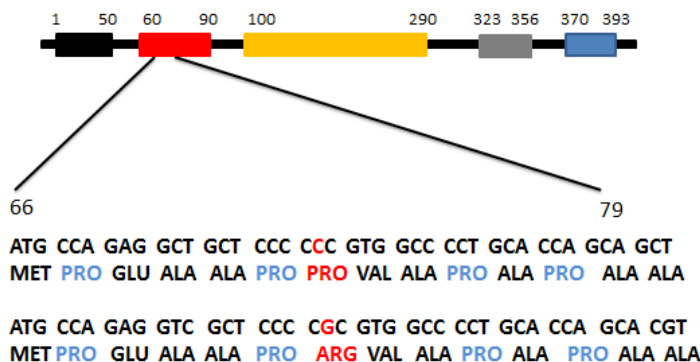


Figura 3: Localização do polimorfismo no códon 72 do gene TP53. (LAGARES, 2017)

Esta substituição conduz a diferenças entre as duas variantes quanto à sua ligação dos componentes da transcrição do gene, a ativação da transcrição e a indução de apoptose (DOOSTI et al. 2011; THOMAS et al. 1999).

Estudos recentes em linhas de células que contêm versão indutível de codificação das variantes arginina e prolina em variantes de células com *p53* endógeno demonstraram que a variante arginina é capaz de induzir a apoptose, pelo menos, cinco vezes melhor do que a variante prolina (DOOSTI et al. 2011; SMITH et al. 2007), enquanto que a variante prolina promove um fenótipo mais forte parada do ciclo (KUNG; MURPHY, 2016). Além de levar a apoptose mais rápido a variante arginina reprime a alteração mais competente do que a variante prolina (THOMAS et al. 1999).

#### 2.4 POLIMORFISMO DO *p53* E A ATEROSCLEROSE

Embora a teoria inflamatória da aterosclerose seja o mais proeminente, observações apontam para características biológicas comuns entre câncer e aterosclerose (BENEDITTI et al. 1973), essas características sugerem possível associação de *p53* com doenças

ateroscleróticas, mas os dados sobre essa relação são controversos, sugerindo interações com outras variáveis (BOTTINI et al. 2012).

Além disso *p53* é uma proteína de supressão tumoral conhecido por participar do controle do ciclo celular podendo levar a célula a apoptose (MACCHIONI et al. 2007), está envolvida também na regulação do crescimento de células do musculo liso vascular (VSMC) (LEVINE et al. 2006).

A apoptose, ou morte celular programada, que normalmente ocorre durante o desenvolvimento e idade adulta, é um mecanismo homeostático que mantém a população do tecido celular. É um sistema fisiológico usado para morte celular, que está envolvido na embriogênese, na renovação celular e remoção de tecidos infectados, danificados ou células mutadas. Está também implicado na patogênese de muitas doenças incluindo aterosclerose e suas complicações (MALLAT et al. 2000). Segundo KOJIMA et al. (2004) a apoptose é conhecida por causar um certo número de doenças vasculares comuns e ameaçadoras, incluindo aterosclerose.

Uma vez que o endotélio vascular está envolvido em vários processos fisiológicos, a apoptose de células endoteliais (e disfunção) podem constituir um primeiro passo em uma variedade de situações patológicas (KOJIMA et al. 2004). Vários dados sugerem que a apoptose é o principal evento que ocorre durante o desenvolvimento e progressão da placa aterosclerótica (MALLAT et al. 2000).

Além de associação da apoptose com o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas, apoptose também desempenha um papel importante em acontecimentos críticos de progressão da doença em que há uma erosão da placa e formação de trombos levando a oclusão do vaso e infarto. As células em apoptose têm atividade pró-coagulante, aderindo a elas plaquetas (BOMBELI et al. 1999; BOMBELI et al. 1997)

Observações que a morte celular ocorre na aterosclerose foram feitas por VIRCHOW em 1858 (FERNANDEZ et al. 2011). A apoptose parece desempenhar um papel significativo em muitos eventos vasculares ou doenças relacionadas. Uma ênfase particular é colocada sobre o papel potencial de apoptose na aterosclerose e restenose (HAMET et al. 1996; VIRCHOW, 1989). Estudos feitos por THOMAS et al (1976) mostraram que a morte celular é um evento importante que ocorre durante o desenvolvimento da placa aterosclerótica e pode ser associado com a proliferação celular (DÍEZ et al. 1998). Segundo BENNET et al. (1995) a apoptose de células do músculo liso vascular humano é regulada por produtos gênicos específicos e citocinas locais que atuam como fatores de



sobrevivência. A apoptose pode, por conseguinte, regular a massa de células na parede arterial normal e as taxas mais elevadas de apoptose observada em células do músculo liso da placa pode, contribuir para a ruptura de placas e, portanto, para a sequelas clínicas da aterosclerose. (THOMAS et al. 1976 )

Acredita-se que LDL oxidada (oxLDL) seja a principal molécula que provoca lesão do endotélio levando a um evento precoce de aterogênese. No entanto, os mecanismos pelos quais a oxLDL lesiona as células endoteliais são inteiramente desconhecido. Um trabalho realizado por DIMMELER et al. (1997) em células humanas endoteliais da veia umbilical concluiu que essa molécula ativa a via que leva a apoptose de células endoteliais.

Células endoteliais fornecem propriedades anticoagulantes potentes, evitando a adesão de plaquetas, bem como a iniciação da coagulação. No entanto, quando expostos a estímulos pró-inflamatórios no endotélio é rapidamente transformado em uma superfície pró-coagulante, promovendo a formação de trombos. Essa teoria foi confirmada por BOMBELI et al. (1999), quando fez um estudo com células humanas endoteliais da veia umbilical. O objetivo era determinar se as células endoteliais em apoptose se tornaria pro adesivas para plaquetas não ativadas e se plaquetas iria tornar-se ativadas através do contato com células endoteliais apoptóticas. Este estudo forneceu provas adicionais de que as células endoteliais que sofrem apoptose contribuem para episódios trombóticos.

BLIN et al. (2011) avaliou a expressão diferencial de 11 genes suscetíveis associados à patogênese da aterosclerose, dentre eles o *p53*. Esse estudo demonstrou que a expressão do gene *p53* foi significativamente aumentada em amostras ACAT (amostras de tecido aterosclerótica da artéria coronária) em comparação com amostras NCAT (amostras de tecido arterial coronariana não aterosclerótica). O nível de expressão de *p53* é baixa em células normais, mas ricos em linhas de células transformadas sugerindo que o gene *p53* contribui para a progressão do desenvolvimento da aterosclerose (KOJIMA et al. 2004).

Quando uma célula apresenta um alelo do gene *p53* normal e outro mutado, a função da proteína *p53* fica comprometida, visto que a maioria dos tetrâmeros da molécula apresentará pelo menos uma das subunidades alterada, como por exemplo, a troca de um aminoácido (PINTO et al. 2002). A forma ativa da proteína *p53* tem vida média muito curta (em torno de 6 minutos), devido a sua rápida degradação, o que torna extremamente difícil a sua detecção. Ao contrário, as formas mutadas ou inativas tendem a acumular-se no núcleo das células, podendo ser facilmente detectadas por métodos imunológicos como a

imunocitoquímica, imuno-histoquímica, Western blot ou citometria de fluxo (SIGAL et al. 2000), além de métodos moleculares.

O conhecimento do perfil genético pode beneficiar indivíduos mais suscetíveis com instituição precoce de medidas preventivas e/ou medicamentosa com melhor determinação prognóstica e maior sobrevida.

## **2. OBJETIVOS**

### **3.1 OBJETIVOS GERAIS**

Analisar o polimorfismo do gene p53 em um grupo de indivíduos com diagnóstico de aterosclerose e em um grupo controle.

### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Detectar o polimorfismo do gene *p53* nos grupos caso e controle;

Verificar a frequência dos genótipos (Arg/Pro, Arg/Arg e Pro/Pro) do polimorfismo de *p53* nos pacientes com aterosclerose e no grupo controle;

Verificar a relação entre o polimorfismo do gene *p53*, doença aterosclerótica e os fatores de risco: gênero, tabagismo, etilismo, *diabetes mellitus*, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia nos indivíduos dos grupos caso e controle.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 CASUÍSTICA**

Foram coletadas amostras de sangue periférico de 300 pacientes no período de outubro de 2014 a fevereiro de 2015, do Serviço de angiologia/cirurgia vascular e cardiologia da clínica Angiogyn, situada no município de Goiânia, para estudo caso-controle. Destes pacientes 200 apresentavam previamente diagnóstico de doença aterosclerótica, seja de localização periférica e/ou central, avaliados através de historia clínica, exame físico e confirmados através de angiografia, e 100 amostras para o grupo controle baseado nas manifestações clínicas e método de imagem não invasivo.

Os critérios de inclusão para os pacientes portadores de doença aterosclerótica foram idade superior a 38 anos, presença de sintomas para doença aterosclerótica (dor precordial, claudicação intermitente, dor em repouso em membros inferiores e/ou AVC isquêmico com doença carotídea comprovada), comprovação da doença através de exame de imagem (angiografia coronária, carotídea e/ou periférica), que assinaram ao termo de consentimento livre e esclarecido – TCLE- (apêndice II), e concordaram em responder a entrevista da pesquisa (apêndice I).

Para o grupo controle foram adotados como critérios de inclusão: indivíduos com idade superior a 38 anos e que não apresentaram diagnóstico de doença aterosclerótica, bem como nenhum dos fatores de risco, incluindo Hipertensão Arterial Sistêmica, dislipidemia e *Diabetes Mellitus*. Foram avaliadas por história clínica, exame físico e/ou exames de imagem não invasivos - Eco color Doppler de carótidas sem evidência de placa ateromatosa e sem espessamento mio-intimal (Complexo mio-intimal < 1 mm) e que concordaram em assinar termo de consentimento livre e esclarecido – TCLE - (apêndice III), e responderam ao questionário da pesquisa. O projeto foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa/Sistema Nacional de Informações Sobre Éticas em Pesquisas envolvendo Seres Humanos CEP/PUC GOIAS (Número: 35321614.3.0000.0037).

Na avaliação dos pacientes quanto ao tabagismo, em consonância ao Projeto e Diretrizes da Associação Médica Brasileira (2013), foram classificados, tanto o grupo caso quanto o controle em três distintos grupos: Fumantes atuais, usuário regular de tabaco fumado e/ou derivados (tabagista), independente do tempo (interrompeu o uso num período inferior a 15 anos); Ex-fumante, que fez uso de produtos do tabaco fumado e interrompeu seu uso em período igual ou superior à 15 anos; Não fumantes.

#### **4.2 EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO**

A extração do DNA genômico de sangue periférico foi obtido por meio do kit Kaswi® (Genomic DNA Purification Kit), no Laboratório do Núcleo de Pesquisas Replicon da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, conforme recomendações do fabricante. Em seguida, foram submetidas a quantificação no espectrofotômetro NanoVue™ Plus, tendo relevância apenas as amostras cujo o resultado da quantificação em relação a concentração de DNA fosse superior a 5ng/μl. O DNA foi mantido à temperatura de -20°C até a amplificação pelo método da reação em cadeia da polimerase (PCR).

#### **4.3 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE – PCR**

Após extração e quantificação, as amostras de DNA foram amplificadas por meio de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR- *Polymerase Chain Reaction*) com um volume final de 25μL, para análise e pesquisa do polimorfismo do gene *p53*. Para evitar contaminação das amostras a análise foi realizada em capela apropriada, com fluxo laminar.

O produto da PCR foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1,5% em solução Tris-borato de EDTA (TBE) a 1x, em um campo elétrico de 10 V/cm. Os géis foram corados com brometo de etídio (5μg/mL) e visualizados no Sistema de Vídeo Documentação VDS® (Image Master VD® - Amersham Pharmacia Biotech, EUA)

Como controle positivo para reação de PCRs foi utilizado DNA de indivíduo com a presença confirmada dos polimorfismos para o gene *p53*.

Para o estudo do polimorfismo do gene *p53* utilizou-se dois pares de primers, Arginina com 141pb e Prolina com 177pb (tabela I e II).

Tabela I: Sequência nucleotídica dos primers *p53* (variante *ARGININA*)

<i>ARG</i>	F: 5' TCC CCC TTG CCG TCC CAA 3' R: 5' CTG GTG CAG GGG CCA CGC 3'	141pb
------------	--	-------

Fonte: (Costa, 2010).

