

**MAGDA MAYA ATALA**

**Influência dos polimorfismos do gene do receptor  
adrenérgico  $\beta$ 2 na regulação cardiovascular de  
jovens normotensos.**

**Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Doutor em Medicina**

**Área de concentração: Cardiologia**

**Orientadora: Fernanda M. Consolim-Colombo**

**2006**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Atala, Magda Maya

Influência dos polimorfismos do gene do receptor adrenérgico beta-2 na regulação cardiovascular de indivíduos jovens normotensos / Magda Maya Atala. -- São Paulo, 2006.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Departamento de Cardio-Pneumologia.

Área de concentração: Cardiologia.

Orientadora: Fernanda Marciano Consolim-Colombo.

Descritores: 1.Polimorfismo (genética) 2.Receptores beta-2 adrenérgicos  
3.Sistema nervoso autônomo 4.Análise espectral

USP/FM/SBD-355/06

**Dedicatória**

---

*Aos meus pais*

*Por me ensinarem a importância do estudo, do trabalho,  
da honestidade e da paixão pela vida*

*Nelson Atala e Sylvia Vitta Duque Estrada Maya Atala*

## Agradecimentos

---

*À minha querida orientadora Dra. Fernanda M. Consolim-Colombo, pela oportunidade de poder criar e pelo aprendizado em pesquisa clínica; foram anos inesquecíveis de convivência, de intenso afeto e cumplicidade; em que uma amizade foi construída*

*À galera da 119, Dra. Grázia Maria Guerra, Priscilla de Mello, Fábio Zaneratto e Elizângela de Oliveira Freitas; realmente fizemos um time imbatível; sem vocês este trabalho não teria alcançado seu objetivo, sou muito grata*

*À Profa. Maria Cláudia Irigoyen pelos ensinamentos e por saber que sempre teria sua retaguarda*

*Ao Prof. Eduardo Moacyr Krieger, por ter me acolhido e contribuído com sua experiência nesta pesquisa*

*À Silvia Regina Garrubo que sempre me ajudou nas horas de apuros, tornando-se também responsável pela conclusão deste trabalho*

*Ao Dr. Isac de Castro, pelo apoio e competência na elaboração estatística desse projeto*

*Ao colega Cristiano Mostarda que sempre se colocou de maneira disponível para me ajudar na análise espectral*

*Ao Dr. Mauro Roberto Ushizima, pela colaboração na metodologia referente à análise espectral*

*À Comissão de Pós-Graduação: Juliana, Neusa e Eva, por terem facilitado o meu caminho*

*Aos colaboradores do Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular*

*À Dra. Dulce Casarini, pela oportunidade de enriquecer o meu trabalho com sua pesquisa de excelência*

*Ao Laboratório de Análises Clínicas do HCFMUSP que com muito profissionalismo colaborou na execução deste trabalho*

*Ao Laboratório de Análises Clínicas do Incor em especial à Dra. Célia Strunz*

*Aos colaboradores do Centro Universitário São Camilo, Universidade São Judas Tadeu, Unicid (com especial ajuda da aluna Sibebe e do Dr. Rodrigo Plentz) que permitiram que eu convocasse seus alunos para participarem da pesquisa*

*A todos os voluntários que participaram desta pesquisa*

*Ao Prof. Dr. José Francisco Kehr Saraiva, pelo apoio, incentivo, amizade e exemplo de liderança*

*À querida amiga e professora Maria Helena Vidotti, pelo apoio e incentivo*

*À Alessandra de Carvalho Goulart; que foi cúmplice desta jornada e que colaborou com seus conhecimentos em pesquisa epidemiológica*

*A todos os meus colegas médicos que se esforçaram para me substituíram nos plantões e me fizeram sentir tão especial*

*Às minhas queridas amigas: Maristela Soubihe (minha sócia), Fernanda de Andrade Cardoso, Daniela Maria Cremasco Ribeiro e Camilla Valdetaro pela amizade, companheirismo, muita diversão, paciência e por “quase sempre” me apoiarem*

*A todos os meus familiares que sempre torceram por mim, apesar da minha quase sempre ausência.*

*À Pontifícia Universidade Católica de Campinas que foi o berço da minha formação médica*

*Ao Prof. Dr. Sílvio do Santos Carvalhal: por me ensinar a fazer pesquisa, por me ensinar a ter o compromisso com a*

