



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

AUGUSTO FERREIRA CORREIA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE A DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA E
POLIMORFISMOS NOS GENES ATTRACTIN-LIKE 1 PROTEIN (RS 180706) E
KINESIN-LIKE PROTEIN 6 (RS 20455)**

Recife
2018

AUGUSTO FERREIRA CORREIA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE A DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA E
POLIMORFISMOS NOS GENES ATTRACTIN-LIKE 1 PROTEIN (RS 180706) E
KINESIN-LIKE PROTEIN 6 (RS 20455)**

Dissertação apresentada ao Programa de pós-graduação em Inovação Terapêutica do Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em inovação terapêutica.

Área de concentração: Cardiologia Clínica e Genética Médica.

Orientador: Prof. Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira.

Coorientador: Prof. Dr. Luydson Richardson Silva Vasconcelos.

Recife

2018

Catálogo na fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia - CRB-4/1788

Correia, Augusto Ferreira

Associação entre a doença arterial coronariana e polimorfismos nos genes Atractin-Like1Protein (RS 180706) e Kinesin Like Protein 6 (RS 20455) / Augusto Ferreira Correia. – 2018.

72 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira.

Coorientador: Prof. Dr. Luydson Richardson Silva Vasconcelos.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica, Recife, 2018.

Inclui referências e apêndices.

1. Coração – Doenças. 2. Artérias coronárias. 3. Polimorfismo (Genética). I. Oliveira, Dinaldo Cavalcanti de (Orientador). II. Vasconcelos, Luydson Richardson Silva (Coorientador). III. Título.

616.123

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2018 – 448

AUGUSTO FERREIRA CORREIA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE A DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA E
POLIMORFISMOS NOS GENES ATTRACTIN-LIKE 1 PROTEIN (RS 180706) E
KINESIN-LIKE PROTEIN 6 (RS 20455)**

Dissertação apresentada ao Programa de pós-graduação em Inovação Terapêutica do Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em inovação terapêutica.

Aprovada em: 31/08/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Viviane de Araújo Gouveia (Externa)
Universidade Federal de Pernambuco - Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão.

Profa. Dra. Emmanuelle Tenório Albuquerque Madruga Godoi (Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

A Deus, por ser o guia da minha jornada nesse plano.

À minha família, pelo amor incondicional de todos os dias.

Aos meus pacientes, motivo de uma vida de esforços e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Ao bom Deus, por me guardar em todos os momentos da minha vida.

À minha família, pela força e apoio de sempre.

À minha amada Natielle, alicerce da minha vida.

À amiga Viviane Gouveia, por compartilhar suas experiências, além de tantos momentos de alegria.

Ao professor, orientador e amigo de todas as horas, Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira, que acreditou e me incentivou a persistir nessa jornada.

Aos estimados Staffs da Residência de Clínica Médica do Real Hospital Português de Beneficência.

Aos companheiros de trabalho do Hospital Ilha do Leite e do Hospital da Restauração, por acreditar nas nossas idéias.

Aos alunos de graduação, que nos auxiliaram no decorrer da pesquisa e desenvolveram seus projetos de iniciação científica.

Aos professores e funcionários do PPGIT/UFPE, pelo suporte imprescindível durante o curso, em especial ao amigo Paulo Germano.

Aos pacientes, motivo do nosso estudo.

RESUMO

A doença cardiovascular (DCV) é considerada a principal causa de mortalidade em todo o mundo. Nesse sentido, a identificação de características genéticas relacionadas doença arterial coronariana (DAC) tem sido estudada. Em algumas populações a presença do polimorfismo do gene *Kinesin-like protein 6 (KIF6)* (rs 20455) correlaciona-se com um risco cardiovascular aumentado, porém dados da literatura são conflitantes. Postula-se que, em modelos animais, o gene *Attractin-like 1 protein (ATRNL1)* esteja correlacionado ao equilíbrio energético e à homeostase, entretanto não existem informações sobre a influência do polimorfismo ATRL1 (rs180706) em seres humanos. Apesar de as análises genéticas e as suas associações com a DAC serem amplamente estudadas a nível mundial, dados referentes à população brasileira são escassos. O objetivo do estudo foi avaliar as associações entre polimorfismos nos genes ATRNL1 (rs 180706) e KIF6 (rs 20455) e a doença arterial coronariana. Consistiu em um estudo transversal, prospectivo, descritivo e analítico, realizado de novembro de 2017 a junho de 2018. Foram avaliados 404 indivíduos (204 com DAC e 200 controles sadios). O percentual de homens nos grupos doença e controle foi 58,8% x 20,0% ($p = 0,001$), respectivamente. A média de idade foi $61,99 \pm 11,2$ x $38,61 \pm 11,6$ anos ($p < 0,001$) nos doentes versus controles. As variáveis clínicas mais frequentes no grupo doença foram: Hipertensão arterial sistêmica (HAS) (75,5%), Diabetes Melitus (DM) (41,2%), obesidade (23,5%), infarto agudo do miocárdio (IAM) (13,7%), dislipidemia (13,2%), angioplastia transluminal percutânea (ATC) prévia (7,8%), tabagismo (5,4%), cinecoronariografia (Cine) prévia (4,4%), acidente vascular cerebral (AVC) (3,4%) e passado de cirurgia cardíaca (3,4%). No polimorfismo ATRLN1 (rs 180706) o genótipo nos doentes foi CC (49,5%), AC (42,6%) e AA (7,8%) e nos controles: CC (37,5%), AC (48,0%) e AA (14,5%) ($p = 0,018$). Na análise da prevalência do alelo A (AA + AC) x CC, observou-se 62,5% x 50,5% nos grupos doença e controle respectivamente ($p = 0,015$). No polimorfismo KIF 6 (rs 20455) o genótipo nos doentes foi AG (50%), GG (24,5%) e AA (25,5%) e nos controles: AG (51%), GG (28,5%) e AA (20,5%). Na análise da prevalência do alelo A (AA + AG) versus GG, observou-se 75,5% x 71,5% nos grupos doença e controle respectivamente ($p > 0,05$). Não houve associação estatisticamente significativa entre as genótipos do polimorfismo ATRLN1 (rs 180706) e as variáveis clínicas estudadas. No

polimorfismo KIF6 (RS 20455) destaca-se a comparação entre os alelos agrupados (AA + AG) x GG em relação as variáveis clínicas, sendo a prevalência de pacientes com histórico de realização prévia de Cine 2,6% x 10% (p = 0,041), sem outras associações estatisticamente significativas. Ressalta-se que esse é o primeiro estudo na literatura a descrever a associação entre os polimorfismos nos genes ATRNL1 (rs 180706) e KIF6 (rs 20455) e a doença arterial coronariana. A prevalência do genótipo AA no polimorfismo do gene ATRNL1 (rs 180706) foi menor no grupo doença, quando comparada ao grupo controle. Portanto, foi gerada a hipótese da existência de um efeito protetor desse polimorfismo no desenvolvimento da DAC.

Palavras-chave: Polimorfismo. Doença arterial coronariana. *Attractin-like 1 protein*. *Kinesin-like protein 6*.

ABSTRACT

Cardiovascular disease (CVD) is considered the leading cause of mortality worldwide. In this sense, the identification of genetic characteristics related to coronary artery disease (CAD) has been studied. In some populations, the presence of Kinesin-like protein 6 (KIF6) gene polymorphism (rs 20455) correlates with an increased cardiovascular risk, but literature data are conflicting. It is postulated that, in animal models, the Attractin-like 1 protein (ATRNL1) gene is correlated to energy balance and homeostasis, however, there is no information on the influence of ATRL1 polymorphism (rs180706) in humans. Although genetic analyzes and their associations with CAD are widely studied worldwide, data on the Brazilian population are scarce. The objective of the study was to evaluate the associations between polymorphisms in ATRNL1 genes (rs 180706) and KIF6 (rs 20455) and coronary artery disease. It was a cross-sectional, prospective, descriptive and analytical study was carried out from November 2017 to June 2018. A total of 404 individuals (204 with CAD and 200 healthy controls) were evaluated. The percentage of men in the disease and control groups was 58.8% x 20.0% ($p = 0.001$), respectively. The mean age was 61.99 ± 11.2 x 38.61 ± 11.6 years ($p < 0.001$) in patients versus controls. The most frequent clinical variables in the disease group were: hypertension (75.5%), diabetes mellitus (41.2%), obesity (23.5%), acute myocardial infarction (13.7%), dyslipidemia (13.2%), prior percutaneous transluminal angioplasty (ATC) (7.8%), smoking (5.4%), previous coronary angiography (4.4%), cerebral vascular disease (stroke) (3.4%) and past cardiac surgery (3.4%). In the ATRLN1 polymorphism (rs 180706) the genotype in the patients was CC (49.5%), AC (42.6%) and AA (7.8%) and controls: CC (37.5%), AC , 0%) and AA (14.5%) ($p = 0.018$). In the analysis of the prevalence of the allele A (AA + AC) x CC, 62.5% x 50.5% were observed in the disease and control groups respectively ($p = 0.015$). In the polymorphism KIF 6 (rs 20455) the genotype in the patients was AG (50%), GG (24.5%) and AA (25.5%) and controls: GA (51%), GG) and AA (20.5%). In the analysis of the prevalence of the allele A (AA + AG) versus GG, 75.5% x 71.5% were observed in the disease and control groups respectively ($p > 0.05$). There was no statistically significant association between the genotypes of the ATRLN1 polymorphism (rs 180706) and the clinical variables studied. In the KIF6 polymorphism (RS 20455) we highlight the comparison between the grouped alleles (AA + AG) vs. GG in relation to the clinical

variables, being the prevalence of patients with a prior history of Cine (2.6% x 10% p = 0.041), without other statistically significant associations. We emphasize that this is the first study in the literature to describe the association between the polymorphisms in the ATRNL1 (rs 180706) and KIF6 (rs 20455) genes and coronary artery disease. The prevalence of the AA genotype in the ATRNL1 gene polymorphism (rs 180706) was lower in the disease group, when compared to the control group. Therefore, the hypothesis of the existence of a protective effect of this polymorphism in the development of CAD was generated.

Key words: Polymorphism. Coronary artery disease. Attractin-like 1 protein. Kinesin-like protein 6.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Características da amostra - sexo e idade.....	40
Tabela 2 –	Avaliação genotípica do polimorfismo dos genes ATRL1 (rs180706) e KIF6 (rs20455) segundo os grupos.....	41
Tabela 3 –	Sexo e idade segundo o genótipo do polimorfismo ATRL1 (rs180706) no grupo doença.	41
Tabela 4 –	Avaliação das variáveis clínicas no grupo doença segundo o genótipo do polimorfismo do gene ATRL1 (rs180706).....	42
Tabela 5 –	Sexo e idade segundo o genótipo do polimorfismo do gene ATRL1 (rs180706) no grupo doença.....	43
Tabela 6 –	Avaliação das variáveis clínicas segundo o genótipo do polimorfismo do gene ATRL1 (rs180706) no grupo doença.....	43
Tabela 7 –	Prevalência do genótipo AA no polimorfismo ATRLN1 (rs180706) no grupo doença segundo as variáveis clínicas..	44
Tabela 8 –	Sexo e idade segundo o genótipo do polimorfismo KIF6 (rs 20455) no grupo doença	45
Tabela 9 –	Avaliação das variáveis clínicas segundo o genótipo do polimorfismo KIF6 (rs 20455) no grupo doença.....	46
Tabela 10 –	Sexo e idade segundo o genótipo agrupado do polimorfismo KIF6 (rs 20455) no grupo doença	47
Tabela 11 –	Avaliação das variáveis clínicas segundo o genótipo agrupado do polimorfismo KIF6 (rs 20455) no grupo doença.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS

ABC-A1	<i>ATP-Binding Cassette A1</i>
ACD	Artéria coronária direita
ACX	Artéria circunflexa
ADA	Artéria descendente anterior
AG	Ácidos graxos
Apo	Apolipoproteínas
ATC	Angioplastia transluminal coronária
ATP	<i>Trifosfato de adenosina</i>
ATRN	Attractin protein
ATRNL1	<i>Attractin-like 1 protein</i>
AVC	Acidente vascular cerebral
CE	Células endoteliais
CEP	Comitê de ética em pesquisa
CETP	<i>Cholesteryl ester transfer protein</i>
Cine	Cinecoronariografia
DAC	Doença arterial coronariana
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
DCV	Doença cardiovascular
DLP	Dislipidemia
DM	Diabetes mellitus
DP	Artéria descendente posterior
DPP4	Dipeptidil peptidase 4
EUA	Estados Unidos da América
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
FISH	<i>Fluorescent In Situ Hybridization</i>
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL	<i>High density lipoprotein</i>
HMG-CoA	Hidroximetilglutaril Coenzima A
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IC	Insuficiência cardíaca
IDL	<i>Intermediary density lipoprotein</i>

IL-1	Interleucina-1
ITB	Índice tornozelo-braquial
KIF6	<i>Kinesin-like protein 6</i>
LDL	<i>Low density lipoprotein</i>
LP	Lipoproteínas
LPL	Lipase lipoprotéica
MC1R	Receptor da melanocortina 1
MTP	<i>Microsomal triglyceride transfer protein</i>
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
NPC1-L1	<i>Niemann-Pick C1-like 1 protein</i>
OA	Osteoartrite
PCR	Polymerase Chain Reaction
PPGIT	Programa de pós-graduação em inovação terapêutica
RLDL	Receptor específico de LDL
RMR	Região metropolitana do Recife
RNAm	RNA mensageiro
SM	Salário mínimo
SNP	Polimorfismo de um único nucleotídeo
TCE	Tronco coronariano esquerdo
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TG	Triglicerídios
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VCAM-1	<i>Vascular cell adhesion molecule1</i>
VLDL	<i>Very low density lipoprotein</i>
VP	Artéria Ventricular Posterior

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 JUSTIFICATIVA.....	15
1.2 HIPÓTESE.....	15
1.3 OBJETIVOS.....	15
1.3.1 Objetivo Geral.....	15
1.3.2 Objetivos Específicos.....	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 LIPÍDIOS - CARACTERÍSTICAS GERAIS.....	19
2.2 OS LIPÍDIOS E SUAS VIAS METABÓLICAS.....	20
2.2.1 Absorção intestinal dos lipídios e metabolismo das Lipoproteínas.....	20
2.2.2 Metabolismo e transporte reverso do colesterol.....	22
2.3 FISIOPATOLOGIA DA ATEROSCLEROSE.....	23
2.4 ASPECTOS GENÉTICOS DA DAC.....	25
2.4.1 Attractin protein (ATRNL1) e Attractin-like 1 protein (ATRNL1).....	28
2.4.2 Expressão das ATRNL1 e ATRNL1 e correlações clínicas.....	31
2.4.3 Polimorfismo Trp719Arg do gene KIF6 (rs 20455).....	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
3.1 TIPO DE ESTUDO.....	35
3.2 LOCAL DO ESTUDO.....	35
3.3 AMOSTRA.....	35
3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	35
3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	36
3.6 FLUXOGRAMA DO ESTUDO.....	36
3.7 DEFINIÇÃO DAS VARIÁVEIS.....	36
3.8 INSTRUMENTO PARA COLETA DE DADOS.....	37
3.9 PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO GENÉTICA:.....	38
3.9.1 Extração de DNA.....	38
3.9.2 Detecção dos polimorfismos.....	38
3.10 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE DADOS.....	39
3.11 PROCEDIMENTOS ÉTICOS.....	39
4 RESULTADOS.....	40
4.1 ANÁLISE DO POLIMORFISMO ATRNL1 (RS 180706) NO GRUPO DOENÇA....	41

4.2 ANÁLISE DO POLIMORFISMO KIF6 (RS 20455) NO GRUPO DOENÇA.....	45
5 DISCUSSÃO.....	49
6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	56
7 CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS.....	58
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PACIENTES ALFABETIZADO.....	68
APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PACIENTES NÃO ALFABETIZADOS.....	70
APÊNDICE C - FICHA CLÍNICA DO ESTUDO.....	72

1 INTRODUÇÃO

1.1 JUSTIFICATIVA

No cenário atual existe a necessidade da criação de novas alternativas de rastreio clínico e estimativa de risco cardiovascular na população, que sejam capazes de reunir efetividade, aplicabilidade, além de uma boa relação custo-benefício aos sistemas de saúde como o SUS.⁶⁷

Entretanto, o estabelecimento dos aspectos genéticos e a terapia gênica são fronteiras do conhecimento que estão sendo enfrentados e necessitam serem incorporadas a rotina dos sistemas de saúde.⁶⁸

Esse estudo é pioneiro em Pernambuco, uma vez que avaliou a presença dos polimorfismos nos genes da ATRNL1 (rs 180706) e KIF6 (rs 20455) em pacientes com DAC documentada e em controles saudáveis. Salientamos ainda, que em relação ao polimorfismo ATRNL1(rs 180706), esse é o primeiro estudo a avaliá-lo no cenário clínico de DAC.