Tabela II: Sequência nucleotídica dos primers *p53* (variante *PROLINA*)

<i>PR</i>	F: 5' GCC AGA GGC TGC TCC CCC 3' R: 5' CGT GCA AGT CAC AGA CTT 3'	177 pb
-----------	--	--------

Fonte: (Costa, 2010).

A amplificação do polimorfismo no códon 72 do gene *p53* pode gerar dois produtos de PCR distintos: um produto de 141 pb que resulta na presença de arginina (Arg), e outro com 177 pb que resulta na presença de prolina (Pro). Desta forma cada indivíduo pode ser considerada homocigota para arginina (Arg/Arg) ou para prolina (Pro/Pro) e heterocigota, contendo um variante de cada (Arg/Pro) (figura 4).

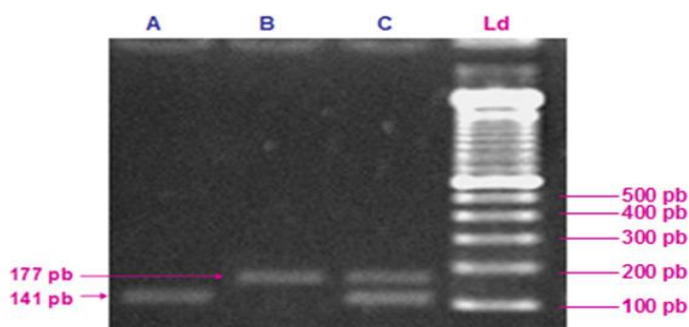


Figura 4: Gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio contendo os possíveis genótipos para o polimorfismo no códon 72 do gene *p53*. A linha Ld contém o marcador de peso molecular *100-pb DNA ladder* (Ferramentas). As linhas de A-C representam a amplificação da região que flanqueia o polimorfismo no códon 72 do gene *p53*, em amostras que contêm os genótipos: homocigoto Arg/Arg (141 pb), homocigoto Pro/Pro (177 pb) e heterocigoto Arg/Pro (141 pb e 177 pb) respectivamente.

Fonte: Santos, 2008.

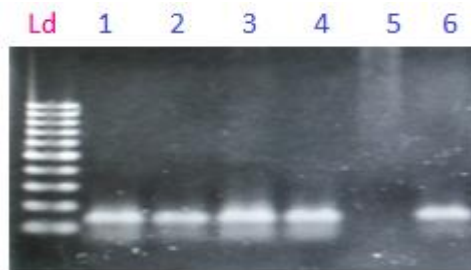


Figura 5: Gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio (PCR utilizando os primers da variante Arginina). A linha Ld contém o marcador de peso molecular *100-pb DNA ladder* (Ferramentas). As linhas 01, 02, 03, 04 e 06 mostram a amplificação da variante Arginina (141 pb), a linha 05 mostra ausência de amplificação dessa região para essa amostra.



Figura 6: Gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio (PCR utilizando os primers da variante Prolina). A linha Ld contém o marcador de peso molecular *100-pb DNA ladder* (Ferramentas). As linhas 86 e 87 mostram a amplificação da variante Prolina (171 pb), as linhas 81, 82, 83, 84 e 85 mostram ausência de amplificação dessa região para essas amostras.

A PCR para o gene *p53* variante arginina foi realizada contendo 1,5 mM de cloreto de magnésio, 1,25 U/ $\mu$ L de cada deoxinucleotídeo trifosfato, 2 U/ $\mu$ L de Taq polimerase, 20 pmol de *primer* e aproximadamente 200ng/ $\mu$ L de DNA genômico conforme descrito na tabela III.

**Tabela III** - Protocolo para a amplificação do polimorfismo no códon 72 do *p53-ARG*

REAGENTES	□ UTILIZADA	VOL. P/ 1 AMOSTRA
Tampão (10X)	1X	2,5 $\mu$ L
MgCl <sub>2</sub> (50 mM)	1,5 mM	1,5 $\mu$ L
dNTPs	1,25 mM de cada	0,5 $\mu$ L de cada = 2,0 $\mu$ L
Taq polimerase 5 U/ $\mu$ L	2 U/ $\mu$ L	0,2 $\mu$ L
Primer sense	20 pM	0,5 $\mu$ L
Primer antisense	20 pM	0,5 $\mu$ L
H <sub>2</sub> O Mili Q	---	16,8 $\mu$ L
DNA amostra	200 ng/ $\mu$ L	1,0 $\mu$ L
<b>Volume final</b>		<b>25,0 <math>\mu</math>L</b>

Fonte: (Costa, 2010).

A PCR para o gene *p53* variante prolina foi realizada contendo 1,5 mM de cloreto de magnésio, 1,25 U/ $\mu$ L de cada deoxinucleotídeo trifosfato, 2 U/ $\mu$ L de Taq polimerase, 20 pmol de *primer* e aproximadamente 200ng/ $\mu$ L de DNA genômico conforme descrito na tabela IV.

**Tabela IV** - Protocolo para a amplificação do polimorfismo no códon 72 do *p53 PRO*.

REAGENTES	[] UTILIZADA	VOL. P/ 1 AMOSTRA
Tampão (10X)	1X	2,5 $\mu$ L
MgCl <sub>2</sub> (50 mM)	1,5 mM	2 $\mu$ L
dNTPs	1,25 mM de cada	0,5 $\mu$ L de cada = 2,0 $\mu$ L
Taq polimerase 5 U/ $\mu$ L	2 U/ $\mu$ L	0,2 $\mu$ L
Primer sense	20 pM	0,5 $\mu$ L
Primer antisense	20 pM	0,5 $\mu$ L
H <sub>2</sub> O Mili Q	---	16,3 $\mu$ L
DNA amostra	200 ng/ $\mu$ L	1,0 $\mu$ L
<b>Volume final</b>		<b>25,0 <math>\mu</math>L</b>

Fonte: (Costa, 2010).

Para o protocolo de termociclagem do gene *p53* variante arginina utilizou-se 94°C por 5 minutos na primeira etapa de desnaturação, seguido de 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, 59°C por 1 minuto e 70°C por 1 minuto e uma extensão final a 7°C por 7 minutos conforme descrito na tabela V.

**Tabela V** - Protocolo de termociclagem para amplificação dos *primers p53 ARG*.

	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Ciclos
Desnaturação inicial	94°C	5	1
Desnaturação	94°C	1	
Anelamento	59°C	1	35
Polimerização	70°C	1	
Extensão final	70°C	7	1
Armazenamento	4°C	$\infty$	---

Fonte: (Costa, 2010).

Para o protocolo de termociclagem do gene *p53* variante prolina utilizou-se 94°C por 5 minutos na primeira etapa de desnaturação, seguido de 35 ciclos de 94°C por 1 minuto,

56°C por 1 minuto e 70°C por 1 minuto e uma extensão final a 72°C por 7 minutos conforme descrito na tabela VI.

**Tabela VI** - Protocolo de termociclagem para amplificação dos *primers p53 PRO*.

	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Ciclos
Desnaturação inicial	94°C	5	1
Desnaturação	94°C	1	
Anelamento	56°C	1	35
Polimerização	70°C	1	
Extensão final	72°C	7	1
Armazenamento	4°C	∞	

Fonte: (Costa, 2010).

Os resultados foram tabulados em planilha Excel, formando um banco de dados e logo em seguida a análise estatística foi feita utilizando o teste G com o auxílio do *software* Bioestat versão 5.3. Para diferença estatística foi considerada quando  $p < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS

No grupo caso, foram recrutados 200 pacientes, com média de idade de 61,1 anos e o grupo controle, constituído de 100 pacientes, a média de idade foi de 50,2 anos.

Na investigação do polimorfismo no códon 72 do gene *p53* foi encontrado no grupo caso 4,5% (09/200) de homozigotos para a variante pro/pro, 15% (30/200) de homozigotos para a variante arg/arg e 80,5% (161/200) de heterozigotos arg/pro. E no grupo controle foi de 3% (3/100) pro/pro, 10% (10/100) arg/arg e 87% (87/100) arg/pro. O p obtido foi  $p = 0,36$ , conforme descrito na tabela VII.

**Tabela VII** - Distribuição do Polimorfismo do gene *p53* nos grupos caso e controle

	Genótipos						Total		$p^*$
	pro/pro		arg/arg		arg/pro		n	%	
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Caso	9	4,5	30	15,0	161	80,5	200	100,0	0,36
Controle	3	3,0	10	10,0	87	87,0	100	100,0	

\* Teste G

Em relação à distribuição genotípica nos gêneros, o sexo masculino apresentou no grupo caso 5,4% (5/ 92) pro/pro, 14,1% (13/ 92) arg/arg e 80,4% (74/ 92) arg/pro. O grupo controle apresentou 3,8% (2/53) pro/pro, 11,3% (6/53) arg/arg e 84,9% (45/53) arg/pro.

O gênero feminino apresentou frequência genotípica no grupo caso de 3,7% (4/108) pro/pro, 15,7% (17/108) arg/arg e 80,6% (87/108) arg/pro. No grupo controle apresentou frequência de 2,1% (1/47) pro/pro, 8,5% (4/47) arg/arg e 89,4% (42/47) arg/pro.

Não houve diferença estatística entre os grupos caso e controle em relação à distribuição genotípica quanto aos gêneros masculino e feminino, (masculino  $p= 0,78$  e feminino  $p=0,37$ ) conforme descrito na tabela VIII.

**Tabela VIII** - Distribuição do polimorfismo do gene p53 em relação ao gênero nos grupos caso e controle.

	Genótipos						Total		$p^*$
	pro/pro		arg/arg		arg/pro		n	%	
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Masculino									
Caso	05	5,4	13	14,1	74	80,4	92	100,0	0,78
Controle	02	3,8	06	11,3	45	84,9	53	100,0	
Feminino									
Caso	04	3,7	17	15,7	87	80,6	108	100,0	0,37
Controle	01	2,1	04	8,5	42	89,4	47	100,0	

\* Teste G

Quando analisamos a distribuição de indivíduos em relação ao hábito de fumar foi encontrado 34,2 % (69/196) de pacientes no grupo caso e 25,5% (25/98) no grupo controle que se declararam fumantes. 43,4% (85/196) de indivíduos do grupo caso e 63,3% (62/98) do grupo controle declararam não fumar. 21,4 % (42/196) do grupo caso e 11,2 % (11/98) do grupo controle se declaram ex fumantes. 04 indivíduos do grupo caso e 02 do grupo controle não declararam o tempo que cessaram o hábito de fumar.

Ao avaliarmos a associação dos pacientes declarados tabagistas no grupo caso com a frequência dos genótipos, observou-se 5,8% (4/69) pro/pro, 13,0% (9/69) arg/arg e 81,2% (56/69) arg/pro. No grupo controle, esta associação, apresentou frequência de 4% (1/25) pro/pro, 8% (2/25) arg/arg e 88% (22/25) arg/pro.

Ao avaliarmos a associação dos pacientes declarados não tabagistas, ou seja, aqueles que nunca fumaram, a frequência dos genótipos no grupo caso foi de 3,5% (3/85) pro/pro, 14,1% (12/85) arg/arg e 82,4% (70/85) arg/pro. No grupo controle, esta associação, apresentou frequência de 3,2% (2/62) pro/pro, 8,1% (5/62) arg/arg e 88,7% (55/62) arg/pro.



Já para os pacientes que se declaram ex fumantes, ou seja aqueles que fizeram uso do tabaco mas que pararam a 15 anos ou mais, a frequência dos genótipos no grupo caso foi de 4,8% (2/42) pro/pro, 19,0% (8/42) arg/arg e 76,20% (32/42) arg/pro. No grupo controle, o genótipo pro/pro não esteve presente, 18,2% (2/11) arg/arg e 81,8% (9/11) arg/pro. Os valores de p foram: fumantes p= 0,72, não fumantes p=0,51 e ex fumantes p= 0,62, conforme descrito na tabela IX.

**Tabela IX:** Associação do tabagismo com os genótipos do gene p53 nos grupos caso e controle relacionado com o tempo de exposição ao tabaco:

	Genótipos								<i>p</i> *
	pro/pro		arg/arg		arg/pro		Total		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
<b>Fumantes</b>									
Caso	4	5,8	9	13,0	56	81,2	69	100	0,72
Controle	1	4,0	2	8,0	22	88,0	25	100	
<b>Não fumantes</b>									
Caso	3	3,5	12	14,1	70	82,4	85	100	0,51
Controle	2	3,2	5	8,1	55	88,7	62	100	
<b>Ex fumantes</b>									
Caso	2	4,8	8	19,0	32	76,2	42	100	0,62
Controle	0	0,0	2	18,2	9	81,8	11	100	

\* Teste G

Na análise do polimorfismo em relação ao consumo de bebida alcoólica foi observado um maior numero de indivíduos que se declaram não consumidores, tanto no grupo caso 90,4% (178/197) quanto no grupo controle 78,7% (74/94).