*verdade na formação médica e em pesquisa, pela amizade e cumplicidade, pelo exemplo de formação acadêmica; inesquecível....*

# SUMÁRIO

Lista de Tabelas	
Lista de Figuras	
Lista de Símbolos	
Lista de Siglas	
Resumo	
Summary	
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Relevância clínica do Sistema Nervoso Autônomo na regulação da pressão arterial e frequência cardíaca	2
1.2. Controle neural da frequência cardíaca - ação do sistema nervoso simpático e parassimpático sobre o Nó Sino Atrial (NSA)	
1.3. Implicações clínicas do desequilíbrio do SNA na regulação cardiovascular	
1.4. Receptores adrenérgicos e muscarínicos no controle do sistema cardiovascular	
1.5. Polimorfismos dos Receptores $\beta_2$ Adrenérgicos	
2. HIPÓTESE DO ESTUDO	
3. OBJETIVOS	
4. MÉTODOS	
4.1. Casuística	
4.2. Critérios de Seleção	
4.3. Métodos - Execução da Pesquisa	
4.3.1 Avaliação clínica	
4.3.2 Registro das variáveis hemodinâmicas e do sistema nervoso autônomo	
4.3.3 Seqüência geral do protocolo	
4.3.4 Métodos de análise dos dados autonômicos, das catecolaminas e dos genótipos	
4.3.5 Análise Estatística	
5. RESULTADOS	
5.1. Análise da população geral	
5.1.1. Análise dos dados demográficos, antropométricos e da pressão arterial de consultório da população geral	
5.1.2. Análise dos exames laboratoriais metabólicos e bioquímicos da população geral	
5.1.3. Análise da Noradrenalina da população total:	
5.1.4. Análise das variáveis hemodinâmicas na população total	
5.1.5. Análise da modulação autonômica para o coração na população total	
5.2. Distribuição dos polimorfismos do receptor adrenérgico $\beta_2$ Gln27Glu e Arg16Gly na população estudada	
5.3. Influência do genótipo relacionado ao polimorfismo do receptor adrenérgico $\beta_2$ Gln27Glu	
5.3.1. No perfil antropométrico e na pressão arterial de consultório	
5.3.2. No perfil metabólico e bioquímico	
5.3.3. Nas variáveis hemodinâmicas	
5.3.4. Na catecolamina sérica	
5.3.5. Na Modulação autonômica para o coração	
5.4. Influência da presença do alelo Glu27 nos parâmetros estudados	

5.4.1.	No perfil antropométrico, metabólico e bioquímico, nas variáveis hemodinâmicas e nos valores da noradrenalina .....
5.4.2.	Na modulação autonômica para o coração .....
5.5.	Influência do genótipo relacionado ao polimorfismo do receptor adrenérgico $\beta$ 2 Arg16Gly .....
5.5.1.	No Perfil antropométrico e pressão arterial de consultório .....
5.5.2.	No perfil metabólico e bioquímico .....
5.5.3.	Nas variáveis hemodinâmicas.....
5.5.4.	Na noradrenalina sérica .....
5.5.5.	Na Modulação autonômica para o coração .....
5.6.	Influência da presença do alelo Arg 16 nos parâmetros estudados .....
5.6.1.	No perfil antropométrico, da pressão arterial de consultório, metabólico e bioquímico, nas variáveis hemodinâmicas e nos valores da noradrenalina .....
5.6.2.	Na modulação autonômica para o coração segundo influência da presença do alelo Arg16 .....
5.7.	Distribuição dos haplótipos relacionados aos polimorfismos do receptor adrenérgico $\beta$ 2 Gln27Glu e Arg16Gly na população estudada .....
5.8.	Influência dos haplótipos relacionados aos polimorfismos do receptor adrenérgico $\beta$ 2 Gln27Glu e Arg16Gly .....
5.8.1.	No perfil antropométrico, de PA do consultório, bioquímico, metabólico e da noradrenalina .....
5.8.2.	Nas variáveis hemodinâmica.....
5.8.3.	Na modulação autonômica para o coração .....
6.	DISCUSSÃO .....
7.	CONCLUSÕES .....
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....



## LISTA DE TABELAS

Pg.

