

AUDREY CECÍLIA TONET FURIOSO

**INVESTIGAÇÃO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE ESTIMATIVAS DE
ANCESTRALIDADE GENÔMICA E EVOLUÇÃO CLÍNICA APÓS INFARTO
AGUDO DO MIOCÁRDIO: *BRASÍLIA HEART STUDY***

BRASÍLIA

2015

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

AUDREY CECÍLIA TONET FURIOSO

**INVESTIGAÇÃO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE ESTIMATIVAS DE
ANCESTRALIDADE GENÔMICA E EVOLUÇÃO CLÍNICA APÓS INFARTO
AGUDO DO MIOCÁRDIO: *BRASÍLIA HEART STUDY***

Tese apresentada como requisito parcial
para obtenção do Título de Doutor em
Ciências Médicas pelo programa de
Pós-Graduação em Ciências Médicas
da Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Otávio de Tolêdo Nóbrega

BRASÍLIA

2015

*Dedico este trabalho aos meus queridos filhos,
Luiz Gabriel (6 anos) e João Marcos (2 anos),
“Duas joias”, pelas quais procuro ser melhor
a cada dia.*

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por minha vida, pela paciência, coragem e força que me concede a cada amanhecer, para conseguir enfrentar as dificuldades que surgem no dia a dia.

Ao meu amado esposo, pelo incentivo para ingressar nessa jornada e por todo companheirismo, carinho, ajuda, apoio e compreensão durante esses “longos anos”.

Aos meus filhos, Luiz Gabriel que soube respeitar e compreender a minha ausência em vários momentos em que de mim precisava, e João Marcos, que ao chegar em meio ao percurso, tornou mais “emocionante” este desafio.

Aos meus pais, que acreditaram no meu potencial e fizeram além do que estava ao alcance deles para me ajudar a realizar mais este objetivo.

À minha tia, que por inúmeras vezes cuidou dos meus filhos para que eu pudesse me dedicar à minha pesquisa, de forma tranquila e eficiente.

Ao meu irmão e sua família, que, mesmo distante fisicamente, sempre me incentivaram a prosseguir firmemente nessa jornada.

À minha prima-irmã, que continuamente me apoia e torce pelo meu sucesso em qualquer coisa que eu me proponha a realizar na vida.

Aos amigos do dia a dia, que dividiram angústias e alegrias, fracassos e sucesso, no desenrolar destes anos.

Ao amigo Sérgio, por sua prestatividade desmedida, solucionando em vários momentos as minhas dúvidas relacionadas à Coorte *Brazilian Heart Study (BHS)*.

Aos amigos de laboratório Adriane, Wilcelly, Vinícius e Túlio, que estiveram sempre dispostos a me auxiliar no que fosse preciso com a minha pesquisa.

Aos colegas de bancada da UCB, sempre prontos a ajudar, esclarecer dúvidas e compartilhar experiências.

Aos técnicos de laboratório da UCB e à professora e amiga **Alessandra Reis**, que me auxiliaram e tornaram possível a execução da etapa laboratorial do estudo.

Aos alunos e profissionais que já contribuíram com a Coorte, e aos que continuam a exercer com dedicação a assistência aos pacientes do *Brasília Heart Study*, e que a partir desse ofício, ainda conseguem produzir conhecimento científico.

Aos pacientes do HBDF, mesmo vivenciando situação delicada de enfermidade, e **aos seus familiares**, que em conjunto, aceitaram participar do *Brasília Heart Study*, contribuindo com o desenvolvimento da pesquisa.

Aos funcionários da secretaria da Pós Graduação em Ciências Médicas (UnB), sempre disponíveis em atender com rapidez e efetividade as solicitações dos alunos.

Aos colegas de turma e professores das disciplinas, que passaram pelo meu caminho neste período, compartilhando conhecimentos científicos e experiências de vida, possibilitando novos aprendizados.

Ao professor Dr. Rinaldo Wellerson Pereira, pelo apoio, dicas e orientações, mas principalmente pela parceria que viabilizou o desdobramento da parte técnica-laboratorial do estudo, na Universidade Católica de Brasília.

Ao professor Dr. Andrei Sposito, pela oportunidade de participar e aprender com um grupo de pesquisadores qualificados, pelos seus ensinamentos e questionamentos ao longo destes anos, e principalmente pela confiança creditada ao meu trabalho.

Ao amigo orientador e professor Dr. Otávio de Toledo Nóbrega, inicialmente pelo convite e incentivo a ingressar no Doutorado. Em seguida, no desenrolar da pesquisa, pelas orientações, críticas, correções e elogios. E por acreditar na minha capacidade e me conduzir “em linha reta” para a conquista de mais este desafio.

*“O conhecimento científico não é atraente
por conter todas as respostas, mas sim por querer
decifrar um conjunto cada vez maior de perguntas.”*

(Lázaro de Souza Gomes)

RESUMO

As doenças cardiovasculares (DCV) constituem a principal causa de morte nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Destaca-se o infarto agudo do miocárdio (IAM) como causa isolada responsável pela maior proporção de mortes por etiologia orgânica em homens e mulheres. A participação dos fatores de risco clássicos (tabagismo, sedentarismo, dislipidemias, hipertensão e outros) para o desenvolvimento do IAM encontra-se bem descrita na literatura. Entretanto, a contribuição da herança genética advinda de distintos grupos populacionais humanos (a exemplo do europeu, do africano sub-saariano e do ameríndio) para a manifestação fenotípica e a evolução clínica do IAM ainda é pouco mensurada. O presente estudo investigou a associação de estimativas de ancestralidade genômica, determinada por marcadores informativos de ancestralidade (AIMs), com variáveis clínicas e bioquímicas representativas de risco de recidiva ou de complicações no período pós-infarto em amostra da população brasileira, que se caracteriza em sua formação por um importante grau de ancestralidade tri-híbrida. As estimativas de ancestralidade [europeia (EUR), africana (AFR) e ameríndia (AMR)] foram determinadas pela genotipagem de 18 AIMs em 408 pacientes admitidos no *Brasília Heart Study* (BHS) com diagnóstico de IAM com supradesnivelamento do segmento ST. Variáveis bioquímicas (perfil lipídico, glicêmico e outras) foram medidas nas primeiras 24 horas pós-evento. Variáveis clínicas (antropométricas, pressóricas, gravidade de Killip-Kimbal e marcadores de lesão miocárdica) foram determinadas no quinto dia de hospitalização. A proporção média de ascendência individual determinada na amostra foi de (EUR = 70,4%), (AFR = 24,3%) e (AMR = 5,2%). Testes de correlações revelaram associação negativa entre níveis de ancestralidade AMR e as variáveis pressóricas [sistólica (P = 0,021); diastólica (P = 0,018)] e com a frequência cardíaca [FC; (P = 0,006)]. Regressões lineares confirmaram esses achados. Dicotomização da amostra entre portadores ou não de determinada ancestralidade confirmou, por aplicação do teste *t* de Student, valores médios aumentados das variáveis pressóricas [sistólica (P = 0,006); diastólica (P = 0,005); FC (P = 0,005)] entre sujeitos não-AMR. Observou-se também uma associação positiva ao analisar os valores médios aferidos para a variável PAD (P = 0,028) e uma tendência à significância estatística para a PAS (P = 0,056), entre indivíduos com ancestralidade EUR. Ademais, pela análise do qui-quadrado, houve maior frequência de história familiar de doença arterial coronariana entre portadores de ancestralidade AFR (P = 0,024) assim como maior proporção de uso de betabloqueadores entre sujeitos com ancestralidade EUR (P = 0,020). Pelo conjunto exposto, nossos resultados sugerem que maior proporção genômica ameríndia no indivíduo pode conferir proteção ao fenótipo da hipertensão arterial sistêmica no curso clínico do pós-IAM.

Palavras-chave: Infarto agudo do miocárdio; Ancestralidade; Genética humana; Marcadores informativos de ancestralidade; Estudo de associação.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases (CVD) are the leading cause of death in developed and developing countries. The highest proportion of deaths from organic etiology in men and women is caused by acute myocardial infarction (AMI). The contribution of the classical risk factors (smoking, physical inactivity, dyslipidemia, hypertension and others) to the development of AMI are well described in literature. However, the contribution of genetic heritage of different human population groups (such as the European, the sub-Saharan African and Amerindian) for phenotypic expression and the clinical evolution of AMI is still poorly measured. This study investigated the association of genetic ancestry, determined by ancestry informative markers (AIMs), with representative clinical and biochemical variables of risk of recurrence or complications in the post-infarction in a sample of the Brazilian population, which is characterized in their formation a material degree of ancestry tri-hybrid. Estimates of ancestry [European (EUR), African (AFR) and Native American (AMR)] were determined by genotyping 18 AIMs in 408 patients admitted to the Brazilian Heart Study (BHS) diagnosed with acute myocardial infarction with ST-segment elevation. Biochemical variables (lipid and glucose profiles, and others) were measured within the first 24 hours after the event. Clinical variables (anthropometric, blood pressure, Killip-Kimball classification and myocardial injury markers) were determined on the fifth day of hospitalization. The average ratio of individual ancestry at the sample was EUR = 70.4%, AFR = 24.3% and AMR = 5.2%. Correlation tests revealed negative association between levels of AMR ancestry and blood pressure [systolic ($P = 0.021$); diastolic ($P = 0.018$)] and heart rate [HR; ($P = 0.006$)] variables. Linear regressions confirmed these findings. Dichotomization of the sample between patients with or without a given ancestry confirmed increased mean values of the blood pressure variables [systolic ($P = 0.006$); diastolic ($P = 0.005$); FC ($P = 0.005$)] between subjects with non-AMR ancestry. It was also observed a positive association to analyze the mean values measured for the variable PAD ($P = 0.028$) and a trend towards statistical significance for SBP ($P = 0.056$) between individuals with EUR ancestry. Furthermore, the chi-square analysis showed that there was a higher frequency of family history of coronary artery disease among patients with ancestry AFR ($P = 0.024$) as well as a higher proportion of beta-blockers among individuals with ancestry EUR ($P = 0.020$). Based on the above considerations, our results suggest that a greater Amerindian proportion in the subject can provide protection to the phenotype of hypertension in the post-AMI clinical setting.

Key- Words: Acute myocardial infarction; Ancestry; Human genetic; Ancestry informative markers; Association study

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Fluxograma de seleção dos pacientes do estudo	25
Figura 02: Estimativa de ancestralidade genômica individual da amostra	45
Figura 03: Regressão linear entre Pressão Arterial Sistólica (PAS) e as estimativas de ancestralidade Ameríndia (A), Europeia (B) e Africana (C)	48
Figura 04: Regressão linear entre Pressão Arterial Distólica (PAD) e as estimativas de ancestralidade Ameríndia (A), Europeia (B) e Africana (C)	49
Figura 05: Regressão linear entre Frequência Cardíaca (FC) e as estimativas de ancestralidade Ameríndia (A), Europeia (B) e Africana (C)	50
Figura 06: Regressão linear entre Colesterol Total e as estimativas de ancestralidade Ameríndia (A), Europeia (B) e Africana (C)	53
Figura 07: Regressão linear entre a fração Colesterol LDL e as estimativas de ancestralidade Ameríndia (A), Europeia (B) e Africana (C)	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características dos SNPs descritos por GWAS em associação com infarto agudo do miocárdio (IAM)	20
Tabela 2: Descrição dos AIMS: posições cromossômicas, alelos e frequências nas populações parentais (Europeia (EUR), Africana (AFR) e Ameríndia (AMR))	31
Tabela 3: Concentração [μ M] dos iniciadores utilizados nas reações de amplificação (PCR) e nas reações de extensão de base única (Extensão) para genotipagem dos AIMS	33
Tabela 4: Descrição das sequências e dos tamanhos dos iniciadores de PCR e dos iniciadores de extensão de única base, com seus respectivos grupos de <i>multiplex</i> (Série)	37
Tabela 5: Características gerais e clínicas da população estudada	41
Tabela 6: Características relacionadas ao IAM	43
Tabela 7: Descrição dos AIMS: posições cromossômicas, alelos e frequências nas populações parentais (Europeia (EUR), Africana (AFR) e Ameríndia (AMR)) e na amostra	44
Tabela 8: Comparação das médias de PAS, PAD, FC, Col. Total e Col. LDL entre indivíduos com ancestralidade Ameríndia e sem ancestralidade Ameríndia	47
Tabela 09: Comparação dos valores médios de variáveis pressóricas e metabólicas selecionadas entre indivíduos portadores e não portadores das ancestralidades investigadas (Europeia; Africana; Ameríndia)	55
Tabela 10: Matriz de associações entre características específicas ao IAM e presença/ausência de ancestralidades genômicas (Europeia, Africana, Ameríndia)	57
Tabela 11: Polimorfismos de Base única associados à Pressão Sanguínea em GWAS	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGT - Angiotensinogênio

AIM - *Ancestry Informative Markers* (Marcador Informativo de Ancestralidade)

AR – Alelo de Risco

BHS – *Brazilian Heart Study*

BPM – *Beats Per Minute* (Batimentos por Minuto)

CEU - *Utah residents with Northern and Western European ancestry*

CIAP - Fosfatase Alcalina de Intestino de Carneiro

CID - Classificação Internacional de Doenças

CK-MB - Creatinoquinase - fração MB

D1 – Coleta de sangue no primeiro dia

D5 – Coleta de sangue no quinto dia

DAC - Doença Arterial Coronariana

DCV - Doenças Cardiovasculares

DIC - Doenças Isquêmicas do Coração

DNA - Ácido desoxirribonucleico

dNTPs – Desoxirribonucleotídeos

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetracético

EUA - Estados Unidos da América

FC – Frequência Cardíaca

FEVE - Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo

GWAS - *Genome Wide Association Study*

HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica

HBDF - Hospital de Base do Distrito Federal

HPLC -*High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Performance)

HOMA - *Homeostatic Model Assessment* (Modelo de avaliação da Homeostase)

IAM - Infarto Agudo do Miocárdio

IDB - Indicadores e Dados Básicos

IECA - Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina

IMC - Índice de Massa Corporal

HDL – *High-Density Lipoprotein* (Lipoproteínas de Alta Densidade)

LDL – *Low-Density Lipoprotein* (Lipoproteínas de Baixa Densidade)

MEX - *Mexican ancestry in Los Angeles, California*

PAD – Pressão Arterial Diastólica

PAS – Pressão Arterial Sistólica

PCI - Intervenção Coronariana Primária

PCR - *Polymerase Chain Reaction* (Reação em Cadeia da Polimerase)

RMN-c - Ressonância Nuclear Magnética Cardíaca

SNP - *Single-Nucleotide Polymorphism* – (Polimorfismo de base única)

VFC – Variabilidade da Frequência Cardíaca

YRI - *Yoruban in Ibadan, Nigeria*

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	14
1.1. Evidências Epidemiológicas	16
1.2. Evidências Genéticas	19
2 – OBJETIVO	23
3 – MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1. Amostra	24
3.2. Procedimentos Clínicos	25
3.3. Análises Bioquímicas	28
3.4. Avaliação Antropométrica	29
3.5. Extração do DNA	30
3.6. Determinação da Ancestralidade Genômica	30
3.6.1. Definição dos Marcadores Informativos de Ancestralidade (AIMs)	30
3.6.2. Método de genotipagem dos marcadores de ancestralidade (SNPs)	31
3.6.3. Definição das séries de ampliações	35
3.6.4. Marcador AT3	35
4 – ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
5 – RESULTADOS	39
5.1. Características gerais e clínicas da amostra estudada	39
5.2. Características da ancestralidade da amostra estudada	44
5.3. Ancestralidade genômica e variáveis bioquímicas e clínicas do IAM	45
5.4. Ancestralidade genômica e características relacionadas ao IAM	56
6 – DISCUSSÃO	58
6.1. Aspectos Gerais da Amostra Estudada.	58
6.2. Perfil de Ancestralidade da Amostra Estudada.	61
6.3. Ancestralidade e Fatores de Risco para IAM	62
6.4. Limitações do Estudo.	72
7 – CONCLUSÃO	74

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
9- ANEXOS	79
Anexo A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE	79
Anexo B- Aprovação do Comitê de Ética	81
Anexo C- Termo de Concessão e Aceitação de Apoio Financeiro a Projeto	82

1- INTRODUÇÃO

A taxa de mortalidade relacionada às doenças cardiovasculares (DCV) vem apresentando um suave declínio nos últimos anos, mas ainda permanece como a principal causa de morte nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Segundo projeções da Organização Mundial de Saúde, estima-se que, no ano de 2030, aproximadamente 23,6 milhões de pessoas no mundo morrerão em decorrência de distúrbios vasculares, principalmente as doenças cardíacas e o acidente vascular cerebral¹. Nesse contexto, dentre as doenças mais impactantes, o infarto agudo do miocárdio será a principal causa isolada de óbito entre homens e mulheres².

Globalmente, as doenças cardiovasculares representam cerca de 30% de todas as mortes. No entanto, os padrões e taxas de mortalidade variam entre os países de alta renda e os de média e baixa renda. Enquanto na Europa Oriental a taxa de mortalidade por DCV é de 58%, na África Subsaariana é de apenas 10%³. Essa variabilidade na taxa de mortalidade pode ser resultado de múltiplos fatores como, transições epidemiológicas, aumento da expectativa de vida em alguns países, alta incidência de doenças infecciosas em determinadas regiões mais carentes e maior predisposição genética aos fatores de risco das doenças cardiovasculares³.

Da mesma forma, como relatado anteriormente, no Brasil as taxas de mortalidade por DCV também vêm apresentando redução, mas permanecem como responsáveis por mais de um terço dos óbitos ocorridos nos últimos anos⁴. Dentro do grande grupo das doenças cardiovasculares, as doenças isquêmicas do coração (DIC) são as mais incidentes, dentre as quais se destaca o infarto agudo do miocárdio (IAM) como causa isolada responsável pela

maior proporção de mortes por etiologia orgânica em homens e mulheres⁵. Segundo dados obtidos a partir dos Indicadores e Dados Básicos (IDB- Brasil -2010) do portal do Ministério da Saúde e de acordo com a 10ª revisão da classificação internacional de doenças (CID-10), ocorreram 962.931 mortes por doenças cardiovasculares, sendo 95.673 óbitos por doenças isquêmicas do coração e 75.735 por infarto agudo do miocárdio em indivíduos de ambos os gêneros e com mais de 30 anos no período de 2009⁶.

Nos países desenvolvidos, buscando conter a progressão da incidência dessa doença, coortes prospectivas com indivíduos assintomáticos ou com doença aterosclerótica da artéria coronária (DAC) crônica foram iniciadas para identificar os fatores de risco para IAM. Por meio destas coortes, a exemplo de Framingham⁷, foram identificados os fatores de risco fisiológicos e de estilo de vida com forte magnitude de efeito causal para DAC, atualmente considerados clássicos, como a hipertensão, o diabetes mellitus, o tabagismo e as dislipidemias. Outra contribuição importante na determinação dos fatores de risco consistiu no estudo *INTERHEART*⁸, que avaliou os riscos para DCV em 52 países dos cinco continentes, incluindo o Brasil, onde se constataram fatores de risco de simples detecção e passíveis de modificação, responsáveis por mais de 90% do risco atribuível de DCV. Entre eles, seis fatores destacados: dislipidemia, hipertensão arterial, diabete melito, obesidade, tabagismo e estresse. Por outro lado, outros fatores contribuem para a diminuição desse risco: prática de atividade física com regularidade e alimentação saudável⁸.

Atualmente, programas de educação continuada, recomendações pelas sociedades médicas e políticas públicas voltadas à identificação e controle desses fatores têm resultado em leve, porém consistente, atenuação na progressão da incidência de eventos cardiovasculares agudos nesses países. Fato evidenciado em um estudo realizado nos Estados Unidos, onde metade da redução da mortalidade cardiovascular em duas décadas pôde ser

explicada por um melhor controle dos fatores de risco, enquanto a outra metade foi atribuída aos tratamentos específicos dessas doenças⁹. Desta forma, cada vez mais estudos vêm sendo realizados procurando estratificar fatores de risco que possam ser considerados coadjuvantes ou sensíveis ao contexto comportamental, de saúde ou biológico no desenvolvimento das doenças arteriais coronarianas.

Outro aspecto que vem sendo estudado e que apresenta relação significativa na incidência dos fatores de risco para DCV, consiste na origem e na descendência parental das populações, considerando assim o histórico de miscigenação da amostra estudada, e na contribuição da ancestralidade genética para a manifestação fenotípica das entidades clínicas cardiovasculares.