Desse modo, espera-se contribuir para um melhor entendimento da DAC, fomentando a elaboração de ferramentas, capazes de modificar a história natural da doença.

1.2 HIPÓTESE

Existe associação entre o polimorfismo dos genes da ATRNL1 (rs 180706) e KIF6 (rs 20455) e a presença de aterosclerose nas artérias coronárias

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

O objetivo geral desse estudo é avaliar as associações entre polimorfismos nos genes ATRNL1 (rs 180706) e KIF6 (rs 20455) e a doença arterial coronariana.

1.3.2 Objetivos Específicos

- ◆ Avaliar a prevalência dos polimorfismos nos genes ATRNL1 (rs 180706) e KIF6 (rs 20455) na população do estudo.
- ◆ Identificar e comparar entre os pacientes com DAC e os controles, o padrão genotípico dos polimorfismos nos genes ATRNL1 (rs 180706) e KIF6 (rs 20455).
- ◆ Descrever e comparar as características do perfil clínico dos pacientes de acordo com o padrão genotípico dos polimorfismos nos genes ATRNL1 (rs 180706) e KIF6 (rs 20455).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A doença cardiovascular (DCV) é considerada a principal causa de mortalidade em todo o mundo sendo responsável por um expressivo prejuízo na qualidade de vida e produtividade da população adulta, além de gerar elevados custos com a assistência em saúde.¹

Estima-se que no Brasil, as doenças do aparelho circulatório sejam responsáveis por mais de um terço das mortes, destacando-se a doença arterial coronariana (DAC) como a que possui o maior impacto.² De acordo com dados do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS) as doenças isquêmicas do coração foram responsáveis por 242.858 internamentos no ano de 2012.³

Nos Estados Unidos da América (EUA) no final da década de 2000, a DCV foi responsável por 244,8 mortes para cada 100.000 pessoas, representando um terço de todas as causas de óbito. Isso corresponde a um gasto de 297,7 bilhões de dólares nesse período, envolvendo os custos diretos e indiretos com a DCV.⁴

Diversos fatores de risco tais como: hipertensão arterial sistêmica (HAS), Diabetes mellitus (DM), dislipidemia (DLP), idade, histórico familiar de DAC, tabagismo, obesidade, sedentarismo, são classicamente relacionados à doença aterosclerótica, ratificados por estudos epidemiológicos, como o *Seven Countries* e o *Framingham Heart Study*.^{5,6}

Tais fatores parecem levar a uma progressiva disfunção do endotélio vascular, caracterizada por alterações funcionais e espessamento endotelial, que são os pontos-chave na progressão da aterosclerose e na formação das placas de ateroma, que constituem o substrato clínico da DAC.⁷

Inúmeros ensaios clínicos foram realizados ao longo dos anos, entretanto nenhum deles foi capaz de reconhecer especificamente qual o fator de risco mais importante para desenvolvimento e prognóstico da DAC. Tal fato reforça a ideia de que ela é uma doença de etiologia complexa e multifatorial, na qual existe um sinergismo de fatores genéticos, ambientais e comportamentais, que levam ao seu surgimento e progressão.^{2,5}

Existe uma busca incessante por novas estratégias de prevenção e tratamento da DAC. A elaboração de escores baseados nos fatores de risco clássicos tem como objetivo prever a chance de um paciente desenvolver a DCV no

decorrer do tempo. Dentre eles, o escore de *Framingham* estima o risco absoluto de um indivíduo sem manifestações de aterosclerose, apresentar eventos cardiovasculares em 10 anos.

Apesar da utilização de meios como este ser de grande auxílio para guiar a decisão clínica de implementação de medidas de prevenção primária na DAC, ainda assim tais escores apresentam restrições.⁸ Ferramentas como esta apresentam importantes limitações, visto que as populações analisadas para seu desenvolvimento foram bastante homogêneas, não contando com a participação de minorias raciais e étnicas.⁹

Na atualidade, durante a abordagem clínica do paciente com DAC, preconiza-se o controle rigoroso de todos os fatores de risco ditos mutáveis, que correspondem àqueles possíveis de serem controlados através do uso de terapia farmacológica otimizada e da modificação do estilo de vida. Entretanto, a morbi-mortalidade relacionada à DAC permanece em níveis preocupantes, uma vez que as primeiras manifestações clínicas habitualmente surgem num estágio avançado da doença.⁵ Daí emerge a crescente necessidade da implementação de novos métodos que incrementem a prevenção e o tratamento das DCV.¹⁰

Novos métodos têm sido elaborados para a avaliação do risco cardiovascular, buscando avaliar a presença e a extensão da aterosclerose ainda em um estágio subclínico.¹¹

Nesse sentido destacam-se a dosagem de proteína C reativa sérica, medição do índice tornozelo-braquial (ITB), o espessamento da camada médio-intimal das artérias carótidas por avaliação ultrassonográfica, e a determinação do grau de calcificação das artérias coronárias, baseada no exame de tomografia computadorizada e elaboração do escore de cálcio coronário, que dentre tais preditores é fortemente associado à DAC.¹²

A incorporação dos novos métodos descritos à prática clínica aumentou o arsenal de ferramentas que auxiliam no diagnóstico precoce e no manejo dos pacientes com DCV. Uma consideração adicional, é que tais métodos são marcadores dos processos biológicos relacionados à DAC, diferentemente dos fatores de risco clássico, que quando mutáveis, constituem elementos diagnósticos, prognósticos e terapêuticos.⁹

Nesse contexto, o estabelecimento dos aspectos genéticos da DAC tem ganhado espaço. A elaboração de escores de risco genético podem ajudar a prever

a presença da doença, ou mesmo possibilitar novas opções de tratamento, como a terapia gênica.¹³

A identificação de características genéticas relacionadas a DLP tem sido amplamente pesquisada. Dados epidemiológicos evidenciaram que uma maior expressão do gene responsável pela proteína *cholesteryl ester transfer protein* (CETP), correlaciona-se com uma maior incidência de DCV.¹⁴

Outro ponto relevante consiste na avaliação do polimorfismo Trp719Arg do gene Kinesin-like protein 6 (KIF6) (rs 20455), que está correlacionado com a patogênese de doenças crônicas como DM, HAS e resultados cardiovasculares adversos após um infarto agudo do miocárdio (IAM) em populações de ascendência européia.¹⁵ Estudos com diferentes grupos étnicos mostraram que portadores desse alelo possuem risco aumentado para DAC.¹⁶

A despeito da análise das características genéticas das populações e as suas associações com a DCV serem amplamente estudadas a nível mundial, dados na literatura referentes à população brasileira ainda são escassos.¹⁻⁵

2.1 LIPÍDIOS - CARACTERÍSTICAS GERAIS

Os lipídios desempenham diversas funções no organismo, que vão desde a formação da estrutura celular até a produção de energia por diversas vias metabólicas. Os lípidos biologicamente mais relevantes são os fosfolípidios, o colesterol, os ácidos graxos (AG) e os triglicerídios (TG).^{10,17}

Os fosfolípidios formam a estrutura básica das membranas celulares, devido a suas características de anfotericidade, promovendo o modelo de membrana plasmática em mosaico-fluido. O colesterol, por sua vez, é precursor dos hormônios esteróides, dos ácidos biliares e da vitamina D e além disso, é constituinte das membranas celulares, atuando na fluidez destas e na ativação de enzimas.¹⁸

Os AG são classificados de acordo com número de ligações duplas em sua cadeia de carbonos. São ditos saturados, quando não existe ligação dupla entre os seus átomos de carbono, e mono ou poli-insaturados, quando existe uma ou mais ligações duplas entre seus átomos de carbono, respectivamente. Os TG são formados a partir da ligação de três AG a uma molécula de glicerol, representando uma das formas mais importantes fontes de armazenamento energético do organismo, sendo eles depositados principalmente nos tecidos adiposo e muscular.¹⁹

Apesar dos lipídios desempenharem funções vitais, devido a suas características físico-químicas, existe a necessidade da solubilização dessas substâncias, para que elas possam ser transportadas no meio aquoso do plasma sanguíneo, a fim de realizarem suas funções no organismo. Nesse contexto as lipoproteínas (LP) exercem esse papel.²⁰

As LP contêm um cerne de lipídios hidrofóbicos (TG e ésteres de colesterol), circundado por uma camada de lipídios hidrofílicos (fosfolipídios e colesterol não esterificado) e proteínas denominadas Apolipoproteínas (Apo). As Apo atuam na montagem da estrutura das LP, bem como em seu metabolismo, agindo como cofatores enzimáticos e ligantes de receptores de membrana.²¹

Existem cinco grandes classes de lipoproteínas separadas de acordo com a sua densidade relativa: os quilomícrons, as lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL, de *very low density lipoprotein*), as lipoproteínas de densidade intermediária (IDL, de *intermediary density lipoprotein*), as lipoproteínas de baixa densidade (LDL, de *low density lipoprotein*) e as lipoproteínas de alta densidade (HDL, de *high density lipoprotein*).^{21,22}

Cada classe de LP compreende uma família de partículas que variam quanto a sua densidade, tamanho e composição proteica, com Apo específicas. São, de um modo geral, subdivididas em: LP ricas em TG (maiores e menos densas) representadas pelos quilomícrons e VLDL; e as LP ricas em colesterol representadas pelo HDL e LDL.¹⁷⁻²²

2.2 OS LIPÍDIOS E SUAS VIAS METABÓLICAS

O metabolismo do lipídios pode ser dividido em três vias: intestinal, hepática e no transporte reverso do colesterol, onde cada LP e Apo irá desempenhar papéis específicos em sua regulação.¹⁰

2.2.1 Absorção intestinal dos lipídios e metabolismo das Lipoproteínas

Os TG representam a maior parte das gorduras ingeridas, sendo hidrolisados na luz intestinal por ação das lipases pancreáticas, em ácidos graxos livres, monoglicerídeos e diglicerídeos. Associado a isso, os sais biliares promovem a emulsificação, solubilizando-as e formando micelas, que facilitam a passagem lipídica,

através da borda em escova dos enterócitos. A proteína *Niemann-Pick C1-like 1* (NPC1-L1), presente na membrana apical dessas células, possibilita a movimentação do colesterol através das suas bordas em escova e facilita a absorção intestinal das demais gorduras. Os lipídios absorvidos no intestino, principalmente os AG são recrutados para a produção dos quilomícrons, que possuem a ApoB48, ApoCII e ApoE como principais componentes estruturais.^{10,23}

Na sequência, os quilomícrons são secretados para o interior do sistema linfático, alcançando a circulação através do ducto torácico. Enquanto circulam pelo organismo, os quilomícrons sofrem hidrólise pela enzima Lipase Lipoprotéica (LPL), localizada na superfície endotelial de capilares. A LPL é ativada pela ApoCII, que age como co-fator enzimático. Esse processo libera ácidos graxos, glicerol e colesterol não esterificado para serem capturados principalmente por células musculares e adipócitos. Remanescentes de quilomícrons e ácidos graxos também são capturados pelo fígado através da ação da ApoE, onde são utilizados na formação de VLDL.²²

As LP possuem ação crucial no transporte de lipídios de origem hepática para os tecidos periféricos. As moléculas de VLDL, que são semelhantes aos quilomícrons em sua composição estrutural, diferindo com relação a presença da ApoB100 como seu principal componente, são fundamentais nesse transporte.^{10,22,23}

As VLDL são ricas em TG oriundos da esterificação de AG de cadeia longa no fígado. Elas são montadas através da ação de uma proteína intracelular denominada proteína de transferência de TG microsomal (MTP, de *microsomal triglyceride transfer protein*), responsável pela transferência dos TG para a ApoB100, permitindo a formação das VLDL, que são secretadas pelos hepatócitos e liberadas na circulação periférica.¹⁰

Na circulação, de modo semelhante ao que acontece com os quilomícrons, os TG das VLDL são então hidrolisados pela LPL, tendo a ApoCII como co-fator, e liberados para os tecidos, nos quais podem ser armazenados, ou utilizados. As VLDL, gradativamente depletadas de TG, transformam-se em remanescentes, dando origem às IDL, que são removidas rapidamente do plasma. Tal processo ocorre principalmente no fígado pela ação da lipase hepática (LPLH) e da ApoE que atua como seu co-fator, dando continuidade ao processo catabólico, que resulta na formação das LDL. Além disso, as VLDL também participam do transporte reverso do colesterol. Através da ação da CETP, há a troca de TG presentes nas VLDL, por

ésteres de colesterol presentes na HDL, que resulta no transporte do colesterol da periferia para o fígado, onde será metabolizado.²⁴

A LDL é composta principalmente de colesterol, possuindo um conteúdo de TG apenas residual, com estrutura formada basicamente pela ApoB100. As moléculas de LDL são capturadas por células hepáticas ou periféricas por meio de receptores específicos de LDL (RLDL), que possibilitam a internalização do colesterol para as células.^{24,25}

A expressão dos RLDL nos hepatócitos é a principal responsável pelo nível sérico de LDL, uma vez que a expressão do receptor é inibida pela elevação do nível de colesterol produzido no hepatócito. A enzima Hidroximetilglutaril Coenzima A (HMG-CoA) redutase atua como enzima ponto chave para a síntese do colesterol no hepatócito. Assim, inibição da HMG-CoA redutase e conseqüentemente da síntese intracelular do colesterol, é o gatilho para o aumento da expressão de RLDL nos hepatócitos e uma maior depuração de LDL, IDL e VLDL circulantes.¹⁰

2.2.2 Metabolismo e transporte reverso do colesterol

No organismo humano todas as células nucleadas sintetizam o colesterol, entretanto apenas os hepatócitos e enterócitos são capazes de excretá-lo do corpo de modo efetivo, através da bile ou no lúmen intestinal. A nível hepático o colesterol é secretado diretamente na bile ou após a sua metabolização em sais biliares. O colesterol presente nas células periféricas é transportado ao fígado e intestino por meio de um transporte denominado de transporte reverso do colesterol, através das moléculas de HDL.¹⁰

O HDL é formado no fígado e no intestino, composto principalmente pelas ApoA1 e ApoAII. A ApoA1 propicia o influxo de fosfolipídios e colesterol não esterificado no seu local de origem por meio da ação do *ATP-Binding Cassette A1* (ABC-A1), que facilita a extração do colesterol da célula pelas HDL. Disso resulta a formação de molécula de HDL discóides, que recrutam porções adicionais de colesterol não esterificado a partir dos tecidos ou outras LP circulantes.²¹⁻²³

No interior da HDL ocorre o processo de esterificação do colesterol absorvido, devido a ação da enzima Lecitina- Colesterol Aciltransferase (LCAT). A ApoA-I também é cofator desta enzima. Como resultado da esterificação do colesterol, há uma migração destes para o centro da molécula de HDL, modificando o seu formato

para esférico, que confere uma maior estabilidade. Isso facilita o transporte plasmático do HDL em direção ao leito hepático, onde o colesterol será captado pelos receptores SR-B1 e posteriormente metabolizado. Essa constitui a via direta do transporte reverso do colesterol.²⁴

Alternativamente o colesterol é transportado para o leito hepático de forma indireta, pela ação da CETP, que realiza a transferência de colesterol esterificado presente nas moléculas de HDL, em troca de TG presentes nas LP que contêm ApoB, principalmente as VLDL. Isso resulta numa remodelagem do HDL no compartimento plasmático, que então enriquecido com TG, passa a constituir um substrato mais adequado para LPL hepática, que ao hidrolisar os TG, gera partículas menores de HDL.²⁵⁻²⁶

Outras ações do HDL também contribuem para a proteção do leito vascular contra a aterogênese, como a remoção de lípidos oxidados da LDL, a inibição da fixação de moléculas de adesão e monócitos ao endotélio, e a estimulação da liberação de óxido nítrico.¹⁰

2.3 FISIOPATOLOGIA DA ATEROSCLEROSE

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial, que ocorre em resposta à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibre.²⁰ Em geral, as lesões iniciais, denominadas estrias gordurosas, formam-se ainda na infância e caracterizam-se por acúmulo de colesterol em macrófagos na parede dos vasos, que progridem através de estímulos inflamatórios para a formação das placas de ateroma, que são o substrato clínico da DAC.²⁶

A parede das artérias divide-se em três camadas: adventícia (mais externa, rica em fibras e colágeno); túnica média (intermediária, formada por músculo liso e fibras elásticas); e a túnica íntima, formada por células endoteliais (CE), que compõem o lúmen dos vasos).²⁷

A formação da placa aterosclerótica inicia-se com a agressão ao endotélio vascular por diversos fatores, como a HAS e o tabagismo, que favorecem o aumento das forças de cisalhamento na parede dos vasos, ativando os mecanoreceptores presentes na superfície endotelial. Há a geração de modificações conformacionais no citoesqueleto dessas células, que induzem uma cascata de

sinalização intracelular, levando à alteração das propriedades físico-químicas e disfunção das CE.²⁸