**Tabela X:** Associação do etilismo com os genótipos do gene p53 nos grupos caso e controle

	Genótipos								<i>p</i> *
	pro/pro		arg/arg		arg/pro		Total		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
<b>Etilista</b>									
Caso	0	0,0	4	21,1	15	78,9	19	100	0,17
Controle	1	5,0	1	5,0	18	90,0	20	100	
<b>Não etilista</b>									
Caso	9	5,1	25	14,0	144	80,9	178	100	0,38
Controle	2	2,7	7	9,5	65	87,8	74	100	

\* Teste G

O genótipo que apresentou maior frequência foi arg/pro, tanto para os grupos que se declararam consumidores, com 78,9% (15/19) no grupo caso e 90% (18/20) para grupo controle, quanto para os grupos que declararam não consumir bebida alcoólica, no grupo caso 80,9% (144/178) e grupo controle 87,8% (65/74). 03 (três) indivíduos do grupo caso e 06 (seis) do grupo controle não declararam se fazem uso de bebida alcóolica ou não. Os valores de p encontrados foram: etilistas p=0,17 e não etilista p=0,38, conforme descritos na tabela X.

Com relação aos fatores de risco Hipertensão Arterial Sistêmica, *Diabetes Mellitus* e Dislipidemia, foi feito uma comparação entre os indivíduos portadores e não portadores apenas do grupo caso, uma vez que o grupo controle é livre de fator de risco.

Ao avaliarmos a associação dos indivíduos portadores do fator de risco Hipertensão (HAS) no grupo caso quanto a frequência dos genótipos, observou-se 4,2% (7/166) pro/pro, 14,5% (24/166) arg/arg e 81,3% (135/166) arg/pro. Já no grupo de não portadores, a frequência foi de 5,9% (2/34) pro/pro, 20,6% (7/34) arg/arg e 73,5% (25/34) arg/pro conforme descrito na tabela XI, p=0,60.

**Tabela XI:** Associação do fator de risco Hipertensão com o Polimorfismo do gene p53 no grupo caso:

	Genótipos								p*
	pro/pro		arg/arg		arg/pro		Total		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Com HAS	07	4,2	24	14,5	135	81,3	166		0,60
Sem HAS	02	5,9	07	20,6	25	73,5	34		

\* Teste G

Ao avaliarmos a associação dos indivíduos portadores do fator de risco Diabetes (DM) no grupo caso quanto a frequência dos genótipos, observou-se 7,1 % (4/56) pro/pro, 10,7% (6/56) arg/arg e 82,1% (46/56) arg/pro. Já no grupo de não portadores, a frequência foi de 3,5% (5/144) pro/pro, 16,7% (24/144) arg/arg e 79,9% (115/144) arg/pro, p= 0,34 conforme detalhado na tabela XII.

**Tabela XII:** Associação do fator de risco diabetes com o Polimorfismo do gene p53 no grupo caso:

	Genótipos								p*
	pro/pro		arg/arg		arg/pro		Total		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Com diabetes	4	7,1	6	10,7	46	82,1	56		0,34
Sem diabetes	5	3,5	24	16,7	115	79,9	144		

\* Teste G

Quanto aos indivíduos portadores do fator de risco dislipidemia no grupo caso a frequência dos genótipos foi de 5,2% (5/97) pro/pro, 14,4% (14/97) arg/arg e 80,4% (78/97) arg/pro. Já no grupo de não portadores, a frequência foi de 3,9% (4/103) pro/pro, 15,5% (16/103) arg/arg e 80,6% (83/103) arg/pro,  $p=0,89$  conforme tabela XIII.

**Tabela XIII:** Associação do fator de risco dislipidemia com o Polimorfismo do gene p53 no grupos caso:

	Genótipos						Total	$p^*$
	pro/pro		arg/arg		arg/proa			
	n	%	n	%	n	%		
<b>Com</b> dislipidemia	5	5,2	14	14,4	78	80,4	97	0,89
<b>Sem</b> dislipidemia	4	3,9	16	15,5	83	80,6	103	

\* Teste G

## 6. DISCUSSÃO

A aterosclerose é uma patologia de origem multifatorial e é um desafio para a genética molecular (PADMANABHAN et al. 2010). Atualmente é responsável pela maior morbimortalidade no Brasil e no mundo (WHO 2014; SAINI et al. 2011; IBGE, 2010) e com a falta de justificativa para o risco excessivo da doença em situações de precocidade dos sintomas e suas complicações, assim como na ausência dos fatores tradicionais de risco, o estudo da susceptibilidade genética para doença passou a ser evidenciado (VISWANATHAN et al. 1998)

O gene p53 induz a parada do ciclo celular em  $G_1/S$  e também a apoptose em células do musculo liso vascular (VSMC). Concentrações aumentadas de p53 resultam em apoptose de VSMC, enquanto que a perda de atividade de p53 resulta no crescimento dessas células (KOJIMA et al. 2004).

Quando se realiza estudo da doença aterosclerótica (DA), tipo caso-controle, é necessário, para melhor interpretação dos resultados uma definição mais adequada dos grupos. Embora o reconhecimento da doença aterosclerótica em estágio sub clínico seja difícil, uma vez que necessitaria de exames mais invasivos, as lesões podem ocorrer em idade precoce sem determinar sinais e/ou sintomas (CAMPEDELLI, 2016). Nosso estudo procurou selecionar pacientes com sintomas para DA e suas consequências para grupo caso e completa ausência de sinais clínicos e fatores de risco conhecidos para doença, aliado a exame não invasivo (Eco Doppler de carótidas), para seleção do grupo controle, na tentativa de diminuir este viés.

No presente estudo a frequência dos genótipos arg/pro, arg/arg e pro/pro em pacientes com aterosclerose não diferiram significativamente daqueles que não apresentavam a doença, não encontrando, portanto, associação entre o polimorfismo do gene p53 e a ocorrência da doença. Corroborando com este estudo Manfredi et al. (2002) em um estudo com 250 indivíduos italianos também não encontrou essa associação. Assim também Smith et al. (2007) analisando 383 pacientes idosos portadores de algum tipo de doença aterosclerótica (DAC, IAM, DCV) e não conseguiram estabelecer uma associação entre este polimorfismo e doenças cardiovasculares.

Corroborando com este estudo, Alkhalaf et al. (2007) não encontraram nenhuma associação entre o polimorfismo no códon 72 do gene p53 e DAC ou diabetes em indivíduos do Kuwait. Agostini et al. (1995) analisou fragmentos de aorta abdominal coletadas na cirurgia de 32 pacientes, através da técnica de imuno-histoquímica e prosseguiu com a análise molecular. Os resultados obtidos indicaram que o polimorfismo do gene p53 não está envolvido na patogênese das lesões ateroscleróticas e que não ocorre acumulação da variante selvagem nas células musculares lisas destas lesões.

Já Bottini et al. (2012) investigaram a possível associação do polimorfismo no códon 72 do gene p53 com fração de ejeção ventricular esquerda (FEVE) em indivíduos com e sem doença arterial coronariana (DAC) e concluíram que há uma relação significativa desse polimorfismo com a função cardíaca em pacientes com a doença, divergindo assim do presente estudo.

Assim também Wang et al. (2007) avaliando os efeitos conjuntos entre polimorfismos genéticos da glutathione S-transferase M1, T1, P1, e p53, e exposição ao arsênico sobre o risco de desenvolver aterosclerose carotídea em indivíduos de uma área do nordeste de Taiwan mostraram efeitos comuns sobre o risco de aterosclerose carotídea com os polimorfismos genéticos de *GSTP1* e *p53*.

Foi investigada relevância funcional do códon 72 de p53 em um grupo de pacientes de idade (66-99 anos de idade) afetado pela isquemia aguda do miocárdio. Descobriu-se que os pacientes portadores da variante arginina apresentam níveis aumentados de Troponina I e CK-MB, dois marcadores séricos que se correlacionam com a extensão do dano isquêmico, em comparação aos pacientes portadores de prolina. Estes dados sugerem que o polimorfismo do códon 72 de p53 contribui para uma variabilidade geneticamente determinada na susceptibilidade apoptótica entre os idosos, que tem um papel potencialmente relevante no

contexto de uma condição patológica relacionada com a idade, tal como a isquemia do miocárdio (BONAFÉ et al. 2004).

Kojima et al. (2004) realizou um estudo em 132 pacientes, onde avaliaram o polimorfismo do gene p53 ao estreitamento luminal após colocação do stent coronário. Nesse estudo a percentagem de perda de diâmetro foi significativamente maior no genótipo homozigoto arginina do que nos outros grupos do seguimento.

Fernandez et al. (2011), sugeriu que polimorfismos no gene *p53* aumentam o risco de progressão da DAC, nesse estudo pacientes com expressão homozigoto de polimorfismos do gene *p53* eram propensos a precisar de re-intervenção após CRM (cirurgia de revascularização prévia).

Também foi investigada a possível associação entre o polimorfismo do p53 e doença arterial coronariana em indivíduos chilenos. A frequência da variante arginina foi maior em indivíduos com a doença quando comparado aos controles (CAAMAÑO et al. 2009).

Da mesma forma, Kojima et al. (2000) avaliaram o polimorfismo do gene p53 em 66 indivíduos com angioplastia primária com balão, encontrando uma associação significativa entre o genótipo homozigoto arginina e estreitamento da artéria coronária.

Bonafé et al. (1999) revelou que a variante arginina está associada com a reestenose após angioplastia. Estudo feito por Sanches (2010) também mostrou que o genótipo homozigoto arginina confere um aumento do risco de mau prognóstico após acidente vascular cerebral e aumento da susceptibilidade a apoptose mediada por mitocôndrias neuronais.

No presente estudo foi evidente uma maior frequência de indivíduos heterozigóticos (arg/pro) tanto para o grupo caso (80,5%) quanto para o grupo controle (87%), diferente do estudo de Smith et al. (2007) onde a frequência de heterozigóticos foi de apenas 44% enquanto os homozigóticos arginina 47% e prolina 9%.

Segundo Winham et al. (2015) a relação do gênero como fator de risco para DA, já foi amplamente estudada, e apresenta forte tendência ao sexo masculino por razões genéticas, hormonais, e até mesmo culturais. Porém, no presente estudo essa relação entre o gênero e o risco de aterosclerose não foi encontrado, assim também não foi encontrado nenhuma relação entre o polimorfismo do gene p53, o gênero e o risco de doença aterosclerótica. Foram usadas as palavras chaves aterosclerose, polimorfismo, p53 e gênero para pesquisar nas plataformas PUBMED, LILACS e MEDLINE e não foi encontrado nenhum estudo realizado com esta associação.

O endotélio é um órgão metabolicamente ativo que está envolvido em muitos processos fisiológicos e patológicos incluindo o controle do tônus vascular, da função de barreira e a adesão de leucócitos e inflamação (FAVERO et al. 2014). Para que o endotélio possa exercer essas funções é necessário que haja integridade anatômica do mesmo. Na presença de fatores de risco cardiovasculares como a hipercolesterolemia, a hipertensão, o *diabetes mellitus* e o tabagismo, essas funções se alteram drasticamente (KAWASHIMA; YOKOYAMA, 2004; SUDANO et al. 2007). Esses fatores causam um dano endotelial que conduzem a uma disfunção e morte celular por apoptose (SHI et al. 2000).

Em condições normais, as células endoteliais têm uma baixa taxa de renovação e permanecem viáveis por até 20 anos. Isto indica que a apoptose é relativamente rara em condições fisiológicas. No endotélio intacto, a proliferação celular é inibida pelo contato das células endoteliais. A taxa de troca aumenta significativamente em áreas onde o fluxo sanguíneo é turbulento. Nessas áreas, vemos um maior número de células em apoptose, e desenvolvimento mais frequentemente lesões e aterosclerose (DAVIES et al. 1986).

O fumo tem um efeito profundo sobre a homeostase dos vasos através da atividade de compostos individuais fumantes (por exemplo, nicotina, compostos carbonilo, acroleína, metilvinilcetona) e / ou a sua ação combinatória. Pode afetar cada estágio do processo aterosclerótico, desde o desenvolvimento até a degeneração e ruptura da placa aterosclerótica com consequentes eventos trombóticos. (GAMBARDELLA et al. 2016).