1.1 EVIDÊNCIAS EPIDEMIOLÓGICAS

Segundo alguns estudos descritos na literatura, existem diferenças significativas na incidência e na taxa de mortalidade das doenças coronarianas, incluindo o IAM, entre os diferentes grupos étnicos, com especial interesse sobre a frequência dos eventos em grupos populacionais de origem europeia, africana subsaariana e ameríndia¹⁰. Dentre eles, destacam-se o contingente afro-americano, onde há evidência para uma maior taxa de mortalidade por essas doenças quando comparado a outras etnias¹¹. Acredita-se que essa diferença epidemiológica seja atribuída principalmente à maior prevalência dos fatores sócio-demográficos de risco cardíaco na população africana¹², como também na demora na procura de cuidado, em condições econômicas menos privilegiadas e na dificuldade de acesso às terapias no longo prazo após o evento agudo^{11,12}.

Ademais, para Bosworth *et al.*¹³, dentre os fatores de risco clássicos, a hipertensão é um dos responsáveis pela alta taxa de DCV em afro-americanos quando comparados a outros grupos étnicos. A etnia afro-americana apresenta precocidade no desenvolvimento da hipertensão e início de suas manifestações clínicas, além de uma proporção mais elevada de taxas pressóricas graves (180/110 mmHg), o que leva a um maior comprometimento de órgãos-alvo no organismo devido às complicações da doença. Essas condições são responsáveis por elevadas taxas de mortalidade para acidente vascular cerebral e doenças cardíacas em afro-americanos, quando comparados com a população em geral¹⁴.

Estudos indicam que uma possível explicação para essas disparidades raciais no desfecho cardiovascular esteja relacionada ao controle da pressão arterial pela eficácia desigual da farmacoterapia, além de um perfil diversificado de adesão ao tratamento¹³. Pacientes que aderem à medicação apresentam melhores resultados de saúde. No entanto, vem sendo demonstrado que 60% dos pacientes hipertensos interrompem o tratamento durante o primeiro ano de cuidados¹⁵. Dentre estes, os que apresentam menor taxa de adesão à terapia medicamentosa e controle pressórico são os pacientes do contingente afro-americano¹⁶, justificando desta forma os índices mais elevados de eventos cardiovasculares quando comparados a outros grupos populacionais.

Além da hipertensão, a prevalência de outros fatores de risco também são determinantes na incidência das doenças do coração e nas elevadas taxas de mortalidade por causas cardiovasculares entre os diferentes grupos étnicos¹⁷. Dentre eles, o diabetes mellitus, a obesidade e o tabagismo são importantes fatores contribuintes para o desenvolvimento dessas patologias e podem variar sua frequência nas diferentes populações. Como no estudo de Henderson *et al.*¹⁷, no qual a população hispânica norte-americana, reconhecidamente descendente de ameríndios, apresentou baixa prevalência desses fatores de risco e

consequentemente uma taxa de mortalidade menor quando comparados com a população descendentes de Europeus daquele país. Com relação ao tabagismo, a prevalência do uso do tabaco por parte do contingente afro-americano é semelhante ao uso encontrado pela população de origem europeia, diferindo dos padrões de frequência elevados encontrados para os fatores de hipertensão e hiperlipidemia entre os afro-americanos¹⁸. O fator da inatividade física é mais prevalente nos grupos ameríndios e também afro-americanos, especialmente entre as mulheres. As taxas diferenciais de inatividade física nessas populações começam a se manifestar na infância, aumentando na adolescência e com a gravidez, associando-se consistentemente ao tabagismo e ao maior grau de obesidade¹⁹. Apesar desses relatos tomarem por base a população norte-americana, presume-se que fenômeno similar possa ocorrer mesmo em amostras de indivíduos que não apresentam composição bem definida do ponto de vista étnico, a exemplo das populações miscigenadas da América Latina.

Com relação ao infarto agudo do miocárdio, especificamente, estudos apresentam variações significativas na ocorrência dos fatores de risco clássicos e diferenças na manifestação clínica da doença entre os diferentes grupos étnicos. No estudo de Metha *et al.*²⁰ entre acometidos por IAM, fatores como hipertensão, diabetes mellitus, tabagismo e hipercolesterolemia se mostraram predominantes no grupo afro-americano, quando comparado ao grupo caucasiano, acompanhados por uma maior prevalência de hipertrofia ventricular esquerda e de elevação do segmento ST. Em linha, Henderson *et al.*¹⁷ concluíram que uma maior prevalência dos fatores de risco clássicos consegue explicar a maioria das diferenças existentes nas taxas de mortalidade em função do IAM e outras doenças cardiovasculares nos vários segmentos populacionais. No entanto, sugere a existência de outros fatores, como a suscetibilidade genética decorrente de diferentes arquiteturas alélicas distribuídas desigualmente entre as etnias e ainda pouco mensurada, como possível

coadjuvante para a variabilidade nas apresentações fenotípicas do IAM, assim como diferentes formas de evolução da condição e taxas de mortalidade desiguais para uma mesma doença.

1.2 EVIDÊNCIAS GENÉTICAS

O componente genético, junto a fatores comportamentais, nutricionais e outros fatores de estilo de vida contribuem para a suscetibilidade ao desenvolvimento e gravidade das doenças cardiovasculares²¹. Atualmente, estudos de associação genômica de elevado desempenho (a exemplo dos *genome wide association study* - GWAS) são desenvolvidos para identificar possíveis variantes alélicas associadas aos fenótipos da doença arterial coronariana e de seus fatores de risco, auxiliando assim no prognóstico de medidas clínicas convencionais²². Por estes estudos, novos *loci* e polimorfismos de base única (*single-nucleotide polymorphism* - SNPs) vêm sendo identificados na literatura e associados à prevalência do infarto agudo do miocárdio (IAM) em bases populacionais (Tabela 1).

Tabela 1 - Características dos SNPs descritos por GWAS em associação com infarto agudo do miocárdio (IAM) e respectivas frequências dos alelos de risco em modelos parentais de ancestralidade (CEU = Ancestralidade Europeia), (YRI = Ancestralidade Africana), (MEX= Ancestralidade Ameríndia)

Genes Próximos	SNP	Fenótipo	Loc.Crom.	A.R	Freq.AR (CEU)	Freq. AR (YRI)	Freq.AR MEX)	OR	P	Ref.
ALDH2	rs3782886 rs671	IAM	12q24.12	A	0	0	0,01	1.46	1x10 ⁻¹⁴	23
AP3D1; DOT1L; SF3A2	rs3803915	IAM	19p13.3	C	0,898	0,897	0,890	1.12	4x10 ⁻⁹	23
CDKN2A; CDKN2B	rs10757278	IAM	9p21.3	G	0,500	0,051	N/A	1.28	1x10 ⁻²⁰	24
Intergenic	rs4977574 rs1333049	IAM	9p21.3	C	0,456	0,173	0,480	1.22	8x10 ⁻⁶	23
PLCL2	rs4618210	IAM	3p24.3	G	0,504	0,739	0,510	1.10	3x10 ⁻⁹	23

Dados obtidos diretamente do catálogo de GWAS do NHGRI (*National Human Genome Research Institute*); *International HapMap Project*; *The 1000 genomes project*; Loc. Crom: Localização cromossômica; SNP: Polimorfismo de Base única; AR: Alelo de Risco; Freq. AR YRI: Frequência do Alelo de Risco em população com ancestralidade Africana; Freq. AR CEU: Frequência do Alelo de Risco em população com ancestralidade Europeia; Freq. AR MEX: Frequência do Alelo de Risco em população com ancestralidade Ameríndia; Ref: Referência; ALDH2: *Aldehyde dehydrogenase 2 family*; AP3D1: *Adaptor-related protein complex 3, delta 1 subunit*; CDKN2A: *Cyclin-dependentkinase inhibitor 2A* ;CDKN2B: *Cyclin-dependent kinase inhibitor 2B* ; DOT1L: *DOT1-like histone methyltransferase*; Intergenic: *Intergenic*; PLCL2: *Phospholipase C-like 2* ; SF3A2: *Splicing factor 3a, subunit 2*.

Com base nessas informações pode-se verificar que é crescente o corpo de evidências que associa o componente genético com a manifestação dos fatores de risco para doenças cardiovasculares e IAM, com margem à suspeição de que a frequência diferencial dos alelos de risco entre etnias pode figurar como elemento base para explicar ao menos em parte a etiologia genética do fenótipo. Desta forma, diferentes arquiteturas alélicas em contingentes miscigenados podem explicar frequências intra populacionais diferenciais dos eventos vasculares. Por isso, o desenvolvimento de estudos de associação alélica deve levar em conta a possibilidade de estruturação étnica nos grupos estudados e a consequente identificação de associações espúrias, que ocorrem quando a frequência de um determinado fenótipo (ex. uma doença) varia entre as subpopulações. Em uma situação onde a subpopulação com maior

frequência do fenótipo em questão esteja super representada no grupo estudado, qualquer alelo que esteja em alta frequência nesta subpopulação estará associado com o fenótipo²⁵. Atualmente, para minimizar estes efeitos e obter resultados confiáveis, os estudos de associações alélicas em populações miscigenadas vêm adotando a metodologia da estimativa de ancestralidade individual na amostra estudada.

Neste sentido, estimativas de ancestralidade individual permitem avaliar a influência das variações étnicas no desenvolvimento de doenças, bem como auxiliar em estudos que buscam identificar se um determinado fenótipo tem maior influência genética ou ambiental²⁶. Sua metodologia consiste no uso de marcadores em cromossomos autossômicos²⁷ que podem ser de dois tipos: polimorfismos de base única (SNPs) bialélicos, e polimorfismos do tipo inserção-deleção.²⁸ Independente da classe do marcador, todos devem possuir frequências alélicas significativamente diferentes entre os contingentes populacionais para serem considerados *ancestry informative markers* (AIMs)²⁹. Estes AIMs oferecem um alto poder de inferência individual da proporção de miscigenação³⁰. Normalmente são utilizados como ferramentas de controle para minimizar o efeito de estratificação populacional e de possíveis resultados espúrios em estudos de associação genética em populações miscigenadas, como é o caso da população brasileira³¹. O uso destes marcadores pode ser considerado uma eficiente abordagem de diferenciação entre os fatores ambientais/estilo de vida e a herdabilidade genética que incidem sobre os riscos das doenças. No estudo de Ruiz-Narvaez *et al.*³², foi pesquisada a associação entre ancestralidade genética e o risco de infarto do miocárdio e de síndrome metabólica em amostra com histórico de miscigenação tri-híbrida (europeia, ameríndia e afro-americana). Este estudo aponta que uma elevação em 10% no conteúdo genômico afro-americano implica uma elevação em 29% do risco de infarto do miocárdio e de 30% em frequência de hipertensão. Outro resultado do mesmo estudo sugere que a cada

10% de aumento de ancestralidade ameríndia, ocorrem 14% de elevação de risco de síndrome metabólica e 20% de aumento da frequência de intolerância à glicose.

Diante das considerações feitas anteriormente, pode-se afirmar que são necessários mais estudos que conciliem investigação clínica criteriosa, parâmetros laboratoriais certificados e ancestralidade genética realizada por múltiplas baterias de marcadores. Além de aumentarem a compreensão sobre a fisiopatologia dos distúrbios, permitem que sejam apontados fatores genéticos e de risco basais para o desenvolvimento ou agravamento de enfermidades como no caso desta pesquisa o infarto agudo do miocárdio. Pesquisar esta interação pode favorecer uma intervenção preventiva, ou mesmo um prognóstico clínico precoce, auxiliando na terapêutica da doença. No entanto, são estudos complexos que podem apresentar controvérsias nos resultados em relação à metodologia aplicada, às variáveis estudadas e principalmente aos determinantes genéticos dos distúrbios crônicos devido ao grau de miscigenação a que as populações estudadas se encontram. Nesse cenário, o nosso estudo se propõe a investigar a associação entre estimativas de ancestralidade genética determinada por marcadores moleculares (AIMs) com o comportamento de variáveis clínicas e bioquímicas representativas de risco de recidiva no período pós-infarto, na população brasileira, que apresenta um importante grau de ancestralidade tri-híbrida (europeia, africana e ameríndia) em sua formação.

2- OBJETIVO

Investigar a associação de estimativas de ancestralidade genética, determinadas por marcadores moleculares, com o comportamento de variáveis bioquímicas e clínicas representativas da intensidade e gravidade clínicas do infarto, assim como do risco de complicação intra-hospitalar ou de recidiva no período pós-infarto.

Dentre as dimensões clínicas e bioquímicas em investigação, destacam-se:

- Variáveis metabólicas (glicemia, insulinemia, lipemia, proteína C reativa, e outras) e clínicas (antropométricas e pressóricas);
- Variáveis de gravidade clínica (pico de CK-MB, estadiamento de Killip-Kimbal, proporção de uso de trombolíticos ou PCI primária, proporção de uso de betabloqueador e de estatinas, e outras).

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRA

A amostra estudada é composta por participantes admitidos na Coorte Brasília (*Brasília Heart Study*), uma iniciativa prospectiva de recrutamento de pacientes consecutivos atendidos no Hospital de Base do Distrito Federal (HBDF) com infarto agudo do miocárdio, arrolados desde junho de 2006 e acompanhados por 24 meses em consultas regulares e avaliações médicas^{33,34}. São considerados critérios de inclusão para admissão na coorte: (i) período inferior a 24 horas entre o início dos sintomas de IAM e a admissão no hospital, (ii) supradesnivelamento do segmento ST de pelo menos 1 mm (plano frontal) ou 2 mm (plano horizontal) em duas derivações contíguas, (iii) evidência de necrose miocárdica pela elevação da CK-MB e troponina, e (iv) ausência de incompetência cognitiva que impossibilite a resposta verbal aos questionários médico e nutricional. A razão da escolha desse tipo de IAM consiste na acuidade diagnóstica para a inclusão de pacientes em circunstância compatível com o quadro agudo do infarto miocárdico.

Além dos critérios de inclusão já citados, são consideradas também as seguintes causas de exclusão na coorte: (i) óbito entre o 1º e 5º dia após o IAM, (ii) pacientes com dados incompletos para análise estatística, e (iii) desistências e ou impossibilidade de prosseguir com o acompanhamento ambulatorial.

Para a presente pesquisa, um subgrupo foi formado, considerando os critérios de inclusão e exclusão adotados pela coorte no período de junho de 2006 a agosto de 2012,

totalizando desta forma 408 pacientes avaliados. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Saúde do Distrito Federal sob o parecer n°: 324/2011, e todos os pacientes admitidos foram previamente instruídos sobre os procedimentos a serem realizados, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

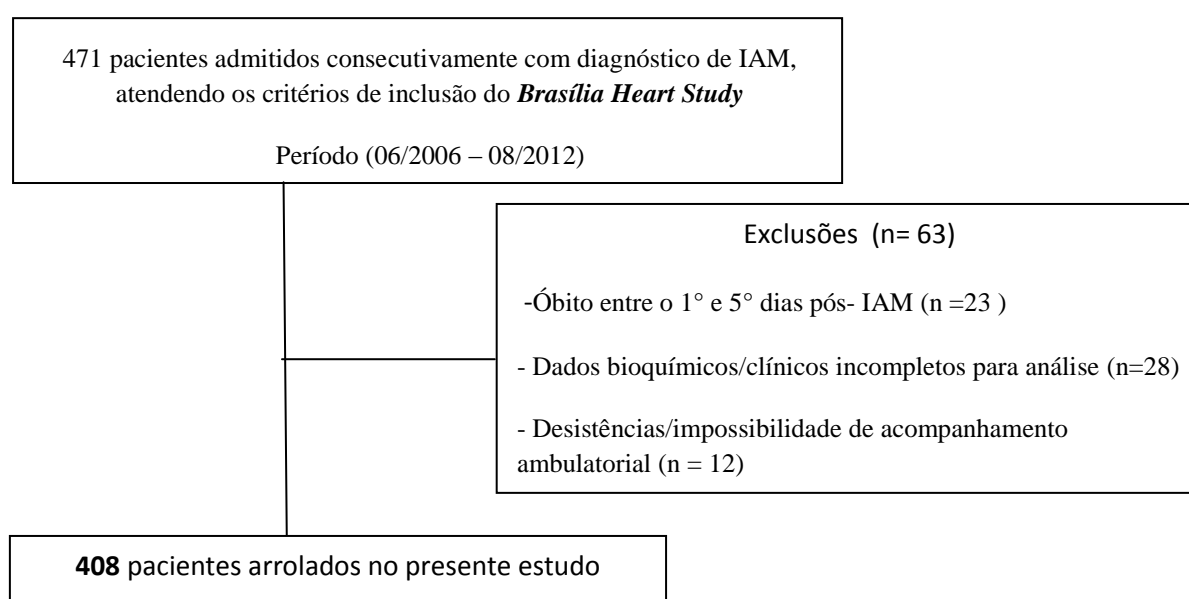


Figura 1 - Fluxograma de seleção dos pacientes do estudo

3.2 PROCEDIMENTOS CLÍNICOS

Os 408 participantes do estudo admitidos na Coorte foram inicialmente avaliados nas primeiras 24 horas (D1) após início do IAM. Nesta avaliação, foram realizados: (i) coletas de sangue para análises bioquímicas, separação de plasma e congelamento do material para extração de DNA, (ii) antropometria, e (iii) histórico

médico geral. A pressão arterial (PA) foi aferida e definida seguindo os critérios estabelecidos nas VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão³⁵. Na análise bioquímica da primeira avaliação, foram dosados: hemoglobina glicada, insulina, glicemia, colesterol total, triglicérides, HDL colesterol, proteína C reativa de alta sensibilidade, ureia, creatinina, CK-MB e peptídeo C.

Os pacientes foram acompanhados diariamente. No quinto dia (D5) pós-IAM, procedeu-se com a avaliação médica da evolução intra-hospitalar. Esta segunda avaliação consistiu no estadiamento clínico do IAM conforme classificação de Killip-Kimbal³⁶, sendo observados os medicamentos utilizados e o surgimento de eventos isquêmicos recorrentes. Caso ocorresse óbito antes da segunda avaliação, a confirmação do evento era feita por meio de registros do prontuário médico ou do atestado de óbito.

Após alta hospitalar, os pacientes foram encaminhados e submetidos a uma rotina de acompanhamento clínico-ambulatorial, que incluiu a prescrição de medicamentos conforme o quadro clínico e a necessidade individual. Estatinas em adição com ezetimiba ou fibratos foram usados para controle da hiperlipidemia. Captopril e/ou losartana foram prescritos para pacientes com hipertensão arterial ou com fração de ejeção reduzida (FEVE < 40%); metformina e glibenclamida foram adotados para o controle glicêmico; 100 mg /dia de aspirina associada a 75 mg/dia de clopidogrel foi administrado aos pacientes submetidos à angioplastia coronária percutânea. Quando clinicamente indicado, foi adotado o uso da terapia anti-isquêmica com propranolol e dinitrato de isossorbida, isolado ou em combinação. O acompanhamento clínico foi realizado por profissionais que se mantiveram “cegos” para as análises genômicas realizadas no estudo.

Além das rotinas clínica e medicamentosa, os pacientes também receberam orientação quanto a mudanças no estilo de vida, onde foram sugeridas medidas como prática de exercícios físicos regulares, controle da alimentação e perda de peso por meio de dieta e interrupção do tabagismo. O estudo classificou cada sujeito como sedentário ou praticante de exercícios físicos conforme relato do próprio paciente. Seguindo os critérios de praticar ao menos cento e cinquenta (150) minutos de atividade física aeróbica moderada, ou setenta e cinco (75) minutos de atividade intensa na semana, conforme preconiza a Organização Mundial de Saúde¹. Foram classificados como tabagistas sujeitos que afirmaram fumar ao menos um cigarro por dia, sendo a carga tabágica em maços-ano calculada conforme a relação: (número de cigarros/dia dividido por 20) x (tempo de tabagismo em anos). Foram classificados como ex-tabagistas aqueles que haviam cessado consumo por um período igual ou maior a seis meses antes da admissão no estudo, enquanto não tabagistas foram os que declararam nunca ter feito uso do tabaco.