A consequência disso é o aumento da permeabilidade da túnica íntima a diversos agentes circulantes, como as LP, principalmente LDL e o surgimento de moléculas de adesão leucocitária, que favorecem a retenção dos leucócitos no espaço subendotelial. Estes são os gatilhos para o desencadeamento dos estímulos inflamatórios crônicos, responsáveis pela progressão das lesões.²⁹

Devido a maior permeabilidade do endotélio vascular, as partículas de LDL retidas no espaço subendotelial, sofrem oxidação (LDLoxi), tornando-as imunogênicas e capazes de estimularem, juntamente com outras substâncias como a angiotensina II, a interleucina-1 (IL -1) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α), o processo de surgimento de moléculas de adesão leucocitária nas CE. Nesse sentido, o controle da DLP é fundamental, uma vez que o depósito de LP na parede arterial, ocorre de modo proporcional as suas concentrações no plasma.³⁰

As moléculas de adesão são geralmente glicoproteínas, representadas principalmente pelas P-selectinas e moléculas de adesão celular vasculares-1 (VCAM-1, de *vascular cell adhesion molecule 1*). São responsáveis pela atração de monócitos e linfócitos para o espaço subendotelial, induzidos por agentes quimiotáticos como a IL-1 e o TNF- α .^{29,30}

Os monócitos migram para o espaço subendotelial, no qual se diferenciam em macrófagos, que por sua vez, captam as LDLoxi. Os macrófagos repletos de lipídios são chamados de células espumosas e são o principal componente das estrias gordurosas, lesões macroscópicas iniciais da aterosclerose. Os linfócitos T, embora menos numerosos, mediante interação com os macrófagos, podem se diferenciar e intensificar a produção de citocinas, colaborando para a modulação do processo inflamatório local.^{10,27}

O processo inflamatório deflagrado, estimula a ativação das células da musculatura lisa dos vasos, que passam a se proliferar por ação das citocinas e da secreção de enzimas proteolíticas, capazes de degradar as fibras de colágeno e outros componentes teciduais locais.³⁰

Há um processo de migração dessas células para a túnica íntima. Lá, passam a produzir fatores de crescimento, modulando a formação de uma matriz extracelular e uma capa fibrosa rica em colágeno, que recobre a placa de ateroma e protege o seu conteúdo do meio circulante.³¹

Após o insulto inicial, a lesão aterosclerótica progride com o aumento do seu conteúdo inflamatório, secundário a componentes da matriz extracelular e à apoptose das células espumosas e das células T, gerando o chamado "núcleo necrótico". Este representa o componente da placa de ateroma situado abaixo da capa fibrosa, de carácter altamente trombogênico.³²

As placas de ateroma podem ser classificadas como estáveis ou instáveis de acordo com suas características morfológicas. As placas estáveis caracterizam-se por serem geralmente maiores e terem o predomínio de colágeno (organizado em capa fibrosa espessa), escassas células inflamatórias, núcleo lipídico necrótico de proporções menores. As placas instáveis apresentam atividade inflamatória intensa, especialmente em suas bordas laterais, com grande atividade proteolítica, núcleo lipídico necrótico proeminente e capa fibrótica tênue.²⁵

As placas de ateroma estáveis, tendem a aumentar de volume e produzir obstruções na luz dos vasos, levando a uma redução na capacidade de suprimento sanguíneo de um determinado órgão. No caso da DAC, o sintoma clássico é a angina *pectoris*, que representa o desajuste entre a oferta e demanda do fluxo sanguíneo no miocárdio, frequentemente desencadeada pelo esforço, ou mesmo durante o repouso no caso de obstruções mais severas.³⁰⁻³²

Há uma maior tendência de ruptura das placas instáveis, uma vez que elas possuem uma atividade inflamatória mais pronunciada, que estimula a ação das metaloproteinases, levando a uma maior degradação da capa fibrosa.³¹

A ruptura da capa fibrosa da placa de ateroma expõe o núcleo necrótico, além do fator tecidual, que catalisará o fator VIIa, levando à produção e à ativação de trombina e à formação de um trombo sobrejacente. Este processo, também conhecido por aterotrombose, é um dos principais determinantes das manifestações clínicas da aterosclerose, constituindo a base fisiopatológica das síndromes coronarianas agudas.³³

2.4 ASPECTOS GENÉTICOS DA DAC

A evolução da DAC é influenciada por vários fatores genéticos e ambientais.³⁴ A contribuição genética é um importante fator de risco cardiovascular, sendo inferida na prática clínica pelo relato do histórico familiar de aterosclerose coronariana.³⁵

Assim, a herança genética de um indivíduo é apontada em vários estudos como um fator de risco para as DCV tão importante quanto os fatores de risco clássico como DM, DLP, HAS e outros.³⁶

Diversas alterações genéticas relacionadas a variações séricas do nível LP vêm sendo estudadas nos últimos anos, passando a ser consideradas como determinantes da susceptibilidade do indivíduo à aterosclerose coronariana.³⁷ Níveis elevados ou diminuídos das LP podem relacionar-se a alterações genéticas em até 40 a 60% dos casos.³⁸

Avaliações gênicas, mediante técnica de Sequenciamento de Nova Geração (NGS, de *Next-Generation Sequencing*) realizadas em pacientes com história de IAM precoce (antes de 50 anos nos homens e antes 60 anos nas mulheres), determinaram a presença de variantes genéticas nos genes LDLR, APOA5 e CETP. Tal fato explica por que é frequente encontrar anormalidades lipídicas em vários membros de uma mesma família.³⁹

Estima-se que cerca de 5% dos IAM em pacientes com menos de 60 anos ocorreram devido à mutações genéticas, cifra que pode se elevar até 20% quando o evento coronariano agudo incide em indivíduos ainda mais jovens, com faixa etária inferior a 45 anos.⁴⁰

Estudos populacionais de associação genética identificaram mais de cem genes que poderiam ter um impacto direto nos níveis lipídicos. Esses genes afetam os níveis plasmáticos do colesterol total, LDL e HDL, assim como dos TG, sendo capazes de constituir fenótipos de DLP complexos.⁴¹

Os níveis aumentados dessas biomoléculas orgânicas compostas são responsáveis por aproximadamente 50% do risco atribuível ao desenvolvimento de enfermidades ateroscleróticas cardiovasculares, processo do qual também participam outros fenótipos com componente hereditário, como DM, obesidade e síndrome metabólica. Além disso, amplas investigações populacionais mostraram a associação de mutações genéticas reproduzíveis não específicas e a presença de DAC. Este indício pode contribuir para o entendimento da variação fenotípica da DAC entre os pacientes, levando em conta o número de vasos envolvidos, a localização e a severidade das lesões ateroscleróticas, sugerindo outras vias de progressão da doença, ainda pouco compreendidas.⁴²

Dentre os genes identificados em estudos prévios, encontra-se um grupo conhecido e bem caracterizado de genes responsáveis pelo desenvolvimento das

DLP monogênicas. Nesses casos, a variante em um gene único explica claramente o fenótipo.³⁹⁻⁴²

Mesmo tratando-se de patologias monogênicas, as mutações identificadas em muitos dos genes frequentemente responsáveis por essas enfermidades evidenciam importante variabilidade na expressão fenotípica e no risco associado de desenvolvimento e progressão da DCV. Isso se aplica tanto aos portadores de mutações genéticas pertencentes a uma mesma família, quanto aos casos de indivíduos que possuem uma mesma mutação, porém pertencem a diferentes populações.⁴³

Grande variabilidade fenotípica habitualmente dificulta ou retarda o diagnóstico em pacientes nos quais não é realizada a análise do perfil genético, uma vez que nessas circunstâncias, os níveis plasmáticos das LP podem se sobrepor aos observados na população geral.^{39,43}

Nesse contexto, estudos observacionais e experimentais documentaram uma forte associação positiva do níveis de LDL e uma associação inversa do HDL e o risco de DAC.⁴⁴ Por sua vez, estudos genéticos reconheceram o impacto de mutações nos níveis plasmáticos de HDL. Tal exemplo é a doença de Tânger, onde níveis muito baixos de HDL no plasma podem levar à aterosclerose coronária precoce, apesar dos níveis muito baixos de LDL. No entanto, o papel causal do HDL no desenvolvimento da aterosclerose não foi totalmente esclarecido.⁴⁵

O *Framingham Study*, descreveu o aumento no HDL como protetor para DAC.⁸ No entanto, em dois grandes ensaios clínicos randomizados, nos quais utilizaram-se inibidores da CETP (Dalcetrapib e Torcetrapib), não houve benefícios para os pacientes portadores de DAC, a despeito da substancial elevação das concentrações circulantes de HDL, demonstrando resultados paradoxais aos estudos populacionais convencionais.⁴⁶

A justificativa para esta inconsistência se ancora no fato de que a participação de variantes genéticas, como modificadoras na expressão do fenótipo, podem se associar de forma independente, sendo capazes de promover incremento ou diminuição nos níveis da lipoproteína que afetam. Logo, as interações de seus efeitos atenuam ou aumentam os níveis lipídicos, bem como o risco associado nos portadores.^{39,40}

Um melhor entendimento da contribuição das alterações genéticas dos indivíduos e suas variantes pode contribuir não só para a compreensão de suas

expressões fenotípicas, levando a um diagnóstico mais precoce, mas também na avaliação da resposta ao tratamento farmacológico desses pacientes, determinando efetividade da intervenção aplicada.⁴³

2.4.1 Attractin protein (ATRN) e Attractin-like 1 protein (ATRNL1)

A *Attractin protein* (ATRN) e a *Attractin-like 1 protein* (ATRNL1) são proteínas transmembrana tipo I, altamente similares e presentes em camundongos. Os animais mutantes nulos para a expressão da ATRN possuem um fenótipo pleiotrópico característico com a presença de uma pelagem escura, neuropatias, redução do peso corporal e da adiposidade.⁴⁷

Em modelos animais foram evidenciadas algumas formas de inibição do receptor da melanocortina 1 (MC1R), onde observou-se uma relação direta com o crescimento linear aumentado, obesidade, hiperinsulinemia e resistência à insulina, hiperglicemia e hiperleptinemia, provavelmente devido à ação inibitória nos receptores centrais de melanocortina.^{47, 48}

Nesse sentido, postula-se que mutações genéticas, que envolvam a perda de função ou a ausência da expressão da ATRN, colaborem como um estímulo indireto ao MC1R. Tal fato sugere que a ATRN esteja relacionada a numerosos processos biológicos, contribuindo para a determinação do equilíbrio energético e da homeostase.⁴⁷

De um modo geral, os camundongos mutantes, com ausência da expressão da ATRN possuem o pelo escuro, denotando um papel na troca do tipo pigmentar. Outros fenótipos presentes na mutação incluem a neurodegeneração espongiiforme (com início na vida adulta), hiperatividade, redução do peso corporal e adiposidade, supressão parcial da obesidade induzida por dieta, além de hipomielinização do sistema nervoso central e tremores.⁴⁹

Em trabalho realizado por Walker et al. em 2007, foi descrito que a ATRNL1 pode compensar a perda da ATRN quando expressa significativamente acima dos níveis endógenos, enquanto a presença de níveis normais de ATRN parece compensar totalmente a perda de ATRNL1. Isso sugere que os dois genes são primordialmente redundantes em relação a seus alvos e funções fisiológicas. Assim,

as diferenças entre os fenótipos dos mutantes únicos são explicadas por diferenças no nível de expressão em vez de padrão de expressão gênica.⁴⁷

O ortólogo humano da ATRN foi descoberto numa forma solúvel no soro humano como resultado da purificação de uma proteína com atividade semelhante a da Dipeptidil peptidase 4 (DPP4).⁴⁸ Verificou-se que a forma solúvel desta proteína é o resultado de *splicing* alternativo, sendo a ATRL, em seres humanos, uma glicoproteína sérica de 175 kDa que é rapidamente expressa em células T ativadas e liberada para o meio extracelular após 48-72 h.⁵⁰

Acredita-se que no homem a ATRN, em sua forma sérica natural, medeia a disseminação de monócitos, que se tornam o foco para o agrupamento de linfócitos T, modulando a interação entre células T e macrófagos, permitindo um meio mais rápido e mais eficaz de apresentar o antígeno.⁵⁰

Embora haja embasamento na literatura para estabelecer relações entre mutações no gene da ATRN, com a ausência da expressão dessa proteína e o desenvolvimento de um fenótipo típico, com consequências fisiológicas importantes, os mecanismos moleculares da ação dessa proteína em humanos ainda são especulativos.^{48, 50}

Ressalta-se que a análise da resposta imune *in vitro* permite que interações básicas entre células e moduladores solúveis sejam estudadas, porém as interpretações são difíceis de se estender a respostas reais *in vivo*, onde as reações ocorrem em ambientes celulares complexos com uma modificação dinâmica e constante do ambiente extracelular.⁴⁷⁻⁵⁰

Diante desse contexto a matriz extracelular desempenha um papel importante, visto que nela ocorre a interação entre as estruturas de adesão na superfície das células, direcionando a migração e *clustering* das células imunes, mediados pela ação de citocinas e agentes locais, bem como pela expressão de moléculas de adesão e proteases.⁵¹

No que se refere a regulação das vias metabólicas e energéticas nos seres humanos, sabe-se que a via de sinalização da melanocortina desempenha um papel fundamental no controle da ingestão alimentar e do peso corporal, Existem evidências convincentes de que a interrupção da sinalização da melanocortina hipotalâmica resulta em obesidade grave.⁵²

Além disso, diversas funções tem sido atribuídas aos peptídios de melanocortina (α , β e γ), que atuam como hormônios de estimulação da via

melanocítica, englobando a melanogênese, esteroidogênese, função sexual e inflamação, assim como a regulação do apetite e homeostase da energia.⁵³

Essas ações são mediadas por uma família de cinco receptores de melanocortinas (MCRs: MC1R-MC5R), que são expressos de uma maneira específica nos tecidos. Várias linhas de evidências genéticas indicam que a sinalização através do MC4R exerce uma influência inibitória no apetite e, portanto, no desenvolvimento da obesidade.⁵²

A suspensão da sinalização através do MC4R, seja por supressão do gene que codifica o próprio MC4R ou por super expressão ectópica de antagonistas, também causa obesidade severa. Em camundongos que são homocigotos para uma supressão direcionada de seu gene MC4R, exibem uma síndrome caracterizada por obesidade severa, hiperfagia, hiperinsulinemia, hiperglicemia e aumento do crescimento linear, sem anormalidades do sistema reprodutivo.^{52, 53}

Nos seres humanos as mutações no MC4R respondem por até 6% dos casos de obesidade grave de início precoce, sendo a maioria das mutações encontrada na forma heterocigótica. Notavelmente, a atividade de receptores mutantes avaliados em ensaios *in vitro* pode ser correlacionada com o apetite dos indivíduos portadores das mutações.⁵⁴

Apesar das descobertas, ainda há pouca informação publicada sobre proteínas que interagem com receptores de melanocortina, sendo uma delas a ATRL. Foi evidenciado, em modelos animais, que as mutações que prejudicam a função da ATRL associam-se à obesidade, indicando que a ATRL pode modular a função tanto do MC1R quanto do MC4R.⁵²

Em camundongos, a maioria das proteínas que interagem com as proteínas G transmembrana, são citosólicas. No entanto, a ATRL é uma proteína transmembrana de tipo 1, que parece atuar como um co-receptor para as vias endógenas inibitórias de MCRs, sendo o seu mecanismo de interação com os MCRs ainda não totalmente elucidado.⁵²

A compreensão dessa via metabólica em seres humanos, torna-se ainda mais complexa, visto que existem diferentes isoformas das ATRL, caracterizadas por modificações específicas na cauda C terminal dessas moléculas, de modo que elas são secretadas para o meio extra celular, ao invés de se apresentarem como proteínas transmembrana. Assim, mais estudos são necessários para um melhor entendimento do assunto.⁵²⁻⁵⁴

Pouco se sabe sobre o papel da ATRNL1 no desenvolvimento humano, no entanto, em camundongos, a expressão de ATRNL1 é observada em altos níveis no cérebro, rins, coração, pulmão e fígado, e em baixos níveis no baço, músculo esquelético e testículos. No cérebro, os transcritos de ATRNL1 são mais abundantes no giro denteado, nas regiões do hipocampo e na *taenia ventral tecta*.⁴⁷

Nos modelos animais, o ATRNL1 ao interagir com o MC4R, contribui para sinalização das vias da homeostase energética. Curiosamente, os mutantes de rato ATRNL1 não exibem um fenótipo no estado homozigótico, possivelmente devido à redundância funcional entre ATRNL1 e ATRN.⁴⁷

2.4.2 Expressão das ATRN e ATRNL1 e correlações clínicas

Existem poucos relatos na literatura sobre a associação de mutações relacionadas ao gene de ATRL e sua apresentação fenotípica em seres humanos, sendo esses achados mais consistentes quando se tratam de modelos animais.