- TABELA 1.** Valores das variáveis antropométricas e da pressão arterial de consultório, da população estudada.
- TABELA 2 -** Valores das variáveis metabólicas e bioquímicas da população total estudada.
- TABELA 3 -** Valores da noradrenalina sérica durante o período de repouso (1) e após “tilt test” (2), e delta percentual ( $\Delta$ ) entre o período basal e após “tilt test” encontrados na população total.
- TABELA 4 -** Valores das variáveis hemodinâmicas no momento basal, e “tilt test” encontrados na população total
- TABELA 5 -** Delta percentual dos valores das variáveis hemodinâmicas entre o momento basal e “tilt test” encontrados na população total
- TABELA 6 -** Valores das variáveis de modulação autonômica para o coração durante o momento basal e “tilt test” na população total
- TABELA 7 -** Delta percentual das variáveis de modulação autonômica para o coração entre o momento basal e “tilt test” na população total
- TABELA 8 -** Distribuição dos genótipos dos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta 2$  tipos Gln27Glu e Arg16Gly na população total
- TABELA 9 -** Dados antropométricos da população de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu.
- TABELA 10 -** Análises metabólicas e bioquímicas da população de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu
- TABELA 11 -** Valores das variáveis hemodinâmicas durante o momento basal, e o “tilt test” de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu
- TABELA 12 -** Análise dos deltas percentuais das variáveis hemodinâmicas entre o momento basal e o “tilt test” de acordo com genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu.
- TABELA 13 -** Valores da noradrenalina durante situação basal e “tilt test” e do delta percentual entre o período basal e “tilt test” de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu.
- TABELA 14 -** Valores das variáveis de modulação autonômica para o coração durante situação basal e “tilt test” de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu
- TABELA 15 -** Análise dos deltas percentuais entre o momento basal e “tilt test” das variáveis de modulação autonômica para o coração de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu
- TABELA 16 -** Dados antropométricos da população de acordo com a presença do alelo Glu27
- TABELA 17 -** Valores das variáveis metabólicas e bioquímicas da população de acordo com a presença do alelo Glu27,
- TABELA 18 -** Delta percentual da noradrenalina entre momento basal e “tilt test”, de acordo com a presença do alelo Glu 27
- TABELA 19 -** Delta percentual dos valores das variáveis hemodinâmicas de acordo com a presença do alelo Glu entre o momento basal e “tilt test”.
- TABELA 20 -** Análise do delta percentual das variáveis de modulação autonômica para o coração entre o momento basal e “tilt test” de acordo com a presença do alelo Glu.
- TABELA 21 -** Dados antropométricos da população de acordo com os genótipos relacionados ao polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly.
- TABELA 22 -** Análises das variáveis metabólicas e bioquímicas da população de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly

- TABELA 23** - Valores das variáveis hemodinâmicas durante o momento basal, a respiração controlada e o “tilt test” de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly
- TABELA 24** - Análise do delta percentual das variáveis hemodinâmicas entre o momento basal e o “tilt test” de acordo com genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly
- TABELA 25** - Valores da noradrenalina durante o momento basal e “tilt test”, e do delta percentual entre o período basal e “tilt test” de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly
- TABELA 26** - Valores das variáveis de modulação autonômica para o coração durante o momento basal e “tilt test” de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly
- TABELA 27** - Análise dos deltas percentuais das variáveis de modulação autonômica para o coração entre o momento basal e “tilt test” de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly
- TABELA 28** - Dados antropométricos da população, de acordo com a presença do alelo Arg 16
- TABELA 29** - Análises metabólicas e bioquímicas da população de acordo com a presença do alelo Arg 16
- TABELA 30** - Análise do delta percentual da noradrenalina entre o momento basal e “tilt test” de acordo com a presença do alelo Arg 16
- TABELA 31** - Análise do delta percentual das variáveis hemodinâmicas entre o momento basal e “tilt test” de acordo com a presença do alelo Arg 16
- TABELA 32** - Análise do delta percentual das variáveis de modulação autonômica para o coração entre o momento basal e “tilt test” de acordo com a presença do alelo Arg 16
- TABELA 33** - Frequência dos haplótipos dos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu e Arg16Gly
- TABELA 34** - Dados antropométricos da população de acordo com os haplótipos relacionados aos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu e Arg16Gly
- TABELA 35** - Análises metabólicas e bioquímicas da população de acordo com os haplótipos relacionados aos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu e Arg16Gly
- TABELA 36** - Análise dos deltas percentuais da noradrenalina entre os momentos basal e “tilt test” de acordo com os haplótipos relacionados aos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu e Arg16Gly
- TABELA 37** - Análise dos deltas percentuais das variáveis hemodinâmicas entre os momentos basal e “tilt test” de acordo com os haplótipos relacionados aos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu e Arg16Gly
- TABELA 38** - Análise dos deltas percentuais das variáveis de modulação autonômica para o coração entre os momentos basal e “tilt test” de acordo com os haplótipos relacionados aos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu e Arg16Gly