A fumaça do cigarro é um aerossol de mais de 4000 compostos diferentes, constituído por ~92% de fase gasosa, incluindo o monóxido de carbono / dióxido e amoníaco, e ~ 8% de fase de partículas, caracterizado por fenol, naftaleno, nicotina (CSORDAS; BERNHARD, 2013). É considerado um importante vasoconstrictor, com ação deletéria direta sobre a parede arterial pelo estresse oxidativo, levando a disfunção endotelial (DZIDA et al. 2012). No artigo publicado por Cheezum et al. (2016), a proporcionalidade direta na relação do tabagismo e aterosclerose é examinada em detalhe, em uma população de 1798 indivíduos encaminhados para angiotomografia coronariana. Os autores fornecem evidências clínicas de que a exposição ao fumo tem uma associação dependente da dose com a presença de placas ateroscleróticas extensas e calcificadas. Eles também mostram que a cessação do tabagismo está associado com a redução da gravidade da doença.

No presente estudo foram definidos como fumantes aqueles indivíduos que declaram fumar ou pararam de fumar num período menor que 15 anos. Foram definidos como ex. fumantes aqueles indivíduos que pararam de fumar num período maior ou igual a 15 anos.

Essa opção de classificação foi feita de acordo com a Associação médica Brasileira (2013), onde descrevem que o risco de evento cardíaco agudo se reduz pela metade após um ano de interrupção do tabagismo e se iguala à população de não fumantes quando a cessação for igual ou superior a 15 anos.

O fumo é capaz de atuar nos principais mecanismos implicados no desencadeamento inicial do processo de aterosclerose: lesão endotelial primária por estresse oxidativo, aumento de LDL por alterações metabólicas e indução de oxidação de LDL devido à capacidade oxidante direta de componentes da fumaça (GAMBARDELLA et al. 2016).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) o tabagismo é considerado como o fator de risco mais importante associado à morbidade e mortalidade cardiovascular. Sendo que todas as formas de consumo do tabaco, sejam ou não produtoras de fumaça, favorecem a instalação de dependência à nicotina.

O fumo causa o estreitamento das artérias periféricas, dificultando o fluxo sanguíneo, aumentando o risco dos fumantes desenvolverem doenças vasculares periféricas. Mesmo em baixos níveis de exposição à fumaça do tabaco, ocasiona um rápido e intenso aumento da inflamação e disfunção na parede que reveste os vasos sanguíneos (endotélio), que são determinantes para desencadear o infarto do miocárdio e o acidente vascular cerebral (OLIN, 2000).

Também tem sido demonstrado que variantes genéticas podem interagir com o fumo aumentando a peroxidação de lipídios, proporcionando assim um grande efeito aterogênico. O tabagismo ocasiona alterações do DNA no coração e vasos sanguíneos, o que leva ao desenvolvimento de CAD (TAYLOR et al. 2007).

No presente estudo foi feita uma comparação entre os indivíduos fumante e não fumantes do grupo caso e do grupo controle não encontrando associação entre o uso do tabaco e a doença aterosclerótica. Diferente do estudo feito por Wang et al. (1997) em 654 doentes onde o tabagismo mostrou ser um um preditor significativo da DAC.

Entretanto o estudo feito por Phulukdaree et al. (2012) encontrou uma associação significativa entre tabagismo e DAC, aumentando o risco da doença.

Assim como Gus et al. (2002) ao analisar 106.745 homens na Coreia, o fumo foi um fator de risco maior e livre para a doença cardiovascular, independente dos níveis de colesterol, sendo que, níveis baixos de colesterol não conferiam efeito protetor nesses fumantes.

Também Lee et al. (1998) em um estudo na Coreia do Sul da analisou associação do tabagismo e consumo de álcool com outros fatores de risco cardiovascular. O consumo de cigarros foi associado com diminuição da pressão arterial, além disso foi confirmado que o fumo tem um efeito dislipidêmico tais como o aumento do colesterol total, LDL colesterol, triglicérides e diminuição do HDL colesterol.

No presente estudo foi avaliado a associação da DA com o uso do tabaco e o polimorfismo do gene p53 onde não foi evidenciado nenhuma relação desse o polimorfismo em indivíduos que se declararam tabagista em ambos os grupos (caso e controle), portanto não foi evidente a influência deste fator de risco na população estudada. A frequência do genótipo heterozigoto arg/pro foi maior tanto no grupo caso que se declaram fumantes, não fumantes ou ex. fumantes quanto no grupo controle para mesma classificação.

Para nosso conhecimento, não há relatos na literatura de investigação da associação entre o polimorfismo do p53 com a DA e o uso do tabaco, sendo nosso trabalho considerado pioneiro e que poderá servir de apoio para investigações futuras, uma vez que há muitos relatos da literatura de que o tabaco esta relacionado ao risco de desenvolvimento de DA e esta, também está na literatura, ligada ao polimorfismo do gene p53.

A relação entre o consumo de álcool, como fator de risco para a DA é controverso. Em estudo populacional italiano realizado por Kiechl et al. (1998), concluiu que há efeitos adversos e benéficos do álcool em relação à doença ou mesmo na sua prevenção. Como fator protetor, estaria o consumo esporádico de bebidas leves (consumo de álcool <50g/dl), por seus efeitos antitrombótico e inibidor da ação aterogênica dos altos níveis de LDL-C. Já os efeitos adversos estariam relacionados ao elevado consumo de bebidas ditas pesadas (consumo de álcool  $\geq$ 100g/dl).

Em nosso estudo avaliamos a relação entre os grupos caso e controle que declararam consumo de bebida alcóolica e o polimorfismo do gene p53, e os grupos que declararam não consumir bebida alcóolica com o mesmo polimorfismo. Não foi realizado subdivisão em relação à quantidade e tipo de bebida alcóolica consumida. Não foi observada nenhuma relação com o polimorfismo do gene p53 com a DA e o consumo de álcool.

No estudo de Lee et al (1998), o consumo de álcool teve um efeito significativo de aumento do HDL colesterol em comparação com os abstêmios, em contra partida o consumo de álcool foi confirmado para se associar com a hipertensão, hipertrigliceridemia, e a intolerância à glicose.



Já Tabara et al. (2016) concluíram que o modesto consumo de álcool pode estar associado a benefícios para doença cardiovascular. Nesse estudo os autores mostraram que o consumo de álcool não só aumenta o colesterol HDL, como diminui concomitantemente os níveis de LDL colesterol.

Damiani et al. (2004) avaliaram através de exame de ultrassonografia colorida com Doppler, a presença de placas de ateroma e o grau de estenose em artérias carótidas extracranianas em abstêmios e etilistas com diferentes graus de consumo alcoólico. O risco relativo dos homens etilistas de não apresentarem estenose foi maior do que nos abstêmios, com uma associação significativa com o consumo moderado de álcool. Nas mulheres, o risco relativo de não apresentarem estenose foi maior e significativo nas etilistas leves.

Nesse estudo foi observado um maior número de indivíduos que se declararam não consumidores, tanto no grupo caso 90,4% quanto no grupo controle 78,7%. O genótipo que apresentou maior frequência foi arg/pro, tanto para os grupos que se declararam consumidores, com 78,9% no grupo caso e 90% no grupo controle, quanto para os grupos que declararam não consumidores com 80,9% no grupo caso e 87,8% no grupo controle.

Ao pesquisar estudos que relacionam o consumo de bebida alcóolica e o polimorfismo do gene p53 não foi encontrado nas plataformas PUBMED, LILACS e MEDLINE, estudos que realizaram esta associação com DA, portanto para nosso conhecimento, não há relatos na literatura para comparação de resultados, em função disso consideramos nosso estudo pioneiro no âmbito da genética, sugerindo futuros estudos que confirmem ou não essa associação.

A exposição do endotélio à alta pressão constante pode desencadear neoformação do ateroma. Além disso, a instabilidade hemodinâmica derivada da elevação brusca da pressão arterial, também pode representar um insulto à placa pré-existente, causando sua ruptura (GAMBARDELLA et al. 2016). Entre indivíduos de 40 a 90 anos, cada aumento de 20/10 mm Hg na pressão arterial (PA) duplica o risco de eventos coronarianos fatais (LEWINGTON et al. 2002).

A hipertensão arterial sistêmica é considerada o principal fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares auxiliando na formação de placas aterogênicas pela diminuição do NO devido a disfunção endotelial (KOHLMANN et al. 2006; CARVALHO et. al., 2001). Essa patologia repercute no sistema cardiovascular, podendo desencadear a DAC, angina, IAM, insuficiência cardíaca congestiva (ICC), acidente vascular encefálico (AVE) ou insuficiência renal (IR) (CARRANZA, 2012).

A hipertensão acelera o desenvolvimento e a progressão da aterosclerose, e a elevação sustentada da PA pode desestabilizar lesões vasculares e precipitar eventos coronários agudos. A hipertensão por si só pode causar isquemia miocárdica na ausência de doença coronariana (OLAFIRANYE et al. 2011).

O relatório do estudo INTERHEART envolvendo 52 países em todo o mundo mostrou que a hipertensão conferiu um maior risco relativo de infarto agudo do miocárdio quando comparado ao *diabetes mellitus* (YUSUF et al. 2004).

Milane et al. (2014) examinou a associação da hipertensão com a idade no diagnóstico de DAC e outros fatores riscos tradicionais em população libanesa, os resultados mostraram que a hipertensão e o seu tratamento estão associados a manifestações ateroscleróticas coronarianas tardias.

A avaliação da associação do fator de risco Hipertensão (HAS) e o polimorfismo do gene p53 foi feito apenas no grupo caso, uma vez que os controles eram livres desse fator de risco. Não foi encontrado nenhuma relação do polimorfismo do gene p53 com a DA e o fator de risco hipertensão.

A doença cardíaca coronária (DCC) é atualmente a principal causa de morte em todo o mundo e, juntamente com a diabetes, representa uma séria ameaça para a saúde, particularmente na população asiática indiana (ALI et al. 2010). Dos fatores de risco, diabetes e sua forma predominante, *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2), tem uma associação distinta com Doença Cardíaca Coronariana. Aqueles com diabetes têm de duas a quatro vezes maior risco de desenvolver doença coronária do que pessoas sem diabetes (KANNEL; MCGEE, 1979).

Em uma revisão de literatura feita por Kung; Murphy, (2016) sobre o papel do p53 no metabolismo, função pancreática, homeostase da glicose e resistência à insulina ficou claro que p53 é um jogador-chave no diabetes e na gravidade dos fenótipos diabéticos.

O impacto do polimorfismo do códon 72 na doença metabólica não foi bem estudado, até que relatórios recentes ligassem este SNP p53 à susceptibilidade à diabetes. O primeiro relato de que o polimorfismo no códon 72 do gene p53 está associada com diabetes do tipo 1 foi feito em uma população russa (SPITSINA et al. 2007).

Em 2008, a variante arginina foi identificada como um dos fatores de risco mais fortes em mais de 2000 pacientes finlandeses para diabetes do tipo 2 (GAULTON et al. 2008 ). Em 2011 esses dados foram confirmados por Burgdorf et al. usando os dados clínicos de mais de 55.000 europeus.

No presente estudo observou-se que 72% dos indivíduos estudados não eram portadores do fator de risco diabetes enquanto de 28% desses indivíduos eram portadores. O genótipo mais frequente foi o heterozigoto arg/pro tanto no grupo caso 82,1% quanto no grupo controle 79,90%.

Não foi encontrado nenhuma relação entre o polimorfismo no códon 72 do gene p53, DA e o fator de risco diabetes, corroborando com esse estudo Alkhalaf et al. (2007) analisando o polimorfismo no gene p53 no códon 72 não encontraram associação significativa com o desenvolvimento de DAC ou diabetes no Kuwait.

Quanto ao fator de risco dislipidemia observou-se uma frequência muito próxima entre os indivíduos portadores (48,50%) e não portadores (51,50%) desse fator. Quanto a frequência dos genótipos observou-se que o heterozigoto arg/pro foi mais frequente tanto no grupo de portadores (80,40%) quanto dos não portadores (80 60%). No presente estudo não houve associação entre dislipidemia e DA com o polimorfismo do gene p53 diferente do estudo feito por Alkalaf et al em 2007.