Stark e col. fizeram em 2010 a primeira descrição de uma deleção no gene ATRNL1 heterozigoto em humanos. O relato foi em uma criança do sexo masculino, fruto de uma gestação gemelar concebida através de fertilização *in vitro*, cujos pais não são consanguíneos e a irmã gêmea é saudável.⁵⁵

No caso descrito a deleção heterozigótica *de novo* de 325 kb na banda cromossômica 10q25.3 incluindo ATRNL1 foi demonstrada utilizando o microarranjo de polimorfismos de um único nucleotídeo (SNP) e confirmada por análise de *Fluorescent In Situ Hybridization* (FISH). Nenhuma mutação foi detectada na cópia não suprimida de ATRNL1, sugerindo que o fenótipo observado é o resultado da haploinsuficiência de ATRNL1.⁵⁵

Essa criança foi acompanhada ao longo de 4 anos, onde foram observados problemas relacionados ao desenvolvimento neuropsicomotor associados ao diagnóstico de autismo. Além disso a criança possuía um comunicação interventricular e características faciais dismórficas notadas desde o período neonatal, que compreendiam a testa proeminente, pregas epicânticas, sobrancelhas arqueadas incomuns, ptose leve, boca pequena e orelhas pequenas e quadradas, juntamente com sindactilia e limitação de pronação e supinação dos cotovelos, sem evidência de outras anormalidades esqueléticas.⁵⁵

O paciente descrito compartilha algumas características chave com os camundongos mutantes de ATRL, incluindo um comprometimento neurológico e crescimento pós-natal relativamente lento, sugerindo que a ATRNL1 pode desempenhar um papel extenso no desenvolvimento humano.^{47, 55}

Em paralelo, as ATRNL1 têm sido identificadas em outros contextos clínicos. Um estudo realizado por Balakrishnan e col. avaliou o líquido sinovial de pacientes com Osteoartrite (OA) na tentativa de identificar marcadores específicos que possam ajudar no diagnóstico precoce, monitorar a progressão da doença e melhorar os resultados terapêuticos. Nesse trabalho foi empregada uma abordagem proteômica multifacetada, que incluiu múltiplas estratégias de fracionamento seguido por análise de espectrometria de massa de alta resolução para explorar o proteoma do líquido sinovial obtido desses pacientes.⁵⁶

Foram identificadas 677 proteínas do líquido sinovial de pacientes com OA, das quais 545 proteínas não foram relatadas anteriormente. Entre as novas proteínas descobertas estava presente a ATRN. Desse modo, acredita-se que haja uma correlação entre a presença dessas proteínas com a inflamação e a fisiopatologia da OA, especulando-se a atuação destas como biomarcadores.⁵⁶

No que se refere a atuação das ATRN e ATRLN1 na fisiopatologia da DAC, ainda não foram desenvolvidos estudos que comprovem uma associação direta entre a expressão gênica dessa proteína ou seus níveis séricos circulantes. Existe a necessidade de um melhor entendimento da ação das atratinas nas vias de sinalização inflamatória em seres humanos, para que sejam propostas novas estratégias que visem o reconhecimento novos biomarcadores, que auxiliem na prevenção, na detecção precoce e no tratamento da DAC.

2.4.3 Polimorfismo Trp719Arg do gene KIF6 (rs 20455)

Nos últimos anos, estudos de análise genética identificaram vários *locus* e variantes fortemente associadas à DCV. No entanto, mais de 95% das variantes genéticas que influenciam no risco de desenvolvimento de doenças do aparelho circulatório permanecem desconhecidas e justificam a sua maior investigação.⁵⁵ O gene KIF6 emerge nesse contexto, uma vez que foi identificado como um preditor de risco cardiovascular em alguns grupos étnicos.⁵⁷⁻⁵⁹

O KIF6 codifica uma proteína que é um membro de uma família de motores moleculares envolvidos no transporte intracelular de complexos proteicos, organelas citoplasmáticas e RNA mensageiro (RNAm) ao longo dos filamentos de microtúbulos, em um processo dependente do trifosfato de adenosina (ATP). Este gene abrange uma região genômica de cerca de 390 mil pares de bases no cromossomo 6p21, sendo expresso em diversos tipos de células e tecidos, incluindo artérias coronárias e células vasculares.⁶⁰

Mecanicamente, a estrutura da proteína KIF6 consiste em um domínio motor e um domínio caudal. O domínio do motor pode impulsionar a quinesina ao longo dos microtúbulos de maneira dependente do ATP. O domínio caudal não se liga às suas cargas, como organelas de membrana, complexos de proteínas e RNAm.⁶¹ O Trp719Arg está localizado em uma estrutura de bobina enrolada no domínio caudal. Esta variante faz com que um resíduo básico de arginina seja substituído por um resíduo de triptofano não polar, afetando a ligação da carga da cinesina. A estimativa de risco cardiovascular mais elevado para portadores desse defeito pode indicar que existe uma diferença funcional entre heterodímeros e homodímeros da proteína KIF6, possivelmente porque os heterodímeros Arg- Trp diferem dos homodímeros Arg-Arg e Trp-Trp em relação a sua estabilidade e/ou na capacidade de transporte.⁶²

Grandes estudos prospectivos e analíticos tipo caso-controle relataram a associação do polimorfismo de nucleotídeo único Trp719Arg do gene KIF6 com a elevação do risco cardiovascular. Foram descritos incrementos de até 50% no desenvolvimento da DCV nos portadores dessa mutação em comparação com não portadores, no entanto esses achados ainda são discrepantes.⁶³

A associação entre o polimorfismo Trp719Arg e o aumento do risco de DCV foram flagrados em alguns ensaios clínicos, como o *Cholesterol and Recurrent Events (CARE)* e o *Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS)*.⁶¹ Além disso, achados semelhantes também foram obtidos em relatórios prospectivos que abrangem um amplo espectro de populações, tais quais o *Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC)* e o *Women's Health Study (WHS)*.⁶⁴

Existem evidências de que os portadores do polimorfismo Trp719Arg7 podem ter melhores efeitos terapêuticos com o uso de estatinas, tanto no que diz respeito a uma maior redução dos níveis sérico de LDL, quanto à modulação da resposta inflamatória, trombogênese e função vasomotora arterial. Apesar desses dados, ainda não foi estabelecida esta correlação de maneira estatisticamente significativa

em todas as populações estudadas, de modo que existem diferentes espectros de apresentações fenotípicas, de acordo com grupos étnicos envolvidos.⁶⁵

Observa-se a variação na frequência do alelo de 719Arg, entre homens e mulheres, e em indivíduos de etnias diferentes. Existe uma maior presença da mutação referida em mulheres, principalmente caucasianas.⁶⁶ A taxa do alelo mutante em controles saudáveis é muito inferior em europeus e japoneses. Já em controles saudáveis da África subsaariana, a frequência desta mutação é bastante elevada. Entre os estudos caso-controle com expressiva diversidade étnica dos participantes, mesmo quando o total de participantes foi grande, não se conseguiu replicar a associação da mutação 719Arg no aumento do risco cardiovascular.⁶⁰⁻⁶⁴

Os resultados conflitantes poderiam ser explicados pelo viés de sobrevivência e interação medicamentosa, que pode atenuar as comparações entre os casos e os controles, ou até mesmo pela falta de efeito na mutação genética na fisiopatologia da doença aterosclerótica em certos grupos étnicos.^{63,64}

Em meta-análise realizada em 2012 por Peng et al., foram analisados dados de mais de 143 mil indivíduos, onde evidenciou-se que a presença do alelo 719Arg foi um fator de risco de cardiovascular em caucasianos, mas seus efeitos sobre as DCV podem variar em outras populações étnicas. Além disso, tal estudo também indicou que a terapia com estatinas pode beneficiar seletivamente pacientes portadores da mutação.⁶³ Outra meta-análise realizada em 2015 por Ruiz-ramos et al. demonstrou que o polimorfismo Trp719Arg do gene KIF6 é um fator de risco importante para o desenvolvimento do IAM.⁶⁴

Apesar da análise das características genéticas das populações e as suas associações com a DCV serem amplamente estudadas mundialmente, os dados na literatura referentes presença do polimorfismo Trp719Arg do gene KIF6 na população brasileira ainda são escassos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal, prospectivo, descritivo e analítico.

3.2 LOCAL DO ESTUDO

- ◆ Hospital Ilha do Leite: hospital terciário, localizado na cidade do Recife-PE, onde foram recrutados os pacientes.
- ◆ Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) - Pernambuco / Instituto Aggeu Magalhães (IAM), onde as amostras de sangue conduzidas aos ensaios de genotipagem. As amostras de material biológico foram compostas de 10 ml de sangue periférico.

3.3 AMOSTRA

Pesquisa desenvolvida com um total (n) de 404 participantes, subdivididos em dois grupos:

- ◆ Grupo I: Composto por 204 pacientes com necessidade de estratificação de risco cardiovascular invasivo, com a realização de cinecoronariografia (Cine).
- ◆ Grupo II: Composto por 200 controles de uma população saudável, pareada por sexo e idade.

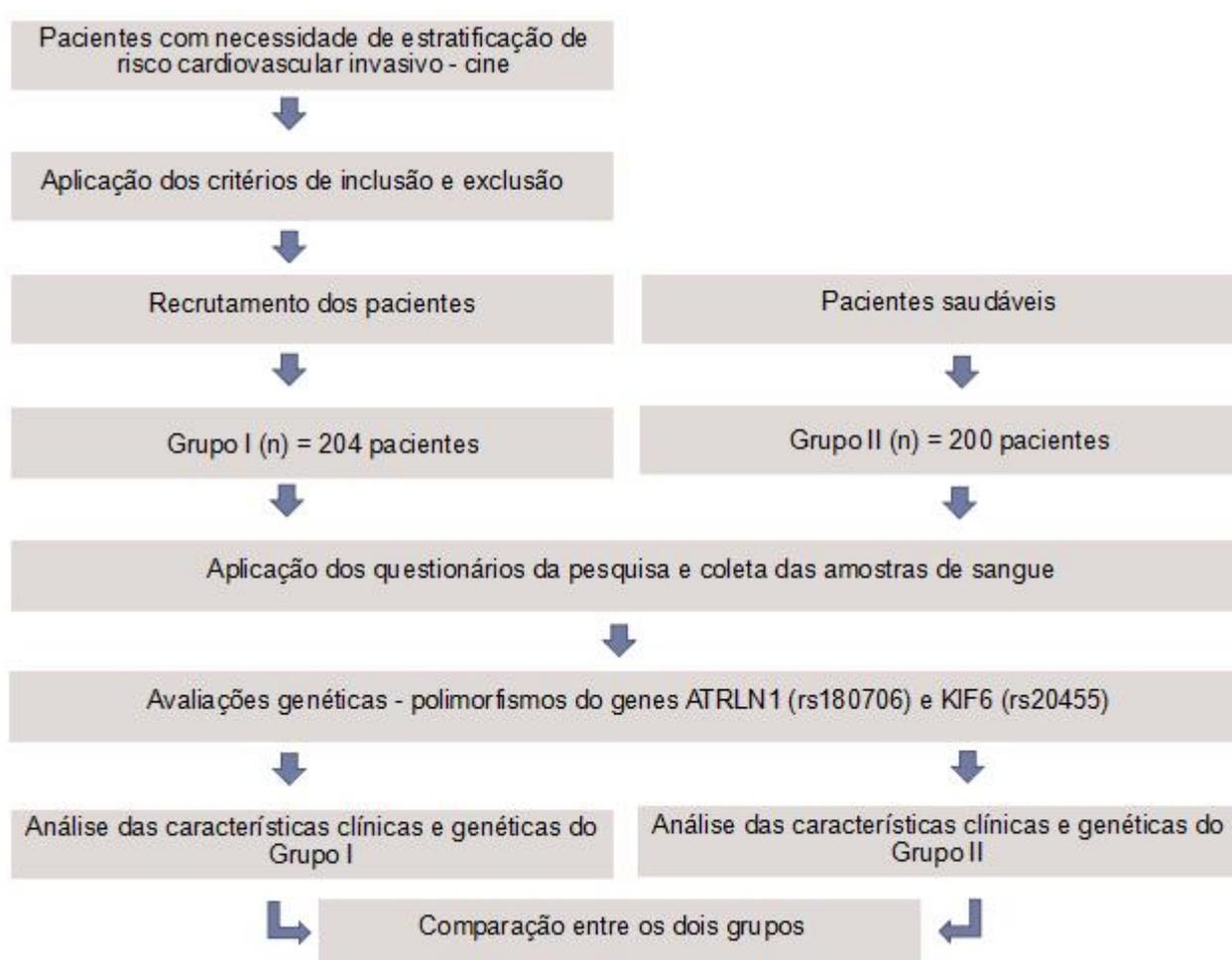
3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- ◆ Para o grupo I: Pacientes com idade > 18 anos, com diagnóstico clínico de DAC estável, prova indutora de isquemia com moderada ou grande área de miocárdio isquêmico e indicação realização de cine.
- ◆ Para o grupo II: Pessoas saudáveis com idade > 18 anos.

3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos do estudo aqueles pacientes com história de doença oncológica prévia ou atual, doença hepática grave, discrasia sanguínea, ou que se recusaram a participar do estudo, não assinando o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

3.6 FLUXOGRAMA DO ESTUDO



3.7 DEFINIÇÃO DAS VARIÁVEIS

As variáveis clínicas, socioeconômicas e angiográficas avaliadas foram definidas pelos pesquisadores:

- ◆ Sexo – Feminino e Masculino;

- ◆ Faixa etária – Descrita como média e desvio padrão
- ◆ Escolaridade – Analfabeto, ensino elementar, ensino fundamental, ensino médio e superior;
- ◆ Cor da pele – categorizada em: brancos e não brancos. Cada entrevistado escolheu o grupo que melhor representava a sua cor de pele;
- ◆ Região em que reside – Região metropolitana do Recife (RMR) e fora da Região metropolitana do Recife;
- ◆ Renda mensal – até um salário mínimo (SM) e > 1 SM;
- ◆ Fatores de risco para doença cardiovascular (DCV) – HAS, DM, DLP, história familiar, etilismo, tabagismo, obesidade sedentarismo;
- ◆ Comorbidades prévias – Doenças que o paciente já portava antes da coleta de dados;
- ◆ Extensão de lesões arteriais – lesão discreta para obstruções arteriais entre 30-49%; lesões moderadas para obstruções arteriais entre 50 a 69% e lesões graves para obstruções arteriais > ou = a 70%;
- ◆ Locais de lesão arterial – Artéria coronária direita (ACD) com os ramos descendente posterior (DP) e Ventricular Posterior (VP); Artéria circunflexa (ACX) com os ramos marginais; Artéria descendente anterior (ADA) com o ramo diagonal e o Tronco coronariano esquerdo (TCE).

Para numeração dos segmentos coronários, foi utilizado o sistema de numeração do Coronary Artery Surgery Study (CASS), que aloca um número específico a cada segmento vascular coronário e seus ramos vasculares. O segmento coronário analisado foi selecionado, definindo o ponto inicial e o desfecho do segmento arterial. O procedimento de detecção de contornos foi realizado em duas interações relativas a um modelo. Na primeira interação, a via detectada é o modelo. Para a detecção dos contornos foram definidas linhas de exame perpendiculares ao modelo. Para cada ponto ou pixel ao longo de uma linha de exame, o valor de potência da borda correspondente (alteração local no nível de brilho) foi computado como a soma ponderada dos valores correspondentes da primeira e da segunda funções derivadas aplicadas aos valores de brilho ao longo dessas linhas de exame.

3.8 INSTRUMENTO PARA COLETA DE DADOS

Após a definição das variáveis do estudo, foi elaborada uma ficha clínica para a coleta de dados (APÊNDICE C). Os pacientes foram submetidos a aplicação desta ficha clínica pelos pesquisadores, de modo individual, após assinatura do TCLE (APÊNDICES A e B).

3.9 PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO GENÉTICA

3.9.1 Extração de DNA

O DNA foi extraído a partir do sangue periférico, utilizando o protocolo do fenol-clorofórmio. 400 microlitros do sangue periférico foram adicionados em 1 tubo *ependorf*, lisados em solução de lise (Alphatec produtos químicos Ltda, DF, BR) e proteinase K (Amresco, OH, USA) a 60 °C *overnight*. A primeira etapa da extração consistiu na adição em uma proporção de 1:1 de fenol (Neon comercial Ltda, SP, BR). A fase aquosa foi novamente recuperada e adicionada em um novo tubo, sendo procedida a adição da solução fenol-clorofórmio (1:1) em duas etapas subsequentes. Em seguida a fase aquosa foi recuperada e adicionada em um novo tubo, sendo procedida a adição da solução de clorofórmio (1:1). Na sequência, a fase aquosa foi recuperada e adicionada em um novo tubo, sendo procedida a adição do álcool isopropílico (Dinâmica química contemporânea Ltda, SP, BR) (1:1). Posteriormente o DNA foi eluído em 50 microlitros de água destilada e imediatamente armazenada em refrigerador a - 20 °C, até a realização dos ensaios de genotipagem.