## LISTA DE FIGURAS

Pg

- |          |  |
|----------|--|
| Figura 1 | Fatores que interagem na determinação da pressão arterial DC e RVP   |
| Figura 2 | Registro FINOMETER   |
| Figura 3 | Registro dos sinais adquiridos : sinal do ECG (segundo canal), sinal da PA não invasiva (terceiro canal), sinal da respiração (quarto canal) |
| Figura 4 | BASAL (fase 1)   |
| Figura 5 | Tilt Test (fase 1)   |

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
<	menor que
≥	maior ou igual
=	Igual a
α	Receptor Alfa
β	Receptor beta
cm	Centímetros
dl	Decilitro
g	Gramas
Kg/m <sup>2</sup>	Quilograma por metro quadrado
mg	Miligramas
ng	Nanogramas
nu	normalizado
UI	Unidades Internacionais
ul/mL	Micro litro/milímetro
Δ	Delta

## LISTA DE SIGLAS

ADR	Adrenalina
AMPc	AMPcíclico
Arg	Arginina
BASAL	Registro basal decúbito dorsal horizontal em repouso
bpm	Batimentos por minuto
CA	Circunferência abdominal
CA <sup>2+</sup>	cálcio
CQ	Circunferência quadril
DC	Débito cardíaco
DM	Diabete melito
DNA	Ácido desoxiribonucleico
ECA	Enzima conversora de angiotensina 1 em 2
ECG	Eletrocardiograma
FC	Freqüência cardíaca
FCI	Freqüência cardíaca intrínseca
FMUSP	Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo
Gi	Proteína g inibitória
Gln	Glutamina
Gs	Proteína G estimuladora
Glu	Ácido glutâmico
Gly	Glicina
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HB	Taxa de hemoglobina
HC	Hospital das clínicas
HDL	High Density Lipoprotein
HF	Freqüência alta (atividade parasimpática)
HT	Taxa de hematócrito
Hz	Hertz
I/D	Inserção / delecao
iF	Influxo de corrente íons funny
iK	Influxo de potássio
Incor	Instituto do coração
IMC:	Índice da massa corpórea
IP	Intervalo de pulso
K	Potássio
LDL	Low Density Lipoprotein
LF	Baixa freqüência da PA
LF	Baixa freqüência (atividade simpática)
LF/HF	Relação freqüência alta/freqüência baixa

LFRR	Baixa frequência do RR
LGBM	Laboratório de genética e biologia molecular
L/min	Litros por minuto
M	Receptor muscarínico
MAPA	Monitorização ambulatorial da pressão arterial
M <sub>2</sub>	Receptor muscarínico tipo 2
ms	Milisegundo
NN	Intervalo de batimento normal
Nora	Noradrenalina
NS	Não significativo
NSA	Nó sino atrial
OMS	Organização mundial da saúde
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Reação de polimerização em cadeia
PKA	Proteína Kinase
RCQ:	Relação cintura-quadril
REC	Respiração controlada
RVP	Resistência vascular periférica
SNA	Sistema nervoso autonômico
SNC	Sistema nervoso central
SNS	Sistema nervoso simpático
SPN	Polimorfismo de nucleotídeo único
Tilt test	Teste de inclinação postural
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
VLF	Frequência muito baixa

## RESUMO

Atala M.A. Influência dos polimorfismos do gene do receptor adrenérgico  $\beta 2$  na regulação cardiovascular de jovens normotensos. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2006