Ao final do primeiro mês pós-IAM, foi realizada nova consulta em ambiente ambulatorial, a fim de se verificar o estado geral de saúde de cada paciente. Casos de óbito no período foram registrados. Ainda nesta avaliação, os sujeitos foram submetidos a ressonância nuclear magnética cardíaca (RMN-c) com gadolínio e realce tardio para confirmação e quantificação da massa infartada, em aparelho da empresa General Electric Medical Systems, modelo Signa CV/i (Waukesha, MN, EUA), com campo magnético principal de 1,5 Tesla equipado com sistema de gradientes com intensidade 40 mT/m e taxa de ascensão (slew rate) de 150 T/m/s. Utilizou-se uma bobina de superfície composta de 4 elementos para exames cardíacos comercialmente disponível. Esses exames foram realizados com sincronização eletrocardiográfica e com os

pacientes em pausa expiratória para diminuir os efeitos decorrentes dos movimentos respiratórios.

3.3 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

A primeira amostra de sangue foi colhida na emergência do hospital por motivo de admissão do paciente, respeitando o intervalo de vinte e quatro horas desde o início dos sintomas do infarto agudo do miocárdio e atendendo um período médio de jejum de 504 ± 231 minutos. Após coleta, o sangue foi centrifugado em EDTA a 5°C, 4.500 rpm por 15 min para separação do plasma e obtenção do creme leucocitário. As amostras obtidas foram armazenadas a -80° C para posterior análise. Uma alíquota das amostras colhidas no primeiro dia pós-IAM foi encaminhada a laboratório privado de análises clínicas (certificado pelo Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica) onde foram dosados por testes enzimáticos: glicose sanguínea (Glucose GOD-PAP, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), colesterol total (CHOD-PAP, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), triglicerídeos (GPO-PAP, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) e lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol) (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). O LDL colesterol foi calculado pela fórmula de Friedewald. Proteína C reativa de alta sensibilidade (Cardiophase, Dade Behring, Marburg, Germany) foi determinada por imunonefelometria. A insulinemia (Roche Diagnostics, Mannheim, USA) foi quantificada por eletroquimioluminescência, enquanto o peptídeo C (Immulite 2000, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA) se deu por

Quimioluminescência. O índice *Homeostatic Model Assessment* (HOMA) foi utilizado para determinar a sensibilidade à insulina (HOMA 2S), assim como para estimar a capacidade funcional das células β pancreáticas (HOMA 2B). O HOMA 2S foi calculado com base nos valores de jejum da glicemia e insulinemia, enquanto o HOMA 2B utilizou os níveis plasmáticos de peptídeo-C. A hemoglobina glicada (HbA1c) (Variant II, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA) foi determinada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC), segundo instruções dos respectivos fabricantes. No laboratório do próprio hospital, foram realizadas as dosagens de ureia (Urea, Wiener lab, Rosario, Argentina) e creatinina (Creatinina AA, Wiener lab, Rosario, Argentina) por meio de métodos enzimáticos disponíveis comercialmente. Para CK-MB foram realizadas dosagens após a admissão no espaço de 6/6h a 12/12h para verificar a presença de uma curva enzimática e determinar o seu pico (CK-MB NAC, Wiener lab, Rosario, Argentina).

3.4 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Por ocasião da avaliação médica, foram aferidos peso, altura e circunferência abdominal de cada paciente. O peso foi aferido com a utilização de uma balança digital portátil (MS 160, Marte Balanças e Aparelhos de Precisão, São Paulo, SP), com o indivíduo posicionado em pé, no centro da balança, descalço e com a menor quantidade de vestimentas possível. A altura foi medida com o indivíduo em pé, descalço, com os calcanhares juntos, costas retas e os braços estendidos ao lado do corpo, utilizando-se o antropômetro. Com base nesses dados foi calculado o índice de massa corporal (IMC;

em kg/m²). A circunferência abdominal foi medida utilizando-se fita métrica não extensível, circundando o indivíduo no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca no momento da expiração³⁷.

3.5 EXTRAÇÃO DO DNA

O DNA foi extraído a partir das amostras de creme leucocitário obtidas e estocadas no ato da admissão do paciente ao serviço de emergência e avaliação inicial. A técnica utilizada para extração encontra-se padronizada e seguiu o protocolo descrito no manual do Kit (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen, Brasil). A verificação do material obtido com a extração foi realizada por meio de eletroforese em gel de agarose a 0,6%. Após processamento, o DNA foi armazenado adequadamente e utilizado nas técnicas específicas de genética molecular e análise genômica.

3.6 DETERMINAÇÃO DA ANCESTRALIDADE GENÔMICA

3.6.1 Definição dos Marcadores Informativos de Ancestralidade (AIM)

A ancestralidade genômica da amostra estudada foi estimada a partir de dezoito (18) AIMs, sendo dezessete (17) SNPs informativos de ancestralidade e um marcador tipo inserção/deleção (AT3), todos selecionados previamente na literatura e já testados na população brasileira³¹, e que tomaram por base as populações parentais, Europeia

(CEU), Africana (Yoruba) e Ameríndios (Mayan) com as respectivas frequências descritas na tabela 2. Esses marcadores possuem diferenças de frequências alélicas (delta) maior que 0,6 para os três eixos de diferenciação (africanos vs. europeus; europeus vs. ameríndios e ameríndios vs. africanos), conforme listados na Tabela 2.

Tabela 2 - Descrição dos AIMs: posições cromossômicas, alelos e frequências nas populações parentais (Europeia (EUR), Africana (AFR) e Ameríndia (AMR))

Loco	Posição Gênica	Alelo		Frequência do Alelo 1		
		1	2	EUR	AFR	AMR
rs2065160	1q32	C	T	0,078	0,512	0,850
rs1426654	15q21	C	T	0,000	0,980	0,950
rs727563	22q13	C	T	0,260	0,820	0,950
rs734780	15q26	C	T	0,070	0,710	0,854
rs730570	14q32	A	G	0,860	0,185	0,100
rs3796384	3p14	C	G	0,154	0,783	0,875
CRH(3176)	8q13	G	A	0,073	0,682	0,017
FYNULL(2814)	1q23	C	T	0,998	0,001	1,000
rs7349	10p11.2	G	A	0,939	0,016	1,000
rs267071	5q22	C	T	0,654	0,082	1,000
rs310612	20q13.3	G	A	0,237	1,000	0,034
rs3768641	2p13	G	C	0,077	0,990	0,000
rs3791896	2q35	C	T	0,234	1,000	0,086
rs4280128	13q22	G	A	0,643	0,041	0,966
rs4766807	12q24.2	A	T	0,622	0,030	0,948
rs730086	17q21	C	T	0,661	0,067	1,000
rs736556	7p15	C	T	0,244	0,939	0,018
AT3 rs3138521	1q25	I	D	0,282	0,858	0,061

Fontes: Shriver³⁸; Smith³⁹

3.6.2 Método de Genotipagem dos Marcadores de Ancestralidade (SNPs)

A técnica de genotipagem dos SNPs consistiu na preparação das amostras por meio de uma sequência de reações: (i) amplificação simultânea de vários fragmentos (multiplex) por meio de PCR, (ii) purificações enzimáticas e (iii) ensaio de extensão de base única, utilizando um terceiro primer, adjacente ao SNP a ser genotipado. Finalizadas essas etapas, seguiu-se uma eletroforese capilar com análise de

eletroferogramas, identificando assim os genótipos gerados. A seguir, a descrição desses procedimentos.

1ª Etapa: Reação em cadeia da polimerase em sistema múltiplo (PCR multiplex)

Para obtenção dos fragmentos polimórficos por meio de PCR, foi utilizado o Qiagen Multiplex PCR kit (Qiagen, Brasil). Os pares dos iniciadores para cada fragmento específico foram testados experimentalmente em gradiente seriado de concentrações que variaram entre 0,2 a 0,6 μM , sendo empregados em concentração otimizada, conforme descrito na Tabela 3. As amplificações foram realizadas no termociclador modelo *Veriti™ Dx Thermal Cycler* (Applied Biosystems®, EUA) com temperatura de desnaturação de 95°C por 15 minutos, seguido por 39 ciclos: a 94°C por 30 segundos, 57°C por 90 segundos e 72°C por 1 minuto, concluindo o programa em 10 minutos de extensão a 72°C. Para confirmação da amplificação, os produtos de PCR obtidos foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 2%.

Tabela 3 - Concentração [μM] dos iniciadores utilizados nas reações de amplificação (PCR) e nas reações de extensão de base única (Extensão) para genotipagem dos AIMs

Iniciadores	[] PCR (μM)	[] Extensão (μM)
rs1426654	0.2	0.5
rs730570	0.2	0.8
rs3796384	0.2	0.8
rs734780	0.2	1.3
rs4766807	0.4	0.9
rs2065160	0.4	1.1
rs267071	0.6	0.9
FYNUL(2814)	0.6	1.0
rs3768641	0.4	0.7
rs3791896	0.4	1.0
CRH(3176)	0.4	1.1
rs727563	0.6	1.0
rs736556	0.4	0.6
rs4280128	0.4	0.6
rs7349	0.4	0.8
rs730086	0.4	1.2
rs310612	0.5	1.2

Fonte: Autor

2ª Etapa: Purificação I

Após a amplificação, os produtos foram submetidos a um processo de purificação enzimática para eliminação do excesso de iniciadores e degradação dos desoxirribonucleotídeos (dNTPs). Para este processo, adicionou-se aos 3,0 μl do produto de PCR uma mistura de 1 U ExoI (USB Corporation, EUA), 1 U fosfatase alcalina de intestino de carneiro (CIAP) (Invitrogen Corporation, EUA) e tampão CIAP (1X), perfazendo um volume total de reação de 4,5 μl . Esse conteúdo foi incubado no termociclador durante 60 minutos a 37°C seguido de 15 minutos a 75°C.

3ª Etapa: Reação de extensão de base única (SnapShot)

Finalizada a etapa de purificação, cada produto de amplificação foi genotipado por meio de reações de extensão de base única utilizando o sistema comercial SNaPshotTM *Multiplex Genotyping System* (Applied Biosystems®). Para esta etapa, 1,5

μl do produto purificado foram adicionados a 1,0 μl de uma mistura de iniciadores S (que se encontram em gradiente seriado de concentração de 0,5 a 1,3 μM; Tabela 3) e a 1,0 μl da mistura de reação do kit SNaPshot™, acrescido de H₂O Milli-Q perfazendo o volume final de reação de 5,0 μl. A termociclagem foi feita com alteração no protocolo sugerido pelo fabricante, e engloba os seguintes passos: 2 minutos de desnaturação a 96°C, seguido de 30 ciclos de 96°C por 10 segundos, anelamento a 58°C durante 10 segundos e extensão a 60°C durante 20 segundos.

4ª Etapa: Purificação II

Os fragmentos amplificados pelo método de extensão de uma única base também foram submetidos a uma nova purificação enzimática para a remoção dos grupos fosforil das extremidades 5' dos ddNTPs fluorescentes. Essa purificação foi realizada adicionando-se 1U de CIAP (Invitrogen Corporation, EUA) na presença do tampão CIAP diluído a 1X em 5 μl do produto da reação anterior. A reação procede a 37°C por 60 minutos, seguido por desnaturação enzimática por 15 minutos a 85° C.

5ª Etapa: Genotipagem

Após finalização da etapa de purificação II, seguiu-se a preparação da amostra para a realização da eletroforese capilar, que consistiu em adicionar 1,0 μl do amplicon final com 8,83 μl de formamida Hi-Di e 0,17 μl de Liz120 *Size Standard* (Applied Biosystems). Esta etapa foi realizada em um sequenciador automático modelo ABI

PRISM® 3130XL (Applied Biosystems, EUA), sendo utilizado o polímero ABI 3700 POP 7 durante a corrida. Os dados obtidos foram analisados no software *GeneMapper* 4.0 (Applied Biosystems, EUA) para reconhecimento dos genótipos estudados.

3.6.3 Definição das Séries de Amplificações

Para a determinação dos grupos multiplex, foi realizado todo o procedimento descrito anteriormente para cada um dos iniciadores singularmente e utilizando-se um pool de amostras comum. Com base nos resultados gerados, realizou-se uma inspeção visual sobre os perfis dos eletroferogramas obtidos para cada SNP, a fim de se excluir a possibilidade de sobreposição entre os genótipos detectados. Seguiu-se então a formação dos grupos, cada um contendo entre 4 e 5 marcadores informativos de ancestralidade, sendo cada grupo representativo de diferenciação entre ao menos duas populações parentais.

A Tabela 4 apresenta os marcadores categorizados em cada grupo *multiplex* com os respectivos desenhos e tamanhos dos iniciadores usados nas reações de amplificação e de extensão de base única.

3.6.4 Marcador AT3

Para o marcador do tipo inserção-deleção (AT3), a genotipagem foi realizada através de uma reação simples de PCR. Sua sequência: GCCTGAAGGTAGCAGCTTGT (20, direto) e CCCACACTCCCTCACTCTTC (20, reverso). Foram utilizados os seguintes reagentes com seus respectivos volumes por

amostra: 1 U Taq polimerase (Phoneutria®, Belo Horizonte, MG, Brasil); solução tampão 10X composta de 500mM KCl, 100mM Tris-HCl, 1% Triton X-100 e pH 8,4 (Phoneutria®, Belo Horizonte, MG); dNTPs a 0,25 mM cada nucleotídeo; albumina bovina a 0,16 mg/μl; MgCl₂ a 1,5 μM, e 200 ng DNA, em volume total de 10,0 μl. As ampliações são realizadas no termociclador modelo *Veriti™ Dx Thermal Cycler* (Applied Biosystems®, EUA) com temperatura de desnaturação de 95°C por 5 minutos, seguido de 29 ciclos de 1 minuto a 95°C, 1 minuto a 54°C e 1 minuto a 72°C, concluindo o programa em 20 minutos de extensão a 72°C. Para visualização e determinação dos genótipos, os produtos de PCR obtidos foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 2%.

Tabela 4 - Descrição das sequências e dos tamanhos dos iniciadores de PCR e dos iniciadores de extensão de única base, com seus respectivos grupos de *multiplex* (Série)

Iniciadores	Sequência	Direção do iniciador	Tamanho do iniciador	Grupo Multiplex
rs1426654-F	TTCAGCCCTTGGATTGTCTC	Direito	20	1
rs1426654-R	AATTGCAGATCCAAGGATGG	Esquerdo	20	
rs1426654-S	(gact)ga CCGCTGCCATGAAAAGTTG	Reverso	24	
rs3796384-F	GCCAATGTGCGAAAGGATTAC	Direito	20	1
rs3796384-R	GCTAGCCAATGTGCAAGACA	Esquerdo	20	
rs3796384-S	(gact)6 CGTTCTTCTCTCCATTGAGA	Direto	44	
rs730570-F	GCCTTCCATGGTTTCTCTGA	Direito	20	1
rs730570-R	AGATTGTGGGGACTGTGAGC	Esquerdo	20	
rs730570-S	(gact)4 TCACCTGCATCTCACACTGC	Direto	36	
rs734780-F	GATGGCACTGACCTTCCTTC	Direito	20	1
rs734780-R	AGGTTGCAGTGAGCCAAGAT	Esquerdo	20	
rs734780-S	(gact)4 CCCAGCAGTGGGTATCAC	Direto	34	
Fynull-F 2814	TCACCCTGTGCAGACAGTTC	Direito	20	2
Fynull-R 2814	GTGGGGTAAGGCTTCCTGAT	Esquerdo	20	
Fynull-S 2814	(gact)2 gacCTCATTAGTCTTGGCTCTTA	Reverso	32	
rs2065160-F	CTGCTGTGCTAGCTGTGAT	Direito	20	2
rs2065160-R	GCTGTGAGGACGTCAAACCT	Esquerdo	20	
rs2065160-S	(gact)C CTCTCGATGAGTAAATATGGG	Reverso	26	
rs4766807 - F	ACTCGGGCCCTAATGGATAC	Direito	20	2
rs4766807 - R	CAGAGCGAGACCCAGTTTCT	Esquerdo	20	
rs4766807 - S	CTTGTGACTGTCAGCTGACAT	Reverso	21	
rs267071 - F	TGGGACTTGAGCATTATAGGG	Direito	21	2
rs267071 - R	TGCTAATGCAGCCTTCTCAA	Esquerdo	20	
rs267071 - S	(gact)C TTTAATGCTCTGAAAACCTTA	Direto	26	
rs3768641 - F	GGGGTGTATCTGATGGATGG	Direito	20	3
rs3768641 - R	GTAGAGCTGGGCACAGGAAG	Esquerdo	20	
rs3768641 - S	TGGAGAAGGAGCTAGAGAAT	Direto	20	
rs3791896 - F	GCACTGCCATCTCCTTCTC	Direito	20	3
rs3791896 - R	TGCTCCTCTCCTTGTCCCTA	Esquerdo	20	
rs3791896 - S	(gact)A GGGAGAAAAGAGGTGAGGAGA	Reverso	26	
rs727563-F	CACGGTATCCAGAACAAGCA	Direito	20	3
rs727563-R	ACACTGCCCTCCAATAACCA	Esquerdo	20	
rs727563-S	(gact)3 ACCAGGCTGTCTCAAATAAC	Reverso	32	
CRH-F 3176	TTTGTGCCCTTCACTATGG	Direito	20	3
CRH-R 3176	CCATCTTTCTGCCTGGAAAA	Esquerdo	20	
CRH-S 3176	(gact)3 TGCAGAAGCAAGGCCAATAA	Reverso	32	
rs7349-F	GCAATTGGTTCTCCTGCATT	Direito	20	4
rs7349-R	GAAATGAGAGTTGTATGGTTAGGC	Esquerdo	24	
rs7349-S	(gact)5 AAATGAGAGTTGTATGGTTAGGCT	Reverso	44	
rs730086 - F	GAGAACACTGGGGAGGTTCA	Direito	20	4
rs730086 - R	CAAAGTTCAGCACACCCTGA	Esquerdo	20	
rs730086 - S	(gact)3 CACCTCATTCTGGTTTTAT	Direto	32	
rs310612 - F	CACCCCTCCTCACCTCAC	Direito	19	4
rs310612 - R	TTTCTCACTCCCCTCTGTG	Esquerdo	20	
rs310612 - S	(gact)4 CAGGCGCAACACAGCCCAGC	Direto	36	
rs4280128 - F	TATTTGGGTAGCGAGGGACT	Direito	20	4
rs4280128 - R	ATTTCTTGCATGGGTGGAG	Esquerdo	20	
rs4280128 - S	(gact)7 ATTATATTTGGGTAGCGAGGGACT	Direto	52	
rs736556 - F	CTCTGCTTCTGGTTCCTTGC	Direito	20	
rs736556 - R	AGAACCAGCCGAAACTGAAA	Esquerdo	20	4
rs736556 - S	(gact)3 TGGTTCCTTGCAGATTACCAAATT	Direto	36	

4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com os genótipos obtidos para os marcadores informativos de ancestralidade (AIMs) e utilizando frequências alélicas em populações parentais (africanas, europeias e ameríndias), as proporções individuais de ancestralidade foram calculadas com o método de máxima verossimilhança, utilizando o programa IAE3CI⁴⁰.

O tratamento dos demais dados obtidos foi realizado utilizando-se SPSS for Windows versão 17,0. Características gerais da amostra são apresentadas na forma de valores médios \pm desvio padrão (DP) para variáveis contínuas ou como frequência (porcentagem) para dados categóricos. Análise exploratória dos dados foi realizada para avaliação da normalidade de distribuição das variáveis dependentes discretas. O teste de correlação de Spearman foi empregado para verificar associação das variáveis clínicas, bioquímicas e antropométricas obtidas no período pós-IAM com as estimativas discretas de ancestralidade observadas. Adicionalmente, regressões lineares foram aplicadas nas variáveis que revelaram significância no teste de “Spearman”. Complementarmente, o teste t de Student foi empregado para investigar possíveis associações entre as variáveis discretas (bioquímicas, clínicas e antropométricas) entre sujeitos dicotomizados conforme portadores ou não de determinada forma de ancestralidade genômica. O teste do qui-quadrado foi utilizado para averiguar associação entre as estimativas de ancestralidade genética e as variáveis de caracterização, assim como as representativas da gravidade do IAM. O nível de significância adotado no estudo consistiu em $P < 0.05$.

5 – RESULTADOS

No presente estudo, deve-se observar que as associações entre as estimativas de ancestralidade e as variáveis bioquímicas e clínicas investigadas se deram levando em consideração os escores bioquímicos e clínicos obtidos na avaliação geral realizada dentro das primeiras 24 horas após o IAM (D1). Para as associações com as variáveis representativas da gravidade do evento, segundo classificação de Killip-Kimbal e conforme medicamentos prescritos, foram adotados os dados fornecidos apenas pela avaliação clínica realizada ao quinto dia pós-IAM (D5).

