



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

**ANÁLISE MOLECULAR DO POLIMORFISMO DO GENE
CYP3A5 EM PACIENTES COM ATEROSCLEROSE**

FÁBIO OLIVEIRA DE SOUZA

**ANÁLISE MOLECULAR DO POLIMORFISMO DO GENE
CYP3A5 EM PACIENTES COM ATEROSCLEROSE**

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

Orientadora: Dr.^a. Kátia Karina Verolli de Oliveira Moura.

Goiânia
© 2019

S729a Souza, Fábio Oliveira de
Análise molecular do polimorfismo do gene *CYP3A5* em
pacientes com aterosclerose / Fábio Oliveira de Souza.--
2019.
60 f.: il.

Texto em português, com resumo em inglês
Dissertação (mestrado) - Pontifícia Universidade Católica
de Goiás, Goiânia, 2019
Inclui referências: f. 41-52

1. Polimorfismo (Genética). 2. Aterosclerose. 3.
Coronariopatia. I.Moura, Katia Karina Verolli de Oliveira.
II.Pontifícia Universidade Católica de Goiás - Programa de
Pós-Graduação em Genética - 2019. III. Título.

CDU: Ed. 2007 -- 577.21(043)
616.132.2-004.6(043)



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

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário
Caixa Postal 66 • 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 147/2019

MESTRADO EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

DISCENTE: FÁBIO OLIVEIRA DE SOUZA

DEFENDIDA EM 11 DE MARÇO DE 2019 e APROVADO COM CONCEITO A

O título foi alterado não () sim Análise do Polimorfismo
do gene CYP3A5 em pacientes com
aterosclerose

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Kátia Karina Verolli de Oliveira Moura/
PUC Goiás (Presidente)

Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis
PUC Goiás

Prof. Dra. Rita de Cássia P da Costa e Silva
UFG

DEDICATÓRIA

Para minha mãe, pai, irmãos e a todos que torceram por mim, dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por permitir-me realizar uma vontade tão desejada, por todas as bênçãos que me foram concedidas e pela a força e ânimo em meio as adversidades, sempre ajudando em objetivos;

Aos meus pais, Juarez José de Souza e Ilídia Maria de Mendonça, por me tornarem uma pessoa de caráter, sempre ensinando a dedicação, a amizade, o companheirismo, o afeto, os ensinamentos bíblicos, a coragem e a nunca desistir dos meus sonhos; não esquecendo dos meus pais biológicos, Calzima de Brito Oliveira e Ovídio Lúcio da Costa, que de longe desejando o meu melhor;

Agradeço em especial a minha orientadora, professora doutora Kátia Karina Verolli de Oliveira Moura, que desde da iniciação científica, trabalho de conclusão de curso e do mestrado, depositou em mim a sua confiança, acreditando no meu trabalho e pelo exemplo de dedicação, responsabilidade, respeito, amizade e compreensão, mesmo com as minhas falhas, dúvidas e dificuldades no aprendizado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado, que me possibilitou a realização desse estudo, sem ela, não seria possível em realizar esse almejado sonho;

Aos professores da Universidade Estadual de Goiás, onde realizei a minha especialização, por algumas ausências e compreensões para a realização das minhas aulas, provas e seminários do mestrado, em especial ao professor doutor Hermínio Maurício da Rocha Sobrinho, por orientar-me no trabalho de conclusão de especialização, pelos os conselhos da carreira profissional e acadêmica; e aos meus colegas dessa pós, que foi muito boa, deixaram saudades;

À professora mestre Iasmim Ribeiro da Costa, pela a paciência, atenção, carinho e disponibilidade, no qual agora está concluindo o seu doutorado tão árduo, mas que está na fase final, por ajudar nas análises estatísticas, variáveis, conselhos e tanto mais; e à doutoranda Andréia Marcelino Barbosa, pelo o companheirismo, profissionalismo, atenção e a sua disponibilidade por estar sempre presente para esclarecer as minhas dúvidas em relação à minha dissertação e a parte prática;

Ao Núcleo de Pesquisas Replicon da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, por conceder um ambiente agradável e amigável, disponibilizando todos os materiais necessários para desenvolver esse estudo, pelas as conversas, às nossas “vaquinhas” feitas para alguma

comemoração ou lanche e pelo o companheirismo, onde têm ótimos funcionários, professores e amigos, que viabilizam em ambiente “caseiro”, sendo que sempre estavam ali para ajudar em qualquer dúvida;

À uma funcionária especial da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, a dona Natalina, que sempre me escutava sobre o meu desemprego e meus esforços, abrindo a sala de aula, laboratório e até mesmo a sua sala para eu descansar, estudar e tanto mais;

Aos meus colegas de trabalho de Senador Canedo, do Pronto Socorro Parque Alvorada; onde foi um lugar preparado por Deus para eu estar trabalhando, onde conheci ótimos profissionais, como os biomédicos, médicos, enfermeiros, técnicos de enfermagem, farmacêuticas, os serviços gerais, e os recepcionistas, à todas as pessoas que ajudaram-me diretamente ou indiretamente, no qual moram no meu coração; um grande carinho para com estas pessoas: Jairo, Eveliny, Ivonilda, Maria Glória, Nádia, Edimá, Leidiane, Maria José (Zéze), Patrícia, Daniela, Elsimone, Luís, Edna e ao seu César.

A todos os meus colegas do mestrado, pelas risadas, apoios, sendo momentos que foram muito rápidos, agradecendo em especial a Lilian Gianotti, por ajudar-me na minha matrícula do mestrado;

Aos alunos de iniciação científica (“katitos”), pela ajuda, esforço e companheirismo na parte prática deste estudo;

A minha professora de inglês, Tâmara Atanzio, pelas traduções de textos e sempre ajudando nas minhas dificuldades;

A todos os amigos e colegas que incentivaram e torceram pelo sucesso deste trabalho, meu eterno agradecimento e afeto;

Agradeço ainda infinitamente a todos os pacientes que participaram deste projeto;

Aos membros da banca examinadora pela disposição para avaliar e discutir o presente estudo;

De modo geral a todos aqueles que de alguma forma direta ou indiretamente estiveram e estão próximos a mim, fazendo esse meu alvo valer cada vez mais a pena;

A todos e tantos outros, meu MUITO OBRIGADO e eterna consideração.

EPÍGRAFE

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King).

SUMÁRIO

RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1 Definição/Patogênese.....	14
2.2 Epidemiologia.....	17
2.3 Componente genético.....	18
2.4 O gene <i>CYP3A5</i>.....	21
2.4.1 Polimorfismo <i>CYP3A5</i>*3 (SNP: rs776746A>G)	22
3 OBJETIVOS.....	27
3.1 Objetivo geral.....	27
3.2 Objetivos específicos.....	27
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
4.1 Casuística.....	28
4.2 Extração de DNA genômico.....	29
4.3 Reação em Cadeia da Polimerase - PCR.....	29
4.4 Análise dos dados.....	31
5 RESULTADOS.....	32
6 DISCUSSÃO.....	34
7 CONCLUSÃO.....	40
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
9 ANEXOS.....	53

ANEXO I.....	53
ANEXO II.....	55
ANEXO III.....	58

RESUMO

As doenças cardiovasculares estão no ranking das doenças que apresenta a maior taxa de mortalidade na população brasileira e de outros países, uma delas, sendo a aterosclerose. É uma doença inflamatória de caráter crônico que ocorre pelo acúmulo de lipídios na camada interna das artérias. Há inúmeros fatores de risco para a gênese dessa doença, divididos em modificáveis, como a hipertensão arterial, tabagismo, níveis elevados de colesterol de baixa densidade, sedentarismo e outros. Já os não modificáveis são: fatores genéticos, história familiar prematura para doenças cardíacas, sexo, idade e outros. Cerca de 400 genes podem estar envolvidos nesta patologia. Tanto mutações, deleções e/ou polimorfismos estão implicados na aterosclerose, relacionados à regulação da função endotelial, coagulação, inflamação e metabolismo lipídico. A associação genética com a aterosclerose está cada vez mais em expansão, sendo objeto de estudos, principalmente com os polimorfismos dos genes do citocromo P450. O gene *CYP3A5* codifica proteínas monooxigenases que fazem parte da metabolização de drogas, síntese de colesterol, esteroides e outros lipídios; possuindo vários polimorfismos do mesmo. O polimorfismo *CYP3A5*3* (A6986G), produz uma proteína truncada/inativa por um erro de *splicing*, podendo existir uma relação do polimorfismo alterando a atividade enzimática/proteica contribuindo para o desenvolvimento da aterosclerose. Este estudo teve como objetivo analisar o polimorfismo do gene *CYP3A5*3* nos grupos de indivíduos com o diagnóstico de aterosclerose e no grupo controle. Foram coletadas amostras de sangue periférico de 200 pacientes com o diagnóstico da doença aterosclerótica baseado em exames clínicos e confirmados com os exames de imagens e 100 pacientes para o grupo controle, sem a doença aterosclerótica. Foi notado uma diferença significativa em ambos os grupos estudados (caso x controle) em relação a presença do polimorfismo do gene *CYP3A5*3*, onde a maior frequência do genótipo, foi o *CYP3A5*1/*3* ($p= 0,0394$). Já o genótipo homozigoto mutante (*CYP3A5*3/*3*) foi 6 vezes maior em pacientes com aterosclerose em relação ao grupo controle, sendo também estatisticamente significativo. De acordo com o sexo masculino, foi observado um risco de 6,5 vezes maior para a presença do genótipo *CYP3A5*3/*3* em indivíduos do sexo masculino com aterosclerose ($p= 0,0185$), já em relação ao sexo feminino, não foi encontrado uma relação ($p=0,5928$). Observando os pacientes hipertensos, também não houve relação dos mesmos com a aterosclerose ($p=0,9240$). A nossa população apresentou uma heterozigiosidade em relação a outras populações, principalmente em relação ao genótipo homozigoto mutante. A maior parte das doenças cardiovasculares acomete homens, podendo ser explicado pelo o fator hormonal, no qual o gene *CYP3A5* está envolvido não somente no metabolismo de lipídios, mas também na síntese hormonal, principalmente a testosterona, onde os homens com o genótipo *CYP3A5*3/*3* estão 6,5 vezes mais propensos a desenvolver a aterosclerose, diferente do sexo feminino. Não houve associação do genótipo homozigoto mutante em pacientes ateroscleróticos com a hipertensão arterial, mesmo sendo um grande fator de risco de doença cardiovascular. Em vista disso, a população estudada é heterozigota, sendo uma característica desta população estudada e que o genótipo *CYP3A5*3/*3* identifica uma forte associação com a aterosclerose em indivíduos do sexo masculino.

Palavras-chave: Aterosclerose. Doença coronariana. Polimorfismo. *CYP3A5*3*.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are ranked as one of the diseases that most kill the Brazilian population and of other countries as well, one of them, being atherosclerosis. It is a chronic inflammatory disease that occurs by the accumulation of lipids in the inner layer of the arteries. There are numerous risk factors for the genesis of this disease, divided into modifiable ones such as hypertension, smoking, high levels of low density cholesterol, sedentary lifestyle and others. Non-modifiable ones are: genetic factors, premature family history for heart disease, sex, age and others. About 400 genes may be involved in this pathology, both mutations, deletions and / or polymorphisms are implicated in atherosclerosis, related to regulation of endothelial function, coagulation, inflammation and lipid metabolism. Genetic association with atherosclerosis is increasingly expanding, being the object of studies, mainly with polymorphisms of the cytochrome P450 genes. The *CYP3A5* gene encodes monooxygenase proteins that are part of drug metabolism, cholesterol synthesis, steroids, and other lipids; (A6986G), produces a truncated / inactive protein due to a splicing error, and there may be a relation of the polymorphism altering the enzymatic/protein activity contributing to the development of atherosclerosis. This study aimed to analyze the *CYP3A5*3* gene polymorphism in the groups of individuals with the diagnosis of atherosclerosis and in the control group. Peripheral blood samples were collected from 200 patients with a diagnosis of atherosclerotic disease based on clinical exams and confirmed with imaging exams and 100 patients for the control group, without atherosclerotic disease. A significant difference was observed in both groups (case vs. control) in relation to the *CYP3A5*3* gene polymorphism, where the highest frequency of the genotype was *CYP3A5*1/*3* ($p= 0.0394$). The mutant homozygous genotype (*CYP3A5*3/*3*) was 6 times higher in patients with atherosclerosis than in the control group, and was also statistically significant. According to the male gender group, a 6,5-fold risk of *CYP3A5*3/*3* genotype was observed in patients with atherosclerosis ($p= 0.0185$), already in relation to females, a relation ($p= 0.5928$). Observing hypertensive patients, there was also no relation between them and atherosclerosis ($p= 0.9240$). Our population showed a heterozygosity in relation to other populations, mainly in relation to the mutant homozygous genotype. In most cardiovascular diseases, it affects men, and can be explained by the hormonal factor, in which the *CYP3A5* gene is involved not only in lipid metabolism but also in hormonal synthesis, especially testosterone, where men with the *CYP3A5*3/*3* are 6,5 times more likely to develop atherosclerosis, different from the female sex. There was no association of the mutant homozygous genotype in atherosclerotic patients with arterial hypertension, even though it was a major risk factor for cardiovascular disease. In view of this, the studied population is heterozygous, being a characteristic of this population studied and that the *CYP3A5*3/*3* genotype identifies a strong association with atherosclerosis in men.

Keywords: Atherosclerosis. Coronary disease. Polymorphism. *CYP3A5*3*.

1 INTRODUÇÃO

As cardiopatias estão entre as principais causas de mortalidade na África, Ásia, Estados Unidos e na América Central e América do Sul, dentre elas podemos destacar: a angina de peito, o infarto do miocárdio e aterosclerose (ALVES et al. 2010; PARPINELLI; CAMPIOLO, 2010; HACKMAN; ANAND, 2003).

Existem relatos com mais de 3.500 anos de estudos que buscavam compreender o histórico natural e as causas envolvidas na patogênese da aterosclerose. Sua existência foi descrita em múmias egípcias sendo o primeiro sintoma clínico de angina *pectoris*, relatado por Hipócrates (460-370 a.C.) (MARTELLI, 2014; KUMAR et al. 2005; FAVARATO; LUZ, 2004). Já com a definição clínica de origem coronariana conhecida nos tempos atuais foi descrita por Heberden em 1786 (MACRUZ, 1976).

Entretanto em 1915, Monckeberg relatou após exames relacionados às artérias coronarianas em 140 soldados da 1ª guerra mundial com idade média de 27 anos, lesões típicas em artérias coronarianas em 50% deles, ficando evidente a possibilidade de ocorrência em indivíduos jovens. Já na década de 50 e 60 diversos pesquisadores estabeleceram a história natural da aterosclerose baseado em dados de necropsias que demonstravam relação entre distúrbios cardiovasculares e doenças ateroscleróticas (GIANNINI, 2000).

A expressão “aterosclerose” discutida no Dicionário de Ciências Médicas (Dorland), foi referida por Felix Marchand, patologista alemão, que caracterizou como lesões das grandes e médias artérias com depósitos de placas e matéria lipóide que contêm colesterol (ATENEO; BARCELONA, 1981).

Como principais sequelas da aterosclerose, destacam-se a doença arterial coronariana (DAC) e o acidente vascular cerebral (AVC), contudo esta só passou a ser reconhecida como problema de saúde no início do século; conseqüentemente com os diversos fatores como a eliminação de doenças infecciosas e as mudanças no estilo de vida, provocou um aumento da expectativa de vida e um maior conhecimento destas patologias por parte da classe médica (INTRONCASO, 2001; WILLIAN; HAZZARD, 1989).