O sistema nervoso (SN) autonômico é fundamental na regulação cardiovascular. A análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), no domínio do tempo e da frequência, expressa a modulação autonômica cardíaca, pois reflete a atividade do SN simpático (receptores adrenérgicos) e do SN parassimpático (receptores muscarínicos) sobre Nó Sinoatrial. As variantes genéticas funcionais (polimorfismos) do receptor adrenérgico  $\beta 2$  vêm sendo associadas a diferentes estados funcionais do receptor e a diversos fenótipos cardiovasculares. Investigamos em 218 de jovens normotensos (entre 18 a 30 anos) a associação dos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta 2$  tipo Gln27Glu (Gln/Gln, Gln/Glu e Glu/Glu) e tipo Arg16Gly (Arg/Arg, Arg/Gly e Gly/Gly) com o perfil antropométrico e com os fenótipos cardiovasculares: o balanço autonômico para o coração (análise da VFC), a noradrenalina sérica, e variáveis hemodinâmicas, que foram registradas durante o repouso (5min) e o tilt test (teste de estresse postural, 5 min). **Resultados:** *polimorfismo  $\beta 2$  tipo Gln27Glu* - comparados aos portadores do genótipo Gln/Gln, os indivíduos com genótipos Glu/Glu e Gln/Glu apresentaram uma menor relação cintura/quadril ( $p=0,008$ ) e uma maior atividade simpática em resposta ao tilt teste, ou seja, maior aumento do componente LF ( $p=0,027$ ) e maior relação LF/HF ( $p=0,014$ ); *polimorfismos  $\beta 2$  tipo Arg16Gly* – portadores do genótipo Arg/Arg apresentaram maior queda do índice alfa durante o tilt test, comparados aos outros genótipos; *associação de polimorfismos (haplótipos)* - portadores do haplótipo Gln27Gln/Arg16Gly apresentaram maior incremento da FC quando comparados aos portadores dos haplótipos Gln27Gln/Gly16Gly ( $p=0,06$ ). **Conclusão:** foi possível detectar que os polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta 2$  tipo Gln27Glu e tipo Arg16Gly têm impacto sobre o balanço autonômico cardíaco, respectivamente, aumentando a atividade simpática para o coração e diminuindo a atividade baroreflexa durante manobra de estresse postural, em indivíduos jovens normotensos.



## Summary

Atala M.A. Influência dos polimorfismos do gene do receptor adrenérgico  $\beta 2$  na regulação cardiovascular de jovens normotensos. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2006

The autonomic nervous system (NS) has a pivotal role in cardiovascular control. Time domain and spectral analyzes of heart rate variability (HRV) indicates cardiac autonomic modulation, since it reflects the sympathetic (adrenergic receptors) and parasympathetic (muscarinic receptors) nerve activity over the Sinoatrial Node. Polymorphisms of the adrenergic receptor  $\beta 2$  have been associated to different functional state of receptor and cardiovascular phenotypes. We analyzed in 218 young normotensive subjects (18-30 years old) the association of polymorphisms of the adrenergic receptor type Gln27Glu (Gln/Gln, Gln/Glu e Glu/Glu) and type Arg16Gly (Arg/Arg, Arg/Gly e Gly/Gly) with anthropometric data and cardiovascular phenotypes: cardiac autonomic balance (HRV), norepinephrine levels, and hemodynamic parameters, which were registered during rest (5min) and tilt test (5 min). **Results:**  *$\beta 2$  polymorphism type Gln27Glu* – compared to subjects with genotype Gln/Gln, subjects with genotype Glu/Glu e Gln/Glu showed a lower WHR ( $p=0,008$ ) and a higher increase in sympathetic activity during tilt teste, i.e., a higher increase in LF component ( $p=0,027$ ) and LF/HF relation ( $p=0,014$ );  *$\beta 2$  polymorphism type Arg16Gly* – subjects with genotype Arg/Arg demonstrated a higher decrease in alpha index during tilt test, compared to other genotypes; *polymorphism association (haplotype)* – subjects with Gln27Gln/Arg16Gly had a higher increase in hear rate compared to subjects with haplotype Gln27Gln/Gly16Gly ( $p=0,06$ ). **Conclusion:** it was possible to detect in young normotensive subjects that polymorphisms of the adrenergic receptor type Gln27Glu and type Arg16Gly have an impact over cardiac autonomic balance, respectively, increasing the cardiac sympathetic activity and decreasing the baroreflex sensibility during tilt test.