5.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS E CLÍNICAS DA AMOSTRA ESTUDADA

Conforme os dados exibidos na Tabela 5, os 408 pacientes avaliados apresentaram média etária de 62,3 anos e constituindo-se amostra predominantemente masculina (75,7%). Observou-se também uma prevalência de sobrepeso entre os sujeitos investigados, representada pelos valores médios de IMC ($26,8 \text{ kg/m}^2$) e de circunferência abdominal (97,7 cm) reforçada pela alta proporção de sedentarismo (56,1%) presente entre os pacientes investigados. Ademais, no quesito tabagismo, foi possível observar uma prevalência elevada de consumo atual (37,6%) e progresso (30,9%) proporções bem superiores aos 14% da população brasileira adulta que fumam na atualidade, segundo estatísticas oficiais⁴¹.

Em termos gerais, as variáveis lipêmicas apresentadas pela amostra estudada revelam um perfil marcado por dislipidemias, representado por valores séricos médios

considerados indesejáveis, como para a fração HDL (37,9 mg/dL) e para triglicerídeos (169,9 mg/dL). Apesar de os demais valores lipêmicos médios se mostrarem contidos em intervalo aceitável [colesterol total (190,9 mg/dL), fração LDL (125,0 mg/dL) e colesterol não-HDL (153,0 mg/dL)], pode-se nitidamente perceber suas proximidades aos limites superiores considerados desejáveis para essas variáveis⁴².

Considerando as variáveis relacionadas ao metabolismo glicêmico, foi possível identificar alterações importantes nos valores médios para a glicemia de jejum (149,7 mg/dL) e para a hemoglobina glicada (6,5%), acompanhado por valores médios também elevados tanto para insulinemia (28,3 µUI/mL) quanto para os índices HOMA 2S (57,4%) e HOMA 2B (118,4%), configurando um quadro compatível com uma prevalência aumentada de resistência à insulina e ou de diabetes mellitus no grupo estudado. Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) consistiu em outra condição prevalente, conforme indicam as médias aferidas para pressão arterial sistólica (136,4 mmHg) e diastólica (85,5 mmHg), superiores aos valores de referência apresentados pelas VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão⁴³. Ademais, obteve-se também como dado adicional a frequência cardíaca em repouso dos pacientes que ficou na média de 77 batimentos por minuto (BPM).

Tabela 5 - Características gerais e clínicas da população estudada

Variáveis	Valores
N	408
Gênero masculino; %	75,7
Idade; anos	62,3 ± 11,5
IMC; kg/m ²	26,8 ± 4,4
Circunferência Abdominal; cm	97,7 ± 22,4
Sedentarismo; %	56,1
Tabagismo; %	37,6
Ex- tabagismo; %	30,9
PAS; mm/Hg	136,4 ± 29,0
PAD; mm/Hg	85,5 ± 18,8
FC; BPM	77,0 ± 16,9
Glicemia; mg/dL	149,7 ± 67,0
HbA1c; %	6,5 ± 1,8
Insulinemia; µUI/ml	28,3 ± 28,6
HOMA 2S; %	57,4 ± 67,3
HOMA 2B; %	118,4 ± 158,0
Triglicerídeos; mg/dL	169,9 ± 169,2
Colesterol Total; mg/dL	190,9 ± 51,3
Colesterol –HDL; mg/dL	38,0 ± 10,8
Colesterol – LDL; mg/dL	125,0 ± 90,6
Colesterol – VLDL; mg/dL	153,0 ± 49,4
Proteína C-Reativa; mg/mL	1,23 ± 1,96
Leucócitos; células/mm ³	11.641 ± 3.777
Ureia; mg/dL	39,9 ± 16,2
Creatinina; mg/dL	1,2 ± 0,4

N: número da amostra; IMC: Índice de Massa Corporal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica; FC: Frequência Cardíaca Batimentos por Minuto; HbA1c: Hemoglobina Glicada.

Os dados apresentados na Tabela 6 complementam a caracterização da amostra em relação à prevalência de fatores de risco para a ocorrência do IAM, assim como expõem a natureza e a intensidade dos eventos. Percebe-se que uma proporção importante dos pacientes (44,6%) apresentava história familiar de doença arterial coronariana (DAC). Ademais, foram registrados eventos progressos (primários) de infarto nos pacientes estudados em 10,7% dos casos, com necessidade de intervenção coronariana prévia em 5,6% dos sujeitos.

No tocante aos valores médios de marcadores diagnósticos de lesão miocárdica, é possível observar taxas séricas elevadas da isoenzima CK-MB (264,0 ng/ml) e do peptídeo C (4,9 ng/mL) que, associados à extensão da massa miocárdica infartada (16,5 g) aferida por RNM-c (Ressonância Nuclear Magnética cardíaca) confirmaram a ocorrência do IAM. No entanto, dados complementares em relação à gravidade do evento, segundo a classificação de Killip/Kimbal³⁶, mostraram que 89,1% dos pacientes admitidos apresentavam escore I, indicando eventos de baixa gravidade. Os demais se enquadravam sobretudo nos escores II e III, enquanto apenas 1,9% manifestaram eventos de alta gravidade (nível IV).

Com base no quadro clínico exposto, as intervenções sobre os pacientes caracterizaram-se principalmente por uso de angioplastia primária (49,4%), com reduzida necessidade de cirurgia de revascularização miocárdica (1,1%). Concomitantemente, intervenção farmacológica fez-se necessária para todos os sujeitos, com prevalência marcante para o uso de medicamentos com mecanismo de ação anti-agregante plaquetária [Aspirina: 98,1%; Clopidogrel: 83,0%], trombolítico [Tenecteplase: 64,8%], anti-hipertensivo [Betabloqueadores: 68,3%; IECA: 50,4%] e hipolipemiante [Sinvastatina: 66,0%], entre outros.

Tabela 6 - Características relacionadas ao IAM.

Variáveis	Valores
Pico de CK-MB; ng/mL	264,0 ± 192,0
Peptídeo C; ng/ML	4,9 ± 3,5
História Familiar de DAC; %	44,6
Intervenção Coronariana Prévia; %	5,6
Infarto Primário; %	10,7
IAM Hemorrágico; %	5,0
Massa Infartada por RNM-c; g	16,5 ± 10,3
Killip-Kimbal	
I; %	89,1
II; %	6,1
III; %	2,8
IV; %	1,9
Tempo entre sintomas e tratamento; min	175,3 ± 166,3
Cirurgia de revascularização miocárdica; %	1,1
Uso de angioplastia primária; %	49,4
Uso de terapia medicamentosa no pós-infarto	
Aspirina; %	98,1
Clopidogrel; %	83,0
Betabloqueadores; %	68,3
Sinvastatina; %	66,0
Tenecteplase; %	64,8
Enoxaparina; %	58,0
IECA; %	50,4
Heparina não fracionada; %	31,9
ARA; %	7,6
Inib-2B3A; %	5,6
BCC; %	3,0

DAC: Doença Arterial Coronariana; IAM: Infarto Agudo do Miocárdio; IECA: Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina; ARA: Antagonistas do Receptor de Angiotensina; Inib-2B3A: Inibidores da Glicoproteína IIB 3; BCC: Bloqueador dos Canais de Cálcio.

5.2 CARACTERÍSTICAS DA ANCESTRALIDADE DA AMOSTRA ESTUDADA

Os valores apresentados na Tabela 7 reproduzem as frequências do alelo 1 dos AIMS utilizados na presente pesquisa em cada população parental, e acrescenta a frequência do referido alelo encontrada na amostra investigada.

Tabela 7 - Descrição dos AIMS: posições cromossômicas, alelos e frequências nas populações parentais (Europeia (EUR), Africana (AFR) e Ameríndia (AMR) e na amostra.

Locus	Posição Gênica	Alelo		Frequência do Alelo 1			
		1	2	EUR	AFR	AMR	Amostra
rs2065160	1q32	C	T	0,078	0,512	0,850	0,265
rs1426654	15q21	C	T	0,000	0,980	0,950	0,316
rs727563	22q13	C	T	0,260	0,820	0,950	0,418
rs734780	15q26	C	T	0,070	0,710	0,854	0,300
rs730570	14q32	A	G	0,860	0,185	0,100	0,612
rs3796384	3p14	C	G	0,154	0,783	0,875	0,394
CRH(3176)	8q13	G	A	0,073	0,682	0,017	0,301
FYNNULL(2814)	1q23	C	T	0,998	0,001	1,000	0,288
rs7349	10p11.2	G	A	0,939	0,016	1,000	0,782
rs267071	5q22	C	T	0,654	0,082	1,000	0,441
rs310612	20q13.3	G	A	0,237	1,000	0,034	0,519
rs3768641	2p13	G	C	0,077	0,990	0,000	0,644
rs3791896	2q35	C	T	0,234	1,000	0,086	0,520
rs4280128	13q22	G	A	0,643	0,041	0,966	0,634
rs4766807	12q24.2	A	T	0,622	0,030	0,948	0,541
rs730086	17q21	C	T	0,661	0,067	1,000	0,520
rs736556	7p15	C	T	0,244	0,939	0,018	0,555
AT3 rs3138521	1q25	I	D	0,282	0,858	0,061	0,377

Fontes: Shriver³⁸; Smith³⁹; Autora

Uma análise descritiva sobre os níveis de ancestralidade genômica determinados para cada indivíduo revela um perfil de herança em relação às populações parentais, marcado por uma proporção média de ancestralidade europeia em 70,4%, de ancestralidade africana em 24,3%, e de ancestralidade ameríndia em 5,2%. Interpretação complementar dos dados da amostra revela frequência marcante de sujeitos com herança di-híbrida, expressa por 53,7% das pessoas com diferentes níveis de ancestralidade europeia e africana associados, porém sem traço de herança ameríndia.

Foi encontrada proporção de 5,3% para o grupo formado por di-híbridos descendentes ameríndios e africanos, enquanto os descendentes di-híbridos de ameríndios e europeus corresponderam a 2,2%, totalizando 61,2% de composição genética di-híbrida na amostra. Sujeitos descendentes de uma única população parental corresponderam a 32,8%, 2,6% e 1,4%, nesta ordem, para as ancestralidades europeia, ameríndia e africana. Por fim, a porcentagem de indivíduos apresentando um perfil tri-híbrido de ancestralidade foi de 2,0%.

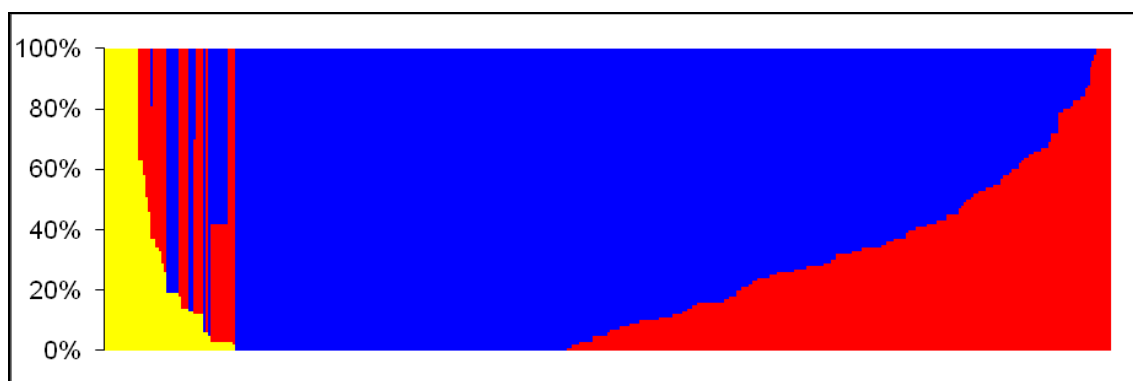


Figura 2 - Estimativa de ancestralidade genômica individual da amostra. Cada barra representa um sujeito, e cada cor representa uma proporção de ancestralidade relativa às populações originais (azul = europeia; vermelha = africana; amarela = ameríndia)

5.3 ANCESTRALIDADE GENÔMICA E VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS E CLÍNICAS DO IAM

Em virtude de as estimativas de ancestralidade genômica apresentarem distribuição não normal, foi utilizado o teste de correlação de Spearman para verificar a inter-relação destes escores com as variáveis bioquímicas e clínicas (D1) da amostra estudada. Com base nos resultados obtidos, a Tabela 8 mostra que a ancestralidade europeia, assim como a africana não apresentaram correlações com os perfis metabólico

(glicêmico, lipêmico) ou antropométrico (IMC, CA) do grupo. Associações significativas foram reveladas quando analisada a correlação das estimativas de ancestralidade ameríndia com as variáveis representativas do perfil pressórico [PAS (P = 0.021), PAD (P = 0.018)] e de frequência cardíaca [FC (P = 0.06)] no grupo. As estimativas de ancestralidade ameríndia também se mostraram associar com variáveis do metabolismo lipêmico [Col. Total (P = 0.032) e Col. LDL (P = 0.023)].

Complementando as análises acima descritas e com a finalidade de verificar se a ancestralidade ameríndia apresentava uma relação dose-dependente com a pressão arterial, foram realizados testes de regressão linear os quais demonstraram associação de ancestralidade ameríndia com PAS ($R^2 = 0.012$), PAD ($R^2 = 0.017$) e FC ($R^2 = 0.007$), ao passo que mantiveram ausência de associação das referidas variáveis com as ancestralidades europeia [PAS ($R^2 = 0.003$), PAD ($R^2 = 0.005$) e FC ($R^2 = 0.001$)] e africana [PAS ($R^2 < 0.001$), PAD ($R^2 < 0.001$) e FC ($R^2 < 0.001$)] (Figuras 3, 4 e 5).

Tabela 8 - Matriz de correlações entre os níveis de ancestralidade genômica e as variáveis bioquímicas e clínicas da amostra

Variáveis	ANCESTRALIDADES		
	EUR	AFR	AMR
Idade	.026;.606	-.015;.759	-.041;.407
Peso	.065;.192	-.048;.333	.030;.546
Altura	.032;.519	-.019;.706	-.018;.713
IMC	.017;.729	-.007;.885	.058;.243
CA	.011;.819	-.026;.602	.079;.111
PAS	.047;.342	.003;.954	-.114;.021*
PAD	.062;.215	.010;.840	-.117;.018*
FC	.067;.176	-.003;.951	-.136;.006*
Glicose	-.001;.985	.026;.601	.033;.508
HbA1c	-.061;.222	.074;.136	.018;.721
Insulina	.026;.602	-.035;.486	.006;.900
HOMA 2S	.007;.886	.019;.697	-.040;.416
HOMA2B	.024;.627	-.045;.368	.024;.630
Triglicerídeos	.054;.279	-.057;.251	.067;.179
Col. Total	-.023;.647	-.003;.945	.106;.032*
Col. HDL	.003;.951	.002;.974	-.050;.317
Col. LDL	-.048;.349	.018;.727	.115;.023*
Ureia	-.024;.629	.022;.652	.021;.670
Creatinina	.033;.506	-.011;.817	-.019;.700
Leucócitos	.056;.262	-.028;.578	.007;.884
Pico de CK-MB	.042;.395	-.084;.092	.026;.597
Proteína C-reativa	-.072;.147	.090;.068	.004;.938
Peptídeo C	.002;.967	-.032;.519	.043;.384

Dados expressos como índice de correlação e nível de significância (r ; P) obtidos pelo teste de correlação de Spearman. IMC: Índice de Massa Corporal; CA: circunferência abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica; FC: Frequência Cardíaca; HbA1c: Hemoglobina Glicada; CK-MB: Creatina quinase - fração MB.

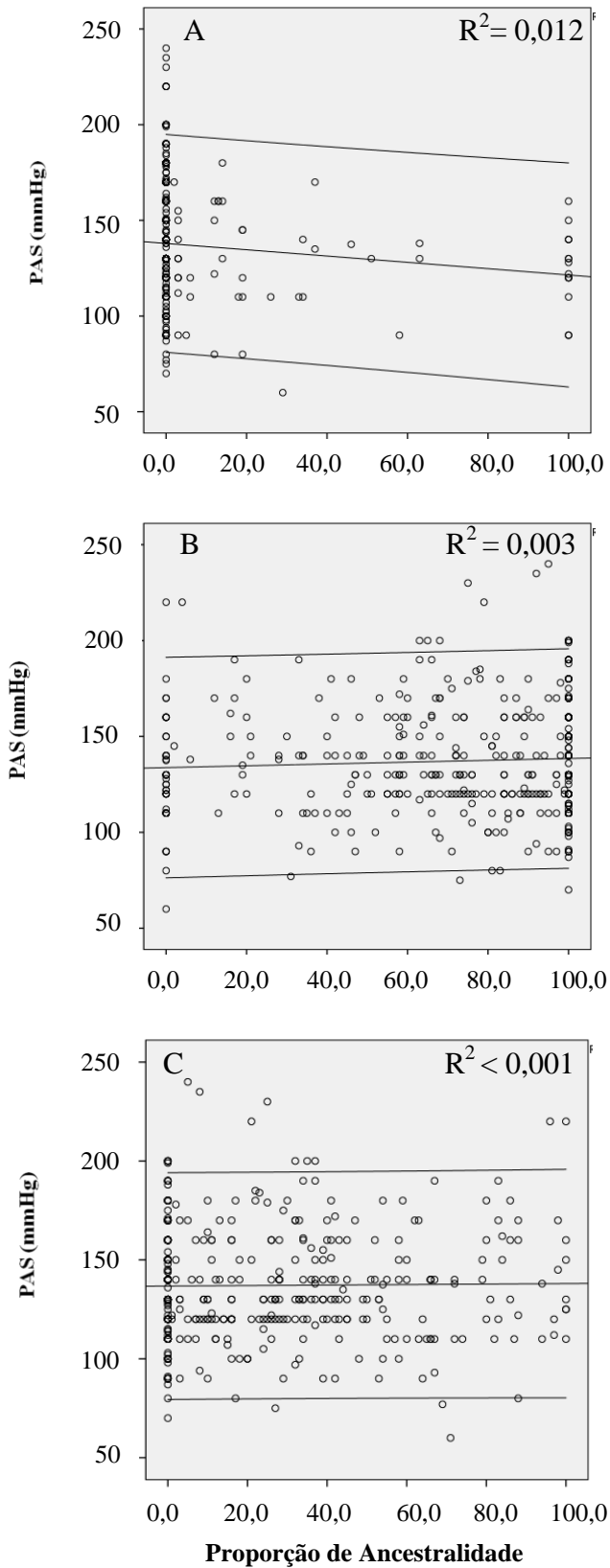


Figura 3: Regressão linear entre Pressão Arterial Sistólica (PAS) e as estimativas de ancestralidade Ameríndia (A), Europeia (B) e Africana (C).

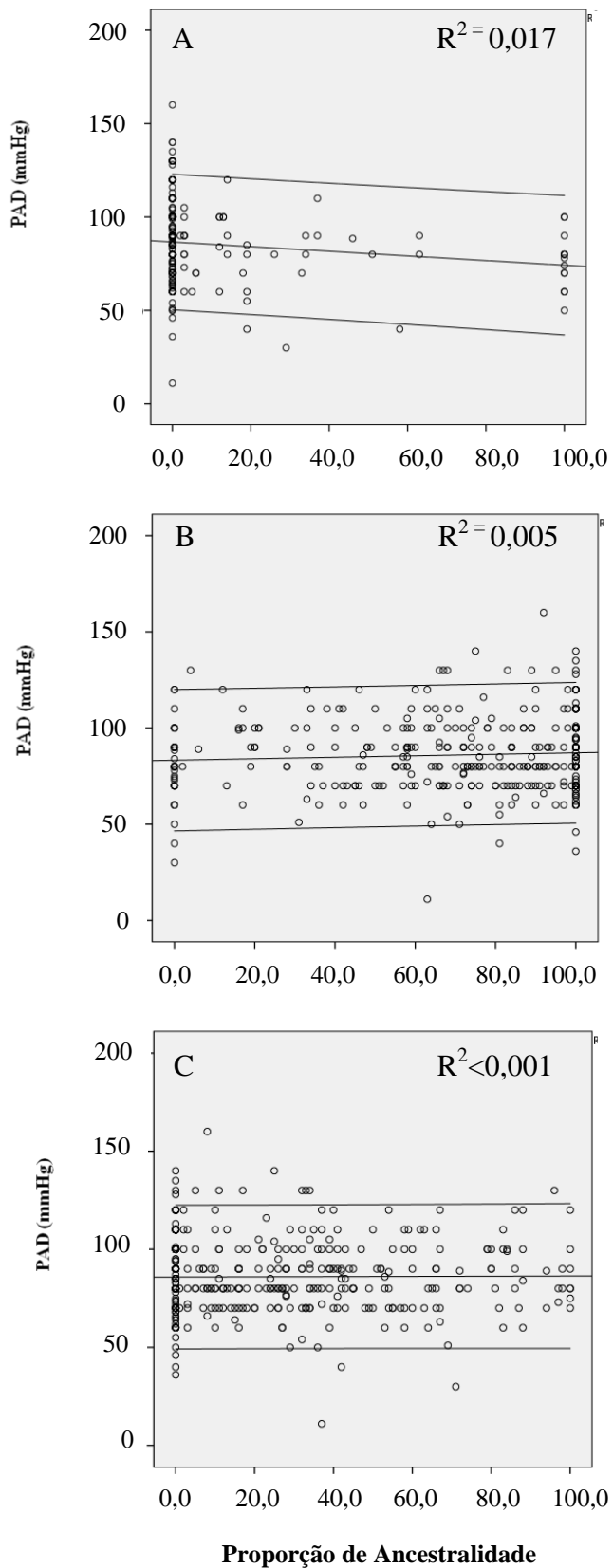


Figura 4: Regressão linear entre Pressão Arterial Distólica (PAD) e as estimativas de ancestralidade Ameríndia (A), Europeia (B) e Africana (C).