Já Smith et al. (2007) quando analisou população brasileira, encontraram uma associação entre o alelo arginina e baixos níveis de HDL colesterol.

O estudo de Bottini et al. (2012) atribuiu um efeito positivo do alelo prolina na susceptibilidade à DAC, mas apenas na presença do ACP1 um genótipo caracterizado por uma elevada atividade enzimática. No estudo de Gus et al. (2002), níveis baixos de colesterol não conferiam efeito protetor na população estuda.

## 7. CONCLUSÃO

- Ao analisar o polimorfismo do gene *p53* e a aterosclerose nos grupos caso e controle, podemos concluir que não houve nenhuma associação na população estudada.
- Foi evidente uma maior frequência de indivíduos heterozigóticos tanto para o grupo caso (80,5%) quanto para o grupo controle (87%).
- A frequência dos genótipos do polimorfismo do gene *p53* no grupo caso foi de 4,5% de homozigotos para a variante prolina, 15% de homozigotos para a variante arginina e 80,5% de heterozigotos. No grupo controle a frequência foi de 3% prolina, 10% arginina e 87% arg/pro.
- Em relação ao gênero, não foi encontrado associação com a aterosclerose, assim também não foi encontrado nenhuma relação com o polimorfismo do gene *p53* e o risco da doença.

- Não foi encontrada associação entre o uso do tabaco e a doença aterosclerótica. Bem como nenhuma associação com polimorfismo do gene p53.
- Foi observado um maior número de indivíduos que se declararam não consumidores de bebida alcoólica, tanto no grupo caso 90,4% quanto no grupo controle 78,7%.
- Quando analisado a variável etilismo, tanto para os indivíduos que bebem quanto os que não bebem de ambos os grupos não houve influência estatística significativa.
- Notou-se uma frequência de 4,8 vezes maior de hipertensos (83%) quando comparados aos normotensos (17%).
- Não foi encontrada associação entre HAS, o polimorfismo estudado e a ocorrência da doença aterosclerótica.
- Observou-se que 72% dos indivíduos estudados não eram portadores do fator de risco diabetes enquanto de 28% desses indivíduos eram portadores.
- Não foi encontrada nenhuma associação entre o fator de risco diabetes com o polimorfismo do gene p53 e DA.
- Quanto ao fator de risco dislipidemia observou-se uma frequência muito próxima entre os indivíduos portadores (48,50%) e não portadores (51,50%) desse fator.
- Não houve associação entre dislipidemia, DA e o polimorfismo estudado.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. AGOSTINI F.D., FRONZA G., CAMPOMENOSI P. et al. 1995. **Cancer Biomarkers in Human Atherosclerotic Lesions: No Evidence of p53 Involvement.** Vol. 4, 1 1 1-1 15, March 1995 *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*.
2. AHMED K. A., MUNIANDY S., ISMAIL I.S. 2009. **Nε-(Carboxymethyl)lysine and Coronary Atherosclerosis-Associated Low Density Lipoprotein Abnormalities in Type 2 Diabetes: Current Status.** *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2009/01/01 00:00; 44(1): 14-27.
3. AKBARZADEH F., POURAFKARI L., JAZI S.M.H. et al. 2010 **Prevalence And Severity Of Coronary Artery Disease Among Hypertensive And Normotensive Patients.** *ARYA Atherosclerosis Journal* 2010, 5(4): 186-190.
4. ALI M.K., NARAYAN K.M.V., TANDON N. 2010. **Diabetes and coronary heart disease: Current perspectives.** *The Indian Journal of Medical Research*. 2010;132(5):584-597.
5. ALKHALAF M., AL-BUSTAN S., HAMODA H. et al. 2007. **Polymorphism of p53 gene codon 72 in Kuwaiti with coronary artery disease and diabetes.** *Int J Cardiol* 2007; 115: 1-6
6. ALMEIDA G. P. L., LOPES H. F. 2003. **Impacto da hipertensão arterial sistêmica sobre o risco cardiovascular Interações com os demais fatores de risco ateroscleróticos Discussão de caso.** *Revista da sociedade brasileira de hipertensão revista da sociedade brasileira de hipertensão*. 2003; 6(4)
7. BENDITT E.P., BENDITT J.M. 1973. **Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques.** *Proc Natl Acad Sci USA*. 1973;70:1753-56
8. BENNETT M.R., EVAN G.I., SCHWARTZ S.M. 1995. **Apoptosis of human vascular smooth muscle cells derived from normal vessels and coronary atherosclerotic plaques.** *Journal of Clinical Investigation*. 1995/05/01 00:00; 95(5): 2266-2274
9. BERK B.C., ABE J.I., MIM W. et al. 2001. **"Endothelial atheroprotective and anti-inflammatory mechanisms."** *Ann N Y Acad Sci* 947: 93-109; discussion 109-111. (2001).
10. BEZERRA, CLEANE TOSCANO SOUTO. 2008. *Risco Cardiovascular Global Na Clientela Registrada No Sistema De Cadastramento E Acompanhamento De Hipertensos E Diabéticos (Hiperdia), Em João Pessoa.* Dissertação (Mestrado em enfermagem) Universidade Federal da Paraíba, 2008.
11. BLIN J. , AHMAD Z., RAMPAL L. et al 2013. **Preliminary assessment of differential expression of candidate genes associated with atherosclerosis.** *Genes Genet. Syst.* (2013) 88, p. 199-209
12. BOMBELI B.Y. THOMAS, B.R.S, JOHN M.H. 1999. **Endothelial Cells Undergoing Apoptosis Become Proadhesive for Nonactivated Platelets.** *Blood*, Vol 93, No 11 (June 1), 1999: pp 3831-3838.

13. BOMBELI T., KARSAN A., BANCI M. et al. 1997. **"Apoptotic vascular endothelial cells become procoagulant."** *Blood* 89(7): 2429-2442 1997.
14. BONAFÉ M., OLIVIERI F., MARI D. et al. 1999. **P53 codon 72 polymorphism and longevity: additional data on centenarians from continental Italy and Sardinia.** *Am J Hum Genet* 1999; 65: 1782-5.
15. BONAFÉ M., SALVIOLI S., BARBI C. et al. 2004. **The different apoptotic potential of the p53 codon 72 alleles increases with age and modulates in vivo ischaemia-induced cell death.** *Cell Death Differ* 2004; 11: 962-73
16. BOTTINI G. F., BANCI M., SACCUCCI P et al. 2012. **p53 codon 72 polymorphism and coronary artery disease: Evidence of association with left ventricular ejection fraction.** (2012) *American Journal of the Medical Sciences*, 343 (2) , pp. 127-130.
17. BUCKLEY M., AND RAMJI D. 2015. **The influence of dysfunctional signaling and lipid homeostasis in mediating the inflammatory responses during atherosclerosis.** *Biochimica et Biophysica Acta*, vol.1852 (7):1498-1510, july 2015
18. BURGDORF K.S., GRARUP N., JUSTESEN J.M. et al. 2011. **Studies of the association of Arg72Pro of tumor suppressor protein p53 with type 2 diabetes in a combined analysis of 55,521 Europeans.** *PLoS ONE* 6 e15813.
19. CAAMAÑO J. L., AAVEDRA N., JARAMILLO P. C. et al. **Polimorfismo Pro72Arg del gen TP53 se asocia a enfermedad coronaria en individuos Chilenos.** *Revista Chilena de Cardiología - Vol. 28 N°2, 2009*
20. CAMPEDELI, Fabio Lemos. 2016. *Polimorfismo do gene eNOS G894T em pacientes sintomáticos para aterosclerose.* Dissertação (Mestrado em Genética). Universidade Católica de Goiás, 2016.
21. CARNEIRO G, FARIA A N, FILHO F F R et al. 2003. **Influência Da Distribuição Da Gordura Corporal Sobre A Prevalência De Hipertensão Arterial E Outros Fatores De Risco Cardiovascular Em Indivíduos Obesos.** *Rev Assoc Med Bras* 2003; 49(3): 306-1.
22. CARRANZA, J. R., FERMIN A., NEWMAN MICHAEL, G. 2012. **Periodontia Clínica.**
23. CARVALHO A. C. C., SOUSA J. M. A. 2001. **Cardiopatia isquêmica.** *Rev Bras Hipertens* 8: 297-305, 2001
24. CARVALHO M. H. C., NIGRO D., LEMOS, V. S et al. 2001. **Hipertensão arterial: o endotélio e suas múltiplas funções.** *Rev Bras Hipertens* 8:76-88, 2001.
25. CASELLA F.A., ARAÚJO R.G., GALVÃO T.G. et al.2003. **Inflamação e Aterosclerose: Integração de Novas Teorias e Valorização dos Novos Marcadores.** *Rev Bras Cardiol Invas.* 2003; 11(3): 14-19.
26. CAVALCANTI JÚNIOR G.B., KLUMB C.E., MAIA R.C. 2002. **p53 e as hemopatias malignas.** *Revista Brasileira de Cancerologia*, 2002, 48(3): 419-427

27. CHANG F, SYRJÄNEN S, SYRJÄNEN K. 1995. **Implications of the p53 tumor-suppressor gene in clinical oncology.** *J Clin Oncol.* 1995 Apr;13(4):1009-22.
28. CHEEZUM, M.K., KIM A., BITTENCOURT M.S. et al. 2016. **Association of tobacco use and cessation with coronary atherosclerosis.** *Atherosclerosis.* 2016; (In press)
29. CIMADON H.M.S., GEREMIA R., PELLANDA L.C. 2010. **Hábitos Alimentares e Fatores de Risco para Aterosclerose em Estudantes de Bento Gonçalves (RS).** *Arq Bras Cardiol* 2010;95(2):166-172.
30. CORONELLI C.L.S., MOURA E.C. 2003. **Hipercolesterolemia em escolares e seus fatores de risco.** *Rev Saúde Pública.* 2003; 37 (1): 24-31
31. CORTEZZI S.S. 2002. *Papilomavírus Humano E Polimorfismo Do Gene Tp53 No Carcinoma Espinocelular De Cabeça E Pescoço.* Dissertação. ( Mestrado em Genética). Universidade Estadual Paulista (UNESP). São José do Rio Preto – SP 2002
32. COSTA A.P.P., GARCIA A.H.C., COPRESKI B. et al. 2007. **Estudo De Polimorfismos De Dna Associados Aos Distúrbios Do Desenvolvimento.** *Cadernos de Pós-Graduação em Distúrbios do Desenvolvimento,* São Paulo, v.7, n.1, p.112-131, 2007.
33. COSTA, IASMIM RIBEIRO. *Análise do polimorfismo do gene receptor de progesterona (PROGINS) em mulheres com endometriose.* Dissertação. (Mestrado em Genética). Universidade Católica de Goiás, 2010.
34. CSORDAS, A.; BERNHARD, D. 2013. **The biology behind the atherothrombotic effects of cigarette smoke.** *Nat. Rev. Cardiol.* 2013; 10: 219–230
35. DAMIANI I.T., GAGLIARDI R.J., SCAFF M. 2004. **Influência do etanol das bebidas alcoólicas na aterosclerose em artérias carótidas extracranianas.** *Arq Neuropsiquiatria* 2004;62(4):1022-1026
36. DAVIES P. F., REMUZZI A. 1986. **Turbulent fluid shear stress induces vascular endothelial cell turnover in vitro.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 83(7): 2114-2117.
37. DÍEZ J., FORTUÑO M.A., RAVASSA S. 1998. **Apoptosis in hypertensive heart disease.** *Curr Opin Cardiol.* 1998 Sep;13(5):317-25.
38. DIMMELER S., HAENDELER J., GALLE J. et al. 1997. **Oxidized Low-Density Lipoprotein Induces Apoptosis of Human Endothelial Cells by Activation of CPP32-Like Proteases. A Mechanistic Clue to the ‘Response to Injury.** *Circulation.* 1997;95:1760-1763.
39. DOOSTI A., ZAMANI M., DEHKORDI P.G et al. 2011. **Association of the p53 codon 72 polymorphism with colorectal cancer in South West of Iran.** *Scientific Research and Essays* Vol. 6(15), pp. 3148-3152, 11 August, 2011
40. DULIĆ V., KAUFMANN W.K., WILSON S.J. et al. 1994. **p53-dependent inhibition of cyclin-dependent kinase activities in human fibroblasts during radiation-induced G1 arrest.** *Cell.* 1994 Mar 25;76(6):1013-23.
41. DZIDA G., SOBSTYL J., PUŻNIAK A. et al. 2012. **Impact of smoking status on**