## **1. INTRODUÇÃO**

---

### **1.1 - Relevância clínica do Sistema Nervoso Autônomo na regulação da pressão arterial e frequência cardíaca**

Para assegurar a perfusão dos tecidos nas mais variadas situações fisiológicas e patológicas é fundamental que a pressão arterial permaneça dentro limites estáveis.<sup>1</sup> A manutenção e as variações da pressão arterial dependem de mecanismos complexos e redundantes que determinam ajustes apropriados na frequência e contratilidade cardíacas, no estado contrátil dos vasos arteriais e venosos (respectivamente, vasos de resistência e capacitância) e na distribuição de fluído dentro e fora dos vasos. No controle participam núcleos autonômicos do sistema nervoso central e sistema nervoso periférico, rins e sistema renina-angiotensina, outros sistemas hormonais, incluindo vias endócrinas e parácrinas.<sup>1,2</sup>

Dos mecanismos de regulação, o sistema nervoso autonômico é o que é ativado mais rapidamente frente a uma alteração aguda na pressão arterial, promovendo ajustes rápidos e de curta duração (segundos) principalmente pela ação de mecanismos reflexos que usam vias ou circuitos neurais denominados “arcos reflexos”.<sup>1,2</sup> Os arcos reflexos são

compostos por: receptores, vias aferentes, núcleos de integração central e vias eferentes (sistema nervoso simpático e parassimpático). Dois importantes arcos reflexos neurais estão envolvidos na regulação da pressão arterial: o baroreflexo (mediado por estimulação dos barorreceptores aórticos e carotídeos, chamados de receptores de alta pressão) e reflexo cardiopulmonar (mediado por estimulação de receptores cardiopulmonares, chamados de receptores de baixa pressão). Em geral, estes receptores quando estimulados de forma súbita por aumento da pressão arterial ou da pressão venosa central, aumentam a descarga pelas fibras nervosas aferentes; os sinais chegam aos centros vasomotores na medula, onde são integrados e convergem para as áreas centrais do sistema, modulando a atividade do sistema nervoso simpático e do parassimpático; destas áreas saem os estímulos eferentes que atingem o coração e os vasos sanguíneos, levando a uma diminuição da frequência cardíaca e da resistência vascular periférica, fazendo com que a pressão arterial retorne ao normal. De forma oposta, a queda da pressão arterial ou do enchimento cardíaco diminui a descarga nervosa pelas fibras aferentes, com menor estímulo para as áreas centrais; como resultado há liberação da atividade simpática e diminuição da atividade parassimpática, levando a um aumento da frequência cardíaca e da resistência vascular periférica, fazendo com que a pressão arterial retorne aos valores prévios.<sup>3,4</sup>

A relevância da frequência cardíaca no controle cardiovascular está na sua relação direta com o débito cardíaco ( $\text{Débito Cardíaco} = \text{Volume Sistólico} \times \text{FC}$ ) e, portanto, o seu controle é fundamental para adequar o

débito e a pressão arterial no repouso e durante atividades físicas.<sup>1</sup> Além do que o simpático é quem eleva a FC também atua na contratilidade cardíaca regulando assim, o volume sistólico.

## **1.2- Controle neural da frequência cardíaca - ação do sistema nervoso simpático e parassimpático sobre o Nó Sino Atrial (NSA)**

O NSA é o marcapasso cardíaco natural do coração, e se localiza no teto do átrio direito perto da inserção da veia cava superior. Suas células são menores que as células musculares e todas exibem uma atividade de marcapasso, ou seja, são capazes de despolarizar espontaneamente, numa frequência própria (frequência cardíaca intrínseca, FCI). Uma vez iniciada a atividade elétrica, os estímulos são transmitidos ao redor do átrio e nódulo átrio-ventricular, invadem o nódulo sinoatrial e o sistema de condução especializado dos ventrículos e finalmente atingem os ventrículos. Desta forma o coração sem nenhum controle externo apresenta uma FCI, que no ser humano está ao redor de 110-120 bpm. O coração tem uma densa rede de inervação de origem simpática (gânglios cervicais inferiores e torácicos superiores) e parassimpática (nervo vago), sendo o NSA a região mais intensamente inervada. Desta forma, o sistema nervoso simpático e o parassimpático atuam momento a momento sobre a FCI, por meio da liberação de noradrenalina e acetilcolina, respectivamente. Essas substâncias agem em receptores específicos (adrenérgicos e muscarínicos)

localizados nas células do NSA, e interferem no desenvolvimento dos potenciais de membrana, modulando, portanto, a frequência cardíaca. A estimulação simpática libera noradrenalina que age em receptores beta adrenérgicos aumentando a velocidade de despolarização das células do NSA e conseqüentemente da frequência cardíaca; a estimulação do parassimpático libera acetilcolina que age nos receptores muscarínicos tipo 2 causando discreta hiperpolarização das células e lentificando a despolarização, com conseqüente redução da frequência cardíaca. Deve-se reforçar que a inervação extrínseca do coração está intimamente ligada a atividade reflexa, sendo a via eferente dos reflexos mediada pelos receptores cardiopulmonares e baroreceptores descritos acima.<sup>5</sup>