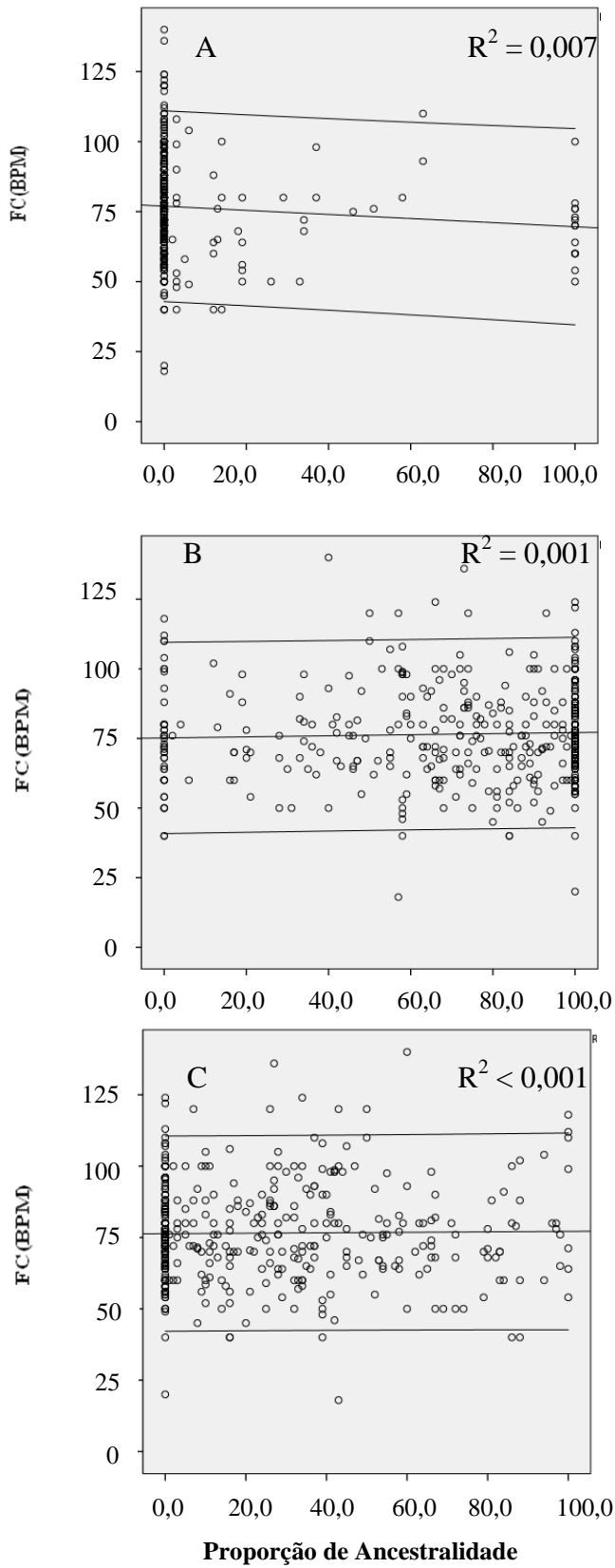


Figura 5 - Regressão linear entre Frequencia Cardíaca (FC) e as estimativas de ancestralidade Ameríndia (A), Europeia (B) e Africana (C)

Teste de regressão linear envolvendo escores de ancestralidade ameríndia e as variáveis lipêmicas a si associadas pelo teste de correlação (Col. total e fração LDL) não revelaram associação entre as respectivas variáveis [Col. Total ($R^2 = 0.001$), Col. LDL ($R^2 < 0.001$)], segundo o novo modelo. Do mesmo modo, permaneceram inexistentes quaisquer associações das variáveis lipêmicas descritas com os escores de ancestralidade europeia [Col. Total ($R^2 < 0.001$), Col. LDL ($R^2 < 0.001$)] ou africana [Col. Total ($R^2 < 0.001$), Col. LDL ($R^2 = 0.001$)] (Figuras 6 e 7).

Tendo em vista que os resultados encontrados implicavam a ancestralidade ameríndia com fenótipos clínicos, procedeu-se com uma dicotomização da amostra entre indivíduos portadores de algum traço dessa ancestralidade (AMR; $n = 54$) e não portadores (não AMR; $n = 354$) de ancestralidade ameríndia. A partir desta segregação, foi aplicado o teste *t* de Student para comparação das variáveis bioquímicas e clínicas que apresentaram significância nos testes de correlação de Spearman entre os grupos constituídos. No que se refere às variáveis pressóricas e à frequência cardíaca, a Tabela 9 apresenta diferenças consideráveis em termos de valores médios [PAS ($P = 0.006$), PAD ($P = 0.005$) e FC ($P = 0.005$)] entre os grupos formados. Esta condição parece corroborada por uma maior proporção, tendente à significância estatística ($P = 0,06$), de usuários de tratamento farmacológico com betabloqueadores entre pacientes não ameríndios (74,3%) quando comparados àqueles com algum nível de ancestralidade ameríndia (63,0%). Para as variáveis lipêmicas (colesterol total e fração colesterol LDL), as associações persistiram não significantes.

Do mesmo modo, uma dicotomização foi aplicada para as outras duas ancestralidades investigadas, com segregação entre indivíduos EUR ($n = 365$) e não EUR ($n = 43$) assim como entre indivíduos AFR ($n = 251$) e não AFR ($n = 157$). Em

seguida, foi aplicado novamente o teste t de Student para comparação das variáveis bioquímicas e clínicas que apresentaram significância nos testes de correlação de Spearman entre os grupos constituídos para cada ancestralidade. Observou-se assim uma associação positiva ao analisar os valores médios aferidos para a variável PAD ($P = 0.028$) e uma tendência à significância estatística para a PAS ($P = 0.056$), no conjunto formado por indivíduos EUR e não EUR. Esta condição parece corroborada pela maior frequência de uso de tratamento farmacológico com betabloqueadores ($P = 0,020$) entre os pacientes europeus (74,5%) quando comparados àqueles não portadores dessa ancestralidade (58,1%). Quanto às variáveis lipêmicas (colesterol total e fração colesterol LDL), as associações novamente persistiram não significantes.

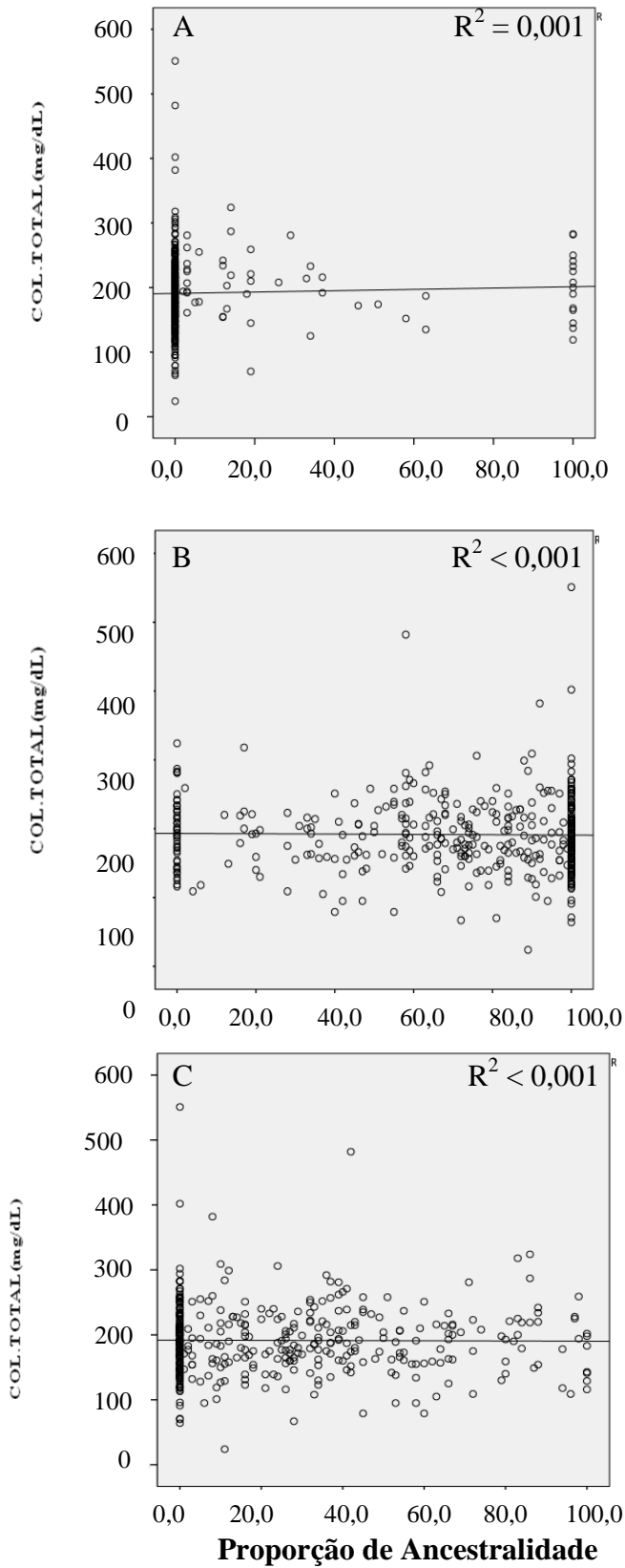


Figura 6 - Regressão linear entre Colesterol Total e as estimativas de ancestralidade Ameríndia (A), Europeia (B) e Africana (C)

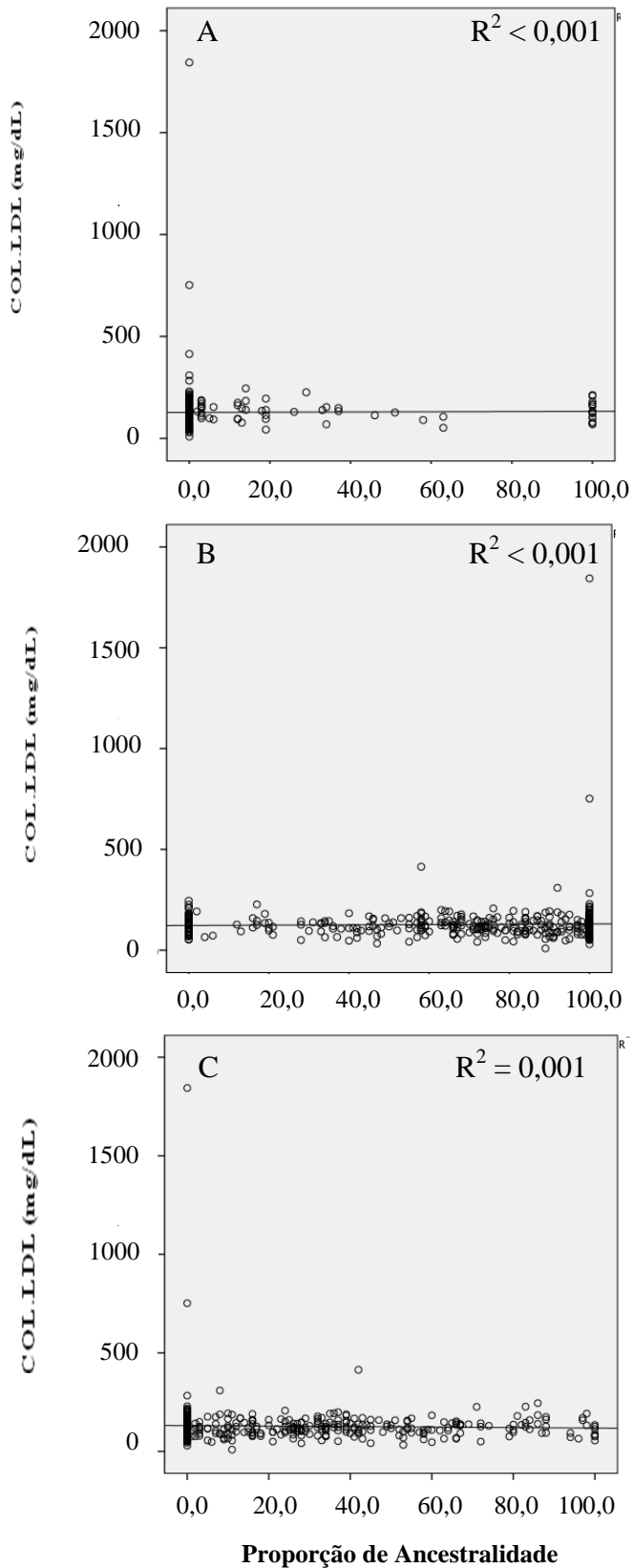


Figura 7 - Regressão linear entre a fração Colesterol LDL e as estimativas de ancestralidade Ameríndia (A), Europeia (B) e Africana (C)

Tabela 9 - Comparação dos valores médios de variáveis pressóricas e metabólicas selecionadas entre indivíduos portadores e não portadores das ancestralidades investigadas (Europeia; Africana; Ameríndia)

Variáveis	ANCESTRALIDADES								
	EUR (n = 365)	Não EUR (n = 43)	<i>P</i>	AFR (n = 251)	Não AFR (n = 157)	<i>P</i>	AMR (n = 54)	Não AMR (n = 354)	<i>P</i>
PAS	138,0 ± 29,0	129,1 ± 28,7	.056	137,1 ± 29,5	137,0 ± 28,4	.975	127,0 ± 25,5	139,0 ± 29,0	.006*
PAD	86,7 ± 18,6	80,1 ± 17,8	.028*	86,1 ± 18,9	85,7 ± 18,1	.825	79,3 ± 18,0	87,0 ± 18,0	.005*
FC	76,7 ± 17,1	75,1 ± 19,3	.561	76,7 ± 18,3	76,4 ± 15,7	.867	70,4 ± 18,0	77,5 ± 17,0	.005*
Col. Total	190,6 ± 54,7	198,4 ± 50,4	.376	190,3 ± 52,3	193,3 ± 57,2	.583	203,8 ± 49,7	189,6 ± 54,7	.072
Col. LDL	127,3 ± 107,4	130,6 ± 46,4	.841	121,5 ± 44,7	137,4 ± 155,1	.136	134,2 ± 44,2	126,6 ± 108,8	.614

EUR: Indivíduos portadores de algum nível de Ancestralidade Europeia; Não EUR: Indivíduos portadores de níveis de Ancestralidade Ameríndia e ou Africana;
 AFR: Indivíduos portadores de algum nível de Ancestralidade Africana; Não AFR: Indivíduos portadores de níveis de Ancestralidade Ameríndia e ou Europeia;
 AMR: Indivíduos portadores de algum nível de Ancestralidade Ameríndia; Não AMR: Indivíduos portadores de níveis de Ancestralidade Africana e ou Europeia;
 PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica; FC: Frequência Cardíaca (Batimentos por Minuto); DP: Desvio Padrão .

5.4 ANCESTRALIDADE GENÔMICA E CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS AO IAM

Na presente pesquisa, foi testada a associação entre as variáveis qualitativas representativas da gravidade do IAM, assim como da evolução do quadro clínico no período pós-evento, com as estimativas de ancestralidade genética obtidas na amostra. Inicialmente, nenhuma das variáveis investigadas apresentou associação significativa com as estimativas de ancestralidade ameríndia (Tabela 10). Entretanto, foi possível observar uma maior proporção de relatos de história familiar de doença arterial coronariana entre portadores de ancestralidade africana ($P = 0.024$), assim como uma maior frequência de uso de fármacos betabloqueadores entre portadores de ancestralidade europeia ($P = 0.020$).

Tabela 10 - Matriz de associações entre características específicas ao IAM e presença/ausência de ancestralidades genômicas (Europeia, Africana, Ameríndia)

ANCESTRALIDADES									
Variáveis	Europeia (%)		<i>P</i>	Africana (%)		<i>P</i>	Ameríndia (%)		<i>P</i>
	Sim	Não		Sim	Não		Sim	Não	
Killip I	89,9	83,6	.480	88,8	89,8	.453	85,2	89,9	.358
Killip II	6,0	7,0		6,4	5,7		5,6	6,1	
Killip III	2,2	4,7		3,2	1,3		5,6	2,0	
Killip IV	1,9	4,7		1,6	3,2		3,6	2,0	
HF- DAC	40,5	48,8	.189	45,4	35,0	.024*	48,1	40,4	.176
ICP	5,2	2,3	.355	5,6	3,8	.291	0	5,6	.054
Inf. Prim.	10,1	11,6	.462	10,0	10,8	.451	9,3	10,5	.508
IAM. Hem.	5,2	4,7	.615	4,4	6,4	.254	7,4	4,8	.297
Ang.Prim.	45,2	48,8	.385	48,6	40,8	.074	48,1	45,2	.397
CRV	1,1	0	.639	1,2	0,6	.501	0	1,1	.565
Aspirina	97,8	97,7	.637	98,0	97,5	.479	96,3	98,0	.339
Clopidogrel	80,8	79,1	.459	78,9	83,4	.158	83,3	80,2	.371
B.B	74,5	58,1	.020*	72,5	73,2	.482	63,0	74,3	.060
Sinvastatina	63,8	65,1	.506	61,4	68,2	.099	74,1	62,4	.064
Tenecteplase	68,8	62,8	.264	65,3	72,6	.077	64,8	68,6	.338
Enoxaparina	60,0	65,1	.317	58,6	63,7	.177	59,3	60,7	.474
IECA	52,1	48,8	.406	52,6	50,3	.365	48,1	52,3	.338
Hep.NF	30,1	25,6	.335	31,5	26,8	.183	29,6	29,7	.568
ARA	8,5	4,7	.298	9,2	6,4	.207	5,6	8,5	.338
Inib2B3A	1,9	4,7	.243	2,4	1,9	.521	3,7	2,0	.339
BCC	3,0	4,7	.406	2,8	3,8	.380	5,6	2,8	.240

HF-DAC: Historia Familiar de Doença Arterial Coronariana; ICP: Intervenção Coronariana Prévia; Inf. Prim: Infarto agudo primário; IAM. Hem: Infarto Agudo do miocárdio Hemorrágico; Ang. Prim: Angioplastia primária; CRV: Cirurgia de Revascularização Miocárdica; BB: Betabloqueador; IECA: Inibidor da Enzima Conversora de Angiotensina; Hep.NF: Heparina não fracionada; ARA: Bloqueador do Receptor de Angiotensina; Inib 2B3A: Inibidor da glicoproteína IIB 3A; BCC: Bloqueador dos Canais de Cálcio.

6 – DISCUSSÃO

6.1 ASPECTOS GERAIS DA AMOSTRA ESTUDADA

A presente pesquisa apresentou uma amostra constituída principalmente por pacientes do gênero masculino (75,7%) e com média etária de 62 anos, características bastante representativas da ocorrência do infarto agudo do miocárdio no país. Segundo dados apresentados pelo Ministério da Saúde (Datasus), 63,4% internações por IAM no período de 2008-2014 ocorreram em indivíduos do gênero masculino, com 57,4% dos eventos entre sujeitos com 60 anos ou mais⁴¹. Ademais, observou-se entre os pacientes investigados uma preponderância de sobrepeso (IMC = 26,8 kg/m²) reforçada por proporção considerável de sedentarismo (56,1%) e elevado consumo atual (37,6%) ou pregresso (30,9%) de tabaco, conhecidos fatores de risco para as DCV^{7,8} e em frequências superiores às encontradas na população em geral⁴³. Complementando o perfil clínico favorável ao IAM, observou-se também entre os pacientes investigados prevalência considerável de dislipidemias [hipertrigliceremia (42,8%) e baixo HDL (31,1%)] o que, conforme estimativas epidemiológicas, pode contribuir para um aumento de duas a três vezes nas chances de um infarto do miocárdio⁴⁴. Ademais, o diabetes mellitus, importante por aumentar o risco de IAM⁴⁵ e por figurar como causa secundária de morte por doenças circulatórias⁴⁶, atingiu no atual trabalho proporção superior (32,2%) à encontrada em outros relatos na literatura, como nos estudos de Lerario *et al.*⁴⁷ e Rogers *et al.*⁴⁸, onde 24,8% e 28,9% dos pacientes com IAM, respectivamente, apresentavam diagnóstico de diabetes mellitus.