A aterosclerose ou a disfunção endotelial arterial é uma anomalia precoce durante a aterogênese e é estimada como marcadora de dano arterial, que precede a formação da placa de gordura. Estudos relacionam essa medida a fatores de risco vasculares, a severidade e a extensão de doenças arteriais coronarianas, podendo predizer uma perspectiva de eventos cardiovasculares (BARJA et al. 2009; ZHU et al. 2005).

No ocidente, a aterosclerose é causa principal de 50% de todas as mortes relacionadas com infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (AVC) (LUSIS, 2000; BANG, 1990; BANG et al. 1976). Houve uma estimativa de que a partir do ano de 2015, 20 milhões de pessoas morreriam a cada ano por doença cardiovascular. Em torno de 80% dessas mortes estão ocorrendo em países de renda média e baixa, e as principais causas são: tabagismo, inatividade física, alcoolismo e dieta inadequada (CIMADON et al. 2010).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Definição/Patogênese

A expressão *aterosclerose* deriva do grego *atero*, que quer dizer caldo ou pasta, e *esclerose*, refere-se ao endurecimento, sendo caracterizada por lesões na túnica íntima dos vasos, denominadas ateroma ou placas ateromatosas obstruindo o lúmen vascular e enfraquecendo a túnica média subjacente (MARTELLI, 2014; GOTTLIEB et al. 2005).

O depósito dessas placas na parede arterial são fatores fundamentais para a aterogênese. Ainda que qualquer artéria possa ser afetada, o depósito dessas placas pode ter outros alvos como a aorta e as artérias coronárias e cerebrais, tendo como principais consequências o infarto do miocárdio, a isquemia cerebral e o aneurisma aórtico (HACKAM; ANAND, 2003; MARTELLI, 2014; GOTTLIEB et al. 2005; KUMAR et al. 2005).

Segundo a atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2017) em relação ao processo de aterogênese, relata que a aterosclerose pode ser abrangida como uma doença inflamatória crônica, degenerativa, de base multifatorial que em sua maioria é desenvolvida por um acúmulo de lipídeos, circundado por células espumosas (células que englobam grandes quantidades de lipídeos, correspondendo aos macrófagos) e, também, por uma capa fibrosa composta de fibras musculares lisas e tecido conjuntivo fibroso (AMMIRATI et al. 2015; LIBBY, 2013; BERENSON et al. 1992; FALUDI et al. 2017) (Figura 1).

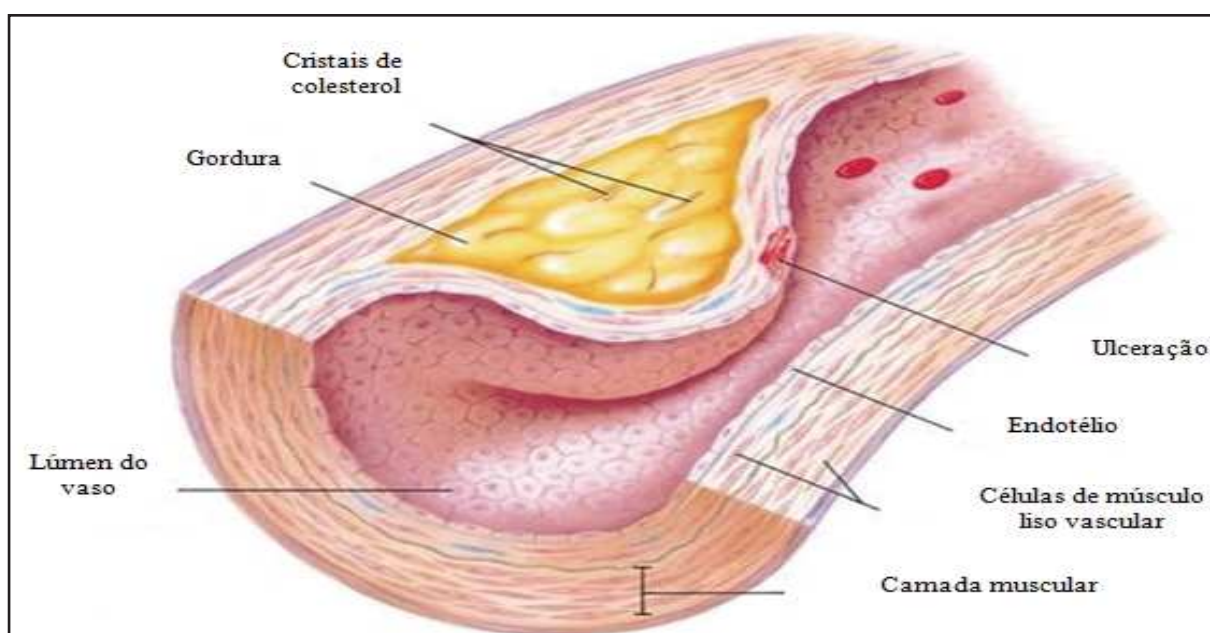


Figura 1: Formação da placa de ateroma no interior do vaso sanguíneo. Fonte: CRID, 2014.

Diversos mecanismos têm sido propostos para a aterogênese e suas complicações como a LDL-ox (oxidação de lipoproteínas, principalmente lipoproteínas de baixa densidade [LDL]) alterando o endotélio vascular, produzindo citocinas, quimiocinas e componentes do sistema complemento de linfócitos, liberando oxigênio, promovendo vasoconstrição e reduzindo propriedades antitrombóticas; a aterotrombose, é um dos principais determinantes das manifestações clínicas da aterosclerose (FALUDI et al. 2017).

As lipoproteínas, principalmente as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) têm ocupado um papel de destaque na etiologia da doença aterosclerótica, ainda que, muitos indivíduos desenvolvem doença cardiovascular na ausência de anormalidades no perfil das lipoproteínas (LIBBY, 2002).

A lipoproteína (a), (Lp (a)), é composta de uma partícula semelhante à LDL, mas o seu papel na aterogênese não é bem compreendido. Relatos que ela desempenha um acúmulo de lipídios em macrófagos, disfunção endotelial, formação de células espumosas, oxidação do LDL ou a interação com o sistema de coagulação, no qual, vários estudos demonstraram uma associação entre os níveis plasmáticos elevados de Lp (a) e o risco de doença cardiovascular (SHARMA; BALIGA, 2017; KHERA et al. 2014; WILLEIT et al. 2014; ALBERS et al. 2013; KRONENBERG; UTERMANN, 2013; NORDESTGAARD et al. 2013).

Em uma abordagem diagnóstica integrada (mais complexa) na doença cardíaca coronariana, a diversidade de biomarcadores/fatores circulantes que participam no processo de aterogênese e que podem ser associados ao diagnóstico, prévia de resultados e avaliação de risco na Doença Cardíaca Coronária (DCC) que podem ser analisados em soro, plasma ou sangue total e que refletem alterações na artéria coronária (HACKMAN; ANAND, 2003; INFANTE et al. 2017) (Quadro 1.).

Quadro 1: Marcadores e fatores envolvidos na aterogênese:

Marcadores Inflamatórios/Bioquímicos	Marcadores Hemostáticos/Trombóticos	Marcadores celulares	Fatores Plaquetários	Fatores Lipídicos	Outros Fatores
Proteína C-reativa	Fibrinogênio	Neutrófilos	Agregação plaquetária	Lp(a)	Homocisteína
Interleucinas	Fator von Willebrand	Linfócitos		APO A e B	Polimorfismo do gene <i>APOE</i>
Moléculas de Adesão	Fatores V, VII e VIII	Células endoteliais (CEs)	Tamanho e volume de plaquetas	LDL-ox	Metilação do ácido desoxirribonucleico (DNA)
Enzimas		Monócitos		Lipoproteína de alta densidade (HDL)	Mediadores metabólicos
Metabólicos		Eosinófilos			

Fonte: Infante et al. 2017; Hackman; Anand, 2003, modificado.

A lesão aterosclerótica é frequentemente encontrada nas artérias decorrente inicialmente de dois processos básicos: acúmulo de colesterol e a proliferação de células musculares lisas na túnica íntima, desenvolvendo-se, portanto, sobre um substrato formado dessas células, leucócitos derivados do sangue, e de uma quantidade variável de tecido conectivo, formando uma placa fibrosa que se projeta para dentro do lúmen, modificando a túnica média e levando a uma série de complicações circulatórias (ROSS, 1999).

A resposta inflamatória neste processo de aterogênese, é mediada através de modificações funcionais em células endoteliais (CEs), linfócitos T, macrófagos derivados de monócitos e células do músculo liso, com a ativação destas células, desencadeia-se a produção e interação de um amplo espectro de citocinas, moléculas de adesão, fatores de crescimento, acúmulo de lípidos e proliferação de células do músculo liso, conseqüentemente, ocorrendo a obstrução do vaso sanguíneo (LIBBY, 2002; NICOLLETTI et al. 2000; ROSS, 1999). Adicionalmente, a resposta inflamatória pode ser induzida pelo estresse oxidativo, principalmente à oxidação da LDL-c, estabelecendo uma resposta inflamatória crônica (LIBBY, 2002; KUNSCH; MEDFORD, 1999).

Os fatores de risco para aterosclerose, também podem ser divididos em modificáveis (tabagismo, sedentarismo, obesidade, estresse, hiperlipidemia, hipertensão arterial) e não modificáveis (diabetes *mellitus*, hipertensão familiar, trombofilias, sexo, idade e hereditariedade) (LOCATELLI et al. 2009). Na qual o mais prevalente são os riscos modificáveis, a hipertensão arterial e as dislipidemias estão entre os principais fatores de temeridade para o desenvolvimento da aterosclerose (MARTELLI, 2014) (Figura 2.).

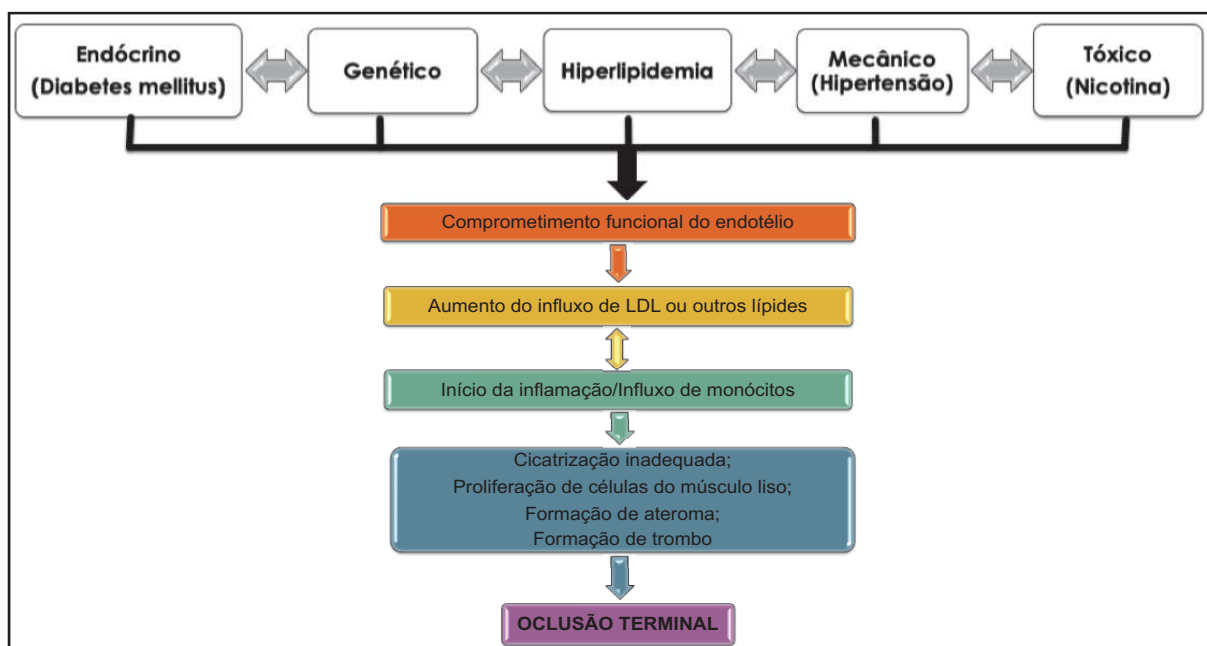


Figura 2: Fatores primários na formação da lesão aterosclerótica. Fonte: Gottlieb et al. (2005), modificada.

A aterosclerose e as condições pró-aterogênicas, como hipertensão, fumo e diabetes são caracterizados por aumento da permeabilidade vascular para o LDL (KROUWER et al. 2012; NIELSEN, 1996). Yuan et al. (2014), avaliaram a extensão da aterosclerose em pacientes chineses com diabetes tipo 2, encontrando como resultado, que a hipertensão e a dislipidemia em pacientes com o diabetes do tipo 2, tem efeitos cumulativos na formação das placas de ateromas, assim, sendo necessários para pacientes com o diabetes, terem uma maior preocupação com a aterosclerose.

Também existe um conjunto de fatores de risco clássicos e emergentes que têm sido correlacionados; dentre esses fatores, existe a probabilidade de algum fator genético estar envolvido no desenvolvimento das doenças cardiovasculares, como por exemplo, a aterosclerose. Por causa disso, investimentos sintéticos têm sido aplicados no campo genético-molecular nos últimos anos (TAVARES, 2000); mas embora permaneça incerta a etiologia da aterosclerose, as evidências indicam que o evento fundamental para o início das lesões é o acúmulo de lipoproteínas derivadas do plasma na camada íntima arterial, que desencadeia reações celulares específicas, das quais a disfunção endotelial e o estado inflamatório são os elementos básicos. Mesmo que qualquer artéria possa ser afetada, os principais alvos da doença são: artéria aorta e as artérias coronárias e cerebrais, podendo causar um Acidente Vascular Cerebral (AVC), tendo como principais implicações o infarto do miocárdio, a isquemia cerebral e o aneurisma aórtico (FAVARATO; LUZ, 2004; AMARENCO et al. 1994; FUSTER, 1994).

2.2 Epidemiologia

A aterosclerose é uma doença multifatorial, lenta e progressiva; é menos prevalente nas Américas Central e do Sul, África e Ásia. Nos Estados Unidos da América (EUA), a taxa de mortalidade por cardiopatia isquêmica está entre as mais elevadas do mundo e é de aproximadamente cinco vezes maior que no Japão. No Brasil, a aterosclerose acomete com maior frequência a população adulta (HACKAM; ANAND, 2003; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2001).

No ocidente, a aterosclerose é causa principal de 50% de todas as mortes relacionadas com infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (AVC); nos países como a Groenlândia e a Islândia têm uma baixa prevalência de aterosclerose, principalmente entre os esquimós,

sugerindo uma forte relação com o estilo de vida, dieta e composição genética dos indivíduos (LUSIS, 2000; BANG, 1990; BANG et al. 1976).

As doenças cardiovasculares (DCVs) são as principais causas de mortalidade em todo o mundo com 17,3 milhões de mortes por ano, com uma estimativa de 23,6 milhões em 2030, colocando-o como uma questão relevante para o sistema de saúde pública (DALEN et al. 2014; WONG, 2014). A Doença Arterial Coronariana (DAC) é o maior contribuinte de DCVs, e a taxa de mortalidade é devido em prevalência à aterosclerose. Cerca de 50% dos pacientes, a *Angina Pectoris* é o primeiro sintoma da patologia (DALEN et al. 2014).

Por esta razão, uma informação precisa e pronta no diagnóstico em pacientes com DAC poderia melhorar o prognóstico e/ou qualidade de vida e permitir os tratamentos terapêuticos adequados (percutâneo ou revascularização miocárdica cirúrgica, terapia farmacológica). Além disso, os esforços devem ser focados na prevenção primária ou na detecção precoce de indivíduos que sofrem de doença coronariana, por conseguinte a aterosclerose, a fim de implementar estratégias terapêuticas, reduzindo a morbidade, despesas de saúde e mortalidade (SCHIANO et al. 2015; NAPOLI et al. 2006).