A frequência cardíaca portanto, apresenta uma variabilidade decorrente da ação simultânea do simpático e do parassimpático sobre as células do SNA. Essa variabilidade pode ser quantificada por diferentes métodos.<sup>5,6</sup> A análise da variabilidade da frequência cardíaca tem se tornado uma ferramenta extremamente útil no entendimento da modulação autonômica durante a situação de repouso e durante manobras que estimulem a atividade simpática, como manobras de estresse postural (tilt test)<sup>4</sup>.

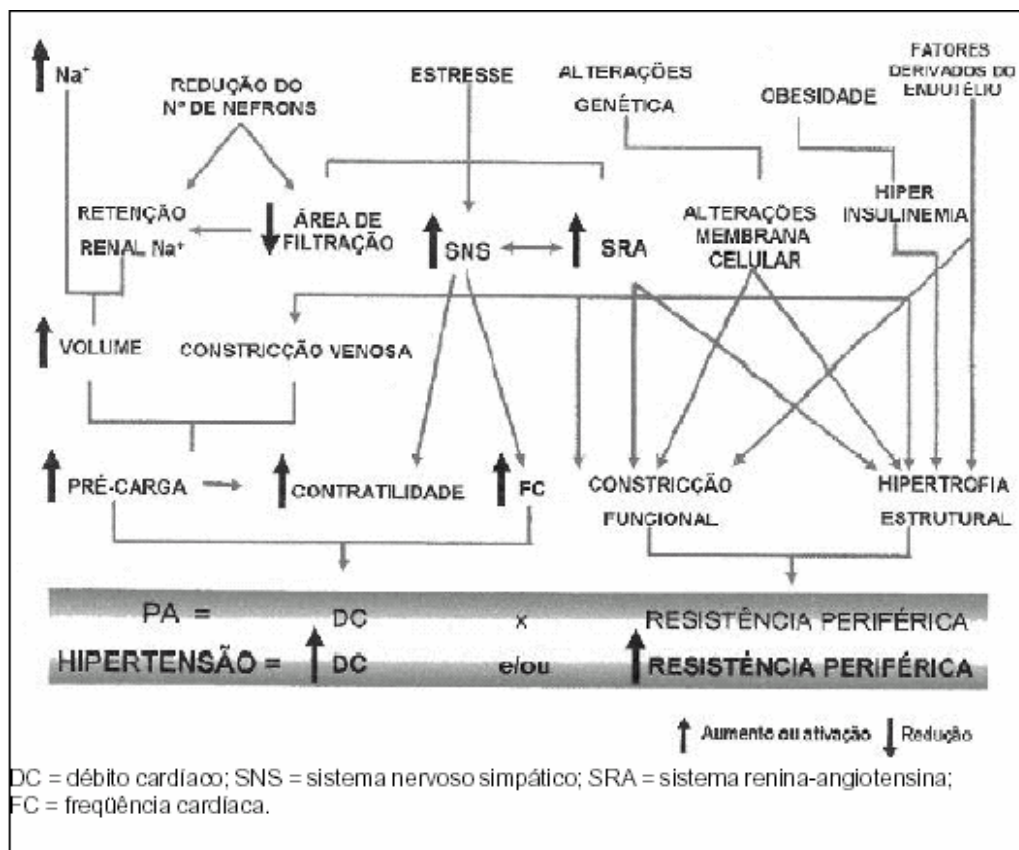
### **1.3 - Implicações clínicas do desequilíbrio do SNA na regulação cardiovascular**

Inúmeras evidências apontam para a participação do aumento da atividade do sistema nervoso simpático na patogênese da hipertensão arterial.<sup>6,7,8</sup>

Pode-se observar que significativa proporção de indivíduos hipertensos jovens apresenta aumento da frequência e do débito cardíaco, indicando um padrão hiperdinâmico da circulação<sup>9</sup>. A presença do padrão hiperdinâmico provavelmente decorre do aumento da atividade simpática (aumento do débito por aumento da FC e da contratilidade associado a um discreto ou nulo aumento da resistência por vasoconstrição periférica)<sup>2</sup>. Jovens filhos de hipertensos, quando comparados a filhos de normotensos, apresentam níveis mais elevados de pressão arterial, frequência cardíaca e de catecolaminas séricas em repouso, e maiores aumentos de atividade simpática periférica e de pressão arterial durante testes fisiológicos e farmacológicos que estimulam a atividade simpática.<sup>10,11,12</sup>