Entre os fatores de risco modificáveis a HAS foi o que apresentou maior expressão frequencial (59,8%) entre os pacientes estudados, o que *per se* sugere uma forte relação com a ocorrência do evento miocárdico. Ainda mais se considerarmos a prevalência de hipertensos na população em geral, que se enquadra em um intervalo de 22% a 44% para adultos e em cerca de 50% no segmento idoso⁴³. Além disso, essa correlação vem sendo corroborada por diversos estudos, como o de Avezum *et al.*,⁴⁵ no qual a presença de HAS como antecedente mostrou ser um fator de risco potente e independentemente associado ao IAM. No estudo de Soares *et al.*,² a HAS também se mostrou presente em ampla maioria (60,3%) dos pacientes acometidos por IAM, porcentagem próxima à demonstrada pela presente pesquisa, e concordante com a prevalência esperada para pacientes infartados, que varia de 31% a 59%⁴⁹.

Quanto aos fatores não modificáveis, os dados do estudo apresentam uma proporção significativa dos pacientes (44,6%) com história familiar de doença arterial coronariana, um determinante importante e independente para o risco de eventos coronarianos, onde, quanto mais prematura é a ocorrência de IAM entre os pais, maior será o risco deste agravo no indivíduo⁴⁵. Associação esta reforçada pelo número de pessoas envolvidas na família, quando a história compromete apenas um familiar com IAM o risco é menor em comparação com dois ou mais familiares⁵⁰.

Em relação à gravidade da manifestação do IAM (Killip-Kimbal), observou-se que 89,1% dos pacientes admitidos em nosso estudo integravam a classe funcional I, enquanto apenas 1,9% integrou a classe IV. Neste tocante, nossos achados foram próximos aos encontrados na literatura. A título de exemplo, no estudo de Soares *et al.*,² com 158 casos de IAM com supra desnivelamento de segmento ST, 78,2% foram classificados como classe I de Killip. Quanto a Mello *et al.*,⁵¹ de seus 1906 pacientes

diagnosticados com IAM, 84,3% dos casos apresentaram-se com grau I, seguidos em ordem decrescente pelos níveis clinicamente mais avançados II (11,0%), III (2,4%) e IV (2,3%). Sabe-se que a classificação de Killip-Kimbal permite estratificar os pacientes com maior risco de morte em situações intra-hospitalar e em longo prazo. Dentre os 471 pacientes admitidos inicialmente na coorte, no período correspondente ao presente estudo, um somatório de 33 sujeitos veio a óbito por causas cardiovasculares em situação intra-hospitalar e ou nos primeiros 30 dias de seguimento clínico, apresentando assim uma taxa de mortalidade de apenas 7%, concordando com a gravidade estimada no ato da admissão. A evolução dos pacientes admitidos pós-IAM para um quadro clínico satisfatório, de baixa mortalidade, está relacionada ao pronto atendimento hospitalar e às intervenções empregadas. Em nossas condições, o tempo entre o início dos sintomas e o tratamento foi inferior a seis horas, sendo considerado tempo hábil para realização de procedimentos de reperfusão mecânica ou química. No tocante às intervenções realizadas, o uso da angioplastia primária (49,4%) foi empregado com mais frequência que no trabalho de Soares *et al.*², no qual 40% dos pacientes acometidos pelo IAM passaram por esse tipo de intervenção. Quanto ao tratamento farmacológico, em geral, foram adotados fármacos com ações antiplaquetárias, anti-hipertensiva e os hipolipemiantes, prevalecendo a administração principalmente de aspirina (98,1%), betabloqueadores (68,3%), sinvastatina (66,0%) e IECA (50,4%). A terapia aplicada apresenta semelhança frequencial com registros terapêuticos encontrados em outros estudos relativos ao IAM^{2,51}.

6.2 PERFIL DE ANCESTRALIDADE DA AMOSTRA ESTUDADA

Dados históricos e genéticos mostram que a população brasileira constitui uma das mais heterogêneas do mundo, resultado de um processo de miscigenação entre os três principais grupos étnicos: europeus, africanos e ameríndios.⁵² Na presente pesquisa, observou-se essa herança étnica a partir das estimativas médias de ancestralidade das populações parentais, prevalecendo o componente europeu (70,4%), seguido pelo africano subsaariano (24,3%) e o ameríndio (5,2%). Ao comparar nossos resultados com os dados descritos na literatura, verificou-se que o perfil estimado para a amostra atual apresenta concordância com outros relatos no que diz respeito à contribuição das três etnias parentais na formação da população brasileira. A exemplo do estudo de Lins *et al.*³¹ que reportou ascendência europeia entre 69,5% e 87,7%, africana entre 7% e 18,7% e ameríndia 5,2% e 11,8% em amostra com indivíduos provenientes de diferentes regiões do Brasil. Em outra pesquisa, Pena *et al.*⁵³ avaliaram as contribuições de populações parentais em quatro regiões do Brasil: Norte, Nordeste, Sul e Sudeste, havendo encontrado proporção europeia variando entre 60,6% e 77,7%, africana entre 10,9% e 30,3% e ameríndia entre 7,4% e 19,4%. Por fim, Leite *et al.*⁵⁴, ao estudar indivíduos da região Centro-Oeste, encontrou contribuições parentais da ordem de 69% para uma contribuição europeia, 21% para africana e 10% para ameríndia.

Especificando os dados referentes à contribuição ancestral foi possível observar entre os sujeitos investigados uma pequena porcentagem (2,2%) de pacientes com um perfil tri-híbrido de descendência (europeia, africana e ameríndia). Indivíduos di-híbridos foram prevalentes (61,2%), entre os quais se revelou maior frequência de associações entre ancestralidade europeia e africana (53,7%) quando comparadas com

as demais descendências [ameríndia e africana (5,3%); europeia e ameríndia (2,2%)]. Entre os sujeitos descendentes de uma única população parental, a ancestralidade europeia foi predominante com 32,8% dos pacientes estudados, seguida da ancestralidade ameríndia (2,6%) e por fim a ancestralidade africana com apenas 1,4% da amostra.

Cabe finalizar argumentando acerca do uso de 18 AIMs para determinar estimativas de ancestralidade, o que inicialmente poderia ser considerado um número reduzido de marcadores e comprometer a precisão das estimativas na presente amostra. Entretanto, é importante reiterar que os marcadores adotados possuem diferenças de frequências alélicas (delta) maior que 0,6 para os três eixos de diferenciação (africanos vs. europeus; europeus vs. ameríndios e ameríndios vs. africanos) e foram previamente utilizados em outras pesquisas com a população brasileira, tendo demonstrado eficiência em fornecer informações genéticas sobre populações miscigenadas com as três origens parentais envolvidas³¹. Além disso, nossos resultados em relação ao perfil ancestral tri-híbrido encontram-se dentro da faixa de estimativas de ancestralidade apresentadas por outros estudos realizados com essa população^{31,54}.

6.3 ANCESTRALIDADE E FATORES DE RISCO PARA IAM

A literatura apresenta vários estudos epidemiológicos demonstrando a prevalência dos fatores de risco clássicos para as doenças cardiovasculares em diferentes grupos étnicos^{11,12,13}. No entanto não está claro o quanto essas variações podem ser atribuídas a aspectos ambientais, culturais, estilo de vida ou devido à contribuição da ancestralidade genética na manifestação desses fatores. Diante disso, na

presente pesquisa, considerando a ancestralidade genética estimada por AIMs e as variáveis bioquímicas e clínicas determinadas na amostra, foi possível demonstrar correlações entre um “*background*” étnico e aspectos clínicos da fase pós-IAM de pacientes admitidos em serviço hospitalar de emergência.

Há muito se sabe que a hipertensão arterial consiste em um fator de risco determinante na ocorrência de eventos cardiovasculares, como acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca e infarto do miocárdio com desfecho clínico em óbito. Ademais, estudos vêm demonstrando o efeito da HAS na reincidência dessas doenças e sua contribuição na fisiologia da doença. Como Thune *et al.*⁵⁵ e Kaplan *et al.*⁵⁶ que verificaram em seus estudos que pacientes pós-IAM, com acompanhamento clínico e que permaneceram com taxas pressóricas elevadas (sistólica e diastólica), apresentaram a médio e longo prazos maior risco de acidente vascular cerebral e outros eventos cardiovasculares, quando comparados com os pacientes normotensos. Além disso, existem pesquisas que sugerem uma diferente evolução no quadro clínico pós-IAM e a ocorrência de novos eventos cardiovasculares entre pacientes de diferentes etnias, em relação ao genótipo e prevalência dos fatores de risco como a hipertensão⁵⁷.

Diante do exposto, pesquisas genéticas envolvendo a contribuição ancestral na etiologia da HAS vêm sendo desenvolvidas e revelando associações significativas entre grupos parentais e a prevalência do fenótipo em questão. Como no estudo de Ruiz-Narvaez *et al.*³², no qual foi demonstrado que indivíduos com maior proporção de ancestralidade africana apresentam maior risco de infarto não fatal e alta prevalência de hipertensão quando comparados aos europeus. Resultado corroborado pela pesquisa de Lai *et al.*⁵⁸, que também revelou associação entre ancestralidade africana e índices aumentados de hipertensão. Nossos achados demonstram resultados em linha com o

descrito, por meio de uma correlação negativa dos níveis de ancestralidade ameríndia com variáveis pressóricas e de frequência cardíaca, sugerindo que o portador da referida ancestralidade apresenta fator de proteção à hipertensão. Este achado foi reforçado por análise inferencial adicional, ao se comparar valores médios das variáveis pressóricas e de frequência cardíaca apresentados pelos grupos ameríndio (PAS = 127,0 mmHg; PAD = 79,3 mmHg; FC = 70 bpm) e não ameríndio (PAS = 139,0 mmHg; PAD = 87,0 mmHg; FC = 77 bpm). E ainda corroborado por associação positiva verificada pelos valores médios aferidos para as variáveis pressóricas entre os grupos EUR (PAS = 138,0 mmHg; PAD = 86,7 mmHg) e não EUR (PAS = 129,0 mmHg e PAD = 80,1 mmHg). Estudo realizado por Shahabi *et al.*⁵⁹ com mulheres latino-americanas gestantes também sugere efeito protetor da ascendência ameríndia contra doença hipertensiva na gravidez. Ademais, os achados de maior frequência de uso do fármaco betabloqueador naqueles com ancestralidade europeia e de prevalência aumentada de história familiar de DAC em sujeitos com herança biogeográfica africana, revelados em nosso estudo, reforçam a ideia de uma maior prevalência de distúrbios pressóricos entre os portadores de ancestralidades não ameríndias.

A contribuição da ancestralidade genética para uma ocorrência aumentada de fatores de risco na fase pós-IAM pode estar relacionada com variações em frequências alélicas em genes candidatos para o risco ao fenótipo entre populações. Atualmente, evidências demonstram a contribuição de polimorfismos de base única (SNPs) para essa variabilidade inter étnica em fatores de risco na etiologia e no curso de uma patologia. Como exemplo, Goldenberg *et al.*⁵⁷ revelaram uma significativa associação entre a homozigose do alelo T para o gene M235 AGT (angiotensinogênio) e a prevalência de eventos coronarianos recorrentes em pacientes de diferentes etnias por meio de estudo

prospectivo com pacientes hipertensos no pós-IAM. Indivíduos negros portadores do genótipo TT apresentaram risco aumentado para novos eventos durante o acompanhamento, quando comparados aos sujeitos heterozigóticos. A mesma associação não foi revelada entre os pacientes hipertensos com ancestralidade caucasiana, sugerindo um efeito menos pronunciado do alelo entre sujeitos de origem europeia.

A literatura apresenta uma série de variantes alélicas associadas ao fenótipo da hipertensão, ocorrência do infarto agudo do miocárdio e de outras doenças cardiovasculares na população em geral. No entanto, estudos demonstrando a relação entre estas variações genéticas e os fenótipos na fase pós-IAM com respectiva frequência dos alelos de risco nos grupos parentais são mais raros, principalmente em relação à ancestralidade ameríndia. Portanto, com a ideia de verificar a frequência dos alelos de risco para a hipertensão, nas três etnias estimadas na amostra (europeia, africana e ameríndia), foi elaborada a Tabela 11, que compreende uma relação de SNPs associados ao fenótipo de Pressão Sanguínea fornecidos por GWAS⁶⁰, com as respectivas frequências alélicas nas seguintes populações parentais: CEU (ascendência europeia); YRI (ascendência africana) e MEX (ascendência ameríndia)^{61,62}.

Foram enumerados 85 polimorfismos, abrangendo diferentes *loci*, que apresentaram associações com os fenótipos pressóricos (PAS e PAD). A partir das frequências dos alelos de risco (A.R.) de cada SNP nas respectivas ancestralidades, foi possível comparar a frequência mediana do conjunto de A.R. em cada população parental, sendo encontrados os percentuais de 36%, 38% e 40% para as ancestralidades ameríndia, europeia e africana, respectivamente. Estes modestos índices superiores de frequência mediana dos alelos de risco entre as ascendências europeia e africana (dois e

quatro pontos percentuais a mais, respectivamente), quando comparadas com a ameríndia, podem ao menos em parte explicar valores pressóricos aumentados entre não portadores de ancestralidade ameríndia.

Em análise complementar, foi determinada a diferença (δ , delta) entre as frequências que cada A.R. apresentava entre populações parentais, considerando os grupos étnicos aos pares [(Freq. A.R. CEU – Freq.A.R. MEX); (Freq. A.R. YRI – Freq. A.R. MEX); (Freq. A.R. CEU – Freq. A.R. YRI)]. Comparando os valores médios encontrados para os deltas dos 85 SNPs entre as populações parentais, observou-se que, em grupo, os alelos de risco apresentaram frequências médias da ordem de 1,45% e 1,60% maiores nas populações parentais europeia (CEU) e africana (YRI), respectivamente, quando comparados com o grupo parental ameríndio (MEX). Portanto, em qualquer dos cenários, independentemente da análise (relativa ou absoluta), pode-se afirmar que existe uma tendência a que os alelos de risco para o fenótipo da hipertensão estejam menos frequentes entre indivíduos com ancestralidade ameríndia, justificando assim os achados da presente pesquisa.

Condição revelada também por Ong *et al.*,⁶³ onde em seu estudo, verificaram em aproximadamente 15.000 indivíduos dos Estados Unidos (NHANES - National Health and Nutritional Examination Survey) que os sujeitos com etnia africana eram desproporcionalmente mais suscetíveis à hipertensão, quando comparados com outros grupos étnicos, apresentando 1,6 e 2,5 vezes maior prevalência da doença quando associados aos europeus e aos ameríndios, respectivamente. Achado equivalente foi demonstrado por Ruiz-Narvaez *et al.*,³² que, ao avaliar fatores de risco para o IAM em uma população com perfil tri-híbrido de ancestralidade, identificaram 30% de aumento no risco para hipertensão arterial sistêmica a cada 10% de aumento em ascendência

africana, quando comparado com a ascendência europeia. O conjunto de informações descrito acima fortalece os achados constatados no presente estudo e que apontam um risco genético para hipertensão arterial sistêmica advindo da arquitetura alélica apresentada pelos diferentes contingentes populacionais humanos, com uma aparente proteção de indivíduos com ancestralidade ameríndia. Nosso estudo sugere que este efeito protetor da ancestralidade ameríndia parece não se limitar a um contexto isento de distúrbios vasculares⁶⁴ ou às fases assintomática e/ou subclínica das doenças cardiovasculares⁶⁵, estendendo-se e se sobrepondo ao curso clínico das doenças coronarianas manifestas.

Tabela 11 - Polimorfismos de Base única associados com Pressão Sanguínea em GWAS

Loc. Crom.	SNP	Fenótipo	AR	Freq.AR (CEU)	Freq.AR (YRI)	Freq.AR (MEX)	OR	P	Genes próximos	Ref.
1p13.2	rs2932538	PAD,PAS,OS	G	0,73	0,85	0,87	0.39	1x10 ⁻⁹	MOV10	66, 67
1p13.2	rs17030613	OS	C	0,19	0,05	0,33	0.49	8x10 ⁻⁶	ST7L, CAPZA1	68
1p21.1	rs1330225	OS	C	0,3	0,66	0,2	5.16	7x10 ⁻⁹	PRMT6	69
1p36.22	rs17367504	PS,PAS	G	0,17	0,08	0,07	0.85	2x10 ⁻¹³	MTHFR, NPPA, CLCN6, NPPB AGTRAP	70
1p36.22	rs880315	OS	C	0,38	0,17	0,46	0.74	7x10 ⁻⁷	CASZ1	68
1p36.22	rs12046278	PAS	T	0,57	0,69	0,45	0.53	5x10 ⁻⁶	CASZ1	71
2q24.3	rs13002573	OS	G	0,25	0,11	0,15	0.31	2x10 ⁻⁸	FIGN	67
2q24.3	rs1446468	OS	T	0,53	0,96	0,61	0.34	6x10 ⁻¹²	FIGN	67
2q24.3	rs16849225	OS	C	0,75	0,94	0,84	0.75	4x10 ⁻¹¹	FIGN, GRB14	68
2q24.3	rs6749447	OS	G	0,29	0,58	0,50	1.90	2x10 ⁻⁷	STK39	72
2q31.1	rs10930597	OS	T	0,22	0	0,12	3.99	6x10 ⁻⁶	CDCA7	69
2q37.1	rs11887188	PS	T	0,17	0,12	0,14	2.98	1x10 ⁻⁶	ARL4C	69
3q11.2	rs13067306	PS	A	0,2	0,06	0,28	4.51	5x10 ⁻⁶	NSUN3	69
3q13.31	rs1432364	PS	T	0,34	0,94	0,43	NR	4x10 ⁻⁶	Intergenic	73
3p22.1	rs1717027	PS	T	0,23	0,66	0,16	0.49	5x10 ⁻¹³	ULK4	74
3p22.1	rs3774372	OS	T	0,76	0,78	0,89	0.30	8x10 ⁻⁷	ULK4	67
3p22.1	rs9815354	PAD	A	0,23	0,17	0,13	0.49	3x10 ⁻⁹	ULK4	71
3p24.1	rs13082711	PAD;PAS;OS	T	0,8	0,96	0,78	0.34	5x10 ⁻⁹	SLC4A7	66, 67
3q26.2	rs419076	PAD,PAS,OS	T	0,44	0,57	0,4	0.34	8x10 ⁻¹³	MECOM	66, 67
3q26.2	rs448378	PAS	A	0,55	0,42	0,61	0.51	1x10 ⁻⁷	MDS1	71
3q26.2	rs1918974	PAD	T	0,57	0,56	0,63	0.27	8x10 ⁻⁸	MDS1	70
4q21.21	rs1458038	PAD,PAS,OS	T	0,27	0,05	0,25	0.40	3x10 ⁻⁷	FGF5	66, 67
4q21.21	rs16998073	PAD	T	0,19	0,13	0,23	0.50	1x10 ⁻²¹	FGF5, PRDM8, c4orf22	70
4q24	rs13107325	PAD,PAS,OS	T	0,1	0	0,02	0.63	1x10 ⁻¹⁰	SLC39A8	67
4q25	rs6825911	PS	C	0,2	0,54	0,24	0.60	7x10 ⁻⁸	ENPEP	68
4q26	rs4460079	PS	C	0,44	0,4	0,43	2.33	2x10 ⁻⁷	ARSJ	69
4q26	rs7658266	PS	T	0,25	0,07	0,31	2.35	3x10 ⁻⁷	ARSJ	69
4q32.1	rs13139571	PAD,PAS,PS	C	0,74	0,88	0,77	0.29	3x10 ⁻⁷	GUCY1A3, GUCY1B3	66, 67
5p13.3	rs1173766	PS	C	0,52	0,62	0,46	0.63	2x10 ⁻⁸	NPR3	68
5p13.3	rs1173771	PAD,PAS,PS	G	0,51	0,81	0,54	0.28	4x10 ⁻⁹	NPR3, C5orf23	66, 67
5q33.3	rs11953630	PAD,PAS	T	0,34	0,15	0,16	0.41	3x10 ⁻¹¹	EBF1	66
5q33.3	rs9313772	OS	T	0,31	0,15	0,25	0.34	1x10 ⁻¹¹	EBF1	67
6q14.1	rs16890334	OS	C	0	0	0	5.38	1x10 ⁻¹⁰	IRAK1BP1	69
6p21.33	rs805303	PAD,PAS	G	0,69	0,29	0,55	0.38	2x10 ⁻¹¹	BAT2, BAT5	66
6q22.33	rs13209747	PS	T	0,45	0,12	0,28	0.85	3x10 ⁻¹⁰	RSPO3	74
6p22.2	rs1799945	PAD,PAS	G	0,18	0	0,12	0.63	8x10 ⁻¹²	HFE	66
6p22.2	rs198846	OS	G	0,84	0,8	0,86	0.48	2x10 ⁻¹²	HFE	67
6q25.1	rs4869931	PAS	A	0,83	0,43	0,72	1.21	8x10 ⁻⁶	PLEKHG1	75
6q25.1	rs17080102	OS	C	0,06	0,09	0,19	1.02	5x10 ⁻⁸	PLEKHG1	74
7p15.2	rs17428471	OS	T	0,08	0,14	0,05	1.20	2x10 ⁻¹²	EVX1, HOXA	74
7q22.1	rs17135875	OS	C	0,15	0,44	0,11	2.81	1x10 ⁻⁶	FBXL13	69
8q12.1	rs10504249	OS	G	0,02	0	0,13	2.95	4x10 ⁻⁷	FAM110B	69
8p23.2	rs2627282	OS	A	0,36	0,03	0,16	2.33	3x10 ⁻⁷	CSMD1	69
8p23.2	rs1442407	PAS	T	0,14	0,1	0,23	1.98	8x10 ⁻⁶	CSMD1	75
10p12.31	rs12258967	PS	G	0,36	0,27	0,21	0.43	2x10 ⁻¹⁶	CACNB2	67
10p12.31	rs11014166	PAD,PAS	A	0,63	0,89	0,79	0.37	1x10 ⁻⁸	CACNB2	71
10p12.33	rs4373814	PAD,PAS	G	0,63	0,42	0,51	0.37	5x10 ⁻¹¹	CACNB2	66
10q21.2	rs4590817	OS	G	0,82	0,82	0,87	0.58	2x10 ⁻¹⁸	C10orf107	67
10q21.2	rs1530440	PAD	T	0,16	0,02	0,28	0.39	1x10 ⁻⁹	c10orf107, TMEM26, RTKN2, RHOBTB1, ARID5B	70
10q23.33	rs932764	PAD,PAS	G	0,43	0,15	0,63	0.48	7x10 ⁻¹⁶	PLCE1	66
10q24.32	rs3824755	OS	C	0,07	0,17	0,22	0.50	1x10 ⁻⁶	CYP17A1	76