A principal doença representante dos processos patológicos cardiovasculares ligados ao envelhecimento é a aterosclerose, uma vez que se manifesta em indivíduos adultos, cuja incidência aumenta em um exponencial a partir dos 45 anos de idade, mas 40% nas autópsias de adultos jovens, sugeriram que o processo aterosclerótico ocorra antes dos 45 anos de idade (MCGILL Jr et al. 2000). Postulam que a aterosclerose pode iniciar na fase fetal, intra-uterina (podendo ser potencializada por hipercolesterolemia materna), progredindo lentamente na adolescência e apresentar manifestações clínicas na idade adulta (NAPOLI et al. 1997).

2.3 Componente genético

Os fatores genéticos desempenham um papel importante na fisiologia do corpo humano, uma vez que existem genes envolvidos na regulação do gasto energético, do apetite, do metabolismo lipídico, termogênese, diferenciação celular e sinergias; mais de 600 genes e regiões cromossômicas têm sido relatados por participar na regulação da sensibilidade insulínica, do peso corporal e do metabolismo energético (MUTCH; CLÉMENT, 2006; GOODPASTE et al. 2002).

Vários fatores genéticos podem estar relacionados ao risco à aterosclerose. Existem relatos que mais de 400 genes podem estar envolvidos com essa patologia, por existir relação

com a regulação da função endotelial, coagulação, inflamação, metabolismo dos aminoácidos, lipídios e hidratos de carbono. Entre eles são destacados: *CYPs*, *GSTs*, *ApoE*, *eNOS*, *Apo E*, *Apo B*, *LDLR*, *Apo A-I*, *Apo C-III*, *lipase hepática*, *proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP)* e *lipase lipoprotéica (LPL)* têm sido objeto de estudos na população em geral (FLAUZINO et al. 2014; MARINKOVIĆ et al. 2013; MARQUES e SÁ, 2011).

Eventos epigenéticos também podem estar presentes, no caso da metilação do DNA, modificações de histonas e mecanismos baseados no ácido ribonucleico (RNA); podendo estar envolvidos na patogênese da aterosclerose e/ou responsáveis por algumas das herdabilidades na aterosclerose (BACCARELLI et al. 2010; LOSCALZO; HANDY, 2014).

Estudos têm relacionado a importância dos polimorfismos genéticos com a aterosclerose e o metabolismo lipídico, ou seja, genes que codificam proteínas envolvidas na metabolização e/ou transporte dos fármacos, genes que codificam proteínas envolvidas no mecanismo de ação e/ou nas rotas metabólicas em que o fármaco atua e genes que codificam proteínas envolvidas no desenvolvimento direto da doença (mais estudado) (KITZMILLER et al. 2016; FLAUZINO et al. 2014; XAVIER et al. 2013; FIEGENBAUM; HUTZ, 2006; FRIKKE-SCHMIDT et al. 2004).

Os polimorfismos genéticos são definidos como uma variação na sequência do DNA e que apresentam uma frequência alélica igual ou superior a 1% em determinada população (BRUNTON et al. 2015). As formas mais comuns de polimorfismos genéticos são deleções, mutações, polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs do inglês *Single Nucleotide Polymorphisms*), variações no número de sequências repetidas, micro e minisatélites. No caso mais comum do SNP é gerar uma proteína inativa (KUEHL et al. 2001).

O polimorfismo de nucleotídeo único é uma variação em uma única posição na sequência do DNA e encontrada em mais de 1% da população. Muitas variações genéticas no genoma humano estão na forma de alterações de um único nucleotídeo sendo que resultam de uma mutação pontual produzindo diferenças em um único par de bases da sequência cromossômica (DERAM; VILLARES, 2012; SABINO, 2004) (Figura 3.).

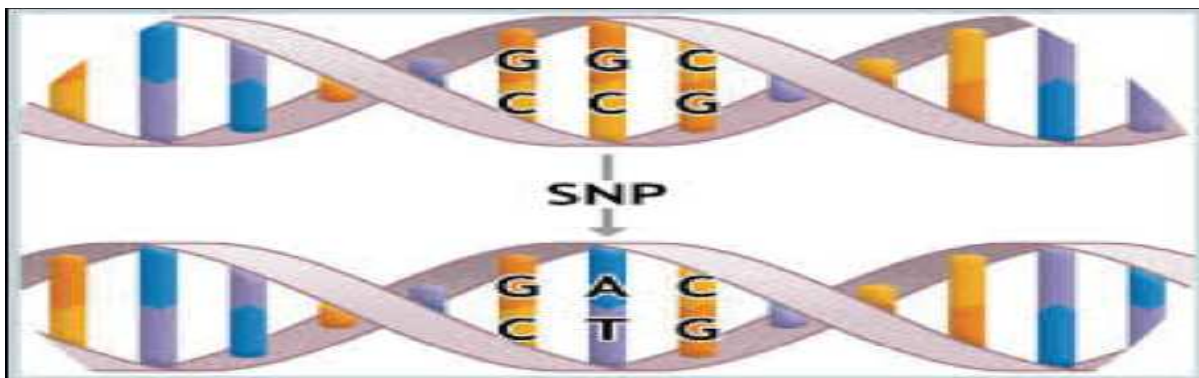


Figura 3: Esquema representativo de um SNP. Society for mucosal immunology. Disponível em: <<https://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&ved=2ahUKEwiEjsLW8KTgAhWkLLkGHSC7Bb0QjRx6BAgBEAU&url=http%3A%2F%2Fwww.socmucimm.org%2Fsingle-nucleotide-polymorphism-snp-allele-frequency-estimation-dna-pools-using-pyrosequencing%2F&psig=AOvVaw3v0K7iJxVqNBdSceYI3mua&ust=1549461549452940>>. Acessado em: 05 fev. 2019.

Os SNPs ou conhecidos também como SNV (do inglês *Single Nucleotide Variations*) são considerados marcadores que podem revelar a história evolucionária e explicar o risco adquirido geneticamente para certas enfermidades (síndrome metabólica, fatores de risco cardiovasculares, dislipidemias e diabetes), atuando também na prevenção primária, abordagem diagnóstica, tratamento e aconselhamento genético (FAREED; AFZAL, 2013; DERAM; VILLARES, 2012; SABINO, 2004).

Dado que as diferenças genéticas entre indivíduos ou populações podem afetar a eficácia das drogas; definir as diferenças farmacogenéticas é considerado como um fator importante no tratamento de doenças, resultando em uma medicina personalizada (LEE et al. 2013).

As enzimas do citocromo P450 humano (CYP), uma superfamília das proteínas do hemo-tiolato, são as enzimas mais importantes que catalisam o metabolismo da droga da fase I, envolvido no metabolismo dos medicamentos mais utilizados. Pelo menos 57 genes que codificam proteínas do citocromo P450 e 58 pseudogenes foram identificados no ano de 2004. Entre aqueles, os genes *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6* e *CYP3A5* são altamente polimórficos e contabilizam juntos cerca de 40% do metabolismo de medicamentos usados clinicamente (SIM; INGELMAN-SUNDBERG, 2010). As famílias xenobióticas que metabolizam o P450 (CYP1, CYP2 e CYP3) são expressos principalmente em tecidos expostos a produtos químicos, ambientais e alimentares (WRIGHTON; STEVENS, 1992). Consiste também em outros genes, *CYP3A4*, *CYP3A7* e *CYP3A43*, todos localizados na região de 231 kb do cromossomo 7q21.1 (GELLNER et al. 2001).

Muitas variações nos genes CYP causam alterações na função ou nível de expressão de suas enzimas que codificam, resultando em efeitos adversos severos ou resistência à

terapia. De acordo com a atividade catalítica de enzimas CYP codificadas por genes CYP de transportador, o fenótipo pode ser classificado em categorias: pobre metabolizador (PM), metabolizador intermediário (MI), metabolizador extensivo (ME) ou metabolizador ultrarrápido (MU), que só existe em portadores de genes *CYP2D6* ativos duplicados ou multiplicação. Portanto, as doses de medicação devem ser adaptadas a essas classes genóticas-fenóticas para aumentar a eficácia do fármaco e reduzir os efeitos adversos, especialmente para aqueles medicamentos com um índice terapêutico estreito (HUSTERT et al. 2001; ROY et al. 2006).

Portanto, estudos de biomarcadores são muito importantes para contribuir no diagnóstico precoce e intervenção da aterosclerose (DING et al. 2012).

2.4 O gene *CYP3A5*

O gene *CYP3A5* é o principal membro da família CYP3A expresso principalmente no fígado e intestino, sendo também expresso no rim, pulmão e leucócitos, indicando que a *CYP3A5* também age nestes tecidos (KUEHL et al. 2001).

Os citocromos P450 (CYP) são um grupo de mono-oxigenases heme-tiolato nos microssomas hepáticos, estas enzimas estão envolvidas em uma via de transporte de elétrons dependente de NADPH (fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina) que metabolizam esteroides, ácidos graxos e xenobióticos e que são facilmente eliminados do corpo; quando não eliminados, pode ser uma das causas da aterosclerose. A enzima *CYP3A5* é a mais abundante da subfamília do citocromo P450 no fígado e intestino de humanos, representando 25-30% em fígado de adultos, sendo a principal enzima do tecido pulmonar, além disso, é expressa, também, 70 a 100% no intestino delgado; aproximadamente 50% participa na metabolização de drogas; sendo que a expressão deste gene é amplamente variável entre as populações (RENDIC, 2002; SHIMADA et al. 1994).

O gene *CYP3A5* (*Online Mendelian Inheritance in Man*® [OMIM: 605325]; (HUGO *Gene Nomenclature Committee* [ID HGNC: 2638]) faz parte do citocromo P450, Família 3, Subfamília A, Membro 5 (isoforma), localizado no cromossomo 7q22.1 em que faz parte de um grupo de genes do citocromo P450 no cromossomo 7q21.1, no qual é um gene de codificação de proteínas (gene com produto proteico), a *CYP3A5* tem 502 aminoácidos (Genecards®, 2019). (Figura 4.).

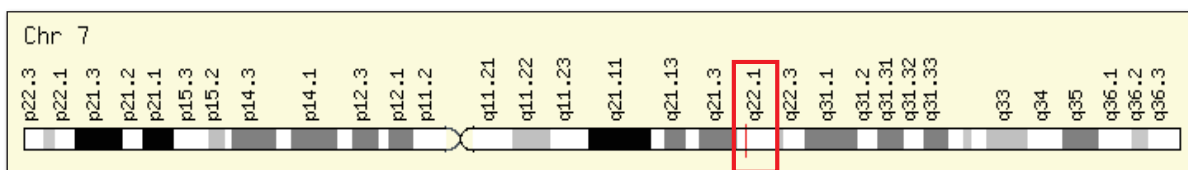


Figura 4: Localização do gene *CYP3A5* (representado em vermelho). Bandas de acordo com o Ensembl, localizações de acordo com GeneLoc. Fonte: Genecards.com.br.

As principais enzimas da 3ª subfamília do citocromo P450, *CYP3A4* e *CYP3A5*, têm a capacidade de fazer a metabolização de inúmeros compostos químicos, de quase todas as classes farmacológicas, por reações de hidroxilação, oxidação e redução; também as substâncias endógenas, como a testosterona, progesterona e androstenediona (VAUGHAN; GOTTO JÚNIOR, 2004; SIEST et al. 2003).

Os fatores genéticos, como as variações da sequência em genes que codificam enzimas metabolizadoras de drogas, transportadores de drogas e alvos de drogas, influenciam a resposta de um indivíduo a um dado fármaco (farmacocinética-farmacogenética) e representam cerca de 25-95% da variabilidade na disposição e efeitos de drogas (KALOW et al. 1998); como é uma região muito polimórfica, existem diversos polimorfismos/variações alélicas presentes, algumas menos estudadas (Tabela 1.).

Tabela 1. Alelos do gene *CYP3A5*:

Alelo	Varição nucleotídica	Efeito na proteína <i>CYP3A5</i>
1	Wild type	Função normal
*2	27289 G>T	Limitada/sem estudos
*3	6986 T>C	Perda da função
*4	14665 T>C	Limitada/sem estudos
*5	12952 A>G	Limitada/sem estudos
*6	14690 C>T	Perda da função
*7	27131_27132insA	Perda da função
*8	3699 G>A	Limitada/sem estudos
*9	19386 C>T	Limitada/sem estudos

*A função “normal” não é indicativa do fenótipo mais comum na população geral. Na maioria dos grupos étnicos, a ausência da *CYP3A5* funcional é mais frequente. Fonte: Chen; Prasad, 2018; modificada.

2.4.1 Polimorfismo *CYP3A5**3 (SNP: rs776746A>G)

O principal e o mais estudado polimorfismo, é o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) SNP: rs776746, a troca da base adenina (A) para guanina (G) na posição 6986 (A6986G) no íntron 3, com 131 pb (pares de base), sendo nomeada em *CYP3A5**3; essa

mutação A>G resulta em um erro de *splicing* no mRNA, produzindo uma proteína instável e não funcional, ou seja, estando presente e funcional ou totalmente ausente; dividido também em dois genótipos, baseados na atividade enzimática funcional, expressor e/ou pouco expressor (*CYP3A5* *1/*1 [AA], *1/*3 [AG], pacientes com atividade normal) e não expressor (*3/*3 [GG], pacientes com a atividade nula); ou seja, a variante mutante portadora do nucleotídeo G é denotada pelo alelo *3, a variante do tipo selvagem contendo o nucleotídeo A, é denotada pelo alelo *1, associada à expressão da enzima CYP3A5; mas apesar da quantidade considerável de pesquisas já feitas sobre as funções dos genes P450, poucos estudos avaliaram a relevância prática de vários fatores que regulam a expressão do P450 entre os indivíduos (CHEN; PRASAD, 2018; STAATZ et al. 2010; KUEHL et al. 2001). (Figura 5).

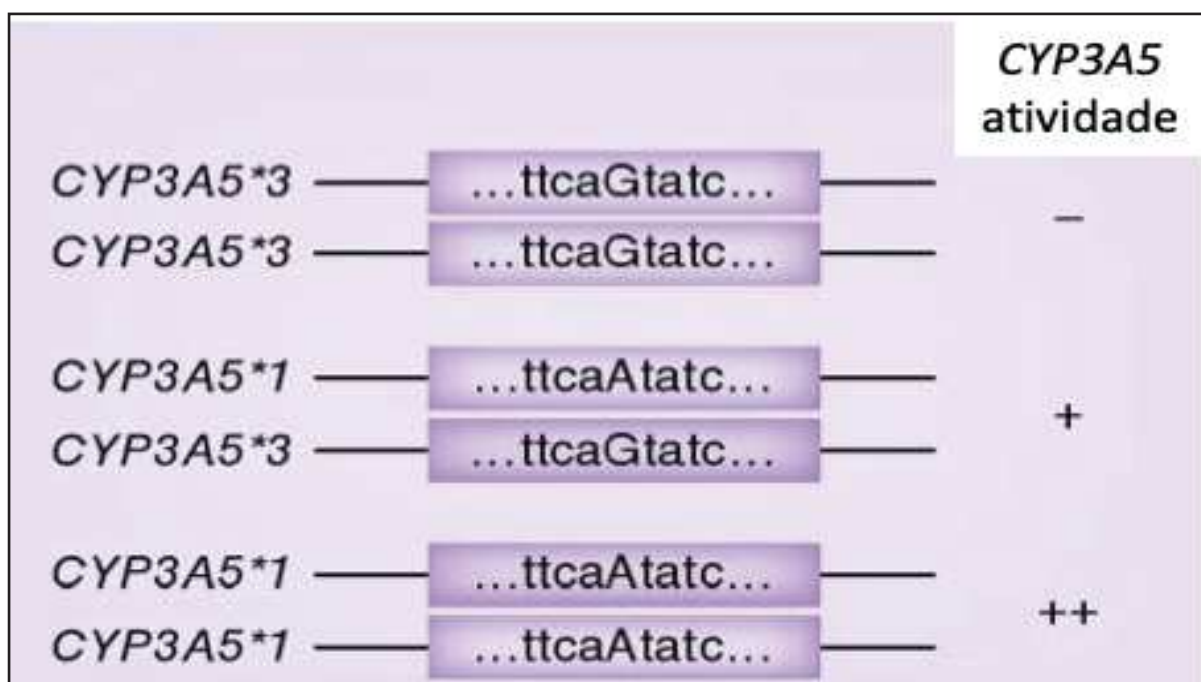


Figura 5: O gene *CYP3A5**3 mostrando a relação entre os SNPs *CYP3A5**1 e *3 e a expressão gênica. Fonte: Kransdorf; Kobashigawa, 2012, modificada.