- particular genetic polymorphisms associations with cardiovascular diseases.** *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 2012, Vol 6, n 1, 31-34.
42. EL-DEIRY W.S. 1998. **Regulation of p53 downstream genes.** *Semin Cancer Biol.* 1998;8(5):345-57.
  43. FAVARATO D., LUZ P.L. 2003. **Hipertenso e aterosclerose: Aspectos fisiopatológicos Hipertensão.** *Revista da sociedade brasileira de hipertensão revista da sociedade brasileira de hipertensão.* 2003; 6(4).
  44. FAVERO G.; PAGANELLI C. 2014. **"Endothelium and its alterations in cardiovascular diseases: life style intervention."** *Biomed Res Int* 2014: 801896.
  45. FERNANDEZ A. B., ANGELE M.K., KOUTANG C. et al. 2011. **Genetic polymorphisms of TP53 and FAS promoter modulate the progression of coronary artery disease after coronary artery bypass grafting: a gender-specific view.** *Inflamm Res.* 2011 May;60(5):439-45.
  46. FOPPA M, FUCHS F.D., DUNCAN B.B. 2001. **Álcool e Doença Aterosclerótica.** *Arq Bras Cardiol*, volume 76 (nº 2), 165-70, 2001
  47. FRANÇOSO L. A, COATES V. 2002. **Anatomicopathological Evidence of the Beginning of Atherosclerosis in Infancy and Adolescence.** *Arq Bras Cardiol*, volume 78 (nº 1), 137-42, 2002.
  48. GAAL L.F.V., MERTENS I.L.,BLOCK C.E. 2006. **Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease.** *Nature.* 444, 875-880 (14 December 2006).
  49. GAIO V, NUNES B., FERNANDES A et al. 2014. **Genetic variation at the CYP2C19 gene associated with metabolic syndrome susceptibility in a South Portuguese population: results from the pilot study of the European Health Examination Survey in Portugal.** *Metabolic Syndrome* 2014, 6:23.
  50. GAMBARDELLA J, SARDU C, SACRA C. et al. 2016. **Quit smoking to outsmart atherogenesis: Molecular mechanisms underlying clinical evidence.** *Atherosclerosis* (2016).
  51. GAULTON K.J., WILLER C.J., LI Y et al. 2008. **Comprehensive association study of type 2 diabetes and related quantitative traits with 222 candidate genes.** *Diabetes* 57:3136–3144.
  52. GIBBONS G.H., DZAU V.J. 1996. **Molecular therapies for vascular diseases.** *Science.* 1996; 272:689–693.
  53. GOLDSTEIN D. B., CAVALLERI G. L. 2005. **Understanding human diversity.** *Nature*, v. 437, p.1241-1242, 2005.
  54. GOMES F., TELO D. F., SOUZA H. P et al. 2010. **Obesidade e Doença Arterial Coronariana: Papel da Inflamação Vascular.** *Arq Bras Cardiol* 2010; 94(2) : 273-279



55. GONZALEZ J.F.V., FUSTER V.V, BADIMON J.J. 2004. **Atherothrombosis: a widespread disease with unpredictable and life-threatening consequences.** *Eur Heart J* 25(14): 1197-1207. 2004
56. GOTTLIEB M.G.V., BONARDI G., MORIGUCHI E.H. 2005. **Fisiopatologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose.** *Scientia Medica* 2005; 15(3).
57. GUIMARÃES A. C. 2003. **Hipertensão como fator maior de risco de aterosclerose-** Revista da sociedade brasileira de hipertensão revista da sociedade brasileira de hipertensão. 2003; 6(4).
58. GUIMARÃES A.C. 2002. **Hypertension in Brazil.** *J Hum Hypertens.* 2002 Mar;16 Suppl 1:S7-S10.
59. GUS I., FISCHMANN A., CLÁUDIO M. 2002. **Prevalência dos Fatores de Risco da Doença Arterial Coronariana no Estado do Rio Grande do Sul - Arq Bras Cardiol,** volume 78 (nº 5), 478-83, 2002
60. HAMET P., MOREAU P., DAM T.V. et al. 1996. **The time window of apoptosis: a new component in the therapeutic strategy for cardiovascular remodeling.** *J Hypertens Suppl.* 1996 Dec;14(5):S65-70.
61. HANSSON G. K. 2005. **Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease.** *N Engl J. Med.* 2005 Apr 21;352(16):1685-95.
62. HANSSON G.K., LIBBY P, S., CHÖNBECK U et al. 2002. **Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis.** 2002 Aug 23;91(4):281-91.
63. HOZUMI, CRISTINY GOMES. *Determinação da Frequência de Polimorfismos em Genes relacionados à Manutenção da Estabilidade do Genoma na População Residente dos Municípios de Monte Alegre, PA.* Dissertação. (Mestrado do Programa de Pós Graduação em Radioproteção e Dosimetria do Instituto de Radioproteção e Dosimetria da Comissão Nacional de Energia Nuclear na área de Biofísica das Radiações). Rio de Janeiro – Brasil, 2010
64. IBGE, 2010. **Síntese dos indicadores de saúde. Internet. Http: [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)**
65. JANCZURA, M., BOCHENEK, G., NOWOBILSKI, R. et al. 2015. **The Relationship of Metabolic Syndrome with Stress, Coronary Heart Disease and Pulmonary Function - An Occupational Cohort-Based Study.** *PLoS ONE*, 10(8), e0133750.
66. KANNEL W.B. 1995. **Clinical misconceptions dispelled by epidemiological research.** *Circulation.* 1995 Dec 1;92(11):3350-60.
67. KANNEL W.B., MCGEE D.L. 1979. **Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study.** *JAMA.* 1979;241:2035–8.
68. KANNEL WB, DAWBER TR, KAGAN A et al. 1961. **Factors of Risk in the Development of Coronary Heart Disease—Six-Year Follow-up Experience: The Framingham Study.** *Ann Intern Med.* 1961;55:33-50. Doi:10.7326/0003-4819-55-1-33.

69. KAWASHIMA S.; YOKOYAMA M. 2004. **"Dysfunction of endothelial nitric oxide synthase and atherosclerosis."** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24(6): 998-1005.
70. KIECHL S., WILLEIT J., RUNGGER G et al. 1998. **Alcohol Consumption and Atherosclerosis: What Is the Relation?: Prospective Results From the Bruneck Study.***Stroke*. 1998 May;29(5):900-7.
71. KOHLMANN O., OIGMAN W., MION D., et al. 2006. **Avaliação de Eficácia e Tolerabilidade da Combinação Fixa de Anlodipino e Losartana no Tratamento da Hipertensão Arterial Primária.** *Estudo "LOTHAR"*. São Paulo, SP. 2006.
72. KOJIMA S., GOTO Y., NONOGI H. et al. 2000. **Role of a p53 polymorphism in luminal narrowing after balloon coronary angioplasty.** *Atherosclerosis* 2000; 151:585-6
73. KOJIMA S., IWAI N., TAGO N. et al. 2004. **p53Arg72Pro polymorphism of tumour suppressor protein is associated with luminal narrowing after coronary stent placement.** *Heart* 2004;90:1069–1070. doi: 10.1136/hrt.2002.007047
74. KONSTANTINOV I.E, MEJEVOI N., ANICHKOV N.M. 2006. **"Nikolai N. Anichkov and His Theory of Atherosclerosis."** *Texas Heart Institute Journal* 33.4 (2006): 417–423.
75. KONSTANTINOV I.E., JANKOVIC G.M. 2013. **ALEXANDER I. IGNATOWSKI. A Pioneer in the Study of Atherosclerosis.** *Texas Heart Institute Journal* 2013
76. KRESS M, MAY E, CASSINGENA R. et al. 1979. **Journal of Virology - Simian virus 40-transformed cells express new species of proteins precipitable by anti-simian virus 40 tumor serum.** 1979/08/01 00:00; 31(2): 472-483
77. KUNG C.P.; MURPHY M. 2016. **The role of the p53 tumor suppressor in metabolism and diabetes.** *Journal of Endocrinology* (2016) 231, R61–R75
78. LAHOZ, C., MOSTAZA J. M. 2007. **"La aterosclerosis como enfermedad sistémica."** *Revista Española de Cardiología* 60(02): 184-195. (2007).
79. LEE D S, PENCINA M J, BENJAMIN E J, et al.2006. **Association of parental heart failure with risk of heart failure in offspring.** *N Engl J Med* 2006;355:138-47
80. LEE K.S., PARK C.Y., MENG K.H et al. 1998. **The association of cigarette smoking and alcohol consumption with other cardiovascular risk factors in men from Seoul, Korea.** *Ann Epidemiol.* 1998 Jan;8(1):31-8.
81. LEVINE A.J. 1997. **p53, the Cellular Gatekeeper for Growth and Division Cell,** Vol. 88, 323–331, February 7, 1997.
82. LEVINE A.J., W HU AND Z FENG 2006. **The P53 pathway: what questions remain to be explored? Cell Death and Differentiation.** *Nature* (2006) 13, 1027–1036 & 2006
83. LEWINGTON R. S., CLARKE N., QIZILBASH R. et al. 2002. **"Age-Specific Relevance Of Usual Blood Pressure To Vascular Mortality: A Meta-Analysis Of Individual**

- Data For One Million Adults In 61 Prospective Studies,”** *The Lancet*, vol. 360, no. 9349, pp. 1903–1913, 2002.
84. LIMA J. M., SERAFIM P.V., SILVA I.D. et al. 2006. **Role of the genetic polymorphism p53 (codon 72) gene in colorectal cancer.** *Arq Gastroenterol.* 2006 Jan-Mar;43(1):8-13
  85. LINDEN F, DOMSCHKE G., ERBEL C. et al. 2014. **Gleissner\*Inflammatory therapeutic targets in coronary atherosclerosis—from molecular biology to clinical application.** Department of Cardiology, University of Heidelberg, Heidelberg, Germany published: 21 November 2014.
  86. LOTUFO P.A. 1998. **Mortalidade Precoce por Doenças do Coração no Brasil. Comparação com Outros Países.** *Arq Bras Cardiol*, volume 70 (nº 5), 321-325, 1998.
  87. MACCHIONI P., NICOLI D., CASALI B. et al. 2007. **The codon 72 polymorphic variants of p53 in Italian rheumatoid arthritis patients.** *Clinical and Experimental Rheumatology* 2007; 25: 416-421
  88. MALLAT Z., TEDGUI A. 2000. **Apoptosis in the vasculature: mechanisms and functional importance.** *British Journal of Pharmacology.* 2000/07/01 00:00; 130(5): 947-962
  89. MANFREDI S., MASETTI S., BOTTO N. et al. 2002. **P53 codon 72 polymorphism in coronary artery disease: no evidence for association with increased risk or micronucleus frequency.** *Environ Mol Mutagen.* 2002; 40: 110-5
  90. MANSUR A. P. 2000. **Análise do Componente Genético da Doença Coronariana.** *Arq Bras Cardiol* volume 74, (nº 6), 2000.
  91. MANSUR A. P.; FAVARATO D. 2012 **Mortalidade por Doenças Cardiovasculares no Brasil e na Região Metropolitana de São Paulo.** *Arq Bras Cardiol* 2012;99(2):755-761
  92. MARINKOVIĆ N., PAŠALIĆ D., POTOČKI S. 2013. **Polymorphisms of genes involved in polycyclic aromatic hydrocarbons biotransformation and atherosclerosis.** *Biochemia Medica* 2013;23(3):255–65.
  93. Marmot M, Brunner E. 1991. **Alcohol and cardiovascular disease: the status of the U shaped curve.** *Br Med J* 1991; 303: 565-8
  94. MARQUES E SÁ, A.C. *O papel dos polimorfismos genéticos na doença cardíaca isquêmica.* Dissertação. (Mestrado em Medicina). Universidade do Porto, Portugal, 2011.
  95. MARTELLI A. 2014. **Aspectos fisiopatológicos da aterosclerose e a atividade física regular como método não farmacológico no seu controle.** *Revista Saúde e Desenvolvimento Humano.* 2014 Maio 30; 2(1): 41-52.
  96. MATHIAS C. *Análise da mutação r337h tp53 em pacientes com carcinomas mamários esporádicos.* Monografia. (Bacharel em Ciências Biológicas). Depto. de Genética – Universidade Federal Do Paraná. Curitiba 2014.