Tabela 11: Polimorfismos de Base única associados com Pressão Sanguínea em GWAS (conclusão)

Loc. Crom.	SNP	Fenótipo	AR	Freq.AR (CEU)	Freq.AR (YRI)	Freq.AR (MEX)	OR	P	Genes próximos	Ref.
10q24.32	rs1004467	PAS	A	0,91	0,81	0,76	1.05	1x10 ⁻¹⁰	CYP17A1	71
10q24.32	rs111191548	PAD,PAS,OS	T	0,92	0,99	0,81	1.16	3x10 ⁻¹⁷	CYP17A1,NT5C2,CNNM2, AS3MT	66,67,68,70
10q24.33	rs111191593	OS	T	0,92	0,98	0,78	0.54	1x10 ⁻⁶	CYP17A1, NT5C2	67,76
11p11.2	rs11037965	OS	T	0,03	0,22	0,36	1.40	3x10 ⁻⁷	ALX4	69
11p14.3	rs7116456	PAS	T	0	0,15	0	0.93	1x10 ⁻⁷	Intergenic	77
11p15.1	rs1401454	OS	T	0,44	0,51	0,56	0.55	1x10 ⁻⁶	SOX6	74
11p15.1	rs381815	PAS,OS	T	0,30	0,18	0,35	0.65	2x10 ⁻⁹	PLEKHA7	67,71
11p15.1	rs11024074	PAD	T	0,66	0,69	0,64	0.33	1x10 ⁻⁶	PLEKHA7	71
11p15.4	rs7129220	PAD,PAS,OS	G	0,89	0,95	0,96	0.62	3x10 ⁻¹²	ADM	66,67
11p15.5	rs10832417	OS	T	0,66	0,78	0,43	1.30	1x10 ⁻⁶	KCNQ1	69
11q22.1	rs633185	PAD,PAS,OS	G	0,32	0,18	0,48	0.57	1x10 ⁻¹⁷	FLJ32810, TMEM133	66,67
12q21.33	rs991427	PAS	T	0,12	0,3	0,13	0.41	2x10 ⁻⁷	KERA, LUM	77
12q21.33	rs4494364	PAS	A	0,14	0,21	0,11	0.14	2x10 ⁻⁷	KERA, LUM	77
12q21.33	rs17249754	OS	A	0,12	0,15	0,12	1.06	9x10 ⁻⁷	ATP2B1	76
12q21.33	rs2681472	PAD	A	0,87	0,92	0,88	0,5	1x10 ⁻⁹	ATP2B1	71
12q21.33	rs2681492	PAS	T	0,88	0,84	0,88	0.85	4x10 ⁻¹¹	ATP2B1	71
21q22.2	rs2410182	PAS	A	0,39	0,2	0,2	0.45	7x10 ⁻⁷	IGSF5	77
21q22.2	rs2837253	PAS	A	0,34	0,03	0,54	0.18	8x10 ⁻⁷	IGSF5, PCP4	77
12q24.12	rs3184504	PAS,PAD	T	0,45	0	0,24	0.48	3x10 ⁻¹⁴	SH2B3	66,71
12q24.12	rs653178	PAD,OS	T	0,56	1	0,76	0.43	7x10 ⁻²⁰	ATXN2, SH2B3	67,70
12q24.13	rs11066280	OS	T	1	1	0,99	1.56	8x10 ⁻³¹	RPL6, PTPN11, ALDH2	68
12q24.21	rs2384550	PAD,OS	G	0,63	0,66	0,69	0.23	4x10 ⁻⁶	TBX5, TBX3	67,71
12q24.21	rs35444	PS	A	0,59	0,55	0,67	0.63	8x10 ⁻⁷	TBX3	68
15q21.1	rs6493206	PS	T	0	0,36	0	NR	4x10 ⁻⁶	Intergenic	73
15q24.1	rs1378942	PAD,PAS,PS	C	0,32	1	0,66	0.61	6x10 ⁻²³	CYP1A1,CYP1A2,CSK,CPLX3 ULK3LMAN1L,ARID3B;	66,67,70
15q24.1	rs6495122	PAD	A	0,38	0,78	0,54	0.40	2x10 ⁻¹⁰	CSK, ULK3	71
15q26.1	rs2521501	PAD,PAS,OS	T	0,38	0,2	0,15	0.34	3x10 ⁻⁸	FURIN, FES	66,67
16q12.1	rs2030114	PS	A	0,21	0,45	0,07	4.12	2x10 ⁻⁶	SALL1	69
17q21.32	rs17608766	PAS,PS	T	0,88	1	0,88	0.36	2x10 ⁻⁷	GOSR2	66,67
17q21.33	rs12940887	OS	T	0,41	0,03	0,25	0.25	2x10 ⁻⁷	ZNF652	67
17q21.33	rs16948048	PAD	G	0,42	0,42	0,26	0.31	5x10 ⁻⁹	ZNF652, PHB	70
17q24.2	rs11867410	OS	C	0,03	0,03	0,03	4.21	3x10 ⁻⁷	APOH	69
20p12.2	rs1327235	PAD,PAS,OS	G	0,52	0,53	0,36	0.26	4x10 ⁻⁸	JAG1	66,67
20q13.32	rs6015450	PAD,PAS,OS	G	0,07	0,22	0,04	0.52	2x10 ⁻¹²	GNAS, EDN3	66,67

Dados obtidos dos catálogos de GWAS do NHGRI (National Human Genome Research Institute); International HapMap Project; The 1000 genomes project; Loc. Crom: Localização cromossômica; SNP: Polimorfismo de Base única; AR: Alelo de Risco; Freq. AR YRI: Frequência do Alelo de Risco em população com ancestralidade Africana; Freq. AR CEU: Frequência do Alelo de Risco em população com ancestralidade Europeia; Freq. AR MEX: Frequência do Alelo de Risco em população com ancestralidade Ameríndia; ADM: Adrenomedullin; AGTRAP: Angiotensin II receptor-associated protein; ALDH2: Mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2; ALX4: Aristalless-like homeobox 4; APOH: Apolipoprotein H precursor; ARID3B: AT rich interactive domain 3B; ARID5B: AT rich interactive domain 5B; ARLAC: ADP-ribosylation factor-like 4c; ARSL: Arylsulfatase-J; AS3MT: arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase; ATP2B1: ATPase; Ca++ transporting; plasma membrane 1; ATXN2: Ataxin 2; BAT2: HLA-B associated transcript -2; BAT5: HLA-B associated transcript -5; C4orf22: Chromosome 4 open reading frame 22; C5orf23: Chromosome 5 open reading frame 23; C10orf107: Chromosome 10 open reading frame 107; CACNB2: Calcium channel, voltage-dependent, β 2 subunit; CASZ1: Castor zinc finger 1; CAPZA1: F-actin capping protein alpha-1 subunit; CDCA7: Cell division cycle associated -7; CLCN6: Chloride channel 6; CPLX3: Complexin 3; CNNM2: Cyclin M2; CSK: C-src tyrosine kinase; CSMD1: CUB and Sushi multiple domains 1; CYP1A1: Cytochrome P450; family 1, subfamily A, polypeptide 1; CYP1A2: Cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 2; CYP17A1: Cytochrome P450, family 17, subfamily A, polypeptide 1; EBF1: Early B-cell factor; EDN3: Endothelin 3 isoform preproprotein; ENPEP: Glutamin aminopeptidase; EVX1: Even-skipped homeobox 1; FAM110B: Family with sequence similarity 110, member B; FBXL13: F-box and leucine-rich repeat protein 13; FES: Tyrosine kinase; FGF5: Fibroblast growth factor 5; FIGN: Fidgetin; FLJ32810: Rho GTPase activating protein 42 ; FURIN: Furin preproprotein; GNAS: GNAS complex locus; GOSR2: Golgi SNAP receptor complex member 2; GRB14: Growth factor receptor-bound protein 14; GUCY1A3: Guanylate cyclase 1, soluble, alpha 3; GUCY1B3: Guanylate cyclase 1, soluble, beta 3; HFE: Hemochromatosis protein; HOXA: homeobox A cluster; IGSF5: Immunoglobulin superfamily 5; Intergenic: Intergenic; IRAK1BP1: Interleukin-1 receptor-associated kinase 1; JAG1: Jagged 1 precursor; KCNQ1: Potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 1; KERA: Keratocan; LMAN1L: Lectin, mannose-binding, 1 like; LUM: Lumican precursor; MDS1: Myelodysplasia syndrome protein 1; MECOM: MDS1 and EVI1 complex locus; MOV10: Moloney leukemia virus 10, homolog; MTHFR: Methylene tetrahydrofolate reductase (NAD(P)H); NPPA: Natriuretic peptide A; NPPB: Natriuretic peptide B; NPR3: Natriuretic peptide receptor C; NSUN3: NOL1/NOL2/Sun domain family, member 3; NTSC2: 5'-nucleotidase, cytosolic II; PCP4: Purkinje cell protein 4; PHB: Prohibitin; PLCE1: Pancreas-enriched phospholipase c; PLEKHA7: Pleckstrin homology domain containing, family A member 7; PLEKHG1: Pleckstrin homology domain containing, family G; PRDM8: PR domain containing 8; PRMT6: HMT1 hnRNP methyltransferase-like 6; PTPN11: Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type; RPL6: Ribosomal protein L6; RHOBTB1: Rho-related BTB domain containing 1; RSPO3: R-spondin 3; RTKN2: Rhotekin 2; SALL1: Sal-like 1; SH2B3: SH2B adaptor protein 3; SLC39A8: Solute carrier family 39 (zinc transporter); SLC4A7: Solute carrier family 4, sodium bicarbonate; SOX6: SRY-box 6; ST7L: Suppression of tumorigenicity 7 like; STK39: Serine threonine kinase 39; TBX3: T-box 3; TBX5: T-box 5; TMEM26: Transmembrane protein 26; TMEM133: Transmembrane protein 133; ULK3: Unc-51-like kinase 3 (C. elegans); ULK4: Unc-51-like kinase 4 (C. elegans); ZNF652: Zinc finger protein 652.

A frequência cardíaca (FC) é mais uma medida (não invasiva) utilizada para avaliar quantitativamente a função cardiovascular. Sua importância decorre principalmente da análise de sua variação (VFC) cuja participação vem sendo investigada em diferentes situações fisiológicas e patológicas do sistema cardiovascular. Alterações na FC, regulada até certo ponto pelo sistema nervoso autônomo (SNA), indicam a habilidade do músculo cardíaco em responder aos múltiplos estímulos fisiológicos e ambientais como respiração, exercício físico, estresse mental, alterações hemodinâmicas e metabólicas, sono, bem como em compensar desordens induzidas por doenças, como por exemplo a hipertensão⁷⁸. Como relatado anteriormente, nossos resultados também demonstraram associação negativa significativa da FC com as estimativas de ancestralidade ameríndia, o que talvez tenha relação com o fator de proteção para a hipertensão encontrada nesta etnia, uma vez que existem relações entre os mecanismos neurais que regulam tanto a pressão arterial como também a variabilidade da frequência cardíaca em condições de hipertensão⁷⁸. Outro achado a se considerar são os valores basais da FC, cujas evidências indicam que indivíduos com reduzida FC em repouso têm um prognóstico mais favorável em termos de risco de mortalidade⁷⁸. Apesar de a VFC ser uma importante ferramenta de avaliação neurocardíaca, e estar diretamente ligada à variação da PA, pouco se sabe da contribuição da ancestralidade genética no comportamento dessa medida de avaliação. Sendo assim, mais estudos são necessários para investigar a existência de outras associações entre componente genético ancestral e frequência cardíaca.

Outra análise da contribuição ancestral em fatores de risco para o IAM foi feita com o diabetes mellitus, que como descrito anteriormente, também foi diagnosticado entre os pacientes na presente amostra. No entanto, neste estudo, não foram encontradas associações significativas entre as três ancestralidades e esta condição clínica. Interessantemente Lai *et al.*⁵⁸ identificaram na população idosa e miscigenada de Porto Rico (1129 pacientes) que

sujeitos com diabetes mellitus tipo 2 possuem índices significativamente menores de ancestralidade africana e elevada contribuição genética por ancestrais europeus. Em outra pesquisa³², a contribuição ocorreu por parte dos ancestrais ameríndios, na qual determinou-se que indivíduos com ascendência ameríndia apresentavam 20% de aumento no risco para a intolerância à glicose, um fator pré determinante ao diabetes mellitus tipo 2. A ausência de uma associação entre as estimativas de ancestralidade e o perfil glicêmico exibidos pela amostra podem indicar que uma frequência diferencial do fenótipo do diabetes mellitus tipo 2 entre grupos populacionais, se existente, pode não decorrer de uma contribuição importante por arquiteturas alélicas ou, caso esta contribuição exista, poderia ser considerada de fraca intensidade, podendo ser suplantada por fatores interferentes advindos do estilo de vida das diferentes populações.

Na presente pesquisa, houve ausência de associações significativas entre as estimativas de ancestralidade e os índices de gravidade do evento IAM (segundo Killip e outros indicadores), determinados no momento da apresentação do paciente à unidade hospitalar e em sua evolução intra-hospitalar. Em contraposição, estudo de Mehta *et al.*²⁰ demonstrou que indivíduos com ancestralidade africana apresentaram 1.4 vezes mais propensão ao estadiamento III ou superior de Killip quando comparados aos europeus, havendo no entanto, a observação de que esta associação provavelmente ocorreu devido à maior prevalência de hipertensão, tabagismo e obesidade entre os afrodescendentes. Para os demais marcadores diagnósticos do IAM (CK-MB, peptídeo-C, proteína-C reativa), resultados de associação não significativa persistiram entre essas variáveis e as estimativas de ancestralidade genética. Sendo assim, nossos resultados com relação à gravidade e à evolução clínica dos pacientes acometidos por IAM não diferiram conforme os níveis de herança parental. Nestes aspectos, nossos resultados apresentam concordância com relatos da

literatura, que atualmente apresenta um corpo de evidência que se mostra pouco conclusiva ou sugere influência modesta da ancestralidade genética na gravidade do IAM e sua evolução clínica com possível desfecho em óbito²⁰.

6.4 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

A presente pesquisa apresenta alguns fatores limitadores. Devido ao caráter longitudinal do estudo, houve desistência de pacientes e/ou perda de contato ao longo da pesquisa, tendo sido necessária a exclusão de dados e a consequente perda dessas informações. Em linha, casos de óbito que eventualmente impediram a completude de coleta de dados pelo período de seguimento preconizado também figuraram como perda. Deste modo, o viés de perda consistiu em característica inerente ao desenho de estudo pretendido. Ademais, não se exclui a possibilidade de erro tipo 2 entre os resultados apresentados, em virtude da casuística limitada e consequente poder estatístico reduzido para revelar associações fracas em meio às variáveis analisadas. Outra questão a ser considerada neste estudo consistiu no fato de que, apesar da sistemática de acompanhamento clínico periódico e de diferentes medições bioquímicas e clínicas, nossos testes se concentraram tão somente sobre as variáveis bioquímicas determinadas no primeiro momento de internação e nas variáveis clínicas ao quinto dia de hospitalização. Sendo assim, nossos resultados são majoritariamente representativos de uma condição pós-IAM imediata, sem considerar o comportamento clínico de cada variável na evolução tardia do evento, o que poderia revelar novas associações entre as estimativas de ancestralidade genética e essas condições clínicas.

Apesar das limitações metodológicas, os autores consideram que a atual pesquisa apresentou número razoável de pacientes investigados para revelar associações fortes, revelou estimativas de ancestralidade genética determinadas com método e precisão compatíveis com estudos em epidemiologia genômica, além de ter realizado análises estatísticas por mais de um teste para as mesmas variáveis, de modo a reforçar as significâncias encontradas. Além disso, os testes estatísticos foram aplicados de forma “cega”, por colaborador capacitado, sem envolvimento direto com a pesquisa laboratorial, diminuindo assim a ocorrência de tendenciosidades na produção e interpretação dos resultados. Essas condições conferem credibilidade aos achados revelados no estudo, que poderão contribuir para novas pesquisas de correlações entre ancestralidade genética e fenótipos associados a doenças cardiovasculares e seu curso clínico.

7 - CONCLUSÃO

Nossos resultados sugerem que a arquitetura alélica encontrada em pessoas com ancestralidade ameríndia confere proteção aos indivíduos contra valores pressóricos sistêmicos aumentados em contexto pós-infarto agudo do miocárdio com supradesnivelamento de segmento ST. Desta forma, podemos concluir que maior proporção de ancestralidade genômica ameríndia diminui a predisposição ao fenótipo, o qual corresponde a um dos fatores de risco de maior valor preditivo para complicações no curso clínico do pós-IAM.