Mais de 60% dos afro-americanos possuem o alelo *CYP3A5**1, comparado com menos de 10% de caucasianos, já outros estudos, relatam que na maioria das populações étnicas, exceto os negros, o homocigoto *3/*3 (GG) é o genótipo mais frequente. Existem diferenças nas frequências alélicas entre grupos populacionais e nos requerimentos na dosagem de drogas, contribuindo para as variações nas taxas dos metabolismos no qual o gene está envolvido, na síntese de colesterol, esteroides e outros lipídios (CHEN; PRASAD, 2018;

FREDERICKS et al. 2005; LAMBA et al. 2002; HUSTERT et al. 2001; KUEHL et al. 2001; ANDREWS et al. 1996).

No estudo de Lee et al. 2007, concluíram que indivíduos portadores do alelo *CYP3A5*11* (SNP: A3775G) prevê um menor metabolismo da CYP3A5 do que os indivíduos expressando *CYP3A5*3*; sugerindo uma proteína instável.

No estudo de Willrich et al. (2008), encontraram uma associação à redução do colesterol com o polimorfismo de um único nucleotídeo (SNP), o SNP A6986G. Associado também em pacientes que usam estatina, podendo trazer uma variabilidade de resposta na metabolização do fármaco (FIEGENBAUM, HUTZ, 2006). Além de participar da depuração de fármacos, têm sido associados a um aumento do risco dos eventos de trombose (SUH et al. 2006). Os determinantes genéticos da resposta ao fármaco, ao contrário de outros, permanecem estáveis ao longo da vida útil, sendo fundamental para um prognóstico correto da resposta ao medicamento em genótipos de variantes genéticas que contribuem para diferenças interindividuais na resposta ao fármaco (DONG et al. 2015).

Este polimorfismo (*CYP3A5*3*) foi relatado por influenciar na atividade do CYP3A, mostrando diferenças raciais em sua frequência. Para medicamentos igualmente metabolizados pela a CYP3A4 e CYP3A5, o metabolismo eficaz é a soma da CYP3A4 e CYP3A5, portanto, uma mudança substancial na atividade do *CYP3A5* pode influenciar na farmacocinética dos substratos do CYP3A, como midazolam, triazolam, nifedipina, tacrolimus e estatinas lipofílicas (KIVISTO et al. 2004; EVANS; MCLEOD, 2003; PATKI et al. 2003).

Segundo Lee et al. (2018), estudaram o polimorfismo do gene *CYP3A5*3* e do *CYP2C19* relação ao metabolismo do cilostazol, no qual encontraram uma relação à diminuição da atividade do medicamento com o polimorfismo, sendo preciso um ajuste da dose nos indivíduos para reduzir os efeitos adversos.

Também Kitzmiller et al. (2016), estudaram associações de polimorfismos em genes-chave que afetam o metabolismo da sinvastatina (*CYP3A4* e *CYP3A5*3*) e transporte (*SLCO1B1*), não encontraram associação na resposta ao colesterol nos genes *CYP3A4* e *CYP3A5*3*, somente no processo de metabolismo da sinvastatina que teve a associação dos polimorfismos dos genes ao metabolismo da droga.

A atividade da CYP3A5 varia dentro de uma determinada população étnica, sugerindo que a variação genética dentro do gene *CYP3A5* pode ser a mais importante contribuinte para diferenças interindividuais e inter-raciais no metabolismo (depuração) e resposta do fármaco dependentes de CYP3A; deficiências ocorrendo em 1 a 30% de populações, dependendo da

etnia. Relatos também de que a distribuição alélica do gene *CYP3A5* difere amplamente em populações de países industrializados e em desenvolvimento, presumindo-se devido a pressões de seleção especificadas geograficamente; no entanto, o polimorfismo genético do *CYP3A5*3* não pode explicar as diferenças interindividuais relatadas no metabolismo mediado por CYP3A (LEE et al. 2013).

Segundo Wang et al. (2016), buscaram correlações entre as variantes genéticas do *CYP3A5*3* e os principais eventos cardiovasculares adversos e a resistência aos efeitos do clopidogrel, mas não foi encontrada correlação significativa entre os polimorfismos.

Relatado também como sendo implicado na regulação da pressão arterial servindo como fator de risco potencial para o desenvolvimento de hipertensão; a CYP3A5 (6 β -hidroxilase) converte o cortisol em um metabólito, que é o 6 β -hidrocortisol (6 β -hidroxilado), também a corticosterona e a 6 β -hidroxicorticosterona, que causam a retenção de sódio e água pelos epitélios renais. Há relatos também que os efeitos do *CYP3A5*3* pode ser modificado pela ingestão de sal na dieta, alterando no sistema renina-angiotensina-aldosterona; mas sabe-se pouco sobre o seu papel nos processos fisiológicos (ZHANG et al. 2014; ZHANG et al. 2010; BOCHUD et al. 2009; HO et al. 2005; GIVENS et al. 2003; HUNT et al. 1992; WATLINGTON et al. 1992).

As variantes mais estudadas são: *CYP3A5*3* e *CYP3A5*6* porque perfazem 95% dos alelos não funcionais do *CYP3A5*. Informações dos genes *CYP3A5* e os alelos de maior importância na população brasileira, são poucos pesquisados (KOHLRAUSCH et al. 2014).

Até o momento, a maioria dos estudos sobre os polimorfismos *CYP3A5*3* foi realizada em populações de países industrializados; as distribuições das variantes genéticas da CYP3A5 em pessoas que vivem em países em desenvolvimento podem diferir das variantes em países industrializados devido à seleção dos alelos por diferentes fatores ambientais presentes nestas áreas (ROY et al. 2006; FREDERICKS et al. 2005) (Tabela 2.).

Tabela 2: Frequência do genótipo do gene *CYP3A5* em diferentes grupos étnicos:

População	<i>CYP3A5</i>		
	<i>*1/*1</i>	<i>*1/*3</i>	<i>*3/*3</i>
Oriente Médio	10/13 (76,9%)	2/13 (15,4%)	1/13 (7,7%)
Indianos	18/45 (40%)	22/45 (48,9%)	5/45 (11,1%)
Negros	4/29 (13,8%)	19/29 (65,5%)	6/29 (20,7%)
Caucasiano	109/130 (83,8%)	17/130 (13,1%)	4/130 (3,1%)
Etiópia	9/33 (27,3%)	22/33 (66,7%)	2/33 (6,1%)
No geral	156/263 (59,3%)	87/263 (33,1%)	20/263 (7,6%)

Fonte: Fredericks et al. 2005, modificada.

Suarez-Kurtz (2009), realizou um trabalho com a população do Rio de Janeiro avaliando a frequência do *CYP3A5**3, como resultado, foi encontrado três vezes maior para este alelo em pretos brasileiros (32%) do que em africanos (<10%) e foi menos comum entre os brasileiros brancos (78%) do que em europeus (>95%).

O metabolismo lipídico tem diferentes resultados sobre a influência de um polimorfismo, porém é fundamental a importância de mais estudos, assim trazendo uma prevenção de qualidade e um tratamento eficaz usando ferramentas moleculares (JESUS et al. 2016).

A biologia molecular apresenta uma grande importância no entendimento de algumas doenças, incluindo a doença arterial coronariana; no qual há estudos que sugerem as técnicas de biologia molecular para identificação de indivíduos com risco de desenvolver a aterosclerose (XAVIER et al. 2013; IZAR et al. 2004).

A necessidade de melhorar o diagnóstico e a previsão de risco levou a busca de novos marcadores na medicina cardiovascular. Dados de literatura sugerem que poderia reduzir substancialmente o número de procedimentos invasivos, aumentando a segurança dos pacientes e permitindo uma maior precisão de planejamento de possíveis opções de tratamento. Em associação com as melhorias de imagens, novas plataformas de alto rendimento investigando a proteômica, metabolômica, epigenômica e os perfis transcriptômicos, trazendo mais do que o uso de um único biomarcador, representando uma importante união para caracterizar a aterosclerose subclínica e clínica com a consequente facilitação no diagnóstico e prognosticados pacientes (INFANTE et al. 2017; LEE et al. 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Analisar o polimorfismo do gene *CYP3A5*3* em pacientes com o diagnóstico da aterosclerose e no grupo controle sem a doença.

3.2 Objetivos específicos

- Pesquisar a média da faixa etária dos grupos estudados relacionando com a aterosclerose;
- Detectar o polimorfismo do gene *CYP3A5*3* dos grupos, caso e controle;
- Verificar o genótipo mais frequente na população estudada e em relação a aterosclerose;
- Investigar possíveis associações entre os genótipos com os fatores de risco para a doença, como: sexo e hipertensão arterial.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Casuística

O projeto foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa/Sistema Nacional de Informações Sobre Ética em Pesquisas envolvendo Seres Humanos CEP/PUC Goiás. (Número: 35321614.3.0000.0037).

Foram incluídos na pesquisa pacientes maiores de 38 anos, diagnosticados com aterosclerose em tratamento medicamentoso e/ou submetidos aos procedimentos vasculares intervencionistas (angiografia) que aceitaram responder ao questionário (Anexo I) e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

O diagnóstico prévio da doença aterosclerótica foi baseado em exame clínico e confirmados através dos exames de imagem (Eco color Doppler, Angiotomografia e/ou Angiografia Digital e/ou Cine-Angiocoronariografia) indicados de acordo com a clínica de cada paciente.

Foram excluídos os pacientes menores de 38 anos e/ou que não aceitaram participar da pesquisa.

Para o grupo controle os critérios de inclusão foram indivíduos com idade superior à 38 anos, e que não apresentaram diagnóstico da doença aterosclerótica baseados em critérios clínicos (anamnese, exame clínico, ausência de sintomas, sem alterações vasculares periféricas e diagnóstico clínico-laboratorial) e/ou exames de imagem não invasivos (Eco Doppler).

Todos os pacientes responderam a um questionário (Anexo I) com dados relativos a nome, hábito de fumar, hábito de ingerir bebida alcoólica, etnia, uso de medicamentos, exames realizados e intervenção cirúrgica, bem como assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (Anexo II e Anexo III).

Foram coletadas amostras de sangue periférico de 200 pacientes (92 do sexo masculino e 108 do sexo feminino) com diagnóstico prévio de aterosclerose baseado em exame clínico e de imagem, e amostras de sangue periférico para grupo controle de 100 pacientes (53 do sexo masculino e 47 do sexo feminino) não portadores da doença.

As amostras de sangue foram coletadas no período do mês de outubro do ano de 2014 a fevereiro de 2015, de pacientes referenciados ao Serviço de Cardiologia e Cirurgia Vascular Periférica da Clínica Angiogyn, localizada no município de Goiânia-Goiás, esta que atende pacientes tanto da rede privada como pública/Sistema Único de Saúde (SUS).

As amostras de sangue periférico coletadas foram submetidas a testes moleculares a fim de verificar presença do polimorfismo do gene *CYP3A5**3. A análise genética molecular foi realizada no Núcleo de Pesquisas Replicon (NPR), da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-Goiás).

4.2 Extração de DNA genômico

Foram realizadas as extrações de DNA das amostras coletadas de sangue periférico de acordo com as instruções do kit Kaswi® (Genomic DNA Purification Kit), no Laboratório do Núcleo de Pesquisas Replicon da PUC Goiás.

Por conseguinte, foram submetidas à quantificação no espectrofotômetro NanoVue™ Plus de acordo com as instruções do fabricante, tendo relevância apenas as amostras cujo o resultado da quantificação em relação a concentração de DNA foi superior a 5ng/μl.

O DNA foi mantido à temperatura de -20°C até a amplificação pelo método de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

4.3 Reação em Cadeia da Polimerase – PCR

Após a extração do DNA as amostras foram submetidas à amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction*– PCR) para detectar o polimorfismo do gene *CYP3A5*, em capela de fluxo laminar buscando a minimização da contaminação, sendo o volume final foi de 25μL, de acordo com o protocolo proposto por Frare (2011).

A reação de cada amostra foi em duplicada, uma para amplificar o alelo do tipo *1 (selvagem) e o outro para amplificar o alelo *3 (mutante). O *primer forward* foi mantido comum para ambos os genes e dois *primers* reversos para permitir a amplificação seletiva dos alelos.

Na tabela III temos as sequências de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) utilizados para a amplificação da região.

Tabela III: Sequência nucleotídica dos *primers*:

<i>CYP3A5</i> *1	Forward primer: 5' CACTTGATGATTTACCTGCCTTC 3'	218 pb
<i>CYP3A5</i> *3	Reverse primer wild-type: 5' GGTCCAAACAGGGAAGAGATAT 3'	
	Reverse primer mutant: 5' GGTCCAAACAGGGAAGAGATAC 3'	

Fonte: Ashavaid et al. 2010.

A PCR para o gene *CYP3A5*1* e *CYP3A5*3* foi realizada contendo de concentração, 1,5 mM de cloreto de magnésio, 1,25 U/μL de cada deoxinucleotídeo trifosfato, 2,5 U/μL de *Taq* polimerase, 20 pMol de *primer* e aproximadamente 200 ng/μL de DNA genômico.

Para o protocolo de termociclagem do gene *CYP3A5*1* e *CYP3A5*3* utilizou-se 95°C por 5 minutos na primeira etapa de desnaturação, seguido de 30 ciclos de 95°C por 1 minuto, 58°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto, e uma extensão final a 72°C por 10 minutos.

O protocolo utilizado para amplificação do polimorfismo do gene *CYP3A5* alelo **1* e **3* estão especificados nas tabelas IV e V e o protocolo de termociclagem na tabela VI.

Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, em solução Tris-borato de EDTA (TBE) a 1X, em um campo elétrico de 10 V/cm.

Tabela IV: Protocolo para a amplificação do alelo selvagem *CYP3A5*1* para a PCR.

REAGENTES	CONCENTRAÇÃO UTILIZADA	VOLUME PARA 1 AMOSTRA
Tampão (10X)	1X	2,5 μL
MgCl ₂	1,5 mM	2,5 μL
dNTPs	1,25 mM de cada	0,75 μl de cada= 3,0 μL
Taq polimerase 5U/μl	2,5 U/μL	0,3 μL
Primer forward	20 pM	0,5 μL
Primer reverse wild-type	20 pM	0,5 μL
H ₂ O Mili Q	-	11,7 μL
DNA amostra	200 ng/μl	4,0 μL
Volume final		25,0 μL

Tabela V: Protocolo para a amplificação do polimorfismo *CYP3A5*3* (alelo mutante) para a PCR.