97. McKee M, Briton A. 1998. **The positive relationship between alcohol and heart disease in Eastern Europe: potential physiological mechanisms.** *J Royal Soc Med* 1998; 91: 402-7.
98. MEHTA N.J, KHAN I.A. 2002. **Cardiology's 10 greatest discoveries of the 20th century.** *Tex. Heart Inst J.* 2002;29(3):164-71.
99. MILANE A., ABDALLAH J., KANBAR et al. 2014. **Association of hypertension with coronary artery disease onset in the Lebanese population.** *SpringerPlus* 2014, 3:533.
100. MOTTA N. A. V., FUMIAN M.M., CASTRO J P et al. 2013. **Inflamação e Aterosclerose: Novos Biomarcadores e Perspectivas Terapêuticas.** *Rev Bras Cardiol.* 2013;26(5):390-99 setembro/outubro.
101. NETO A.A.U., SIMÃO A.F., SBISSA A.S. et al. 2006. **II diretriz brasileira de cardiopatia grave - Arquivos Brasileiros de Cardiologia - Volume 87, Nº 2, Agosto 2006.**
102. OLAFIRANYE O., ZIZI F., BRIMAH P. et al. 2011. **Management of Hypertension among Patients with Coronary Heart Disease** *International Journal of Hypertension.* Volume 2011, Article ID 653903, 6 pages.
103. OLIN J.W. 2000. **Thromboangiitis obliterans (Buerger's disease).** *N Engl J Med.* 2000; 343 (12):864-9.
104. OLSSON M.L., IRSHAID N.M., HOSSEINI-MAAF B. et al.2001. **Genomic analysis of clinical samples with serologic ABO blood grouping discrepancies: identification of 15 novel A and B subgroup alleles.** *Blood* 2001;98(5):1585-93
105. OMS. **The 10 leading causes of death in the world, 2000 and 2011.** [Acesso 30 de janeiro de 2017].
106. PADMANABHAN S., MELANDER O., JOHNSON T., et al. 2010. **Genome-Wide Association Study of Blood Pressure Extremes Identifies Variant near UMOD Associated with Hypertension.** Schork NJ, ed. *PLoS Genetics.* 2010;6(10):e1001177. doi:10.1371/journal.pgen.1001177.
107. PARPINELLI E.P., CAMPIOLO G.M.G. 2010. **Prevalence of risk factors for chronic diseases no transmissible (dcnt) among teachers of the state public net of teaching of the west area of Londrina, Paraná - terra e cultura.** 2010; 51.
108. PHULUKDAREE A., KHAN S., MOODLEY D. et al 2012. **GST polymorphisms and early-onset coronary artery disease in young South African Indians.** *S Afr Med J* 2012;102(7):627-630
109. PIETENPOL J.A., TOKINO T., THIAGALINGAM S., et al. 1994. **Sequence-specific transcriptional activation is essential for growth suppression by p53.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1994/03/15 00:00; 91(6): 1998-2002.

110. PINTO F. N., PRUDENTE F. V. B., GONÇALVES M. S. et al. 2002. **Mutação do gene p53 induzindo predisposição hereditária ao câncer: relato de um caso da síndrome de Li-Fraumeni.** *Rev Med (São Paulo)* 2002 jan./dez.;81(1/4):42-6
111. POPE C. A ; RICHARD T. BURNET T. et al. 2003. **Cardiovascular Mortality and Long-Term Exposure to Particulate Air Pollution.** Epidemiological Evidence of General Pathophysiological Pathways of Disease. September, 2003.
112. RABELO L.M. 2001. **Fatores de risco para doença aterosclerótica na adolescência.** *Jornal de Pediatria.* 2001; 77(2): 153-64.
113. REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO 2003. Caso Clínico. **Impacto da hipertensão arterial sistêmica sobre o risco cardiovascular.**
114. Rimm EB, Klatsky A, Grobde DG, Stampfer MJ. 1996. **Review of moderate alcohol consumption and reduced risk of coronary heart disease: Is the effect due to beer, wine, or spirits?** *Br Med J* 1996; 312: 731
115. ROCHA A. P., MAGALHÃES P.K.R., MAI A.L et al. 2007. **Polimorfismos Genéticos: Implicações na Patogênese do Carcinoma Medular de Tireóide.** 2007. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007;51/5
116. ROCHA V.Z., LIBBY P. 2009. **Obesity, inflammation, and atherosclerosis.** *Nat Rev Cardiol.* 2009; 6 (6): 399-09
117. ROSS R. **Atherosclerosis-an inflammatory disease.** 1999. *N Engl J Med.* 1999 Jan 14;340(2):115-26.
118. SAINI V., BHATNAGAR M.K., BHATTACHARJEE J. 2011. **Associação de endotelial dysfunction with endothelin, nitricoxide and NOS Glu298Asp gene polymorphism in coronary artery disease".** *Disease markers.* 2011;31(4):215-222.
119. SÁNCHEZ J.C.G. 2010. **El impacto del polimorfismo en el Codón 72 del GEN TP53 en el pronóstico del ictus: participación de los mecanismos de muerte celular programada.** Tese departamento de Medicina. Universidade de Salamanca – Espanha. JUN 2010
120. SANTOS M.C.B., VIEIRA J.A.M., BRUNO N. et al. 2011. **Hábitos e perfil socioeconômico dos pacientes com doença aterosclerótica no Brasil.** *Arco - Arquivos Centro-Oeste de Cardiologia.* dezembro de 2011
121. SANTOS M.G., PEGORARO M., SANDRINI F. et al. 2008. **Risk Factors for the Development of Atherosclerosis in Childhood and Adolescence.***Arq Bras Cardiol.* 2008; 90(4): 301-308.
122. SEO D., WANG t., DRESSMAN H. et al. 2004. **Gene Expression Phenotypes of Atherosclerosis.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* October 2004.
123. SIGAL A., VARDA R. 2000. **Oncogenic Mutations of the p53 Tumor Suppressor: The Demons of the Guardian of the Genome.** *Cancer Research* 60, 6788–6793, December 15, 2000.

124. SMITH M.A., SILVA M.D., CENDOROGLO M.S. et al. 2007. **TP53 codon 72 polymorphism as a risk factor for cardiovascular disease in a Brazilian population.** *Braz J Med Biol Res* 2007; 40: 1465-72.
125. SÖDERSTRÖM LÅ, GERTOW K, FOLKERSEN L et al. 2014. **Human Genetic Evidence for Involvement of CD137 in Atherosclerosis.** | *Mol Med* 20:456-465, 2014.
126. SPITSINA E.V., IAKUNINA N., CHUDAKOVA D.A. et al. 2007. **Association of polymorphous markers Pro72Arg and C(-594)CC OF TP53 gene with diabetic polyneuropathy in patients with type 1 diabetes mellitus living in Moscow.** 2007.
127. SPOSITO A.C., CAMELLI B., FONSECA F. A. H et al. 2007. **IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia.** *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* - Volume 88, Suplemento I, Abril 2007.
128. STARY H.C, CHANDLER A.B., DINSMORE R.E. et al. 1995. **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.** *Circulation* 92(5): 1355-1374. (1995).
129. STEIN S, LOHMANN C, HANDSCHIN C, et al. 2010. **ApoE<sup>-/-</sup> PGC-1 $\alpha$ <sup>-/-</sup> Mice Display Reduced IL-18 Levels and Do Not Develop Enhanced Atherosclerosis.** Pockley G, ed. *PLoS ONE*. 2010;5(10):e13539.
130. SUDANO I., VIRDIS A. 2007. **"Chronic treatment with long-acting nifedipine reduces vasoconstriction to endothelin-1 in essential hypertension."** *Hypertension* 49(2): 285-290.
131. SYVÄNEN A.C. 2001. **Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms.** *Nat Rev Genet*. 2001 Dec;2(12):930-42.
132. TABARA Y., UESHIMA H., TAKASHIMA N. et al. 2016. **Mendelian randomization analysis in three Japanese populations supports a causal role of alcohol consumption in lowering low-density lipid cholesterol levels and particle numbers.** *Atherosclerosis*. 2016 Aug 24.
133. TASKINEN M. R.; BORÉN J. 2015. **New insights into the pathophysiology of dyslipidemia in type 2 diabetes.** *Atherosclerosis*. 2015 Volume 239 , Issue 2 , 483 – 495.
134. TAYLOR R., NAJAFI F., DOBSON A. 2007. **Meta-analysis of studies of passive smoking and lung cancer: effects of study type and continent.** *Int J Epidemiol*. 2007;36 (5):1048-59.
135. THOMAS M., KALITA A., LABRECQUE S. et al. 1999. **Two Polymorphic Variants of Wild-Type p53 Differ Biochemically and Biologically.** *Molecular and Cellular Biology*. 1999/02/01 00:00; 19(2): 1092-1100.
136. THOMAS W.A., REINER J.M., FLORENTIN F.A. et al. 1976. **Population dynamics of arterial smooth muscle cells. V. Cell proliferation and cell death during**

- initial 3 months in atherosclerotic lesions induced in swine by hypercholesterolemic diet and intimal trauma.** *Exp Mol Pathol.* 1976 Jun;24(3):360-74.
137. Trad. Sob direção de Cararanza's clinical periodontology. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012, p.449.
138. VIANA M.R., RODRIGUEZ T.T. 2011. **Complicações cardiovasculares e renais no diabetes mellitus.** *R. Ci. med. biol.* 2011 Salvador; 10 (3), 290-296.
139. VIRCHOW R. 1858. **Cellular pathology. As based upon physiological and pathological histology. Lecture XVI-Atheromatous affection of arteries. 1858.** *Nutr Rev.* 1989 Jan;47(1):23-5.
140. VISWANATHAN M., RAJ D., PRASANTH H. et al 1998. **Lipoprotein(a) is an independent risk factor for coronary artery disease in NIDDM patients in South India.** *Diabetes Care.* 1998; 21: 1819–1823.
141. WANG X.L., WANG J., WILCKEN D. E. 1997. **Interactive effect of the p53 gene and cigarette smoking on coronary artery disease.** *Cardiovasc Res.* 1997 Aug;35(2):250-5.
142. WANG Y.H., WU M.M., HONG C.T. et al. 2007. **Effects of arsenic exposure and genetic polymorphisms of p53, glutathione S-transferase M1, T1, and P1 on the risk of carotid atherosclerosis in Taiwan.** *Atherosclerosis.* Volume 192, Issue 2, Pages 305–312. June 2007.
143. WINHAM S., DE ANDRADE M., MILLER V. 2015. **Genetics of cardiovascular disease: Importance of sex and ethnicity.** *Atherosclerosis.* 2015;241(1):219-28.
144. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2014. **Global status report on noncommunicable diseases 2014** [Internet]. 2014. Available from: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854_eng.pdf?ua=1).
145. XAVIER H. T., IZAR M. C., FARIA NETO J. R et al. 2013. **V Diretriz brasileira de dislipidemia e prevenção a aterosclerose.** *Arq. Bras. Cardiol.* vol.101 no.4 supl.1 São Paulo Oct. 2013.
146. XUMING D., SZYMON W., JAMES P E., et al. 2016. **Genetics of coronary artery disease and myocardial infarction.** *Genetics of CAD and MI.* January 26, 2016|Volume 8|Issue 1.
147. YANG Y., KANG D.U., ZHENGXIA L. et al. 2014. **Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) 4b/a Gene Polymorphisms and Coronary Artery Disease: Evidence from a Meta-Analysis.** *Int. J. Mol. Sci.* 2014, 15, 7987-8003; doi:10.3390/ijms15057987.
148. YONISH-ROUACH E. 1997. **A question of life or death: the p53 tumor suppressor gene.** *Pathol Biol (Paris).* 1997 Dec;45(10):815-23.
149. YUSUF P.S., HAWKEN S. ÔUNPU U. et al. 2004. **Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study,** *The Lancet*, vol. 364, no. 9438, pp. 937–952, 2004.

150. ZHANG X., JOHNSON A.D., HENDRICKS A. E et al. 2014. **Genetic associations with expression for genes implicated in GWAS studies for atherosclerotic cardiovascular disease and blood phenotypes.** *Human Molecular Genetics*. 2014/02/01 00:00; 23(3): 782-795.