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. The World Health Organization. Available at: <http://www.who.int/whr>.
2. Soares Jda, S., *et al.* Treatment of a cohort of patients with acute myocardial infarction and ST-segment elevation. *Arq Bras Cardiol* **92**, 430-436, 448-455, 464-471 (2009).
3. Gaziano, T.A., Bitton, A., Anand, S., Abrahams-Gessel, S. & Murphy, A. Growing epidemic of coronary heart disease in low- and middle-income countries. *Curr Probl Cardiol* **35**, 72-115.
4. Mendes MJFL, A.J., Alves AV, Siqueira PP, Freire EFC. Associação de fatores de risco para doenças cardiovasculares em adolescentes e seus pais. **6**, S49-S54. (2006).
5. Baena, C.P., *et al.* Tendency of mortality in acute myocardial infarction in Curitiba (PR) in the period of 1998 to 2009. *Arq Bras Cardiol* **98**, 211-217.
6. DATASUS. Ministério da Saúde. Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM). Disponível em http://www.tabnet.datasus.gov.br/tabela/sim/dados/cid10_indice.htm. Acesso outubro/2012. in
7. Mendis, S. The contribution of the Framingham Heart Study to the prevention of cardiovascular disease: a global perspective. *Prog Cardiovasc Dis* **53**, 10-14.
8. Rosengren, A., *et al.* Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction in 11119 cases and 13648 controls from 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* **364**, 953-962 (2004).
9. Ford, E.S., *et al.* Explaining the decrease in U.S. deaths from coronary disease, 1980-2000. *N Engl J Med* **356**, 2388-2398 (2007).
10. Abdelnoor, M., Eritsland, J., Brunborg, C. & Halvorsen, S. Ethnicity and acute myocardial infarction: risk profile at presentation, access to hospital management, and outcome in Norway. *Vasc Health Risk Manag* **8**, 505-515.
11. Allison, J.J., Kiefe, C.I., Centor, R.M., Box, J.B. & Farmer, R.M. Racial differences in the medical treatment of elderly Medicare patients with acute myocardial infarction. *J Gen Intern Med* **11**, 736-743 (1996).
12. Maynard, C., Fisher, L.D., Passamani, E.R. & Pullum, T. Blacks in the Coronary Artery Surgery Study: risk factors and coronary artery disease. *Circulation* **74**, 64-71 (1986).
13. Bosworth, H.B., *et al.* Racial differences in blood pressure control: potential explanatory factors. *Am J Med* **119**, 70 e79-15 (2006).
14. Klag, M.J., *et al.* End-stage renal disease in African-American and white men. 16-year MRFIT findings. *JAMA* **277**, 1293-1298 (1997).
15. Esposti, L.D., *et al.* Pharmacoeconomics of antihypertensive drug treatment: an analysis of how long patients remain on various antihypertensive therapies. *J Clin Hypertens (Greenwich)* **6**, 76-84 (2004).
16. Psaty, B.M., *et al.* Time trends in high blood pressure control and the use of antihypertensive medications in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Arch Intern Med* **162**, 2325-2332 (2002).
17. Henderson, S.O., *et al.* Established risk factors account for most of the racial differences in cardiovascular disease mortality. *PLoS One* **2**, e377 (2007).
18. Davis, A.M., Vinci, L.M., Okwuosa, T.M., Chase, A.R. & Huang, E.S. Cardiovascular health disparities: a systematic review of health care interventions. *Med Care Res Rev* **64**, 29S-100S (2007).
19. Coble, J.D. & Rhodes, R.E. Physical activity and Native Americans: a review. *Am J Prev Med* **31**, 36-46 (2006).
20. Mehta, R.H., *et al.* Differences in the clinical features and outcomes in African Americans and whites with myocardial infarction. *Am J Med* **119**, 70 e71-78 (2006).

21. Gama, G.G., Mussi, F.C., Mendes, A.S. & Guimaraes, A.C. [(Lack of) control of clinical and anthropometrical parameters in individuals with coronary artery disease]. *Rev Esc Enferm USP* **45**, 624-631.
22. Kathiresan, S., *et al.* Polymorphisms associated with cholesterol and risk of cardiovascular events. *N Engl J Med* **358**, 1240-1249 (2008).
23. Hirokawa, M., *et al.* A genome-wide association study identifies PLCL2 and AP3D1-DOT1L-SF3A2 as new susceptibility loci for myocardial infarction in Japanese. *Eur J Hum Genet* **23**, 374-380 (2014).
24. Helgadóttir, A., *et al.* A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction. *Science* **316**, 1491-1493 (2007).
25. Ewens, W.J. & Spielman, R.S. The transmission/disequilibrium test: history, subdivision, and admixture. *Am J Hum Genet* **57**, 455-464 (1995).
26. P. M. McKEIGUE, J.R.C., E. J. PARRA and M. D. SHRIVER. Estimation of admixture and detection of linkage in admixed populations by a Bayesian approach: application to African-American populations. *Ann Hum Genet* **64**, 16 (2000).
27. Royal, C.D., *et al.* Inferring genetic ancestry: opportunities, challenges, and implications. *Am J Hum Genet* **86**, 661-673.
28. Pfaff, C.L., Barnholtz-Sloan, J., Wagner, J.K. & Long, J.C. Information on ancestry from genetic markers. *Genet Epidemiol* **26**, 305-315 (2004).
29. Kersbergen, P., *et al.* Developing a set of ancestry-sensitive DNA markers reflecting continental origins of humans. *BMC Genet* **10**, 69 (2009).
30. Hoggart, C.J., *et al.* Control of confounding of genetic associations in stratified populations. *Am J Hum Genet* **72**, 1492-1504 (2003).
31. Lins, T.C., Vieira, R.G., Abreu, B.S., Grattapaglia, D. & Pereira, R.W. Genetic composition of Brazilian population samples based on a set of twenty-eight ancestry informative SNPs. *Am J Hum Biol* **22**, 187-192.
32. Ruiz-Narvaez, E.A., Bare, L., Arellano, A., Catanese, J. & Campos, H. West African and Amerindian ancestry and risk of myocardial infarction and metabolic syndrome in the Central Valley population of Costa Rica. *Hum Genet* **127**, 629-638.
33. Quinaglia e Silva, J.C., *et al.* Effect of beta blockers (metoprolol or propranolol) on effect of simvastatin in lowering C-reactive protein in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* **103**, 461-463 (2009).
34. Sposito, A.C., *et al.* Rebound inflammatory response during the acute phase of myocardial infarction after simvastatin withdrawal. *Atherosclerosis* **207**, 191-194 (2009).
35. Sociedade Brasileira de Cardiologia/Sociedade Brasileira de Hipertensão/Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol* **95(1-supl.1)**, 1-51 (2010).
36. Killip, T. Conference on heart block: clinical and physiological considerations. Introduction. *Bull N Y Acad Med* **47**, 875-876 (1971).
37. Durnin, J.V. & Womersley, J. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr* **32**, 77-97 (1974).
38. Shriver, M.D., *et al.* Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. *Hum Genet* **112**, 387-399 (2003).
39. Smith, M.W., *et al.* A high-density admixture map for disease gene discovery in african americans. *Am J Hum Genet* **74**, 1001-1013 (2004).
40. Tsai, H.J., *et al.* Comparison of three methods to estimate genetic ancestry and control for stratification in genetic association studies among admixed populations. *Hum Genet* **118**, 424-433 (2005).

41. Ministério da Saúde. Available at: <http://www.portalsaude.saude.gov.br> Accessed March, 19, 2015.
42. Xavier H.T., I.M.C., Faria Neto J.R., Assad M.H., Rocha V.Z., & al., S.A.C.e. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq. Bras. Cardiol.* **101(4Supl.3)**, 1-22 (2013).
43. Sociedade Brasileira de Cardiologia / Sociedade Brasileira de Hipertensão / Sociedade Brasileira de Nefrologia.VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol* **95(1 supl.1)**, 1-51 (2010).
44. Polanczyk, C.A. [Cardiovascular risk factors in Brazil: the next 50 years!]. *Arq Bras Cardiol* **84**, 199-201 (2005).
45. Avezum, A., Piegas, L.S. & Pereira, J.C. [Risk factors associated with acute myocardial infarction in the Sao Paulo metropolitan region: a developed region in a developing country]. *Arq Bras Cardiol* **84**, 206-213 (2005).
46. Meigs, J.B. Epidemiology of cardiovascular complications in type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* **40 Suppl 2**, S358-361 (2003).
47. Lerario, A.C., et al. [The prevalence of diabetes and stress hyperglycemia in the acute myocardial infarction patients]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* **52**, 465-472 (2008).
48. Rogers, W.J., et al. Temporal trends in the treatment of over 1.5 million patients with myocardial infarction in the US from 1990 through 1999: the National Registry of Myocardial Infarction 1, 2 and 3. *J Am Coll Cardiol* **36**, 2056-2063 (2000).
49. Bertomeu, V., et al. Clinical course of acute myocardial infarction in the hypertensive patient in Eastern Spain: the PRIMVAC registry. *Heart Lung* **35**, 20-26 (2006).
50. Ciruzzi, M., et al. Frequency of family history of acute myocardial infarction in patients with acute myocardial infarction. Argentine FRICAS (Factores de Riesgo Coronario en America del Sur) Investigators. *Am J Cardiol* **80**, 122-127 (1997).
51. Mello, B.H., et al. Validation of the Killip-Kimball classification and late mortality after acute myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol* **103**, 107-117 (2014).
52. Pimenta, J.R., et al. Color and genomic ancestry in Brazilians: a study with forensic microsatellites. *Hum Hered* **62**, 190-195 (2006).
53. Pena, S.D., et al. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. *PLoS One* **6**, e17063 (2011).
54. Leite, T.K., Fonseca, R.M., de Franca, N.M., Parra, E.J. & Pereira, R.W. Genomic ancestry, self-reported "color" and quantitative measures of skin pigmentation in Brazilian admixed siblings. *PLoS One* **6**, e27162 (2011).
55. Thune, J.J., et al. Effect of antecedent hypertension and follow-up blood pressure on outcomes after high-risk myocardial infarction. *Hypertension* **51**, 48-54 (2008).
56. Kaplan, R.C., Heckbert, S.R., Furberg, C.D. & Psaty, B.M. Predictors of subsequent coronary events, stroke, and death among survivors of first hospitalized myocardial infarction. *J Clin Epidemiol* **55**, 654-664 (2002).
57. Goldenberg, I., et al. Polymorphism in the angiotensinogen gene, hypertension, and ethnic differences in the risk of recurrent coronary events. *Hypertension* **48**, 693-699 (2006).
58. Lai, C.Q., et al. Population admixture associated with disease prevalence in the Boston Puerto Rican health study. *Hum Genet* **125**, 199-209 (2009).
59. Shahabi, A., et al. Genetic admixture and risk of hypertensive disorders of pregnancy among Latinas in Los Angeles County. *Epidemiology* **24**, 285-294 (2013).
60. Genome. Disponível em <http://www.genome.gov/gwastudies>. Acesso Janeiro/2015. Disease/trait:Blood Pressure.
61. HapMap. Disponível em <http://www.hapmapncbi.nlm.nih.gov> Acesso em Fevereiro/2015.
62. 1000 genomes. A deep Catalog of Human Genetic Variation. Disponível em: <http://www.1000genomes.gov>. Acesso fevereiro/2015.

63. Ong, K.L., Cheung, B.M., Man, Y.B., Lau, C.P. & Lam, K.S. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension among United States adults 1999-2004. *Hypertension* **49**, 69-75 (2007).
64. Fryar, C.D., Hirsch, R., Eberhardt, M.S., Yoon, S.S. & Wright, J.D. Hypertension, high serum total cholesterol, and diabetes: racial and ethnic prevalence differences in U.S. adults, 1999-2006. *NCHS Data Brief*, 1-8.
65. Allison, M.A., *et al.* Genetic ancestry and lower extremity peripheral artery disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Vasc Med* **15**, 351-359 (2010).
66. Ehret, G.B., *et al.* Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature* **478**, 103-109 (2011).
67. Wain, L.V., *et al.* Genome-wide association study identifies six new loci influencing pulse pressure and mean arterial pressure. *Nat Genet* **43**, 1005-1011 (2011).
68. Kato, N., *et al.* Meta-analysis of genome-wide association studies identifies common variants associated with blood pressure variation in east Asians. *Nat Genet* **43**, 531-538 (2011).
69. He, J., *et al.* Genome-wide association study identifies 8 novel loci associated with blood pressure responses to interventions in Han Chinese. *Circ Cardiovasc Genet* **6**, 598-607 (2013).
70. Newton-Cheh, C., *et al.* Genome-wide association study identifies eight loci associated with blood pressure. *Nat Genet* **41**, 666-676 (2009).
71. Levy, D., *et al.* Genome-wide association study of blood pressure and hypertension. *Nat Genet* **41**, 677-687 (2009).
72. Wang, Y., *et al.* From the Cover: Whole-genome association study identifies STK39 as a hypertension susceptibility gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**, 226-231 (2009).
73. Mick, E., McGough, J.J., Middleton, F.A., Neale, B. & Faraone, S.V. Genome-wide association study of blood pressure response to methylphenidate treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **35**, 466-472 (2011).
74. Franceschini, N., *et al.* Genome-wide association analysis of blood-pressure traits in African-ancestry individuals reveals common associated genes in African and non-African populations. *Am J Hum Genet* **93**, 545-554 (2013).
75. Bhatnagar, P., *et al.* Genome-wide meta-analysis of systolic blood pressure in children with sickle cell disease. *PLoS One* **8**, e74193 (2013).
76. Kelly, T.N., *et al.* Genome-wide association study meta-analysis reveals transethnic replication of mean arterial and pulse pressure loci. *Hypertension* **62**, 853-859 (2013).
77. Simino, J., Sung, Y.J., Kume, R., Schwander, K. & Rao, D.C. Gene-alcohol interactions identify several novel blood pressure loci including a promising locus near SLC16A9. *Front Genet* **4**, 277 (2013).
78. Vanderlei, L.C., Pastre, C.M., Hoshi, R.A., Carvalho, T.D. & Godoy, M.F. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. *Rev Bras Cir Cardiovasc* **24**, 205-217 (2009).

9 - ANEXOS

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA –UnB

HOSPITAL DE BASE DO DISTRITO FEDERAL – HBDF

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA – UCB

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

O (a) Senhor (a) está sendo convidado (a) a participar do projeto: **Identificação de Marcadores Genômicos de Risco na Evolução Intra-hospitalar e Recorrência de Eventos Cardiovasculares após Infarto Agudo do Miocárdio: Coorte Brasília.**

Com base nas projeções da Organização Mundial de Saúde (OMS) as doenças cardiovasculares, principalmente o Infarto Agudo do Miocárdio (infarto do coração) serão uma das principais causas de óbito na população mundial nas próximas décadas. Diante desta perspectiva, o objetivo da presente pesquisa é: estudar, identificar e associar componentes genéticos que estejam envolvidos com o infarto do coração e principalmente no que diz respeito à recorrência do evento cardíaco.

A sua participação acontecerá após ter dado entrada no Hospital de Base do DF (HBDF), caso venha a ter o diagnóstico de infarto e que concorde com a participação no estudo. É importante ressaltar que a participação no estudo é opcional, e que de forma alguma seu atendimento e tratamento serão prejudicados caso não concorde em participar. Da mesma forma, o desligamento do projeto por parte do paciente, a qualquer momento, não trará qualquer implicação para o seu tratamento. Além disso, não haverá custos ao paciente que decidir participar, uma vez que as avaliações e exames ficam a cargo do sistema de saúde em que o paciente se encontra sendo atendido.

O paciente que decidir entrar para a pesquisa será avaliado nas primeiras 24 horas após ocorrência do infarto do coração, por meio de anamneses clínicas e nutricionais, realizadas por profissionais competentes na área. Terá material biológico (sangue) coletado para realização de exames bioquímicos e estocagem deste material para posterior estudo genético através do DNA de cada paciente. Além dessa avaliação inicial, o paciente terá uma segunda e terceira avaliação, no quinto e no trigésimo dias, respectivamente, após o infarto, onde novas dosagens bioquímicas e exames cardiológicos serão realizados. Além disso, ao participar do projeto o paciente será acompanhado durante um ano com visitas trimestrais ao hospital e novas avaliações clínicas da sua doença.

O paciente terá direito de esclarecimento e informação sobre os seus resultados durante e após a realização da pesquisa devendo solicitá-los aos pesquisadores responsáveis quando for de interesse próprio. As

informações obtidas são sigilosas e serão utilizadas apenas na pesquisa sob a forma de números, garantindo o anonimato e a privacidade do paciente.

Todo material biológico a ser utilizado na pesquisa genética é de uso exclusivo deste projeto e será armazenado no Laboratório Multidisciplinar em Pesquisas em Saúde da Faculdade de Ceilândia – FCE/UnB, ou alternativamente no Laboratório de Biotecnologia e Ciências Genômicas da Universidade Católica de Brasília – UCB-DF, que figura como instituição parceira deste projeto, sob a supervisão do Dr. Otávio de Toledo Nóbrega. Este material poderá ser utilizado para novos projetos; mas para isso será solicitada uma nova autorização por parte do paciente. Caso isso seja impossível, o material biológico do paciente só será utilizado mediante aprovação do (s) novo (s) projeto (s) pelo CEP e ou pelo CONEP.

Os dados obtidos com a pesquisa têm o objetivo de gerar conhecimento científico e tentar contribuir para o melhor entendimento da evolução e recorrência do infarto do coração, podendo desta forma beneficiar no futuro pacientes que venham a ter problemas semelhantes ao seu. Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da SES/DF. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidas pelo telefone (61) 3325-4955. Este documento será assinado em duas vias para que uma fique com o pesquisador responsável e a outra com o voluntário da pesquisa.

Termo de consentimento

Mediante as explicações e considerações feitas acima, afirmo ter entendido e estar ciente da proposta de pesquisa apresentada, dando assim o meu consentimento à realização dessa pesquisa.

Nome do paciente

Nome do representante legal

Assinatura do paciente

Assinatura do representante legal

Assinatura do profissional que prestou informações

Brasília, _____ de _____ de 20__

ANEXO B - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE
Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA/SES-DF

Carta Nº 0324/2011 - CEP/SES/DF.

Brasília, 11 de agosto de 2011.

Ilmº (a) Senhor(a)

DIRETOR do(a): HOSPITAL DE BASE DO DISTRITO FEDERAL (com vistas à Chefia da Unidade de Cardiologia) – SES/DF

Assunto: aprovação do projeto de pesquisa – 354/11 - CEP/SES/DF

Senhor(a) Diretor(a),

Participamos a V. Sa. que o projeto “IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES GENÔMICOS DE RISCO NA EVOLUÇÃO INTRA-HOSPITALAR E RECORRÊNCIA DE EVENTOS CARDIOVASCULARES APÓS INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO: COORTE BRASÍLIA” encontra-se em conformidade com a Resolução 196/96 Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde - CNS/MS e suas complementares.

Data da aprovação: 11/08/2011

Validade do parecer: 11/08/2013

Pesquisador responsável e telefone: AUDREY CECÍLIA TONET FURIOSO – (61) 3347-5792

Os dados serão coletados na SES-DF o pesquisador deverá observar as responsabilidades que lhe são atribuídas na Resolução 196/96 CNS/MS, incisos IX.1 e IX.2, em relação ao desenvolvimento do projeto.

Ressaltamos que a conduta do pesquisador, assim como o seu acesso à Unidade de Saúde deve seguir as normas e os procedimentos preconizados pela Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. O pesquisador deve se apresentar ao Diretor da Unidade de Saúde para os procedimentos administrativos necessários.

Atenciosamente,

Maria Rita Carvalho Garbi Novaes
Comitê de Ética em Pesquisa/SES-DF
Coordenadora

AL-CEP/SES/DF

Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde - SES
Comitê de Ética em Pesquisa
Fone/Fax: 3325-4955 – e-mail: cepsesdf@saude.df.gov.br
SMHN – Q. 501 – Bloco “A” – Brasília – DF – CEP.: 70.710-907
BRASÍLIA - PATRIMÔNIO CULTURAL DA HUMANIDADE

ANEXO C - TERMO DE CONCESSÃO E ACEITAÇÃO DE APOIO FINANCEIRO A PROJETO



4190994633502539

TERMO DE CONCESSÃO E ACEITAÇÃO DE APOIO FINANCEIRO A PROJETO

CONCEDENTE

Nome: CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO
CNPJ/ME: 33.654.831/0001-36

BENEFICIÁRIO

Nome: Andrei Carvalho Sposito
CPF/ME: 421.854.595-20

1. FINALIDADE

Concessão de auxílio financeiro a projeto de natureza científica, tecnológica ou de inovação.

1.1. TÍTULO DO PROJETO

Marcadores Imunogenômicos de Risco na Evolução Intra-hospitalar e Recorrência de Eventos Cardiovasculares após Infarto Agudo do Miocárdio: Coorte Brasília

1.2. IDENTIFICAÇÃO DO PROCESSO

Número do processo: 471016/2011-0
Edital/Chamada: Universal 14/2011 - Faixa B - de R\$20.000,01 a R\$50.000,00

2. VALOR GLOBAL DA CONCESSÃO

AUXÍLIO FINANCEIRO

Custeio: R\$ 25.000,00

Capital: R\$ 18.000,00

Valor Global: R\$ 43.000,00