REAGENTES	CONCENTRAÇÃO UTILIZADA	VOLUME PARA 1 AMOSTRA
Tampão (10X)	1X	2,5 μL
MgCl ₂	1,5 mM	2,5 μL
dNTPs	1,25 mM de cada	0,75 μl de cada= 3,0 μL
Taq polimerase 5U/μl	2,5 U/μL	0,3 μL
Primer forward	20 pM	0,5 μL
Primer reverse mutante	20 pM	0,5 μL
H ₂ O Mili Q	-	11,7 μL
DNA amostra	200 ng/μl	4,0 μL
Volume final		25,0 μL

Tabela VI: Protocolo de termociclagem para amplificação dos *primers CYP3A5*1 e *3* para técnica de PCR.

	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Ciclos
Desnaturação inicial	95°C	5	1
Desnaturação	95°C		
Anelamento	58°C	1	30
Polimerização	72°C		
Extensão final	72°C	10	1
Armazenamento	4°C	∞	-

Os géis foram corados com brometo de etídio (5mg/mL), posteriormente visualizados no Sistema de Vídeo Documentação Gel Doc Gel Doc™ XR+ System (Figura 5.).

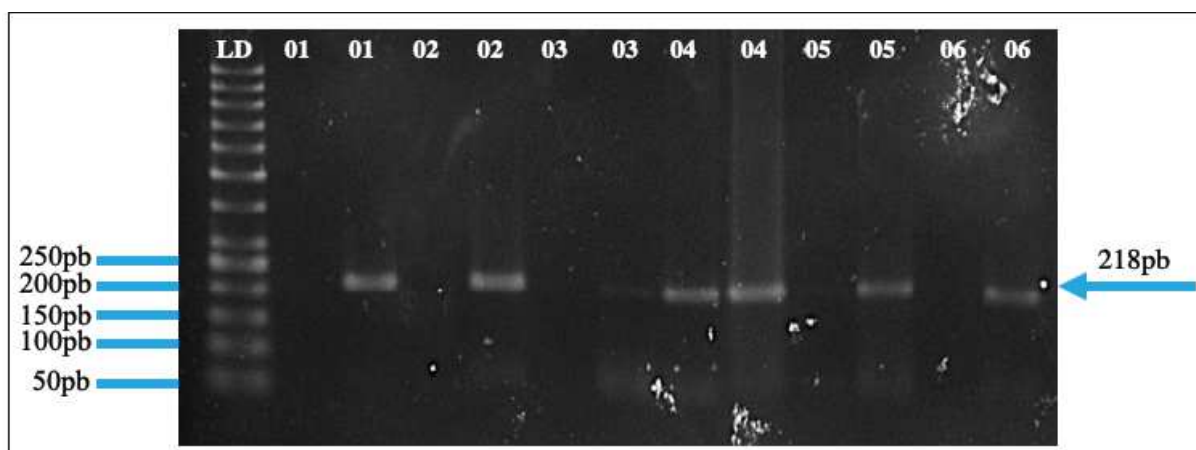


Figura 5: Gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídeo, indicando o resultado da genotipagem do polimorfismo do gene *CYP3A5* (218pb). Ladder: marcador molecular de 50pb. Amostra 01, 02 e 03: presença de uma banda do alelo **1*, representando o genótipo homocigoto *CYP3A5*1/*1*. Amostra 04: presença de duas bandas, genótipo heterocigoto *CYP3A5*1/*3*. Amostra 05 e 06: presença de uma banda do alelo **3*, genótipo homocigoto mutante *CYP3A5*3/*3*.

4.4 Análise dos dados

Os resultados do polimorfismo do gene *CYP3A5*3* foram tabulados em planilhas do *software* Microsoft Excel® (2013), constituindo um banco de dados. Posteriormente foi aplicado o Teste G para verificação de possíveis associações entre a análise molecular do polimorfismo e a aterosclerose. Estes testes estatísticos foram feitos com o auxílio do *software* BioEstat® versão 5.3 (Sociedade Civil Mamirauá/MCT-CNPq).

O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

5 RESULTADOS

O grupo caso (pacientes com aterosclerose) foi constituído por 200 indivíduos e do grupo controle (pacientes sem a doença) 100 indivíduos. A média de idade geral, encontrada nos pacientes do grupo caso foi de 61 anos, já no grupo controle foi de 50 anos.

O genótipo homocigoto (*CYP3A5**1/*1) do gene *CYP3A5* foi encontrado em 13,0% (26/200) no grupo caso e 9,0% (9/100) no grupo controle. O genótipo *CYP3A5**1/*3, no qual, um dos alelos é polimórfico (A6986G [*CYP3A5**3]), foi 81,0% (162/200) no grupo caso e de 90,0% (90/100) no grupo controle. Em relação ao genótipo *CYP3A5**3/*3 homocigoto mutante, foi 6,0% (12/200) no grupo caso e 1,0% (1/100) no grupo controle. Foi verificado que o genótipo *CYP3A5**1/*3 foi o mais prevalente em ambos os grupos e que a frequência do genótipo *CYP3A5**3/*3 foi 6 vezes maior em homocigose nos pacientes com aterosclerose quando comparado ao grupo controle, sendo esta diferença estatisticamente significativa ($p=0,0394$) (Tabela VII.).

Tabela VII: Presença genotípica do polimorfismo do gene *CYP3A5* nos grupos de caso e controle.

	*1/*1		*1/*3		*3/*3		Total		*p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Caso	26	13,0	162	81,0	12	6,0	200	100,0	0,0394
Controle	9	9,0	90	90,0	1	1,0	100	100,0	

*Teste G.

A frequência genotípica em relação ao sexo pode ser observada na tabela VIII. Os indivíduos do sexo masculino no grupo caso, foi detectado 15,2% (14/92) do genótipo *CYP3A5**1/*1, 78,3% (72/92) do genótipo *CYP3A5**1/*3 e 6,5% (6/92) *CYP3A5**3/*3. Já nos pacientes controle, foi verificado que 7,6% (4/53) apresentaram o genótipo *CYP3A5**1/*1, 92,4% (49/53) *CYP3A5**1/*3 e 0,0% (0/53) do genótipo *CYP3A5**3/*3. A frequência da presença do polimorfismo homocigótico *CYP3A5**3/*3 foi 6,5 vezes maior nos pacientes do sexo masculino com a aterosclerose, quando comparado aos do grupo controle, sendo estatisticamente significativo ($p= 0,0185$) (Tabela VIII.).

Já no sexo feminino, foi encontrado no grupo caso o genótipo *CYP3A5**1/*1 em 11,1% (12/108) dos pacientes, 83,4% (90/108) *CYP3A5**1/*3 e 5,5% do genótipo *CYP3A5**3/*3 (6/108). No grupo controle, foi observado em 10,7% (5/47) dos pacientes o genótipo *CYP3A5**1/*1, 87,2% (41/47) o genótipo *CYP3A5**1/*3 e 2,1% (1/47) com o

genótipo *CYP3A5**3/*3. A diferença entre os genótipos e os grupos estudados do sexo feminino, não foi estatisticamente significativa ($p= 0,5928$) (Tabela VIII.).

Tabela VIII: Frequência do polimorfismo do gene *CYP3A5* em relação ao sexo.

SEXO	<i>*1/*1</i>		<i>*1/*3</i>		<i>*3/*3</i>		Total		<i>*p</i>
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Masculino									
Caso	14	15,2	72	78,3	6	6,5	92	100,0	0,0185
Controle	4	7,6	49	92,4	0	0,0	53	100,0	
Feminino									
Caso	12	11,1	90	83,4	6	5,5	108	100,0	0,5928
Controle	5	10,7	41	87,2	1	2,1	47	100,0	

*Teste G.

Outra frequência genotípica analisada, foi de pacientes que apresentavam hipertensão arterial (n=166) no grupo caso com o polimorfismo *CYP3A5**3 (Tabela IX.).

Com o genótipo *CYP3A5**1/*1 foram detectados 13,8% (23/166) dos pacientes que apresentavam hipertensão arterial e 13,6% (3/22) não apresentavam a hipertensão arterial. Pacientes com o genótipo *CYP3A5**1/*3 o qual foi o mais prevalente, cerca de 79,5% (132/166) eram hipertensos e 81,9% (18/22) não eram hipertensos. No genótipo *CYP3A5**3/*3, constatou-se a presença de 6,7% (11/166) e 4,5% (1/22) não hipertensos (Tabela XI.). Nesta variável não houve um resultado estatisticamente significativo ($p= 0,9240$) da aterosclerose com a hipertensão arterial em relação ao polimorfismo (Tabela IX.).

Tabela IX: Frequências genotípicas do polimorfismo do gene *CYP3A5* em pacientes que tem hipertensão arterial do grupo caso.

	<i>*1/*1</i>		<i>*1/*3</i>		<i>*3/*3</i>		Total		<i>*p</i>
	n	%	n	%	n	%	n	%	
HIPERTENSOS	23	13,8	132	79,5	11	6,7	166	100,0	0,9240
NÃO HIPERTENSOS	3	13,6	18	81,9	1	4,5	22	100,0	
TOTAL							188**	100,0	

*Teste G.

**12 pacientes não traziam as informações relacionadas sobre a hipertensão arterial.

6 DISCUSSÃO

A aterosclerose é considerada uma doença inflamatória crônica bem como uma desordem no metabolismo lipídico (SHIBATA et al. 2015). Ela ocorre quando os monócitos migram da corrente sanguínea para a parede arterial e se transformam em células que acumulam substâncias adiposas. Esta acumulação de células forma a placa aterosclerótica, que contém no seu interior um conteúdo esponjoso composto por diversas substâncias oleosas, principalmente o colesterol. À medida que a placa cresce as artérias tornam-se cada vez mais estreitas e a placa pode sofrer ruptura. Essa ruptura desencadeia a formação de um coágulo sanguíneo que por sua vez leva à oclusão das artérias (FALK, 2006).

Existem estudos que têm relacionado a importância dos polimorfismos genéticos com a aterosclerose e o metabolismo lipídico, para diminuição dos níveis lipídios e/ou prevenção de eventos cardíacos, mas poucos relacionados ao gene *CYP3A5*. A distribuição da frequência genotípica do gene *CYP3A5*, varia nas diferentes populações mundiais (KITZMILLER et al. 2016; FLAUZINO et al. 2014; XAVIER et al. 2013; FIEGENBAUM; HUTZ, 2006; FRIKKE-SCHMIDT et al. 2004).

No estudo de Ju et al. (2017) e Cusinato (2012) que analisaram o polimorfismo *CYP3A5**3, a média de idade foi de 50 anos para pacientes com trombose venosa e transplantados. Bartova et al. (2014) e Cullinan; Seymour (2013), relatam que com o aumento da idade, ocorre o início da patogênese e estimular mais as alterações inflamatórias locais nas paredes dos vasos que podem gerar a formação de coágulos; no qual são pacientes mais propensos a infecções.

Também Boulos et al. (2016), analisaram a espessura da camada íntima-média da carótida e verificaram um aumento substancial da presença e gravidade de placa e estenose, relacionado à idade tanto em homens quanto em mulheres.

Deguenonvo et al. (2018), na população senegalesa, identificaram placas ateroscleróticas em indivíduos com mais de 45 anos de idade, ou seja, as lesões aparecem em um estágio tardio, sendo que a principalmente causa de morte é o infarto agudo do miocárdio, os indivíduos do sexo masculino tem as lesões em um estágio mais avançado, diferente das mulheres; quanto mais a idade aumenta, mais grave será o estágio evolutivo da lesão ateromatosa. Pursnani et al. (2014), confirmam uma necessidade de prevenção e modificação contínuas dos fatores de risco na população idosa, devido a uma potencialidade e de forma crescente para a aterosclerose. Lei et al. (2014), também constataram que chineses com

acidente vascular cerebral isquêmico agudo causado por aterosclerose intracraniana e/ou extracraniana nos indivíduos do sexo masculino com 50 anos de idade.

Cerca de 40% de todas as mortes ocorrem na população ativa (idade entre os 25 e os 64 anos), e que a aterosclerose está associada a distúrbios no metabolismo de lipídios, lipoproteínas e ácidos graxos, portanto em um estudo realizado na Sibéria com 30 homens a partir dos 38 anos de idade com aterosclerose, os pesquisadores observaram que os distúrbios do metabolismo lipídico na aterosclerose coronariana foram acompanhados por alterações não apenas no aspecto lipídico e nos marcadores de inflamação, mas também no equilíbrio dos ácidos graxos (POLONSKAYA et al. 2017).

Já Jones et al. (2017), observaram em Miami, 173 pacientes com histórico de doença cardiovascular e ressaltaram que a idade é associada com a placa carotídea apenas em indivíduos com sobrepeso e obesidade, mas não entre os participantes com peso ideal.

Algumas patologias são causadas por interações complexas entre vários genes e fatores ambientais. Estudando pequenas sequências de DNA, tem-se conseguido associar os polimorfismos de um único nucleotídeo à determinadas características de algumas doenças, assim, identificando alguns genes associados a uma determinada doença; sendo assim, é possível utilizá-las como marcadores genéticos (SÁ, 2011).

Fredericks e colaboradores em 2005, observaram uma maior frequência do genótipo heterozigoto ($CYP3A5^{*1/*3}$) na população da Etiópia, Negros e em Indianos. Assim como Ito et al. (2017), Ju et al. (2017) e Liu et al. (2017), estudando a população chinesa e japonesa respectivamente, verificaram uma maior frequência do genótipo $*1/*3$. Priyadharsini et al. (2014) observaram em indianos com doença arterial coronariana e uma maior frequência do genótipo $CYP3A5^{*1/*3}$, sendo que estes resultados corroboraram com nosso estudo.

No nosso estudo, a frequência genotípica $CYP3A5^{*3/*3}$ foi 6 vezes maior nos pacientes com aterosclerose, sendo estatisticamente significativa. Assim como Ramakumari et al. (2018), que observaram uma frequência genótipo $CYP3A5^{*3/*3}$ em pacientes com miopia.

Também Arya et al. (2015), viram que o genótipo $CYP3A5^{*3/*3}$, traz um aumento da agregação plaquetária em pacientes com doença arterial coronariana. No estudos de Mirzaev et al. (2018), Hokimoto et al. (2014) e Chi et al. (2014), relataram na população russa com síndrome coronariana aguda (SCA), japoneses com angina e chineses com acidente vascular isquêmico, no qual do mesmo modo, todos observaram uma maior frequência do genótipo $CYP3A5^{*3/*3}$ para estas doenças cardiovasculares e circulatórias.

Assim como nos estudos de Ramakumari et al. (2018), Krasniqi et al. (2017), Cid (2016), Vavić et al. (2016), Lesche et al. (2015), Kaur-Knudsen et al. (2014) e Simon et al. (2009), foi observado uma frequência maior do genótipo homozigoto mutante em pacientes com comorbidades, transplantados e infarto agudo do miocárdio. Também Yi et al. (2014), analisaram o polimorfismo do gene *CYP3A5*3*, observando uma maior frequência do genótipo *CYP3A5*3/*3*, e encontraram uma associação com o aumento da susceptibilidade ao acidente vascular cerebral isquêmico e com os eventos aterotrombóticos em pacientes com AVC.

Já Ikeda et al. (2018) observaram em 142 japoneses que os genótipos polimórficos do *CYP3A5* não foram associados aos eventos tromboticos.

Quando se analisou a frequência genotípica com o sexo da população desse estudo, a frequência *CYP3A5*3/*3* no sexo masculino, foi 6,5 vezes mais em homozigose mutante (*CYP3A5*3/*3*) em relação ao grupo sem a doença, sendo estatisticamente significativa. Confirmando que existe uma relação do polimorfismo *CYP3A5*3* para os indivíduos do sexo masculino com o genótipo homozigoto mutante (**3/*3*), o que não ocorreu no sexo feminino.