3.9.2 Detecção dos polimorfismos

Foi utilizada a metodologia do PCR em tempo real, através do sistema TAQMAN®, para detecção das mutações SNPs, que consiste de sondas marcadas com fluorocromos desenhadas especificamente para complementar os alelos em estudo. Os SNPs dos genes estão representados pelas respectivas sondas: ATRLN1 (rs 180706) e KIF6 (rs 20455). Para realização desta técnica, foi utilizado o PCR em tempo real QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, CA, USA), disponível no Núcleo de Plataformas Tecnológicas do Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz - PE.

A genotipagem do polimorfismo foi avaliada no QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, Foster City, CA, EUA), disponível no Núcleo de Plataformas Tecnológicas do IAM/Fiocruz, de acordo com as condições do fabricante: 30 seg a 60°C, duração de 10 min a 95°C, seguida de 40 ciclos no estágio PCR (15 seg a 95°C seguidos de 60 seg a 60°C) e um estágio final de 30 seg a 60°C.

3.10 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE DADOS

- ◆ Para análise das variáveis foi construído um banco de dados no programa Excel versão 2013, sequencialmente exportado para o programa SPSS versão 21.
- ◆ Foi realizada a análise estatística descritiva para expor os resultados obtidos.
- ◆ Os testes de normalidade foram aplicados às variáveis numéricas. Aquelas variáveis normais foram apresentadas como média e desvio padrão, enquanto que as variáveis não normais na curva de Gauss, foram apresentadas como medianas e valores máximo e mínimo.
- ◆ As prevalências de diferentes genótipos foram comparadas pelo teste Qui-quadrado de Pearson. As frequências alélicas foram estimadas pelo método da contagem gênica.
- ◆ Foram considerados estatisticamente significantes os resultados cujos níveis descritivos (valores de p) foram inferiores a 0,05.
- ◆ A apresentação das variáveis mensuradas foi realizada através de tabelas.

3.11 PROCEDIMENTOS ÉTICOS

O projeto foi submetido ao comitê de ética em pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), conforme a Declaração de Helsink e Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e Ministério da Saúde, que dispõem sobre pesquisa envolvendo seres humanos.

Todos os indivíduos que participaram da pesquisa assinaram previamente o TCLE.

4 RESULTADOS

Nesse estudo foram avaliados 404 indivíduos, dos quais 204 foram pacientes portadores de DAC (grupo doença) e 200 controles sadios (grupo controle).

O percentual de pacientes do sexo masculino entre os grupos doença e controle foram 58,8% x 20,0% ($p = 0,001$) respectivamente. Além disso, a média das idades nos grupos doença e controles foram: $61,99 \pm 11,2$ x $38,61 \pm 11,6$ anos ($p < 0,001$). A tabela 1 apresenta os dados relativos às características de sexo e idade nos grupos doença versus controle.

Tabela 1 – Características da amostra - sexo e idade.

Variável	Grupo		Valor p
	Doença	Controle	
Sexo: n %			$p^{(1)} = 0,001^*$
Masculino	120 58,8	40 20,0	
Feminino	84 41,2	160 80,0	
Idade: média \pm DP	$61,99 \pm 11,23$	$38,61 \pm 11,60$	$p^{(2)} < ,001^*$

(*) Diferença significativa a 5% (1) Através do teste Qui-quadrado (2) Através do teste Mann-Whitney.

No grupo doença as variáveis clínicas mais frequentes foram: HAS (75,5%), DM (41,2%), obesidade (23,5%), IAM (13,7%), DLP (13,2%), realização prévia de angioplastia transluminal percutânea (ATC) (7,8%), tabagismo (5,4%), realização prévia de Cine (4,4%), Acidente vascular cerebral (AVC) (3,4%) e passado de cirurgia cardíaca (3,4%).

No que se refere a avaliação genética do polimorfismo ATRLN1 (rs 180706), a apresentação dos alelos no grupo doença foi CC (49,5%), AC (42,6%) e AA (7,8%). No grupo controle os percentuais corresponderam a AC (48,0%), CC (37,5%) e AA (14,5%) ($p = 0,018$). Quando se analisa o polimorfismo em relação a presença do alelo A (AA + AC) x CC (ausência do alelo A), observa-se 50,5% x 62,5% doença versus controles ($p = 0,015$) - vide tabela 2.

Em relação a avaliação genética do polimorfismo KIF 6 (rs 20455), a apresentação dos alelos no grupo doença foi AG (50%), GG (24,5%) e AA (25,5%). No grupo controle os percentuais corresponderam a AG (51%), GG (28,5%) e AA (20,5%). Quando se analisa o polimorfismo em relação a presença do alelo A (AA +

AG) versus GG (ausência do alelo A) observa-se a frequência de (75,5% x 71,5%) nos grupos doença e controle respectivamente. Em ambas as análises ($p > 0,05$) vide tabela 2.

Tabela 2 – Avaliação genotípica do polimorfismo dos genes ATRL1 (rs180706) e KIF6 (rs20455) segundo os grupos.

Polimorfismo e genótipos	Grupo				Valor p
	Doença (n = 204)		Controle (n = 200)		
	n	%	n	%	
ATRLN1 (rs180706)					$p^{(1)} = 0,018^*$
AA	16	7,8	29	14,5	$p^{(2)} = 0,033^*$
AC	87	42,6	96	48,0	$p^{(2)} = 0,280$
CC	101	49,5	75	37,5	$p^{(2)} = 0,015^*$
ATRLN1 (rs180706)					$p^{(1)} = 0,015^*$
AA + AC	103	50,5	125	62,5	
CC	101	49,5	75	37,5	
KIF6 (rs180706)					$p^{(1)} = 0,423$
AA	52	25,5	41	20,5	$p^{(2)} = 0,841$
AG	102	50,0	102	51,0	$p^{(2)} = 0,412$
GG	50	24,5	57	28,5	$p^{(2)} = 0,363$
KIF6 (rs180706)					$p^{(1)} = 0,363$
AA + AG	154	75,5	143	71,5	
GG	50	24,5	57	28,5	

(*) Diferença significativa a 5% (1) Através do teste Qui-quadrado (2) Através do teste Qui-quadrado para as categorias individualmente.

4.1 ANÁLISE DO POLIMORFISMO ATRL1 (RS 180706) NO GRUPO DOENÇA

A análise do polimorfismo ATRL1 (rs 180706) no grupo doença de acordo com gênero e a idade dos pacientes está exposta na tabela 3.

Tabela 3 – Sexo e idade segundo o genótipo do polimorfismo ATRL1 (rs180706) no grupo doença.

Variável	Genótipos do polimorfismo ATRL1 (rs180706)						Grupo total	Valor p
	AA	AC	CC	AA	AC	CC		
Sexo: n %								$p^{(1)} = 0,486$
Masculino	10	62,5	47	54,0	63	62,4	120	58,8
Feminino	6	37,5	40	46,0	38	37,6	84	41,2

Idade: média ± DP 58,25 ± 15,63 63,83 ± 10,83 60,99 ± 10,65 p⁽²⁾ = 0,081

(1) Através do teste Qui-quadrado (2) Através do teste Kruskal-Wallis.

A tabela 4 demonstra a análise estatística comparativa das características clínicas dos pacientes de acordo com os padrões genotípicos do polimorfismo do gene ATRLN1(rs180607). Não foi constatada associação estatisticamente significativa.

Tabela 4 – Avaliação das variáveis clínicas no grupo doença segundo o genótipo do polimorfismo do gene ATRL1 (rs180706).

Variável	AA (n=16)		AC (n=87)		CC (n = 101)		Grupo total		Valor p
	N	%	n	%	n	%	n	%	
Hipertensão arterial									p ⁽¹⁾ = 0,198
Sim	12	75,0	71	81,6	71	70,3	154	75,5	
Não	4	25,0	16	18,4	30	29,7	50	24,5	
Diabetes Mellitus									p ⁽¹⁾ = 0,899
Sim	7	43,8	37	42,5	40	39,6	84	41,2	
Não	9	56,2	50	57,5	61	60,4	120	58,8	
Dislipidemia									p ⁽¹⁾ = 0,364
Sim	3	18,8	14	16,1	10	9,9	27	13,2	
Não	13	81,2	73	83,9	91	90,1	177	86,8	
Obesidade									p ⁽¹⁾ = 0,450
Sim	4	25,0	24	27,6	20	19,8	48	23,5	
Não	12	75,0	63	72,4	81	80,2	156	76,5	
IAM									p ⁽¹⁾ = 0,377
Sim	1	6,3	15	17,2	12	11,9	28	13,7	
Não	15	93,7	72	82,8	89	88,1	176	86,3	
Acidente vascular cerebral									p ⁽²⁾ = 0,242
Sim	-	-	1	1,1	6	5,9	7	3,4	
Não	16	100,0	86	98,9	95	94,1	197	96,6	
Tabagismo									p ⁽²⁾ = 0,284
Não	14	87,5	77	88,5	89	88,1	180	88,2	
Até 10/ dia	-	-	3	3,4	8	7,9	11	5,4	
Ex tabagista	2	12,5	7	8,0	4	4,0	13	6,4	
DRC									p ⁽²⁾ = 0,193
Sim c/ hemodiálise	-	-	3	3,4	-	-	3	1,5	
Não	16	100,0	84	96,6	101	100,0	201	98,5	
Cinecoronariografia									p ⁽²⁾ = 0,404
Sim	-	-	6	6,9	3	3,0	9	4,4	
Não	16	100,0	81	93,1	98	97,0	195	95,6	
ATC									p ⁽¹⁾ = 0,328
Sim	-	-	9	10,3	7	6,9	16	7,8	
Não	16	100,0	78	89,7	94	93,1	188	92,2	
Cirurgia cardíaca									p ⁽²⁾ = 0,082

Sim	-	-	6	6,9	1	1,0	7	3,4
Não	16	100,0	81	93,1	100	99,0	197	96,6

(1) Através do teste Qui-quadrado (2) Através do teste Exato de Fisher.

Considerando-se os pacientes com o alelo A (AA + AC), a tabela 5 mostra que a maioria dos pacientes era do sexo masculino, contabilizando 55,3% da categoria agrupada (AA + AC) e 62,4% de CC ($p = 0,307$). As médias da idade foram $62,96 \pm 11,74$ x $60,99 \pm 10,65$ anos na categoria agrupada e CC, respectivamente ($p = 0,145$).

Tabela 5 – Sexo e idade segundo o genótipo do polimorfismo do gene ATRL1 (rs180706) no grupo doença.

Variável	Genótipo do polimorfismo do gene ATRL1 (rs180706)				Grupo total		Valor p
	AA + AC		CC				
Sexo: n %							$p^{(1)} = 0,307$
Masculino	57	55,3	63	62,4	120	58,8	
Feminino	46	44,7	38	37,6	84	41,2	
Idade: média \pm DP	62,96 \pm 11,74		60,99 \pm 10,65				$p^{(2)} = 0,145$

(1) Através do teste Qui-quadrado (2) Através do teste Mann-Whitney.

Quando se considerou o agrupamento (AA + AC) x CC, não foram verificadas associações significativas entre os genótipos agrupados e as variáveis clínicas dos pacientes. Em relação a HAS, as prevalências do genótipo agrupado e CC foram 80,6% x 70,3% respectivamente ($p = 0,088$) - vide tabela 6.

Tabela 6 – Avaliação das variáveis clínicas segundo o genótipo do polimorfismo do gene ATRL1 (rs180706) no grupo de doença.

Variável	Genótipo do polimorfismo do gene ATRL1 (rs180706)				Grupo total		Valor p
	AA + AC (n=103)		CC (n=101)				
	n	%	n	%	n	%	
Hipertensão arterial							$p^{(1)} = 0,088$
Sim	83	80,6	71	70,3	154	75,5	
Não	20	19,4	30	29,7	50	24,5	
Diabetes Mellitus							$p^{(1)} = 0,651$
Sim	44	42,7	40	39,6	84	41,2	
Não	59	57,3	61	60,4	120	58,8	
Dislipidemia							$p^{(1)} = 0,164$
Sim	17	16,5	10	9,9	27	13,2	
Não	86	83,5	91	90,1	177	86,8	
Obesidade							$p^{(1)} = 0,214$
Sim	28	27,2	20	19,8	48	23,5	

Não	75	72,8	81	80,2	156	76,5	
IAM							$p^{(1)} = 0,448$
Sim	16	15,5	12	11,9	28	13,7	
Não	87	84,5	89	88,1	176	86,3	
Acidente vascular cerebral							$p^{(2)} = 0,064$
Sim	1	1,0	6	5,9	7	3,4	
Não	102	99,0	95	94,1	197	96,6	
Tabagismo							$p^{(1)} = 0,123$
Não	91	88,3	89	88,1	180	88,2	
Até 10/ dia	3	2,9	8	7,9	11	5,4	
Ex tabagista	9	8,7	4	4,0	13	6,4	
DRC							$p^{(2)} = 0,246$
Sim c/ hemodiálise	3	2,9	-	-	3	1,5	
Não	100	97,1	101	100,0	201	98,5	
Cinecoronariografia							$p^{(2)} = 0,498$
Sim	6	5,8	3	3,0	9	4,4	
Não	97	94,2	98	97,0	195	95,6	
ATC							$p^{(1)} = 0,631$
Sim	9	8,7	7	6,9	16	7,8	
Não	94	91,3	94	93,1	188	92,2	
Cirurgia cardíaca							$p^{(2)} = 0,119$
Sim	6	5,8	1	1,0	7	3,4	
Não	97	94,2	100	99,0	197	96,6	

(1) Através do teste Qui-quadrado (2) Através do teste Exato de Fisher

Avaliando-se os resultados da prevalência do genótipo AA x (AC + CC), segundo as variáveis clínicas no grupo doença, não foram registradas associações significativas, conforme resultados apresentados na tabela 7.

Tabela 7 – Prevalência do genótipo AA no polimorfismo ATRLN1 (rs180706) no grupo doença segundo as variáveis clínicas.

Variável	Genótipo do polimorfismo ATRLN1 (rs180706)				Grupo total		Valor p
	n	AA %	n	AC + CC %	n	%	
Hipertensão arterial							$p^{(1)} = 1,000$
Sim	12	7,8	142	92,2	154	100,0	
Não	4	8,0	46	92,0	50	100,0	
Diabetes Mellitus							$p^{(2)} = 0,828$
Sim	7	8,3	77	91,7	84	100,0	
Não	9	7,5	111	92,5	120	100,0	
Dislipidemia							$p^{(1)} = 0,451$
Sim	3	11,1	24	88,9	27	100,0	
Não	13	7,3	164	92,7	177	100,0	
Obesidade							$p^{(1)} = 1,000$
Sim	4	8,3	44	91,7	48	100,0	
Não	12	7,7	144	92,3	156	100,0	

IAM								$p^{(1)} = 0,703$
Sim	1	3,6	27	96,4	28	100,0		
Não	15	8,5	161	91,5	176	100,0		
Acidente vascular cerebral								$p^{(1)} = 1,000$
Sim	-	-	7	100,0	7	100,0		
Não	16	8,1	181	91,9	197	100,0		
Tabagismo								$p^{(1)} = 0,431$
Não	14	7,8	166	92,2	180	100,0		
Até 10/ dia	-	-	11	100,0	11	100,0		
Ex tabagista	2	15,4	11	84,6	13	100,0		
DRC								$p^{(1)} = 1,000$
Sim c/ hemodiálise	-	-	3	100,0	3	100,0		
Não	16	8,0	185	92,0	201	100,0		
Cinecoronariografia								$p^{(1)} = 1,000$
Sim	-	-	9	100,0	9	100,0		
Não	16	8,2	179	91,8	195	100,0		
ATC								$p^{(1)} = 0,620$
Sim	-	-	16	100,0	16	100,0		
Não	16	8,5	172	91,5	188	100,0		
Cirurgia cardíaca								$p^{(1)} = 1,000$
Sim	-	-	7	100,0	7	100,0		
Não	16	8,1	181	91,9	197	100,0		

(1) Através do teste Exato de Fisher (2) Através do teste Qui-quadrado.

4.2 ANÁLISE DO POLIMORFISMO KIF6 (RS 20455) NO GRUPO DOENÇA

O sexo masculino foi maioria em cada um dos genótipos do polimorfismo KIF6 (rs 20455), com prevalências que variaram de 57,8% a 60,0% ($p = 0,960$). A média da idade entre os grupos AA, AG e GG foram: $65,15 \pm 9,9$; $60,40 \pm 11,04$ e $61,92 \pm 12,40$ anos respectivamente, conforme a tabela 8.