## **APÊNDICES**

## APÊNDICE I

### QUESTIONÁRIO – PROJETO DE PESQUISA POLIMORFISMOS DE GENES ENVOLVIDOS NO PROCESSO DE ATEROGENESE PRIMÁRIA

Nº PRONTUÁRIO: \_\_\_\_\_ INICIAIS- \_\_\_\_\_ Nº TUBO \_\_\_\_\_  
NOME: \_\_\_\_\_  
DATA DE NASCIMENTO: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ IDADE: (\_\_\_)  
SEXO: ( ) M ; ( ) F COR DA PELE: \_\_\_\_\_ ( Branco, negro ou pardo)  
FILHOS: ( ) SIM ( ) NÃO.  
QUANTOS: HOMENS (\_\_\_\_) MULHERES  
(\_\_\_\_) ABORTO: \_\_\_\_\_ QTOS \_\_\_\_\_ NATURALIDADE: \_\_\_\_\_  
RESIDE EM: \_\_\_\_\_  
TELEFONE: \_\_\_\_\_ TEL. CONTATO: \_\_\_\_\_  
PROFISSÃO \_\_\_\_\_

1. ATUALMENTE FUMA: ( ) SIM ( ) NÃO

QUANTO TEMPO: ( ) MAIS 10 ANOS ( ) MENOS 10 ANOS INICIOU COM \_\_\_\_\_ ANOS

2. EX-FUMANTE ( ) INICIOU COM QUANTOS ANOS (\_\_\_\_) PAROU COM QUANTOS ANOS (\_\_\_\_)

QUANTOS CIGARROS: 5-10/DIA ( ) 10-20/DIA ( ) 20 OU MAIS ( ), CARGA

TABÁGICA: \_\_\_\_\_ MAÇOS/ANOS

2. BEBE ( ) SIM ( ) NÃO FREQUÊNCIA \_\_\_\_\_

VINHO ( ) CERVEJA ( ) CACHAÇA ( ) OUTROS \_\_\_\_\_

1 COPO ( ) 2-3 COPOS ( ) 3 OU + COPOS ( )

DIAGNÓSTICO: \_\_\_\_\_

INICIO DOS SINTOMAS AOS: \_\_\_\_\_ ANOS

SINTOMAS: \_\_\_\_\_

DATA DO DIAGNÓSTICO: \_\_\_\_\_. INÍCIO DO TRATAMENTO \_\_\_\_\_

CO-MORBIDADES: HAS ( ) DM ( ) DISLIPIDEMIA ( ) HIPERHOMOCISTEINEMIA ( )

IRC ( ) DIALÍTICO (\_\_\_\_)

D. ISQ. CORONARIANA ( ) IAM ( ) \_\_\_\_/\_\_\_\_ AVE ( ) \_\_\_\_/\_\_\_\_

OUTRAS: \_\_\_\_\_

MEDICAMENTOS EM USO: \_\_\_\_\_

EXAMES REALIZADOS: ECO DOPPLER ARTERIAL PERIFÉRICO ( )

ARTERIOGRAFIA ( ) ANGIOTOMOGRAMIA ( ) ECO CARDIOGRAMA ( )

CATETERISMO CARDÍACO ( )

REALIZOU INTERVENÇÃO CIRÚRGICA? SIM ( ) / NÃO ( ) QUAL E

QUANDO? \_\_\_\_\_

COMPLICAÇÕES? \_\_\_\_\_

REINTERVENÇÃO? SIM ( ) NÃO ( ). QUANTAS VEZES E

QUANDO? \_\_\_\_\_

FAZ USO DE CLOPIDOGREL? SIM ( ) DOSE: \_\_\_\_\_ MG NÃO ( ). POR QUANTO

TEMPO? \_\_\_\_\_ PAROU? ( ) QUANTO TEMPO? \_\_\_\_\_ INÍCIO ANTES DE

INTERVENÇÃO ( ) APÓS INTERVENÇÃO ( ) TRATAMENTO CLÍNICO: SIM ( ) NÃO ( )

OBSERVAÇÕES:

## APÊNDICE II

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário (a), do Projeto de Pesquisa sob o título **POLIMORFISMOS DE GENES ENVOLVIDOS NO PROCESSO DE ATEROGÊNESE PRIMÁRIA**.

Meu nome é \_\_\_\_\_, sou pesquisador (a) responsável pelo projeto. As informações e esclarecimentos a respeito da pesquisa serão repassados e caso aceite participar do estudo, este documento deverá ser assinado em duas vias. A primeira será de guarda e confidencialidade do pesquisador (a) responsável e a segunda ficará sob sua responsabilidade para quaisquer fins. Você pode se recusar a participar ou se retirar deste estudo a qualquer momento, sem sofrer nenhum tipo de penalização.

Qualquer dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com a coordenadora responsável **Dra. Katia Karina Verolla de Oliveira Moura** no telefone: **62-3946-1385** ou através do e-mail [kkverolli@pucgoias.edu.br](mailto:kkverolli@pucgoias.edu.br). Em caso de dúvida sobre a ética aplicada a pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, telefone: (62) 3946-1512.

I. O paciente que estará sob consulta e com o diagnóstico de aterosclerose (acúmulo de placas de gordura nos vasos sanguíneos) será contatado e informado da pesquisa. Caso aceite deverá assinar o TCLE e caso se recuse ou desista em qualquer momento da pesquisa o seu atendimento terá continuidade normal.

II. A pesquisa consiste na análise laboratorial de amostras de sangue para detecção da variação das doenças genéticas de cada paciente que possam estar relacionadas á alterações vasculares.

III. O objetivo da pesquisa é a detecção da variação das doenças genéticas de cada individuo bem como a detecção de pacientes com alto risco de desenvolver a doença.

IV. As amostras de sangue coletadas serão analisadas para verificar a presença das variações de cada paciente. Os critérios de inclusão são: pacientes maiores de 38 anos, diagnosticados com aterosclerose em tratamento medicamentoso e/ou submetidos aos procedimentos vasculares, que aceitem responder ao questionário e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido. Os de exclusão são: pacientes menores de 38 anos e/ou que não aceitem participar da pesquisa.

V. Nenhuma pesquisa com seres humanos é livre de riscos. Contudo, os procedimentos envolvidos no presente estudo oferecem riscos aos participantes, estando relacionados á acidentes biológicos e/ou complicações no local da coleta que poderá ficar dolorido, avermelhado ou arroxeadado. Caso ocorra qualquer tipo de dano à saúde e à integridade física e/ou psicológica do paciente em decorrência dos procedimentos da pesquisa, este terá atendimento integral e irrestrito garantido pelo pesquisador responsável.

VI. Os resultados da pesquisa serão enviados para você e permanecerão confidenciais. Caso o resultado seja positivo, você será informado pelo médico responsável, que já atua no diagnóstico e tratamento dos pacientes com aterosclerose. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão e você não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

VII. O material será utilizado somente para fins de pesquisa, além de autorizar, pelo presente estudo, que os testes e os resultados sejam utilizados em estudos científicos, publicação de artigos, ressalvando o sigilo quanto ao meu nome, reservando-me o direito de conhecer ou não os resultados da referida pesquisa. O material após realização dos exames será descartado.

VIII. É assegurada a assistência do participante durante toda pesquisa e o médico Dr. Fabio Campedelli continuará a dar todo o suporte para qualquer intercorrência que ocorra decorrente da coleta de sangue, durante o período da pesquisa. É garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências. Para qualquer outra informação, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com o pesquisador no endereço: Rua 9A n 160, sala 202- setor Aeroporto, Goiânia, Goiás ou pelo telefone: (62) 30912979.

IX. Está garantido o direito de retirar o consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento. Em caso de recusa você não será penalizado de forma alguma sem qualquer prejuízo a sua pessoa e que será mantido o total sigilo dos resultados, que serão entregues apenas a você ou responsável.

X. A participação na pesquisa não acarretará custos para você, assim como não será disponibilizado nenhum ressarcimento financeiro adicional.

XI. Não está previsto indenização por sua participação, mas em qualquer momento se você sofrer algum dano, comprovadamente decorrente desta pesquisa, terá direito à indenização requerida em termos legais.

Eu \_\_\_\_\_, RG \_\_\_\_\_, abaixo assinado, discuti com o Dr. Fábio Campedelli, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Declaro ter recebido e compreendido todas as informações referentes aos propósitos do estudo, procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Goiânia, \_\_\_\_, de \_\_\_\_\_, de 201\_\_.

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante Data

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável pelo estudo Data

## APÊNDICE III

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO-GRUPO CONTROLE

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário (a), do Projeto de Pesquisa sob o título **POLIMORFISMOS DE GENES ENVOLVIDOS NO PROCESSO DE ATEROGÊNESE PRIMÁRIA**.

Meu nome é \_\_\_\_\_, sou o pesquisador (a) responsável pelo projeto. As informações e esclarecimentos a respeito da pesquisa serão repassados e caso aceite participar do estudo, este documento deverá ser assinado em duas vias. A primeira será de guarda e confidencialidade do pesquisador (a) responsável e a segunda ficará sob sua responsabilidade para quaisquer fins.

Você pode se recusar a participar ou se retirar deste estudo a qualquer momento, sem sofrer nenhum tipo de penalização.

Qualquer dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com a coordenadora responsável **Dra. Katia Karina Verolla de Oliveira Moura** no telefone: **62-3946-1385** ou através do e-mail [kkverolli@pucgoias.edu.br](mailto:kkverolli@pucgoias.edu.br). Em caso de dúvida sobre a ética aplicada a pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, telefone: (62) 3946-1512.

I. O paciente que esta sob consulta sem diagnóstico de aterosclerose baseado em resultados de exames que procuraram o consultório médico para outros tipos de consulta, como varizes, onde foi informado da pesquisa e caso aceite assinará o TCLE-grupo controle. Caso não aceite, ou desista no meio da pesquisa o seu atendimento terá continuidade normal.

II. A pesquisa consiste na análise laboratorial de amostras de sangue para detecção da variação das doenças genéticas de cada paciente que possam estar relacionadas á alterações vasculares.

III. O objetivo da pesquisa é a detecção da variação das doenças genéticas de cada individuo bem como a detecção de pacientes com alto risco de desenvolver a doença.

IV. As amostras de sangue do grupo controle coletadas serão analisadas para verificar a ausência das variações de cada paciente. Os critérios de inclusão são: pacientes maiores de 38 anos, e que não apresentem diagnóstico de aterosclerose baseado em resultados de exames de imagem. Os de exclusão são: pacientes menores de 38 anos e/ou que não aceitem participar da pesquisa.

V. Nenhuma pesquisa com seres humanos é livre de riscos. Contudo, os procedimentos envolvidos no presente estudo oferecem riscos aos participantes, estando relacionados á acidentes biológicos e/ou complicações no local da coleta que poderá ficar dolorido, avermelhado ou arroxeadado. Caso ocorra qualquer intercorrência o paciente receberá auxílio/assistência no momento da coleta.

VI. Os resultados da pesquisa serão enviados para você e permanecerão confidenciais. Caso o resultado seja positivo, você será informado pelo médico responsável, que já atua no diagnóstico e tratamento dos pacientes com aterosclerose. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão e você não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

VII. O material será utilizado somente para fins de pesquisa, além de autorizar, pelo presente estudo, que os testes e os resultados sejam utilizados em estudos científicos, publicação de artigos, ressalvando o sigilo quanto ao meu nome, reservando-me o direito de conhecer ou não os resultados da referida pesquisa. O material após realização dos exames será descartado.

VIII. É assegurada a assistência do participante durante toda pesquisa e o médico Dr. Fabio Campedelli continuará a dar todo o suporte para qualquer intercorrência que ocorra decorrente da coleta de sangue, durante o período da pesquisa. É garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas conseqüências. Para qualquer outra informação, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com o pesquisador no endereço: Rua 9A n 160, sala 202- setor Aeroporto, Goiânia, Goiás ou pelo telefone: (62) 30912979.

IX. Está garantido o direito de retirar o consentimento a qualquer momento, sem, e que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento. Em caso de recusa você não será penalizado de forma alguma sem qualquer prejuízo a minha pessoa e que será mantido o total sigilo dos resultados, que serão entregues apenas a mim ou responsável.

X. A participação na pesquisa não acarretará custos para você, assim como não será disponibilizado nenhum ressarcimento financeiro adicional.

XI. Não está previsto indenização por sua participação, mas em qualquer momento se você sofrer algum dano, comprovadamente decorrente desta pesquisa, terá direito à indenização requerida em termos legais.

Eu \_\_\_\_\_, RG \_\_\_\_\_, abaixo assinado, discuti com o Dr. Fábio Campedelli, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Declaro ter recebido e compreendido todas as informações referentes aos propósitos do estudo, procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Goiânia, \_\_\_\_, de \_\_\_\_\_, de 201\_\_.

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante Data

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável pelo estudo Data