Maldonado et al. (2017) e Cusinato (2012) estudaram a frequência e a prevalência do *CYP3A5* nos Estados Unidos e Brasil, respectivamente e encontraram uma maior frequência do genótipo **3/*3* nos pacientes do sexo masculino.

Postula-se que o estrogênio pode ter propriedades cardioprotetoras, como resultado, os homens tendem a sofrer de infartos miocárdicos mais precocemente do que as mulheres (KANDER et al. 2016).

No estudo de O'Neal et al. (2017), verificaram que as mulheres têm menos probabilidade de desenvolver fibrilação atrial do que os homens, e esse fenômeno possivelmente está relacionado com níveis mais altos de testosterona biodisponível em homens, onde a combinação de testosterona biodisponível endógena e outros fatores de risco são importantes no desenvolvimento da fibrilação atrial em homens. O gene *CYP3A5* está envolvido no processo de metabolismo de hormônios esteroides, principalmente a testosterona, no qual há um alto índice deste hormônio nos indivíduos do sexo masculino, possivelmente podendo explicar o número elevado de pessoas do sexo masculino com doenças cardiovasculares (MADONNA et al. 2019; DEGUENONVO et al. 2018; O'NEAL et al. 2017; POLONSKAYA et al. 2017; KANDER et al. 2016).

Também no estudo de revisão de Madonna et al. (2019) e Kander et al. (2016), indicaram que o risco de doença arterial coronariana e a doença isquêmica do coração são diferentes em mulheres e homens, as mulheres tendem a ter maior sensibilidade à insulina, e

os sexos diferem nos perfis de lipoproteínas, onde essas diferenças estão relacionadas aos níveis de hormônios sexuais, que são reduzidos após a menopausa. Os estrogênios parecem afetar o estresse oxidativo, que é considerado um mecanismo-chave no início de DCV e diabetes. Mulheres antes da menopausa mostram menores níveis de estresse oxidativo do que os homens, devido às propriedades antioxidantes dos estrogênios, que modulam a expressão e níveis de enzimas anti-oxidantes; e que o estrogênio pode não ser a única razão para as diferenças entre homens e mulheres (KANDER et al. 2016).

Já Brand et al. (2013), estudaram 400 homens holandeses com aterosclerose, e chegaram na conclusão que seus resultados não tinham uma associação entre os hormônios sexuais endógenos e a aterosclerose subclínica em homens a partir de 40 anos de idade e idosos.

No nosso estudo indivíduos do sexo feminino com aterosclerose não foi significativo em relação ao polimorfismo do gene *CYP3A5*3*, assim como o resultado de Cusinato (2012). Sendo explicado através do mecanismo fisiológico feminino ser diferente com o do sexo masculino, principalmente em relação aos hormônios esteroides (progesterona) e o estrogênio (que se mantém presente até a fase da menopausa), conseqüentemente, diminuindo não só o risco para o surgimento da aterosclerose, mas também de outras doenças cardiovasculares, explicando um baixo índice neste sexo; fazendo um efeito antioxidante inibindo a aterogênese e ação anti-inflamatória. O estresse oxidativo desempenha um papel importante no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como a doença arterial coronariana e a uma variedade de doenças, incluindo diabetes mellitus, hipertensão e aterosclerose; mas em uma forma diferente para o sexo feminino e masculino, porque o nível de atividade enzimática de ambos é diferente. (KANDER et al. 2016; LEITÃO et al. 2000).

As doenças cardiovasculares são doenças que causam distúrbios no coração e vasos sanguíneos, desencadeando ataques cardíacos e derrames, sendo responsáveis pela maior taxa de morbidade e mortalidade no mundo, cerca de 17,9 milhões de pessoas todos os anos, 31% de todas as mortes globais, sendo que requerem os mais elevados custos de assistência social e econômica (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). Genes que codificam proteínas envolvidas no metabolismo de drogas e hormônios, podem contribuir para o controle da pressão arterial em humanos, como é o caso do *CYP3A5*. O SNP 6986A>G é associado à produção de proteínas instáveis e não funcionais do gene *CYP3A5*, assim indivíduos portando pelo menos um alelo *CYP3A5*1* expressam altos níveis desta enzima (GENECARDS®, 2019).

Os efeitos desse gene na pressão sanguínea parecem também ser modificados pela ingestão de sal na dieta; ou seja, alterando no metabolismo hormonal (sistema renina-angiotensina-aldosterona) e metabólico (manejo do sódio pela função renal) (BOCHUD et al. 2009). A hipertensão representa o principal fator de risco para complicações como acidente vascular encefálico (AVE), infarto agudo do miocárdio e doença renal crônica, correspondendo em importância à dislipidemia e obesidade para as doenças ateroscleróticas (MELO et al. 2007).

Em nosso estudo, foi observado que a presença do polimorfismo *CYP3A5**3/*3 em pacientes com a aterosclerose e hipertensão não foi significativa.

Assim como Willrich (2011), estudou o polimorfismo *CYP3A5**3 em 238 pacientes e observou, que não houve uma estatística significativa ($p=0,091$) em pessoas que tinham hipertensão arterial; assim como Fisher et al. (2016), que estudaram 957 pessoas indígenas da África Ocidental, e concluíram que não existe uma associação deste polimorfismo com a hipertensão arterial.

O gene *CYP3A5* em relação a algumas populações, tem demonstrado uma associação à susceptibilidade para a hipertensão arterial pela quantidade do consumo de sal e/ou atuando diretamente no sistema renina-angiotensina-aldosterona. A população brasileira faz a ingestão de uma grande quantidade de sal em sua alimentação, acima dos níveis máximos recomendados, tornando-o mais propenso para a elevação dos índices pressóricos. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o consumo de sódio não deveria ultrapassar 2,0g/dia, mas estudos mostram que os brasileiros consomem, em média, 4,7g/pessoa/dia, chegando até 12g, ou seja, mais que o dobro da recomendação (OLIVEIRA et al. 2015; SARNO et al. 2013; IBGE, 2010; BOCHUD et al. 2009).

Já Li et al. (2017) estudaram em 632 chineses a associação do *CYP3A5* com a hipertensão arterial, no qual encontraram uma diferença estatística significativa em relação ao grupo com e sem hipertensão arterial, no qual o genótipo *CYP3A5**1/*1 foi associado a um alto risco para hipertensão arterial.

Yi et al. (2014), concluíram também que o polimorfismo do gene *CYP3A5* pode aumentar o risco de hipertensão arterial, porque é um dos mais importantes riscos para o surgimento do AVC, associado também com a aterosclerose. Assim como Ju et al. (2017), que identificaram como um fator de risco a idade para o surgimento da trombose venosa.

Nos Estados Unidos, a frequência do *CYP3A5**3 é significativamente menor entre os negros, e isso poderia explicar parcialmente o aumento da pressão arterial em indivíduos de ascendência africana (COTO et al. 2010).

Além da associação do gene *CYP3A5* à susceptibilidade para a hipertensão arterial pela a quantidade do consumo de sal e/ou atuando diretamente no sistema renina-angiotensina-aldosterona, há os distúrbios da homeostase hidromineral; em consequência dos níveis da pressão arterial elevada a longo prazo, pode afetar os rins e o coração. A população brasileira faz a ingestão de uma grande quantidade de sal em sua alimentação e de alimentos industrializados, tornando-o mais propenso para a elevação dos índices pressóricos; assim sendo um fator de risco para doenças cardiovasculares (PEIXOTO, 2014; SARNO et al. 2013; BOCHUD et al. 2009). Por fim, precisando de mais estudos populacionais para um melhor esclarecimento sobre o assunto.

7 CONCLUSÃO

- A média de idade dos nossos pacientes com aterosclerose foi de 61 anos de idade.
- Houve uma maior frequência do genótipo *CYP3A5*1/*3* em ambos os grupos, observando um maior número de heterozigotos, tanto no grupo caso e controle.
- Foi verificada uma diferença significativa de 6 vezes mais do genótipo *CYP3A5*3/*3* (homozigoto mutante) no grupo com aterosclerose em relação ao grupo sem a doença.
- Em relação ao sexo, no masculino, o genótipo *CYP3A5*3/*3* foi 6,5 vezes mais frequente em relação ao grupo sem a doença, sendo estatisticamente significativo, havendo uma relação da aterosclerose com esse genótipo no sexo masculino.
- No sexo feminino não houve significância com o polimorfismo *CYP3A5*3* e aterosclerose.
- Não foi encontrada uma associação deste polimorfismo em relação aos pacientes que apresentavam hipertensão arterial e a aterosclerose.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERS, J. J., SLEE, A., O'BRIEN, K.D., et al. 2013. **Relationship of apolipoproteins A-1 and B, and lipoprotein(a) to cardiovascular outcomes: the AIM-HIGH trial (atherothrombosis intervention in metabolic syndrome with low HDL/high triglyceride and impact on global health outcomes).** *J Am Coll Cardiol*, v. 62, n. 17, p. 1575–9.
- ALVES, L., CESAR, J. A., HORTA, B. L. 2010. **Prevalência de angina pectoris em Pelotas, sul do Brasil.** *Arq. Bras. Cardiol.* vol. 95, n. 2, p. 179-185.
- AMARENCO, P., COHEN, A., TZOURIO, C., et al. 1994. **Atherosclerotic Disease of the Aortic Arch and the Risk of Ischemic Stroke.** *N Engl J Med*, 331, p. 1474-90.
- AMMIRATI, E., MORONI, F., MAGNONI, M., et al. 2015. The role of T and B cells in human atherosclerosis and atherothrombosis. **Clin Exp Immunol**, v. 179, n. 2, p. 173-87.
- ANDREWS, P. A; SEN, M; CHANG, R. W. 1996. **Racial variation in dosage requirements of tacrolimus.** *Lancet*, 348, [online]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8937292>>, disponível em: 10 de fevereiro de 2019.
- ARYA, V., MAHAJAN, P., SARAF, A. et al. 2015. **Association of CYP2C19, CYP3A5 and GPIIb/IIIa gene polymorphisms with Aspirin and Clopidogrel Resistance in a cohort of Indian patients with Coronary Artery Disease.** *International Journal of Laboratory Hematology*, v. 37, p. 809-818.
- ASHAVAID, T. F., RAJE, H. S., SHAH, B. V., et al. 2010. **Design of Allele Specific PCR for Rapid Detection of CYP3A5 (A6986G) and Mdr-1 (C3435T) Polymorphisms.** *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, v. 26, n. 1, p. 18–21.
- ATENEO, E., BARCELONA, E. S. **Diccionario de ciencias médicas Dorland.** 7 ed, Barcelona: Facultad de Ciencias Veterinarias, 1584p, 1981.
- BACCARELLI, A., TARANTINI, L., WRIGHT, R. O; et al. 2010. **Repetitive element DNA methylation and circulating endothelial and inflammation markers in the VA normative aging study.** *Epigenetics*, v. 5, n. 3, p. 222-228.
- BANG, H. O. 1990. **Dietary fish oils in the prevention and management of cardiovascular and other diseases.** *Compr Ther*, 16, p. 31-5.
- BANG, H. O., DYERBERG, J., HJOORNE, N.. 1976. **The composition of food consumed by Greenland Eskimos.** *Acta Med Scand*, 200, p. 69-73.
- BARJA, S., ACEVEDO, M., ARNAIZ, P., et al. 2009. **Marcadores de aterosclerosis temprana y síndrome metabólico en niños.** *Rev Méd Chile*, v. 137, n. 4, p. 522-30.
- BARTOVA, J., SOMMEROVA, P., LYUYA-MI, Y., et al. 2014. **Periodontitis as a Risk Factor of Atherosclerosis.** *Journal of Immunology Research*, p. 1–9.

BERENSON, G. S., WATTIGNEY, W. A., TRACY, R. E., et al. 1992. **Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (The Bogalusa Heart Study)**. *Am J Cardiol*, v. 70, n. 9, p. 851-8.

BOCHUD, M., BOVET, P., BURNIER, M., et al. 2009. **CYP3A5 and ABCB1 genes and hypertension**. *Pharmacogenomics*, v. 10, n. 3, p. 477-487.

BOULOS, N. M., GARDIN, J. M., MALIK, S., et al. 2016. **Carotid Plaque Characterization, Stenosis, and Intima-Media Thickness Accordingm to Age and Gender in a Large Registry Cohort**. *The American Journal of Cardiology*, v. 117, n. 7, p. 1185–1191.

BRAND, J. S., den Ouden, M. E. M., SCHUURMANS, M. J., et al. 2013. **Endogenous sex hormones and subclinical atherosclerosis in middle-aged and older men**. *International Journal of Cardiology*, v. 168, n. 1, p. 574–576.

BRUNTON, L. L., LAZO, J. S., PARKER, K. L. Goodman & Gilman. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 12. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2015.

CHEN, L., PRASAD, G. V. R. 2018. **CYP3A5 polymorphisms in renal transplant recipients: influence on tacrolimus treatment**. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 11, p. 23–33.

CHI, L. F., YI, X. Y., SHAO, M. J., et al. 2014. **Interaction between ALOX5AP and CYP3A5 gene variants significantly increases the risk for cerebral infarctions in Chinese**. *NeuroReport*, 25, p. 452–457.

CID, Nuria Alonso Lopes. **AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DA CYP3A5 EM INDÍDUOS DA REGIÃO CENTRO-OESTE DO BRASIL**. 2016. 65 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2016.

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*, v. 95, n. 2, p. 166-172.

COTO, E., TAVIRA, B., MARÍN, R., et al. 2010. **Functional polymorphisms in the CYP3A4, CYP3A5, and CYP21A2 genes in the risk for hypertension in pregnancy**. *Biochem Biophys Res Commun*, v. 397, n. 3, p. 576–579.

CRID. CENTER FOR RESEARCH IN INFLAMMATORY DISEASES. **A Ateroscleose**. 2014. Disponível em: <<http://crid.fmrp.usp.br/site/2014/11/04/a-aterosclerose/>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

CULLINAN, M. P., SEYMOUR, G. J. 2013. **Periodontal disease and systemic illness: will the evidence ever be enough?**. *Periodontology*, v. 62, p. 271–286.

CUSINATO, Diego Alberto Ciscato. **Associação dos polimorfismos do CYP3A5 e da PGP com a farmacocinética do tacrolimus, nefrotoxicidade aguda e rejeição do enxerto após**

transplante renal. 2012. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2012.

DALEN, J. E., ALPERT, J. S., GOLDBERG, R. J., et al. 2014. **The epidemic of the 20(th) century: coronary heart disease**. *Am J Med*, 127, p. 807-812.

DEGUENONVO, G. N. C., GAYE, A. M., THIAM, I., et al. 2018. **Athérosclérose aortique et coronarienne au Sénégal: à propos d’une série autopsique de 116 patients d’origine africaine au CHNU Aristide Le Dantec (Dakar-Sénégal)**. *Annales de Pathologie*. [online]. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.annpat.2018.06.001>>. Acessado em: 08 fev. 2019.

DERAM, S., VILLARES, S. M. F. 2012. **Genetic variants influencing effectiveness of weight loss strategies**. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia*, v. 53, n. 2, p. 129-138.

DING, S., LIANG, Y., ZHAO, M., LIANG, G., et al. 2012. **Decreased microRNA-142-3p/5p expression causes CD4+ T cell activation and B cell hyperstimulation in systemic lupus erythematosus**. *Arthritis Rheum*, v. 64, n. 9, p. 2953-2963, 2012.

DONG, Y., XIÃO, H., WANG, Q., et al. 2015. **Analysis of genetic variations in CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A5 genes using oligonucleotide microarray**. *Int J Clin Exp Med*, v. 8, n. 10, p. 18917-18926.

EVANS, W. E., MCLEOD, H. L. 2003. **Pharmacogenomics: Drug disposition, drug targets, and side effects**. *N Engl J Med*, 348, p. 538-49.