Tabela 8 – Sexo e idade segundo o genótipo do polimorfismo KIF6 (rs 20455) no grupo doença.

Variável	Genótipo do polimorfismo KIF6 (rs 20455)						Grupo total	Valor p
	AA	AG	GG	AA	AG	GG		
Sexo: n %								$p^{(1)} = 0,960$
Masculino	31	59,6	59	57,8	30	60,0	120	58,8
Feminino	21	40,4	43	42,2	20	40,0	84	41,2
Idade: média \pm DP	$65,15 \pm 9,90$	$60,40 \pm 11,04$	$61,92 \pm 12,40$				$61,99 \pm 11,23$	$p^{(2)} = 0,061$

(1) Através do teste Qui-quadrado (2) Através do teste Kruskal-Wallis.

A correlação entre a análise genotípica e as variáveis clínicas dos pacientes, também não foi estatisticamente significativa - vide tabela 9.

Tabela 9 – Avaliação das variáveis clínicas segundo o genótipo do polimorfismo KIF6 (rs 20455) no grupo doença.

Variável	Categoria do gene rs 20455						Grupo total		Valor p
	AA		AG		GG		n	%	
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Hipertensão arterial									p ⁽¹⁾ = 0,807
Sim	41	78,8	76	74,5	37	74,0	154	75,5	
Não	11	21,2	26	25,5	13	26,0	50	24,5	
Diabetes Mellitus									p ⁽¹⁾ = 0,332
Sim	17	32,7	46	45,1	21	42,0	84	41,2	
Não	35	67,3	56	54,9	29	58,0	120	58,8	
Dislipidemia									p ⁽¹⁾ = 0,177
Sim	9	17,3	9	8,8	9	18,0	27	13,2	
Não	43	82,7	93	91,2	41	82,0	177	86,8	
Obesidade									p ⁽¹⁾ = 0,243
Sim	9	17,3	29	28,4	10	20,0	48	23,5	
Não	43	82,7	73	71,6	40	80,0	156	76,5	
IAM									p ⁽¹⁾ = 0,354
Sim	10	19,2	11	10,8	7	14,0	28	13,7	
Não	42	80,8	91	89,2	43	86,0	176	86,3	
Acidente vascular cerebral									p ⁽²⁾ = 0,684
Sim	1	1,9	5	4,9	1	2,0	7	3,4	
Não	51	98,1	97	95,1	49	98,0	197	96,6	
Tabagismo									p ⁽²⁾ = 0,403
Não	44	84,6	94	92,2	42	84,0	180	88,2	
Até 10/ dia	4	7,7	4	3,9	3	6,0	11	5,4	
Ex tabagista	4	7,7	4	3,9	5	10,0	13	6,4	
DRC									p ⁽²⁾ = 0,213
Sim c/ hemodiálise	-	-	1	1,0	2	4,0	3	1,5	
Não	52	100,0	101	99,0	48	96,0	201	98,5	
Cinecoronariografia									p ⁽²⁾ = 0,071
Sim	2	3,8	2	2,0	5	10,0	9	4,4	
Não	50	96,2	100	98,0	45	90,0	195	95,6	
ATC									p ⁽²⁾ = 0,067
Sim	1	1,9	8	7,8	7	14,0	16	7,8	
Não	51	98,1	94	92,2	43	86,0	188	92,2	
Cirurgia cardíaca									p ⁽²⁾ = 0,787
Sim	1	1,9	4	3,9	2	4,0	7	3,4	
Não	51	98,1	98	96,1	48	96,0	197	96,6	

(1) Através do teste Qui-quadrado (2) Através do teste Exato de Fisher

Quando se considera os pacientes com o alelo A (AA + AG) X GG. a maioria dos pacientes também é do sexo masculino (58,4% x 60% p = 0,846) respectivamente. As médias da idade foram 62,01± 10.86 anos na categoria agrupada e 61,92 ± 11,23 anos no genótipo GG (p = 0,086) - vide tabela 10.

Tabela 10 – Sexo e idade segundo o genótipo agrupado do polimorfismo KIF6 (rs 20455) no grupo doença.

Variável	Genótipo do polimorfismo KIF6 (rs 20455)				Grupo total		Valor p
	AA + AG		GG				
Sexo: n %							p ⁽¹⁾ = 0,846
Masculino	90	58,4	30	60,0	120	58,8	
Feminino	64	41,6	20	40,0	84	41,2	
Idade: média ± DP	62,01 ± 10,86		61,92 ± 12,40		61,99 ± 11,23		p ⁽²⁾ = 0,086

(1) Através do teste Qui-quadrado (2) Através do teste Mann-Whitney.

Na comparação entre as variáveis agrupadas (AA + AG) x GG destaca-se a prevalência de pacientes com histórico de realização prévia de Cine (2,6% x 10% p = 0,041). Não houveram outras associações estatisticamente nessa análise - vide tabela 11.

Tabela 11– Avaliação das variáveis clínicas segundo o genótipo agrupado do polimorfismo KIF6 (rs 20455) no grupo doença.

Variável	Genótipo do polimorfismo KIF6 (rs 20455)				Grupo total		Valor p
	AA + AG		GG				
	n	%	n	%	n	%	
Hipertensão arterial							p ⁽¹⁾ = 0,778
Sim	117	76,0	37	74,0	154	75,5	
Não	37	24,0	13	26,0	50	24,5	
Diabetes Mellitus							p ⁽¹⁾ = 0,892
Sim	63	40,9	21	42,0	84	41,2	
Não	91	59,1	29	58,0	120	58,8	
Dislipidemia							p ⁽¹⁾ = 0,253
Sim	18	11,7	9	18,0	27	13,2	
Não	136	88,3	41	82,0	177	86,8	
Obesidade							p ⁽¹⁾ = 0,498
Sim	38	24,7	10	20,0	48	23,5	
Não	116	75,3	40	80,0	156	76,5	
IAM							p ⁽¹⁾ = 0,948
Sim	21	13,6	7	14,0	28	13,7	
Não	133	86,4	43	86,0	176	86,3	
Acidente vascular cerebral							p ⁽²⁾ = 1,000
Sim	6	3,9	1	2,0	7	3,4	
Não	148	96,1	49	98,0	197	96,6	
Tabagismo							p ⁽²⁾ = 0,378
Não	138	89,6	42	84,0	180	88,2	
Até 10/ dia	8	5,2	3	6,0	11	5,4	
Ex tabagista	8	5,2	5	10,0	13	6,4	
DRC							p ⁽²⁾ = 0,149

Sim c/ hemodiálise	1	0,6	2	4,0	3	1,5	
Não	153	99,4	48	96,0	201	98,5	
Cinecoronariografia							$p^{(2)} = 0,041^*$
Sim	4	2,6	5	10,0	9	4,4	
Não	150	97,4	45	90,0	195	95,6	
ATC							$p^{(2)} = 0,074$
Sim	9	5,8	7	14,0	16	7,8	
Não	145	94,2	43	86,0	188	92,2	
Cirurgia cardíaca							$p^{(2)} = 0,681$
Sim	5	3,2	2	4,0	7	3,4	
Não	149	96,8	48	96,0	197	96,6	

(*) Associação significativa a 5% (1) Através do teste Qui-quadrado (2) Através do teste Exato de Fisher

5 DISCUSSÃO

A DCV é a principal causa de mortalidade em todo o mundo, interferindo negativamente na qualidade de vida dos indivíduos.¹ Em nível nacional não é diferente, de modo que este grupo de doenças é responsável por mais de um terço das mortes registradas, excluindo as causas externas, conforme dados do DATASUS.³

Dentre as DCV, a DAC ganha notoriedade por seu amplo espectro clínico e elevado índice de mortalidade. Além disso, traz grande prejuízo à sociedade, visto que afeta diretamente a produtividade da população adulta e demanda altos custos com a assistência em saúde.²

Em 2014, as DCV representaram 9,6% do total das internações e 29,0% dos óbitos documentados no estado de Pernambuco. Estima-se que o custo com esse grupo de doenças tenha sido, neste ano, de aproximadamente 1,1 milhão de reais.⁷⁰

O progressivo aumento na prevalência da DAC ocorre, em parte, devido aos efeitos negativos do processo de globalização, da urbanização rápida, da vida sedentária e da alimentação com alto teor calórico, além do consumo do tabaco e do álcool. Esses fatores de risco comportamentais impactam em alguns dos principais fatores de risco metabólicos, como excesso de peso, HAS, resistência periférica à insulina, fortemente associados com a aterosclerose.⁷⁰

A evolução da DAC é influenciada por vários fatores genéticos e ambientais, que atuam em sinergismo para o desenvolvimento e progressão da doença.³⁴ A contribuição da herança genética do indivíduo é um importante fator de risco no processo de formação da placa de ateroma, sendo prontamente considerado através do questionamento a respeito do histórico familiar do paciente.³⁶

Estudos de padrões genotípicos têm sido realizados com o objetivo de correlacionar a herança genética e as apresentações fenotípicas da DAC, levando em conta o número de vasos envolvidos, a localização e a severidade das lesões ateroscleróticas.⁴⁰

Em relação às DCV, ganha destaque um grupo de genes caracterizado pelo desenvolvimento das chamadas doenças monogênicas. Nesses casos, a variante em um gene único explica claramente o fenótipo, estando frequentemente associado a alterações metabólicas que, por sua vez, constituem um importante aspecto da fisiopatologia da DAC.³⁹⁻⁴² Entretanto, mesmo tratando-se de patologias

monogênicas, as mutações ou polimorfismos identificados podem ocasionar importantes variações nas expressões fenotípicas, que habitualmente dificultam o diagnóstico.⁴³

No presente estudo foram avaliados 404 indivíduos, divididos em dois grupos: um com 204 pacientes portadores de DAC (grupo doença) e outro com 200 pessoas saudáveis (grupo controle). Os homens foram a maioria no grupo doença. Além disso, a idade média também foi mais elevada no grupo doença, em relação aos controles.

Estes dados estão em consonância com os da literatura, que apontam as diferenças hormonais entre os sexos como fatores contributivos para as diferenças entre esses percentuais. Os níveis elevados de estrógeno, presentes nas mulheres antes da menopausa, atuam como fator de proteção para o endotélio e reduzem a formação das placas de ateroma.⁶⁴

Ressalta-se que a idade é classicamente considerada como um fator de risco independente e imutável para o desenvolvimento da DAC, estando associada a lesões ateroscleróticas mais significativas, em comparação a indivíduos mais jovens.⁸

O perfil clínico da população avaliada é considerado de alto risco para DAC e eventos cardiovasculares, o que é concordante com estudos epidemiológicos, como o *Seven Countries* e o *Framingham Heart Study*.^{5,6} Tais fatores parecem levar a uma progressiva disfunção do endotélio vascular, caracterizada por alterações funcionais e espessamento endotelial.⁷

Inúmeros ensaios clínicos foram realizados ao longo dos anos, entretanto nenhum deles foi capaz de reconhecer especificamente qual o fator de risco mais importante para desenvolvimento de DAC, o que sugere uma via fisiopatológica complexa e multifatorial.^{2,5}

Quando se avalia os pacientes com DCV em Pernambuco, no ano de 2014 as três principais causas de internação no sexo masculino foram: insuficiência cardíaca (IC), AVC e outras doenças isquêmicas (grupo que engloba a DAC), observando-se um aumento de 68,0% na taxa de internação por outras doenças em comparação ao ano de 2005. No sexo feminino, as três principais causas foram IC, doença vascular periférica e HAS, que apresentaram redução de 21,4%, 46,1% e 51,8% em comparação ao mesmo período.⁷⁰

Atualmente, durante a abordagem do paciente com DAC, preconiza-se o controle rigoroso de todos os fatores de risco. Entretanto, a morbi-mortalidade

relacionada à DAC permanece em níveis preocupantes, visto que as primeiras manifestações clínicas habitualmente surgem num estágio avançado da doença, contribuindo para a ocorrência de desfechos desfavoráveis como o IAM e o desenvolvimento da IC.⁵

O perfil clínico de alto risco de alguns pacientes para eventos cardiovasculares e o crescente número de internações por DCV no estado de Pernambuco, a despeito dos esforços para redução da prevalência dessas doenças pode sugerir um aspecto genético ainda não elucidado como fator envolvido. Portanto, nosso estudo, de certa forma contribui para desenvolvimento de investigações genéticas em DCV na nossa região.

Em nosso estudo, a prevalência do polimorfismo ATRNL1 (rs 180706) com o genótipo AA foi menor no grupo doença quando comparado ao grupo controle. A prevalência do alelo A (AA + AC) x CC, também foi menor no grupo de pacientes com DAC.

Modelos animais mutantes (camundongos nulos para a expressão da ATRN) possuem um fenótipo pleiotrópico característico com a presença de uma pelagem escura, neuropatias, redução do peso corporal e da adiposidade. Acredita-se que mutações genéticas, que envolvem a perda de função ou a ausência da expressão da ATRN, atuem estimulando indiretamente as vias de sinalização da melanocortina, que por sua vez regula numerosos processos biológicos, como o equilíbrio energético e a homeostase.⁴⁷

O real papel da ATRN e ATRNL1 no ser humano ainda é incerto.⁴⁸⁻⁵⁰ Especula-se que em sua forma sérica natural as atractinas mediem a disseminação de monócitos, permitindo um meio mais rápido e mais eficaz para a apresentação de antígenos.⁵⁰ Entretanto, os dados na literatura são escassos e, mesmo assim, conflitantes.

Sabe-se que na fisiopatologia da aterosclerose, fatores agressores como o aumento das forças de cisalhamento na parede vascular e o aumento do estresse oxidativo contribuem para uma maior permeabilidade do endotélio. Isso possibilita a passagem de células do sistema imunológico para o espaço subendotelial, onde irão atuar no processo de oxidação do LDL. As partículas de LDL tornam-se modificadas na sua forma e função, passando a serem capazes de estimular o processo de surgimento de moléculas de adesão leucocitária, mantendo o insulto inflamatório local e conseqüentemente o desenvolvimento da placa de ateroma.³⁰

No que se refere à regulação das vias metabólicas e energéticas nos seres humanos, a via de sinalização da melanocortina desempenha um papel fundamental no controle da ingestão alimentar e do peso corporal.⁵² Mutações no MC4R respondem por até 6% dos casos de obesidade grave de início precoce, sendo a maioria das mutações encontrada na forma heterozigótica.⁵⁴

Algumas linhas de pesquisa sugerem que a sinalização através do MC4R exerce uma influência inibitória no apetite e, portanto, no desenvolvimento da obesidade.⁵² Apesar dessas descobertas, ainda há poucas informações publicadas sobre proteínas que interagem com receptores de melanocortina.⁵²⁻⁵⁴

Em camundongos foi evidenciado que mutações que reduzem a função da ATRN associam-se à obesidade, indicando que a ATRN pode modular a função tanto do MC1R quanto do MC4R.⁵² Em seres humanos esses achados ainda carecem de comprovação.⁵²⁻⁵⁴

Nesse contexto, através da interpretação dos resultados obtidos no presente estudo, é possível que o genótipo AA esteja associado a uma redução da atividade da ATRNL1 nos seres humanos. Entretanto, como essa é uma hipótese, a realização de outros estudos é preconizada para confirmação ou não, visto que o nosso trabalho avaliou a expressão genotípica do polimorfismo do gene ATRNL1 (rs 180706), e não a ação ou a atividade da proteína codificada pelo genótipo em questão.

Nosso estudo não constatou a presença de associações significativas entre as expressões genotípicas do polimorfismo ATRNL1 (rs 180706) e as variáveis clínicas do grupo doença. Vale ressaltar que houveram diferenças nas prevalências superiores a 10% em algumas situações. No caso da HAS, o genótipo AC foi o mais associado e o genótipo CC o menos. No subgrupo de pacientes com histórico de IAM, o genótipo AC foi o mais frequente e AA o menos frequente.

Existem poucos relatos na literatura sobre a associação de mutações relacionadas ao gene da ATRN e sua apresentação fenotípica em seres humanos. A primeira descrição foi realizada por Stark e col. em 2010 a respeito de uma deleção no gene ATRNL1.⁵⁵

O caso citado falava a respeito de uma criança do sexo masculino que foi acompanhada ao longo de 4 anos. Nesse período foram observados problemas relacionados ao desenvolvimento neuropsicomotor, presença de comunicação

interventricular, características faciais dismórficas, sindactilia e limitação da movimentação dos cotovelos.⁵⁵

Estudo realizado por Balakrishnan e col. avaliou o líquido sinovial de pacientes com osteoartrite, através de uma análise proteômica. Entre as novas proteínas descobertas no líquido sinovial desses pacientes estava presente a ATRNL1. Os autores sugerem que possa haver uma correlação entre a presença dessas proteínas e o processo inflamatório presente na osteoartrite.⁵⁶

No que se refere à atuação da ATRNL1 na fisiopatologia da DAC, ainda não foram desenvolvidos estudos que comprovem uma associação direta com a doença. Desse modo, não se sabe ao certo qual a real influência do polimorfismo desse gene na expressão fenotípica da DAC. Entretanto, é possível que existam vias comuns que envolvam a fisiopatologia da DAC e a ação das atractinas.