FALK, E. 2006. **Pathogenesis of Atherosclerosis**. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 47, n. 8, p. C7–C12.

FALUDI, A. A., IZAR, M. C. O., SARAIVA, J. F. K., et al. 2017. **Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017**. *Arq Bras Cardiol*, 109(2Supl.1), p. 1-76.

FAREED, M., AFZAL, M. 2013. **Single nucleotide polymorphism in genome-wide association of human population: A tool for broad spectrum service**. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 14, p. 123–134.

FAVARATO, D., LUZ, P. L. 2004. **Hipertensão e aterosclerose. Aspectos fisiopatológicos**. *Revista da Sociedade Brasileira de Hipertensão*, v. 6, n. 4, p. 126-130.

FIEGENBAUM, M., HUTZ, M. H. 2006. **Pharmacogenetic of lipid-lowering drugs**. *Medicina*, Ribeirão Preto, v. 39, n. 4, p. 543-53.

FISHER, D. L., PLANGE-RHULE, J., MORETON, M., et al. 2016. **CYP3A5 as a candidate gene for hypertension: no support from an unselected indigenous West African population**. *Journal of Human Hypertension*, v. 30, n. 12, p. 778–782.

FLAUZINO, T., ALFIERI, D. F., KALLAUR, A. P., et al. 2014. **Polimorfismos genéticos associados ao metabolismo lipídico envolvidos na fisiopatologia do acidente vascular**

encefálico isquêmico. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, Londrina, v. 35, n. 2, p. 163-180.

FRARE, Ariane Bocaletto. *Investigação dos polimorfismos GSTM1 e GSTT1 em mulheres com endometriose*. 2011. 89 f. Dissertação (Mestrado em Genética), Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Brasil, 2011.

FREDERICKS, S., MORETON, M., MacPhee, I. A. M., et al. 2005. **Genotyping cytochrome P450 3A5 using the Light Cycler.** *Ann Clin Biochem*, 42, p. 376-381.

FRIKKE-SCHMIDT, R., NORDESTGAARD, B. G., SCHNOHR, P., et al. 2004. **Single nucleotide polymorphism in the low-density lipoprotein receptor is associated with a threefold risk of stroke. A case-control and prospective study.** *Eur Heart J*, v. 25, n. 11, p. 943-51.

FUSTER, V. 1994. **Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology.** *Circulation*, 90, p. 2126-46.

GELLNER, K., EISELT, R., HUSTERT, E., et al. 2001. **Genomic organization of the human CYP3A locus: identification of a new, inducible CYP3A gene.** *Pharmacogenetics*, 11, p. 111-121.

GENECARDS. 2019. GeneCards®. Human Gene Database. **CYP3A5 Gene (Protein Coding)**. Disponível em: <<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CYP3A5&keywords=cyp3a5>>. Acessado em: 18 jan. 2019.

GIANNINI, S. D. 2000. **História natural da aterosclerose.** *Rev Soc Cardiol*, São Paulo, v. 10, n. 6, p. 677-85.

GIVENS, R. C., LIN, Y. S., DOWLING, A. L., et al. 2003. **CYP3A5 genotype predicts renal CYP3A activity and blood pressure in healthy adults.** *J Appl Physiol*, 95, p. 1297-1300.

GOODPASTE, B. H., ROBERT, R., WOLFE, R. R., et al. 2002. **Effects of Obesity on Substrate Utilization during Exercise.** *Obesity Research*, v. 10, n. 7, p. 575-584.

GOTTLIEB, M. G. V., BONARDI, G., MORIGUCHI, E. H. 2005. **Fisiopatologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose.** *Scientia Medica*, Porto Alegre, v. 15, n. 3, p. 203-207.

HACKAM, G. D., ANAND, S. S. 2003. **Emerging risk factors for atherosclerotic vascular disease: a critical review of the evidence.** *JAMA*, 290, p. 932-40.

HO, H., PINTO, A., HALL, S. D., et al. 2005. **Association between the CYP3A5 genotype and blood pressure.** *Hypertension*, 45, p. 294-298.

HOKIMOTO, S., CHITOSE, T., MIZOBE, M., et al. 2014. **Impact of CYP3A5 polymorphism on platelet reactivity at percutaneous coronary intervention and after 9 months of aspirin and clopidogrel therapy in Japanese patients with coronary artery disease.** *European Journal of Clinical Pharmacology*, v. 70, n. 6, p. 667-673.

HUNT, C. M., WATKINS, P. B., SAENGER, P., et al. 1992. **Heterogeneity of CYP3A isoforms metabolizing erythromycin and cortisol.** *Clin Pharmacol Ther*, 51, p. 18–23.

HUSTERT, E., HABERL, M., BURK, O., et al. 2001. **The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism.** *Pharmacogenetics*, v. 11, n. 9, p. 773-9.

IBGE. 2010. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: aquisição alimentar domiciliar per capita: Brasil e grandes regiões.** Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2010.

IKEDA, Y., YAMANOUCHI, J., KUMON, Y., et al. 2018. **Association of platelet response to cilostazol with clinical outcome and CYP genotype in patients with cerebral infarction.** *Thrombosis Research*, 172, p. 14–20.

INFANTE, T., FORTE, E., SCHIANO, C., et al. 2017. **An integrated approach to coronary heart disease diagnosis and clinical management.** *Am J Transl Res*, v. 9, n. 7, p. 3148-3166.

INTRONCASO, L. 2001. **HISTÓRIA NATURAL DA ATEROSCLEROSE.** *Atheros*, v. 12, n. 1, p. 27-322.

ITO, A., OKADA, Y., HASHITA, T., et al. 2017. **Sex Differences in the Blood Concentration of Tacrolimus in Systemic Lupus Erythematosus and Rheumatoid Arthritis Patients with CYP3A5*3/*3.** *Biochemical Genetics*, v. 55, n. 3, p. 268–277.

IZAR, M. C., RELVAS, W. G. M., HELFENSTEIN, T., et al. 2004. **A doença arterial coronariana sob o prisma da genética molecular / A genetic view of the coronary artery disease.** *Rev. Soc. Cardio.* Estado de São Paulo; v. 14, n. 3, p. 521-529.

JESUS, Í. C., ALLE, L. F., PERCEGONA, C. G., et al. 2016. **RELAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS GENÉTICOS, LIPÓLISE, METABOLISMO DE LIPÍDEOS E EXERCÍCIOS AERÓBIOS.** *Pensar a Prática*, Goiânia, v. 19, n. 2, p. 474-489.

JONES, D. L., RODRIGUEZ, V. J., ALCAIDE, M. L., et al. 2017. **Subclinical Atherosclerosis Among Young and Middle-Aged Adults Using Carotid Intima-Media Thickness Measurements.** *South Med J*, v. 110, n. 11, p. 733–737.

JU, S., GAO, Y., CAO, X., et al. 2017. **Association Between the Lower Extremity Deep Venous Thrombosis, the Warfarin Maintenance Dose, and CYP2C9*3, CYP2D6*10, and CYP3A5*3 Genetic Polymorphisms: A Case–Control Study.** *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, v. 21, n. 9, p. 539–546.

KALOW, W., TANG, B. K., ENDRENYI, L. 1998. **Hypothesis: comparisons of inter and intra individual variations ca substitute for twin studies in drug research.** *Pharmacogenetics*, 8, p. 283-289.

KANDER, M. C., CUI, Y., LIU, Z. 2016. **Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases.** *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, v. 21, n. 5, p. 1024–1032.

KAUR-KNUDSEN, D., BOJESEN, S. E., NORDESTGAARD, B. G. 2014. **CHRNA3 and CYP3A5*3 genotype, lung function and chronic obstructive pulmonary disease in the general population.** *Pharmacogenetics and Genomics*, v. 24, p. 220-229.

KHERA, A.V., EVERETT, B.M., CAULFIELD, M.P., et al. 2014. **Lipoprotein(a) concentrations, rosuvastatin therapy, and residual vascular risk: an analysis from the JUPITER trial (justification for the use of statins in prevention: an intervention trial evaluating rosuvastatin).** *Circulation*, v. 129, n. 6, p. 635-42.

KITZMILLER, J. P., LUZUM, J. A., DAUKI, A., et al. 2016. **Candidate-Gene Study of Functional Polymorphisms in SLCO1B1 and CYP3A4/5 and the Cholesterol-Lowering Response to Simvastatin.** *Clin Transl Sci*, v. 10, n. 3, p. 1-6.

KIVISTO, K. T., NIEMI, M., SCHAEFFELER, E., et al. 2004. **Lipid-lowering response to statins is affected by CYP3A5 polymorphism.** *Pharmacogenetics*, 14, p. 523-5.

KOHLRAUSCH, F. B., CARRACEDO, Á., HUTZ, M. H. 2014. **Characterization of CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms in South Brazilians.** *Molecular Biological Reports*, v. 41, n. 3, p. 1453-60.

KRANSDORF, E. P., KOBASHIGAWA, J. A. 2012. **Genetic and Genomic Approaches to the Detection of Heart Transplant Rejection.** *Personalized Medicine*, v. 9, n. 7., p. 693-705.

KRASNIQI, V., DIMOVSKI, A., BYTYQI, H. Q., et al. 2017. **Genetic polymorphisms of CYP2C9, CYP2C19, and CYP3A5 in Kosovar population.** *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, v. 68, n. 3, p. 180-184.

KRONENBERG, F., UTERMANN, G. 2013. **Lipoprotein(a): resurrected by genetics.** *J Intern Med*, v. 273, n. 1, p. 6-30.

KROUWER, V. J., HEKKING, L. H., LANGELAAR-MAKKINJE, M., et al. 2012. **Endothelial cell senescence is associated with disrupted cell-cell junctions and increased monolayer permeability.** *Vasc Cell*, v. 4, n. 1, p. 1-12.

KUEHL, P., ZHANG, J., LIN, Y., et al. 2001. **Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression.** *Nature Genetics*, v. 27, n. 4, p.383-91.

KUMAR, Vinay, ABBAS, Abul. K., FAUSTO, Nelson., et al. **Bases Patológicas das Doenças.** Elsevier, Rio de Janeiro, 2005.

KUNSCH, C., MEDFORD, M. R. 1999. **Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature.** *Circ Res*, 85, p. 753-66.

LAMBA, J. K., LIN, Y. S., SCHUETZ, E. G., et al. 2002. **Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism.** *Adv Drug Deliv Rev*, 54, p. 1271-94.

- LEE, H., BYEON, J., KIM, Y., et al. 2018. **Effects of *CYP2C19* and *CYP3A5* genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of cilostazol and its active metabolites.** *Eur J Clin Pharmacol*, v. 74, n. 11, p. 1-10.
- LEE, S. J., CHEONG, H. S., KIM, L. H., et al. 2013. **Screening of Genetic Polymorphisms of *CYP3A4* and *CYP3A5* Genes.** *Korean J Physiol Pharmacol*, v. 17, p. 479– 484.
- LEE, S. J., van der Heiden, I. P., GOLDSTEIN, J. A., et al. 2007. **A new *CYP3A5* variant, *CYP3A5*11*, is shown to be defective in nifedipine metabolism in a recombinant cDNA expression system.** *Drug Metab Dispos*, v 35, n. 1, p. 67-71.
- LEI, C., WU, B., LIU, M., et al. 2014. **Risk Factors and Clinical Outcomes Associated with Intracranial and Extracranial Atherosclerotic Stenosis Acute Ischemic Stroke.** *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, v. 23, n. 5, p. 1112–1117.
- LEITÃO, M. B., LAZZOLI, J. K., OLIVEIRA, M. A. B., et al. 2000. **Posicionamento Oficial da Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte: atividade física e saúde na mulher.** *Rev Bras Med Esporte*, v. 6, n. 6, p. 215-220.
- LESCHÉ, D., SIGURDARDOTTIR, V., SETOUD, R., et al. 2015. **Influence of *CYP3A5* genetic variation on everolimus maintenance dosing after cardiac transplantation.** *Clin Transplant*, v. 29, p. 1213-1220.
- LI, Z., CHEN, P., ZHOU, T., et al. 2017. **Association between *CYP3A5* genotypes with hypertension in Chinese Han population: A case-control study.** *Clinical and Experimental Hypertension*, v. 39, n. 3, 235-240.
- LIBBY, P. 2002. **Inflammation in atherosclerosis.** *Nature*, 420, p. 868-74.
- LIBBY, P. 2013. **Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy.** *N Engl J Med*, v. 368, n. 21, p. 2004-13.
- LIU, Y., ZHANG, T., ZHANG, X., et al. 2017. **A new donors' *CYP3A5* and recipients' *CYP3A4* cluster predicting tacrolimus disposition, and new-onset hypertension in Chinese liver transplant patients.** *Oncotarget*, v. 8, n. 41, p. 70250-70261.
- LOCATELLI, E. C., PELIZZARI, S., SCAPINI, K. B., et al. 2009. **Exercícios físicos na doença arterial obstrutiva periférica.** *J Vasc Bras*, v. 8, n. 3, p. 247-54.
- LOSCALZO, J., HANDY, D. E. 2014. **Epigenetic modifications: basic mechanisms and role in cardiovascular disease (2013 Grover Conference series).** *Pulm Circ*, v. 4, n. 2, p. 169-174.
- LUSIS, A. J. 2000. **Atherosclerosis.** *Nature*, 407, p. 233-41.
- MACRUZ, R. 1976. **Dor cardíaca.** *Sarvier*, São Paulo, 1.
- MADONNA, R; BALISTRERI, C; DE ROSA, S; et al. 2019. **Impact of Sex Differences and Diabetes on Coronary Atherosclerosis and Ischemic Heart Disease.** *Journal of Clinical Medicine*, v. 8, n. 1, p. 1-18.

MALDONADO, A. Q., ASEMPA, T., HUDSON, S., et al. 2017. **Prevalence of CYP3A5 Genomic Variations and Their Impact on Tacrolimus Dosing Requirements among Kidney Transplant Recipients in Eastern North Carolina.** *Pharmacotherapy. The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, v. 37, n. 9, p. 1081–1088.

MARINKOVIĆ, N., PAŠALIĆ, D., POTOCKI, S. 2013. **Os polimorfismos de genes envolvidos na biotransformação de aterosclerose e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos.** *Biochemia Medica*, v. 23, n. 3, p. 255-265.

MARQUES E SÁ, Ana Carolina. *O papel dos polimorfismos genéticos na doença cardíaca isquêmica*. 2011. 36 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina) – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto, Portugal, 2011.

MARTELLI, A.. 20014. **Aspectos fisiopatológicos da aterosclerose e a atividade física regular como método não farmacológico no seu controle.** *Revista Saúde e Desenvolvimento Humano*, v. 2, n. 1, p. 41-52.

MELO, S. E. S. F. C., YUGAR-TOLEDO, J. C., COCA, A. P., et al. 2007. **Hipertensão arterial, aterosclerose e inflamação: o endotélio como órgão-alvo.** *Rev Bras Hipertens*, v.14, n. 4, p. 234-238.

MIRZAEV, K., RYTKIN, E., RYZHIKOVA, K., et al. 2018. **The ABCB1, CYP2C19, CYP3A5 and CYP4F2 genetic polymorphisms and platelet reactivity in the early phases of acute coronary syndromes.** *Drug Metabolism and Personalized Therapy*, v. 33, n. 3, p. 109-118.

MUTCH, D.M., CLÉMENT, K. 2006. **Genetics of human obesity.** *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 20, n. 4, p. 647-664.

NAPOLI, C., D'ARMIENTO, P. F., MANCINI, P. F., et al. 1997. **Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions.** *J Clin Invest*, 100, p. 2680-90.

NAPOLI, C., LERMAN, L. O., NIGRIS, F., et al. 2006. **Rethinking primary prevention of atherosclerosis-related diseases.** *Circulation*, 114, p. 2517-2527.

NICOLLETTI, A., CALIGIURI, G., HANSSON, G. K. 2000. **Immunomodulation of atherosclerosis: myth and reality.** *J Intern Med*, 247, p. 397-405.

NIELSEN, L. B. 1996. **Transfer of low density lipoprotein into the arterial wall and risk of atherosclerosis.** *Atherosclerosis*, 123, p. 1–15.

NORDESTGAARD, B. G., CHAPMAN, M. J., HUMPHRIES, S. E., et al. 2013. **Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status.** *Eur Heart J*, v. 31, n. 23, p. 2844–53.

O'NEAL, W. T., NAZARIAN, S., ALONSO, A., et al. 2017. **Sex hormones and the risk of atrial fibrillation: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA).** *Endocrine*, v. 58, n. 1, p. 91–96.

OLIVEIRA, M. M., MALTA, D. C., SANTOS, M. A. S., et al. 2015. **Consumo elevado de sal autorreferido em adultos: dados da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013.** *Epidemiol. Serv. Saúde*, v. 24, n. 2, p. 249-256.

PARPINELLI, E. P., CAMPIOLO, G. M. G. 2010. **PREVALÊNCIA DE FATORES DE RISCO PARA DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS (DCNT) ENTRE PROFESSORES DA REDE PÚBLICA ESTADUAL DE ENSINO DA ZONA OESTE DE LONDRINA, PARANÁ,** *Terra e Cultura*, n. 51, p. 15-25.

PATKI, K. C., VON MOLTKE, L. L., GREENBLATT, D. J. 2003. **In vitro metabolism of midazolam, triazolam, nifedipine, and testosterone by human liver microsomes and recombinant cytochromes P450: role of CYP3A4 and CYP3A5.** *Drug Metab Dispos*, 31, p. 938-44.

PEIXOTO, Débora Cristina de Souza. **FATORES DE RISCO PARA HIPERTENSÃO ARTERIAL INSERIDOS NO ESTILO DE VIDA DA POPULAÇÃO: Uma revisão bibliográfica.** 2014. 18 f. Monografia (Especialização em Linhas de Cuidado em Enfermagem – Opção Doenças Crônicas não Transmissíveis) - Departamento de Enfermagem, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 2014.

POLONSKAYA, Y. V., SHRAMKO, V. S., MOROZOV, S. V., CHERNYAK, E. I., CHERNYAVSKY, A. M., RAGINO, Y. I. 2017. **Balance of Fatty Acids and Their Correlations with Parameters of Lipid Metabolism and Markers of Inflammation in Men with Coronary Atherosclerosis.** *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, v. 164, n. 1, p. 33–35.

PRIYADHARSINI, R., SHEWADE, D. G., SUBRAJA, K., et al. 2014. **Single nucleotide polymorphism of CYP3A5*3 contributes to clopidogrel resistance in coronary artery disease patients among TAMILIAN population.** *Molecular Biology Reports*, v. 41, n. 11, p. 7265–7271.

PURSNANI, S., DIENER-WEST, M., SHARRETT, A. R. 2014. **The effect of aging on the association between coronary heart disease risk factors and carotid intima media thickness: An analysis of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) cohort.** *Atherosclerosis*, v. 233, n. 2, p.441–446.

RAMAKUMARI, N., INDUMATHI, B., KATKAM, S. K., KUTALA, V. K. 2018. **Impact of pharmacogenetics on statin-induced myopathy in South-Indian subjects.** *Indian Heart Journal* [online]. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0019483218302827>>. Disponível em: 12 de fevereiro de 2019.

RENDIC, S. 2002. **SUMMARY OF INFORMATION ON HUMAN CYP ENZYMES: human P450 metabolism data.** *Drug metabolism reviews*, v. 34, n. 1 e 2, p. 83-448.

- ROSS, R. 1999. **Atherosclerosis--an inflammatory disease**. *N Engl J Med*, v. 340, n. 2, p. 115-26.
- ROY, J. N., BARAMA, A., POIRIER, C., et al. 2006. **Cyp3A4, Cyp3A5, and MDR-1 genetic influences on tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant recipients**. *Pharmacogenetics and Genomics*, v. 6, n. 9, p. 659–665.
- SÁ, Sandra Marisa da Silva de. *Importância dos polimorfismos do metabolismo da Serotonina e da Catecol O- metiltransferase na suscetibilidade para a Diabetes Mellitus tipo 2*. [Dissertação de mestrado], Universidade de Lisboa, 2011.
- SABINO, Adriano de Paula. *Eventos trombóticos venosos e arteriais: Importância de fatores genéticos predisponentes e hiperhomocisteinemia*. 2004. Defesa de monografia: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 2004.
- SARNO, F., CLARO, R. M., LEVY, R. B., et al. 2013. **Estimativa de consumo de sódio pela população brasileira, 2008-2009**. *Revista de Saúde Pública*, v. 47, n. 3, p. 571–578.
- SCHIANO, C., VIETRI, M. T., GRIMALDI, V., et al. 2015. **Epigenetic-related therapeutic challenges in cardiovascular disease**. *Trends Pharmacol Sci*, 36, p. 226-235.
- SHARMA, K., BALIGA, R. R. 2017. **Genetics of Dyslipidemia and Ischemic Heart Disease**. *Curr Cardiol Rep*, v. 19, n. 46, p. 1-10.
- SHIBATA, M. A., SHIBATA, E., FUJIOKA, S., et al. 2015. **Atherosclerosis in Apolipoprotein E-knockout Mice as a Model of Human Disease**. *Austin J Cardiovasc Dis Atherosclerosis*, v. 2, n. 1, p. 1011-1012.
- SIEST, G., FERRARI, L., ACCAOUI, M. J. 2003. **Pharmacogenomics of Drugs Affecting the Cardiovascular System**. *Clin Chem Lab Med*, v. 41, n. 4, p. 590-599.
- SIM, S. C., INGELMAN-SUNDBERG, M. 2010. **The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature website: A peer- reviewed database of CYP variants and their associated effects**. *Human Genomics*, v. 4. n. 4. p. 278–281.
- SIMON, T., VERSTUYFT, C., MARY-KRAUSE, M. 2009. **Genetic Determinants of Response to Clopidogrel and Cardiovascular Events**. *N Engl Med*, v. 360, n. 4, p. 363-375.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. 2001. **III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose do departamento de aterosclerose da SBC**. *Arq Bras Cardiol*. 77(supl. 3), p. 1-48.
- STAATZ, C. E., GOODMAN, L. K., TETT, S. E. 2010. **Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part I**. *Clin Pharmacokinet*, Auckland, v. 49, n. 3, p. 141-175.
- SUAREZ-KURTZ, G. 2009. **Farmacogenômica e a diversidade genética da população brasileira**. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 25, n. 8, Rio de Janeiro.

- SUH, J. W., KOO, B. K., ZHANG, S. Y. et al. 2006. **Increased risk of atherothrombotic events associated with cytochrome P450 3A5 polymorphism in patients taking clopidogrel.** *CMAJ*, 174, p. 1715–22.
- TAVARES, A. 2000. **Polimorfismos dos genes do sistema reninaangiotensina-aldosterona e as moléstias cardiovasculares.** *Rev Bras Hipertens*, 3, p. 237-42.
- VAUGHAN, C. J., GOTTO JÚNIOR, A. M. 2004. **Update on statins: 2003.** *Circulation*, 110, p. 886-92.
- VAVIĆ, N., RANČIĆ, N., CIKOTA-ALEKSIĆ, B. et al. 2016. **The distribution of genetic polymorphism of CYP3A5, CYP3A4 and ABCB1 in patients subjected to renal transplantation.** *Vojnosanit Pregl*, v. 73, n. 7, p. 663-7, 2016.
- WANG, Y., WANG, C., ZHANG, J. 2016. **Association between CYP3A5 polymorphisms and the risk of adverse events in patients undergoing clopidogrel therapy: Meta-analysis.** *Thrombosis Research*, 147, p. 1–6.
- WATLINGTON, C. O., KRAMER, L. B., SCHUETZ, E. G., et al. 1992. **Corticosterone 6 beta-hydroxylation correlates with blood pressure in spontaneously hypertensive rats.** *Am J Physiol*, 262, p. F927–F931.
- WILLEIT, P., KIECHL, S., KRONENBERG, F., et al. 2014. **Discrimination and net reclassification of cardiovascular risk with lipoprotein(a): prospective 15-year outcomes in the Bruneck study.** *J Am Coll Cardiol*, v. 64, n. 9, p. 851–60.
- WILLIAN, R., HAZZARD, W. R. 1989. **Atherosclerosis and aging: a scenario in flux.** *Am J Cardiol.*, 63, p. 20H-24H.
- WILLRICH, Maria Alice Vieira. *Efeitos de hipolipemiantes sobre a expressão de CYP3A4 e CYP3A5 in vitro e in vivo.* 2011. 174 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Toxicologia), Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- WILLRICH, M. A., HIRATA, M. H., GENVIGIR, F. D. V., et al. 2008. **CYP3A5*3A allele is associated with reduced lowering-lipid response to atorvastatin in individuals with hypercholesterolemia.** *Clinica Chimica Acta*, 398, p. 15–20.
- WONG, N. D. 2014. **Epidemiological studies of CHD and the evolution of preventive cardiology.** *Nat Rev Cardiol*, 11, p. 276-289.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cardiovascular disease.** World Heart Day. Disponível em: < https://www.who.int/cardiovascular_diseases/world-heart-day/en/>. Acessado em: 03 fev. 2019.
- WRIGHTON, S.A; STEVENS, J.C. 1992. **Crit. Rev. Toxicol**, 22, p. 1-21.
- XAVIER, H. T., IZAR, M. C., FARIA NETO, J. R. 2013. **V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose.** *Arq Bras Cardiol*, v. 101, n. 4, p. 1-20.

YI, X., ZHANG, B., WANG, C. 2014. **Genetic Polymorphisms of *ALOX5AP* and *CYP3A5* Increase Susceptibility to Ischemic Stroke and are Associated with Atherothrombotic Events in Stroke Patients.** *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, v. 24, n. 3, p. 521-529.

YUAN, C., LAI, C. W. K., CHAN, L. W. C. 2014. **Cumulative Effects of Hypertension, Dyslipidemia, and Chronic Kidney Disease on Carotid Atherosclerosis in Chinese Patients with Type 2 Diabetes Mellitus.** *Journal of Diabetes Research*, v. 2014, p. 1-7.

ZHANG, L., MIYAKI, K., WANG, W., et al. 2010. ***CYP3A5* polymorphism and sensitivity of blood pressure to dietary salt in Japanese men.** *J Hum Hypertens*, 24, p. 345–350.

ZHANG, Y. P., ZUO, X-C., HUANG, Z-J., et al. 2014. ***CYP3A5* polymorphism, amlodipine and hypertension.** *Journal of Human Hypertension*, 28, p. 145–149.

ZHU, W., HUANG, X., HE, J., et al. 2005. **Arterial intima-media thickening and endothelial dysfunction in obese Chinese children.** *Eur J Pediatr*, v. 164, n. 6, p. 337-44.

ANEXOS

ANEXO I:

QUESTIONÁRIO

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

3. 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**_____
TRATAMENTO CLÍNICO: SIM() NÃO()

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

HIPERHOMOCISTEINEMIA() IRC () DIALÍTICO (___)

D. ISQ. CORONARIANA () IAM()___/____ AVE()___/____

OUTRAS:_____

MEDICAMENTOS EM USO:_____

**EXAMES REALIZADOS: ECO DOPPLER ARTERIAL PERIFÉRICO()
ARTERIOGRAFIA () ANGIOTOMOGRAFIA() 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
INTERVEÇÃO () APÓS INTERVENÇÃO ()**

OBSERVAÇÕES:

ANEXO II:

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – GRUPO CASO

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 JOSÉ VITOR MAGALHÃES MARTINS, 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 **Profa. Dra. Katia Karina Verolli de Oliveira Moura**, no telefone: **62-3946-1385** ou através do e-mail 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 no meio da pesquisa o seu atendimento terá continuidade normal.

II. A pesquisa consiste na análise laboratorial de amostras de sangue para diferentes variações genéticas que podem estar relacionados a alterações vasculares.

III. O objetivo da pesquisa é a detecção de variações genéticas bem como a criação de um painel com estas variações para detecção de pacientes com alto risco de desenvolver a doença.

IV. As amostras de sangue periférico coletadas serão analisadas para verificar a presença das variações genéticas. Os critérios de inclusão são: pacientes maiores de 38 anos, diagnosticados com aterosclerose em tratamento medicamentoso e/ou submetidos aos procedimentos vasculares como a angioplastia e o cateterismo, que aceitem responder à entrevista 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 mínimos aos participantes, estando relacionadas a acidentes biológicos e/ou complicações no local da coleta que poderá ficar dolorido, avermelhado ou arroxado. Mas, caso ocorra qualquer intercorrência o paciente será encaminhado à Rede Goiana de Pesquisa de Marcadores Moleculares para Alterações Genéticas Humanas, no Núcleo de Pesquisas Replicon da PUC-GOIAS.

VI. Os resultados da pesquisa serão enviados para você e permanecerão confidenciais. Caso o resultado seja positivo para alguma variação genética, você será informado pelo Médico responsável, que já atua no diagnóstico e tratamento desses 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 apenas e tão somente para fins de pesquisa, além de autorizar, pelo presente, que os testes e os resultados sejam utilizados em estudos científicos, publicação de artigos, ressaltando o sigilo quanto ao meu nome, reservando-me o direito de conhecer ou não os resultados da referida pesquisa, o material após os 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 periférico, 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 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

ANEXO III:

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - GRUPO CONTROLE

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

Meu nome é JOSÉ VITOR MAGALHÃES MARTINS, sou o pesquisador (a) responsável, mestrando em genética. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, este documento deverá ser assinado em duas vias, sendo a primeira de guarda e confidencialidade do Pesquisador (a) responsável e a segunda ficará sob sua responsabilidade para quaisquer fins. Em caso de recusa, você não será penalizado (a) de forma alguma.

Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com o (a) pesquisador (a) responsável **Profa. Dra. Katia Karina Verolli de Oliveira Moura** no telefone: **62-3946-1385** ou através do e-mail 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 está 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 análise de diferentes variações genéticas que podem estar relacionados com alterações vasculares.

III. O objetivo do estudo é a detecção de variações genéticas bem como a criação de um painel com estas variações para detecção de pacientes com alto risco de desenvolver a doença.

IV. As amostras de sangue periférico do grupo controle coletadas serão submetidas a testes de sangue, para verificar a ausência das variações genéticas. Para o grupo controle os critérios de

inclusão serão idade superior a 38 anos, e que não apresentem diagnóstico de doença aterosclerótica baseados em resultados de exames de imagem. Os de exclusão são os 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 mínimos aos participantes, estando relacionadas a acidentes biológicos e/ou complicações no local da coleta que poderá ficar dolorido, avermelhado ou arroxeadado. Mas, caso ocorra qualquer intercorrência o paciente será encaminhado à Rede Goiana de Pesquisa de Marcadores Moleculares para Alterações Genéticas Humanas, no Núcleo de Pesquisas Replicon da PUC-GOIAS.

VI. Os resultados da pesquisa serão enviados para você e permanecerão confidenciais. Caso o resultado seja positivo para algum polimorfismo, você será informado pelo Médico responsável, que já atua no diagnóstico e tratamento desses 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 apenas e tão somente para fins de pesquisa, além de autorizar, pelo presente, que os testes e os resultados sejam utilizados em estudos científicos, publicação de artigos, ressaltando o sigilo quanto ao meu nome, reservando-me o direito de conhecer ou não os resultados da referida pesquisa, o material após os 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 periférico, 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. Fica 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