Já é bem estabelecido que os monócitos migram para o espaço subendotelial e se diferenciam em macrófagos que, por sua vez, captam as partículas de LDL oxidadas.^{10,27}

Os macrófagos repletos de lipídios são chamados de células espumosas e são o principal componente das estrias gordurosas, lesões macroscópicas iniciais da aterosclerose. Os linfócitos T, embora menos numerosos, mediante interação com os macrófagos, podem se diferenciar e intensificar a produção de citocinas, colaborando para a modulação do processo inflamatório local.^{10,27} Nesse sentido, pode-se especular que exista uma ação moduladora desempenhada pela ATRNL1, que facilite a fagocitose do LDL oxidado, facilitando o desenvolvimento da DAC, mas não se pode confirmar essa ideia com os dados atualmente disponíveis da literatura.

No presente trabalho, ao ser realizada a análise genotípica do polimorfismo KIF 6 (rs 20455), observamos que a comparação entre as prevalências dos alelos homozigotos e heterozigotos nos grupos doença e controle, não foi estatisticamente diferente.

O polimorfismo do gene KIF6 tem sido identificado como um preditor de risco cardiovascular em alguns grupos étnicos. Estudos observacionais comprovaram a variação na frequência alélica, entre homens e mulheres, e em indivíduos de etnias diferentes.⁵⁷⁻⁵⁹ Tais achados não foram corroborados neste estudo.

Na literatura, a taxa do alelo mutante em controles saudáveis se mostrou muito inferior, quando foram avaliadas populações de origem europeia e japonesa. Já em controles saudáveis da África subsaariana, a frequência desta mutação foi

bastante elevada.⁶⁰⁻⁶⁴ Por sua vez, em estudos tipo caso-controle, quando foram avaliadas populações com uma expressiva diversidade étnica, mesmo com um grande número de participantes, não se conseguiu replicar a associação da mutação 719Arg no aumento do risco cardiovascular.⁶⁰⁻⁶⁴

O presente estudo consiste numa análise transversal, tipo caso-controle, que avaliou uma população do nordeste do Brasil. Esta é uma região caracterizada pela ocorrência de uma miscigenação bastante pronunciada entre grupos étnicos variados, compostos primordialmente por negros, brancos e índios. Tal fato proporciona uma identidade singular a este povo, considerado marcadamente miscigenado, tanto do ponto de vista genético, quanto nos aspectos sociais e culturais.⁷⁰

Postula-se que os achados conflitantes na literatura poderiam ser explicados pelo viés de sobrevivência e interação medicamentosa, que pode atenuar as comparações entre os casos e os controles, ou até mesmo pela falta de efeito da mutação genética na fisiopatologia da doença aterosclerótica em certos grupos étnicos.^{63,64}

Quando foi avaliada a prevalência das expressões genótípicas em relação as variáveis clínicas do grupo doença, também não houve associação estatisticamente significativa.

Existem evidências de que os portadores desse polimorfismo possam ter melhores efeitos terapêuticos com o uso de estatinas, tanto no que diz respeito a uma maior redução dos níveis séricos de LDL, quanto à modulação da resposta inflamatória, trombogênese e função vasomotora arterial.⁶⁵ Isso poderia atuar como um fator de confusão durante a análise de associação do grupo doença

Ocorreram diferenças percentuais superiores a 10,0% nas prevalências alélicas nas seguintes situações: DM (genótipos AA e AG); obesidade (genótipos AA e AG); realização prévia de ATC (genótipos AA e GG).

Com base nesses dados, acredita-se que possa ter ocorrido um erro estatístico do tipo II (quando a análise dos dados não consegue rejeitar uma hipótese, no caso desta hipótese ser falsa), devido ao quantitativo amostral ser reduzido.

Quando foi realizada a análise da prevalência do alelo A (AA + AG) versus GG, observou-se não haver diferença estatística. Em relação às variáveis clínicas, apenas o histórico de realização prévia de Cine esteve mais associado ao genótipo GG, sem outras associações estatisticamente significativas.

Dados referentes a influência do polimorfismo KIF6 (rs 20455) na DAC ainda são muito discrepantes. Em meta-análise realizada em 2012 por Peng e col., foram analisados dados de mais de 143 mil indivíduos, evidenciando-se que a presença do polimorfismo foi um fator de risco cardiovascular em caucasianos, mas com efeitos variáveis em outras etnias.⁶³

Ruiz-ramos e col. realizaram também uma meta-análise, e demonstraram que o polimorfismo do gene KIF6 seria um fator de risco importante para o desenvolvimento do IAM.⁶⁴

Recentemente, em meta-análise realizada por Li, Chen e Song, foram avaliados 50 estudos, que correlacionaram a mutação KIF6 (rs 20455), com a presença de DAC, totalizando uma análise de 40.059 casos e 64.032 controles. Os resultados desse estudo sugerem que este polimorfismo pode não estar associado a uma maior suscetibilidade para a DAC, porém os autores reforçam a necessidade da realização de estudos adicionais para a confirmação desses resultados.⁶⁹

Na população brasileira os dados sobre a associação do polimorfismo KIF6 (rs 20455) com as DCV ainda são escassos. Esta pesquisa é pioneira, portanto geradora de hipóteses, que necessitam de estudos adicionais para confirmá-las.

6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Nosso trabalho limitou-se a avaliar as expressões genotípicas dos polimorfismos dos genes ATRNL1 (rs 180706) e KIF6 (rs 20455) e as suas correlações clínicas com a DAC. Não foram analisadas as propriedades das proteínas transcritas a partir da variação alélica dos referidos polimorfismos, de modo que não sabemos ao certo o mecanismo de ação ou a atividade dessas proteínas nos indivíduos.

Outro fator limitante do presente trabalho, consiste no tamanho da amostra, que é relativamente pequena para se inferir dados relativos a uma população tão grande como a brasileira.

Além disso, os indivíduos selecionados para a pesquisa foram de uma única região do Brasil, o Nordeste. Sabe-se que por possuir dimensões continentais, o Brasil apresenta uma ampla diversidade étnica, social e cultural, com peculiaridades inerentes a cada uma de suas regiões, devendo esse fato ser considerado na interpretação dos dados.

7 CONCLUSÃO

Esse é o primeiro estudo na literatura a descrever a associação entre o polimorfismo no gene ATRNL1 (rs 180706) e a DAC. A prevalência do genótipo AA no polimorfismo do gene ATRNL1 (rs 180706) foi menor no grupo doença, quando comparada ao grupo controle. Não foram evidenciadas associações entre o polimorfismo do gene KIF6 (rs 20455) e a DAC.

Assim, foi gerada a hipótese da existência de um efeito protetor do genótipo AA do polimorfismo ATRNL1 (rs 180706) no desenvolvimento da DAC. Entretanto, são necessários estudos adicionais para confirmá-la.

REFERÊNCIAS

- 1- D, Lloyd-jones et al. Heart Disease and Stroke Statistics--2009 Update: A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. **Circulation**, [s.l.], v. 119, n. 3, p.480-486, 15 dez. 2008. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).
<http://dx.doi.org/10.1161/circulationaha.108.191261>.
- 2- BRASIL. Ministério da saúde. **SVS - sistema de informações de mortalidade (SIM)**. 2014a. Disponível em: <http://www.tabnet.datasus.gov.br>. Acesso em: 03 set. 2014.
- 3- BRASIL. Ministério da saúde. **SVS - sistema de informações de mortalidade (SIM)**. Disponível em: <http://www.tabnet.datasus.gov.br>. Acesso em: 28 ago. 2017.
- 4- PRICE, Jackie F. et al. Ankle brachial index and intima media thickness predict cardiovascular events similarly and increased prediction when combined. **Journal Of Clinical Epidemiology**, [s.l.], v. 60, n. 10, p.1067-1075, out. 2007. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jclinepi.2007.01.011>.
- 5- MENOTTI, A. et al. Comparison of Multivariate Predictive Power of Major Risk Factors for Coronary Heart Diseases in Different Countries: Results from Eight Nations of the Seven Countries Study, 25-Year Follow-up. **European Journal Of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation**, [s.l.], v. 3, n. 1, p.69-75, 1 fev. 1996. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/174182679600300110>
- 6- WANG, Qing. Molecular genetics of coronary artery disease. **Current Opinion In Cardiology**, [s.l.], v. 20, n. 3, p.182-188, maio 2005. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/01.hco.0000160373.77190.f1>
- 7- SOLOPERTO, Giulia. Progress in atherosclerotic plaque imaging. **World Journal Of Radiology**, [s.l.], v. 4, n. 8, p.353-371, 2012. Baishideng Publishing Group Inc.. <http://dx.doi.org/10.4329/wjr.v4.i8.353>

- 8- D'AGOSTINO, R. B. et al. General Cardiovascular Risk Profile for Use in Primary Care: The Framingham Heart Study. **Circulation**, [s.l.], v. 117, n. 6, p.743-753, 22 jan. 2008. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).
<http://dx.doi.org/10.1161/circulationaha.107.699579>
- 9- PLETCHER, Mark J.; MORAN, Andrew E.. Cardiovascular Risk Assessment. **Medical Clinics Of North America**, [s.l.], v. 101, n. 4, p.673-688, jul. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcna.2017.03.002>
- 10- FALUDI, Aa et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose - 2017. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s.l.], v. 109, n. 1, p.1-76, 2017. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20170121>.
- 11- HELFAND, Mark et al. Emerging Risk Factors for Coronary Heart Disease: A Summary of Systematic Reviews Conducted for the U.S. Preventive Services Task Force. **Annals Of Internal Medicine**, [s.l.], v. 151, n. 7, p.496-507, 6 out. 2009. American College of Physicians.
<http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-151-7-200910060-00010>
- 12- AGATSTON, Arthur S. et al. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. **Journal Of The American College Of Cardiology**, [s.l.], v. 15, n. 4, p.827-832, mar. 1990. Elsevier BV.
[http://dx.doi.org/10.1016/0735-1097\(90\)90282-t](http://dx.doi.org/10.1016/0735-1097(90)90282-t).
- 13- HOPKINS, P. N.. Coronary Artery Disease Risk in Familial Combined Hyperlipidemia and Familial Hypertriglyceridemia: A Case-Control Comparison From the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. **Circulation**, [s.l.], v. 108, n. 5, p.519-523, 5 ago. 2003. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).
<http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.0000081777.17879.85>
- 14- NIU, Wenquan; QI, Yue. Circulating Cholesteryl Ester Transfer Protein and Coronary Heart DiseaseCLINICAL PERSPECTIVE. **Circulation: Cardiovascular Genetics**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.114-121, 5 jan. 2015. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/circgenetics.114.000748>.

15- HIROKAWA, N.. Kinesin and Dynein Superfamily Proteins and the Mechanism of Organelle Transport. **Science**, [s.l.], v. 279, n. 5350, p.519-526, 23 jan. 1998.

American Association for the Advancement of Science (AAAS).

<http://dx.doi.org/10.1126/science.279.5350.519>.

16- MIKI, H. et al. All kinesin superfamily protein, KIF, genes in mouse and human. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 98, n. 13, p.7004-7011, 19 jun. 2001. Proceedings of the National Academy of Sciences.

<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.111145398>.

17- RAAL, Frederick J et al. Mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, for lowering of LDL cholesterol concentrations in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **The Lancet**, [s.l.], v. 375, n. 9719, p.998-1006, mar. 2010. Elsevier BV.

[http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(10\)60284-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(10)60284-x).

18- CUCHEL, Marina et al. Inhibition of Microsomal Triglyceride Transfer Protein in Familial Hypercholesterolemia. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 356, n. 2, p.148-156, 11 jan. 2007. New England Journal of Medicine (NEJM/MMS).

<http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa061189>.

19- HORTON, Jay D.; COHEN, Jonathan C.; HOBBS, Helen H.. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. **Journal Of Lipid Research**, [s.l.], v. 50, n. , p.172-177, 19 nov. 2008. American Society for Biochemistry & Molecular Biology (ASBMB). <http://dx.doi.org/10.1194/jlr.r800091-jlr200>.

20- ROSS, Russell. Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 340, n. 2, p.115-126, 14 jan. 1999. New England Journal of Medicine (NEJM/MMS). <http://dx.doi.org/10.1056/nejm199901143400207>

21- LIBBY, Peter. Mechanisms of Acute Coronary Syndromes and Their Implications for Therapy. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 368, n. 21, p.2004-2013,

23 maio 2013. New England Journal of Medicine (NEJM/MMS).

<http://dx.doi.org/10.1056/nejmra1216063>.

22- AMMIRATI, E. et al. The role of T and B cells in human atherosclerosis and atherothrombosis. **Clinical & Experimental Immunology**, [s.l.], v. 179, n. 2,

p.173-187, 2 jan. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/cei.12477>

23- ALTMANN, S. W.. Niemann-Pick C1 Like 1 Protein Is Critical for Intestinal Cholesterol Absorption. **Science**, [s.l.], v. 303, n. 5661, p.1201-1204, 20 fev. 2004.

American Association for the Advancement of Science (AAAS).

<http://dx.doi.org/10.1126/science.1093131>.

24- COUGHLIN, Shaun R.. Thrombin signalling and protease-activated receptors. **Nature**, [s.l.], v. 407, n. 6801, p.258-264, set. 2000. Springer Nature

America, Inc. <http://dx.doi.org/10.1038/35025229>

25- LIBBY, P.. Pathophysiology of Coronary Artery Disease. **Circulation**, [s.l.], v. 111, n. 25, p.3481-3488, 20 jun. 2005. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).

<http://dx.doi.org/10.1161/circulationaha.105.537878>.

26- BERENSON, Gerald S. et al. 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). **The American Journal Of Cardiology**, [s.l.], v. 70, n. 9,

p.851-858, out. 1992. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0002-9149\(92\)90726-f](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9149(92)90726-f).

27- SOLOPERTO, Giulia. Progress in atherosclerotic plaque imaging. **World Journal Of Radiology**, [s.l.], v. 4, n. 8, p.353-371, 2012. Baishideng Publishing

Group Inc.. <http://dx.doi.org/10.4329/wjr.v4.i8.353>

28- CHATZIZISIS, Yiannis S. et al. Role of Endothelial Shear Stress in the Natural History of Coronary Atherosclerosis and Vascular Remodeling. **Journal Of The American College Of Cardiology**, [s.l.], v. 49, n. 25, p.2379-2393, jun. 2007.

Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2007.02.059>.

- 29- CYBULSKY, M.; GIMBRONE, M.. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. **Science**, [s.l.], v. 251, n. 4995, p.788-791, 15 fev. 1991. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1990440>.
- 30- HANSSON, Göran K.. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 352, n. 16, p.1685-1695, 21 abr. 2005. New England Journal of Medicine (NEJM/MMS). <http://dx.doi.org/10.1056/nejmra043430>.
- 31- LIBBY, P.; SIMON, D. I.. Inflammation and Thrombosis: The Clot Thickens. **Circulation**, [s.l.], v. 103, n. 13, p.1718-1720, 3 abr. 2001. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.103.13.1718>.
- 32- DRACHMAN, Douglas E.; SIMON, Daniel I.. Inflammation as a mechanism and therapeutic target for in-stent restenosis. **Current Atherosclerosis Reports**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.44-49, jan. 2005. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11883-005-0074-5>.
- 33- MACH, F. et al. Activation of Monocyte/Macrophage Functions Related to Acute Atheroma Complication by Ligation of CD40: Induction of Collagenase, Stromelysin, and Tissue Factor. **Circulation**, [s.l.], v. 96, n. 2, p.396-399, 15 jul. 1997. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.96.2.396>.
- 34- World Health Organization (WHO). [Internet]. Programmes. Cardiovascular disease. About cardiovascular diseases. Definition. [cited 2016 Oct 16]. Available from: <http://www.who.int/cardiovascular_diseases/about_cvd/en>
- 35- World Health Organization (WHO). [Internet]. Media Centre. Fact Sheets. Noncommunicable diseases. Updated March 2013. [cited 2013 Oct 16]. Available from: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/en/index.html>>
- 36- Ministério da Saúde. [Internet]. Rede Interagencial de Informações para a Saúde (RIPSA). Indicadores e dados básicos (IDB). Indicadores de mortalidade. [atualizada

em 2012] [acesso em 2014 dez. 03]. Disponível em:
<<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/idb2012/matriz.htm>>

37- BERENSON, Gerald S. et al. Association between Multiple Cardiovascular Risk Factors and Atherosclerosis in Children and Young Adults. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 338, n. 23, p.1650-1656, 4 jun. 1998. New England Journal of Medicine (NEJM/MMS). <http://dx.doi.org/10.1056/nejm199806043382302>.

38- A WEISS, Lauren et al. The sex-specific genetic architecture of quantitative traits in humans. **Nature Genetics**, [s.l.], v. 38, n. 2, p.218-222, 22 jan. 2006. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/ng1726>

39- GARCÍA-GIUSTINIANI, Diego; STEIN, Ricardo. Genetics of Dyslipidemia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s.l.], p.468-475, 2016. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20160074>.

40- HOPKINS, Paul N. et al. Familial Hypercholesterolemias: Prevalence, genetics, diagnosis and screening recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. **Journal Of Clinical Lipidology**, [s.l.], v. 5, n. 3, p.9-17, jun. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacl.2011.03.452>.

41- ASSELBERGS, Folkert w. et al. Large-Scale Gene-Centric Meta-analysis across 32 Studies Identifies Multiple Lipid Loci. **The American Journal Of Human Genetics**, [s.l.], v. 91, n. 5, p.823-838, nov. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.08.032>

42- FREITAS, Rossana Ghesa Andrade de et al. APOE and LDLR Gene Polymorphisms and Dyslipidemia Tracking. Rio de Janeiro Study. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s.l.], p.468-475, 2015. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20150036>.

43- PETERS, Bas J.m. et al. Genetic variability within the cholesterol lowering pathway and the effectiveness of statins in reducing the risk of MI. **Atherosclerosis**,

[s.l.], v. 217, n. 2, p.458-464, ago. 2011. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.06.023>.

44- BARTER, P.j.; LALLY, J.i.. The activity of an esterified cholesterol transferring factor in human and rat serum. **Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Lipids And Lipid Metabolism**, [s.l.], v. 531, n. 2, p.233-236, nov. 1978. Elsevier BV.
[http://dx.doi.org/10.1016/0005-2760\(78\)90147-9](http://dx.doi.org/10.1016/0005-2760(78)90147-9).

45- CHAJEK, T.; FIELDING, C. J.. Isolation and characterization of a human serum cholesteryl ester transfer protein. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 75, n. 7, p.3445-3449, 1 jul. 1978. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.75.7.3445>.

46- HESLER, CB.; SWENSON, TL.; TALL, AR. **Purification and characterization of a human plasma cholesteryl ester transfer protein**. [s.l.], v. 262, n. 2 , p. 275-282, 1 jul. 1987. J Biol Chem.

47- WALKER, Will P. et al. Genetic analysis of attractin homologs. **Genesis**, [s.l.], v. 45, n. 12, p.744-756, 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/dvg.20351>

48- FRIEDRICH, Daniel et al. Does human attractin have DP4 activity? **Biological Chemistry**, [s.l.], v. 388, n. 2, p.155-162, 1 jan. 2007. Walter de Gruyter GmbH.
<http://dx.doi.org/10.1515/bc.2007.017>.

49- Bronson RT, Donahue LR, Samples R, Kim JH, Naggert JK. 2001. Mice with mutations in the mahogany gene *Atrn* have cerebral spongiform changes. **Journal Neuropathol Exp Neurol** 60:724–730.

50- DUKE-COHAN, Jonathan S.. Attractin (DPPT-L), a member of the CUB family of cell adhesion and guidance proteins, is secreted by activated human T lymphocytes and modulates immune cell interactions. **The National Academy Of Sciences**, Boston, p.11336-11341, 1998.

51- Hauzenberger, D., Klominek, J., Bergstrom, S. E. & Sundqvist, K. G. (1995) **Crit. Rev. Immunol.** 15, 285–316.

52- YEO, Giles S. H.; SIDDLE, Kenneth. Attractin' more attention – new pieces in the obesity puzzle? **Biochemical Journal**, [s.l.], v. 376, n. 1, p.376-377, 15 nov. 2003. Portland Press Ltd.. <http://dx.doi.org/10.1042/bj20031675>.

53- GANTZ, Ira; FONG, Tung M.. The melanocortin system. **American Journal Of Physiology-endocrinology And Metabolism**, [s.l.], v. 284, n. 3, p.468-474, mar. 2003. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00434.2002>

54- FAROOQI, I. Sadaf et al. Clinical Spectrum of Obesity and Mutations in the Melanocortin 4 Receptor Gene. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 348, n. 12, p.1085-1095, 20 mar. 2003. New England Journal of Medicine (NEJM/MMS). <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa022050>.

55- STARK, Zornitza et al. De novo 325 kb microdeletion in chromosome band 10q25.3 including ATRNL1 in a boy with cognitive impairment, autism and dysmorphic features. **European Journal Of Medical Genetics**, [s.l.], v. 53, n. 5, p.337-339, set. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmg.2010.07.009>.

56- BALAKRISHNAN, Lavanya et al. Proteomic analysis of human osteoarthritis synovial fluid. **Clinical Proteomics**, [s.l.], v. 11, n. 1, p.1-13, 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/1559-0275-11-6>.

57- SHIFFMAN, Dov et al. Effect of Pravastatin Therapy on Coronary Events in Carriers of the KIF6 719Arg Allele from the Cholesterol and Recurrent Events Trial. **The American Journal Of Cardiology**, [s.l.], v. 105, n. 9, p.1300-1305, maio 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2009.12.049>.

58- AKAO, Hironobu et al. KIF6, LPA, TAS2R50, and VAMP8 genetic variation, low density lipoprotein cholesterol lowering response to pravastatin, and heart disease risk reduction in the elderly. **Atherosclerosis**, [s.l.], v. 220, n. 2, p.456-462, fev. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.11.037>.

- 59- PEDEN, J. F.; FARRALL, M.. Thirty-five common variants for coronary artery disease: the fruits of much collaborative labour. **Human Molecular Genetics**, [s.l.], v. 20, n. 2, p.198-205, 29 ago. 2011. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddr384>.
- 60- SHIFFMAN, Dov et al. A Kinesin Family Member 6 Variant Is Associated With Coronary Heart Disease in the Women's Health Study. **Journal Of The American College Of Cardiology**, [s.l.], v. 51, n. 4, p.444-448, jan. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2007.09.044>.
- 61- IAKOUBOVA, Olga A. et al. Association of the Trp719Arg Polymorphism in Kinesin-Like Protein 6 With Myocardial Infarction and Coronary Heart Disease in 2 Prospective Trials. **Journal Of The American College Of Cardiology**, [s.l.], v. 51, n. 4, p.435-443, jan. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2007.05.057>.
- 62- LI, Yonghong et al. Genetic variants in the KIF6 region and coronary event reduction from statin therapy. **Human Genetics**, [s.l.], v. 129, n. 1, p.17-23, 1 out. 2010. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00439-010-0892-6>.
- 63- IAKOUBOVA, Olga A. et al. Polymorphism in KIF6 Gene and Benefit From Statins After Acute Coronary Syndromes. **Journal Of The American College Of Cardiology**, [s.l.], v. 51, n. 4, p.449-455, jan. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2007.10.017>.
- 64- SHIFFMAN, Dov et al. A Kinesin Family Member 6 Variant Is Associated With Coronary Heart Disease in the Women's Health Study. **Journal Of The American College Of Cardiology**, [s.l.], v. 51, n. 4, p.444-448, jan. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2007.09.044>.
- 65- PENG, Ping et al. Meta-Analyses of KIF6 Trp719Arg in Coronary Heart Disease and Statin Therapeutic Effect. **Plos One**, [s.l.], v. 7, n. 12, p.1-7, 7 dez. 2012. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0050126>.

66- RUIZ-RAMOS, David et al. The Trp719Arg polymorphism of the KIF6 gene and coronary heart disease risk: systematic review and meta-analysis. **Hereditas**, [s.l.], v. 152, n. 1, p.1-16, 22 out. 2015. Springer Nature.

<http://dx.doi.org/10.1186/s41065-015-0004-7>.

67- LIMA, Valter C. et al. Consenso de especialistas (SBC/SBHCI) sobre o uso de stents farmacológicos: recomendações da sociedade brasileira de cardiologia/sociedade brasileira de hemodinâmica e cardiologia intervencionista ao sistema único de saúde. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s.l.], v. 87, n. 4, p.162-167, out. 2006. FapUNIFESP (SciELO).

<http://dx.doi.org/10.1590/s0066-782x2006001700037>.

68- HIROKAWA, N.. Kinesin and Dynein Superfamily Proteins and the Mechanism of Organelle Transport. **Science**, [s.l.], v. 279, n. 5350, p.519-526, 23 jan. 1998.

American Association for the Advancement of Science (AAAS).

<http://dx.doi.org/10.1126/science.279.5350.519>.

69- LI, Yan; CHEN, Zhen; SONG, Hejian. Association between KIF6 rs20455 polymorphism and the risk of coronary heart disease (CHD): a pooled analysis of 50 individual studies including 40,059 cases and 64,032 controls. **Lipids In Health And Disease**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.1-15, 5 jan. 2018. Springer Nature.

<http://dx.doi.org/10.1186/s12944-017-0651-y>.

70- Secretaria Estadual de Saúde. Secretaria executiva de vigilância em Saúde. Diretoria Geral de Promoção, Monitoramento e Avaliação da vigilância em Saúde. Perfil Socioeconômico, Demográfico e Epidemiológico: Pernambuco 2016. 1ª Ed. Recife: **Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco**, 2016. 238p.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PACIENTES ALFABETIZADO

O Sr(a). está sendo convidado a participar do Protocolo de Pesquisa Intitulado: **“Associação entre a doença arterial coronariana e polimorfismos nos genes Attractin-like 1 protein (rs 180706) e Kinesin-like protein 6 (rs 20455)”** vinculada ao programa de pós-graduação em inovação terapêutica (PPGIT) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

O objetivo de nosso trabalho é avaliar as associações entre mutações do genéticas e a doença arterial coronariana. O procedimento a ser realizado por recomendação da pesquisa é a coleta de 10 ml de sangue periférico em tubo com EDTA para realização das avaliações genéticas, bem como a aplicação de um questionário clínico nos indivíduos recrutados.

Desconforto, riscos e benefícios: Por se tratar de um estudo em que haverá punção venosa periférica, admite-se que os riscos sejam inerentes à realização do procedimento citado, bem como: dor, sangramento, presença de hematoma e flebite. Além disso, possíveis constrangimentos podem surgir através das informações disponibilizadas pelo paciente durante a entrevista. Porém, para minimizar estes riscos, os pesquisadores preservarão a identidade e as informações pessoais dos participantes, de modo que o Sr(a). poderá ter acesso aos resultados da pesquisa, tão logo esta seja concluída. Ao contribuir para a realização de nossa pesquisa, o Sr(a). contribui para que entendamos melhor o grupo de pacientes do qual faz parte. Trata-se, portanto, de um trabalho de relevância social.

Garantia de esclarecimento, liberdade de recusa e garantia de sigilo: O Sr(a). será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. O Sr(a). pode desistir de participar em qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ao seu tratamento. Os dados coletados serão utilizados exclusivamente para fins de pesquisa.

Custos da participação, ressarcimento e indenização por eventuais danos: A participação no estudo é voluntária e não acarretará custos ou remuneração adicional aos participantes.

Declaração do(a) participante ou responsável pelo(a) participante:

Eu, _____, N^o _____ da
Identidade (RG) _____, fui
informado (a) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci
minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento que poderei solicitar novas informações e
motivar minha decisão se assim o desejar. O Mestrando Augusto Ferreira Correia e seu
orientador - Prof. Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira certificaram-me de que todos os dados

desta pesquisa serão confidenciais. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Em caso de dúvidas poderei chamar Mestrando Augusto Ferreira Correia ou o seu orientador - Prof. Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira através dos telefones **(081)99199-0715** e **(081) 98679-3821** ou entrar em contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro de Ciências da Saúde da UFPE - CEP/CCS/UFPE, pelo telefone: 2126-8588, e-mail: cepccs@ufpe.br**, sob coordenação do Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

RG	Nome e Assinatura do Pesquisador	Data
RG	Nome e Assinatura da Testemunha	Data
RG	Nome e Assinatura da Testemunha	Data
RG	Nome e Assinatura da Testemunha	Data

APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PACIENTES NÃO ALFABETIZADOS

O Sr(a). está sendo convidado a participar do Protocolo de Pesquisa Intitulado: **“Associação entre a doença arterial coronariana e polimorfismos nos genes Attractin-like 1 protein (rs 180706) e Kinesin-like protein 6 (rs 20455)”** vinculada ao programa de pós-graduação em inovação terapêutica (PPGIT) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

O objetivo de nosso trabalho é avaliar as associações entre mutações do genéticas e a doença arterial coronariana. O procedimento a ser realizado por recomendação da pesquisa é a coleta de 10 ml de sangue periférico em tubo com EDTA para realização das avaliações genéticas, bem como a aplicação de um questionário clínico nos indivíduos recrutados.

Desconforto, riscos e benefícios: Por se tratar de um estudo em que haverá punção venosa periférica, admite-se que os riscos sejam inerentes à realização do procedimento citado, bem como: dor, sangramento, presença de hematoma e flebite. Além disso, possíveis constrangimentos podem surgir através das informações disponibilizadas pelo paciente durante a entrevista. Porém, para minimizar estes riscos, os pesquisadores preservarão a identidade e as informações pessoais dos participantes, de modo que o Sr(a). poderá ter acesso aos resultados da pesquisa, tão logo esta seja concluída. Ao contribuir para a realização de nossa pesquisa, o Sr(a). contribui para que entendamos melhor o grupo de pacientes do qual faz parte. Trata-se, portanto, de um trabalho de relevância social.

Garantia de esclarecimento, liberdade de recusa e garantia de sigilo: O Sr(a). será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. O Sr(a). pode desistir de participar em qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ao seu tratamento. Os dados coletados serão utilizados exclusivamente para fins de pesquisa.

Custos da participação, ressarcimento e indenização por eventuais danos: A participação no estudo é voluntária e não acarretará custos ou remuneração adicional aos participantes.

Declaração do(a) participante ou responsável pelo(a) participante:

Eu, _____, N° _____ da
Identidade (RG) _____ a rogo
de _____, N°
identidade (RG) _____, fui informado (a) dos objetivos da
pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em
qualquer momento que poderei solicitar novas informações e motivar minha decisão se
assim o desejar. O Mestrando Augusto Ferreira Correia e seu orientador - Prof. Dr. Dinaldo

Cavalcanti de Oliveira certificaram-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Em caso de dúvidas poderei chamar Mestrando Augusto Ferreira Correia ou o seu orientador - Prof Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira através dos telefones **(081)99199-0715** e **(081) 98679-3821** ou entrar em contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro de Ciências da Saúde da UFPE - CEP/CCS/UFPE, pelo telefone: 2126-8588, e-mail: cepccs@ufpe.br**, sob coordenação do Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Local para impressão digital do paciente
 que concordou em participar da pesquisa

→

RG	Nome e Assinatura do Pesquisador	Data
RG	Nome e Assinatura da Testemunha	Data
RG	Nome e Assinatura da Testemunha	Data
RG	Nome e Assinatura da Testemunha	Data

APÊNDICE C - FICHA CLÍNICA DO ESTUDO

IDENTIFICAÇÃO:

Nome: _____ Telefone de contato: _____
 Prontuário n°: _____ Idade: _____ anos Sexo: (M) / (F) Cor: Branco () Negro () Pardo () Outro ()
 Estado civil: Casado () Solteiro () Divorciado () União estável () Escolaridade: _____
 Profissão: _____ Renda Familiar: _____

ANTECEDENTES PESSOAIS:

HAS () DRC () Sedentarismo () DAC estabelecida ()
 Uso de anti-HAS () DAP () Etilismo () - Tratamento clínico ()
 DM () AVC () Tabagismo () - CRVM ()
 DLP () IAM () - Ativo () - Angioplastia ()
 DPOC () Obesidade () - Inativo há 10 anos ()

ANTECEDENTES FAMILIARES - PARENTES DE PRIMEIRO GRAU:

HAS () DM () DLP () DAP () AVC ()
 História de IAM, angioplastia, CRVM ou morte súbita cardíaca - homens < 55 anos e mulheres < 65 anos ()

EXAME FÍSICO:

Peso (kg)	Altura (m)	IMC	PA (mmHg)

EXAMES COMPLEMENTARES:

Hb/Ht	Plaquetas	Ur/Cr	Glicose Jejum	Hb-glicada	TG	CT	LDL	HDL	PCR

RISCO CARDIOVASCULAR GLOBAL - ESCORE DE FRAMINGHAM

Baixo () Médio () Alto ()

CINECORONARIOGRAFIA: Paciente com necessidade de realização do exame ()

Assintomático c/ teste indutor de isquemia [+] () Angina estável () / instável () IAM ST () / sem supra ST ()

Dados do exame - Data: ___/___/___

Variável	ADA	ACD	ACX	TCE	Vaso:	Vaso:
Estenose (%)						
Extensão (mm)						
Segmento						

Obs: Preencher as lacunas com "S" para respostas sim e "N" para respostas não.