Também, pode-se detectar em jovens filhos de indivíduos hipertensos discretas, mas significativas, alterações no mecanismo de controle da frequência cardíaca mediado pelo baroreflexo<sup>10</sup>. Os dados sugerem que o sistema nervoso simpático está alterado precocemente em indivíduos com predisposição para o desenvolvimento de hipertensão arterial, e que o aumento do tônus simpático pode ter um importante determinante genético.<sup>2,12</sup>

Como a hipertensão arterial é multifatorial (fig1), a atividade simpática aumentada pode interagir com outros fatores que contribuem para o desenvolvimento e manutenção da hipertensão arterial. Por exemplo, têm-se demonstrado que as catecolaminas liberadas pelos nervos simpáticos, além de aumentarem o tônus dos vasos de resistência nas fases iniciais da hipertensão, também são capazes de estimular mecanismos tróficos nos vasos, levando à hipertrofia vascular, induzindo a um maior aumento da resistência vascular periférica, reforçando o quadro de hipertensão arterial.<sup>13,14</sup>



**Figura 1.** Fatores que interagem na determinação da pressão arterial DC e RVP



Reforçando a importância do sistema nervoso simpático no desenvolvimento da HAS, observações clínicas sugerem que indivíduos hipertensos ou com predisposição para desenvolver hipertensão arterial, apresentam mais estresse e respondem de forma diferente a ele<sup>2,14,15,16</sup>. A prevalência da hipertensão arterial pode ser até 5 vezes maior em alguns grupos de indivíduos que trabalham ou vivem em situações estressantes, quando comparados com indivíduos afastados destas situações<sup>17</sup>. Jovens hipertensos tendem a ser hiperresponsivos ao estresse e, em estudos de Framingham, homens que apresentam HAS aos 18 e 20 anos tendem ser mais ansiosos e mais agressivos. Entretanto, existe uma grande dificuldade em se atribuir ao estresse (e conseqüente aumento da atividade simpática) um papel exclusivo no desenvolvimento da hipertensão arterial nestes indivíduos, uma vez que outros fatores de risco associados ao desenvolvimento da HAS, dentre eles a obesidade, sedentarismo, tabagismo também estão presente. Apesar destas evidências, em animais de experimentação, não se conseguiu demonstrar que a hiperatividade simpática isolada, seja capaz de provocar hipertensão arterial.<sup>17,18,19</sup> Uma importante alteração no sistema nervoso autônomo que pode influenciar diretamente o tônus simpático é a alterações no controle reflexo mediado pelos barorreceptores, que se detecta em qualquer forma de hipertensão estabelecida. Quando a pressão arterial é mantida elevada por um período longo (HAS) os pressoreceptores se adaptam a este novo estado hemodinâmico<sup>19</sup> por meio de alterações funcionais e estruturais. Os hipertensos apresentam menor sensibilidade do baroreflexo, e desta forma

as variações agudas da pressão arterial não são tamponadas porque não sofrem variações na frequência cardíaca e na resistência vascular periférica de forma adequada. É provável que a menor sensibilidade do baroreflexo observada nestes pacientes seja o principal determinante da maior variabilidade da pressão arterial, que irá influenciar negativamente, culminando e lesões dos órgãos alvo.<sup>9,18,20,21</sup>

A pressão arterial é resultado de uma complexa interação entre o meio ambiente sobre a expressão de numerosos genes. A contribuição de determinantes genéticos no aparecimento da HAS<sup>23</sup> é estimada em 30% a 50 % e pode ser demonstrada em estudo entre gêmeos e famílias de hipertensos<sup>2</sup>. A expressão de um gene ocorre a nível celular e é modificada pela ação de outros genes e do meio ambiente que influencia o funcionamento das células, tecidos, órgãos e conseqüentemente, suscitando uma maior ou menor expressão de determinado gene. Isto, com certeza, diminui o efeito de um único gene sobre a regulação da PA. Conhecem-se hoje, vários genes associados à regulação da pressão arterial; e que influenciaram o aparecimento de fenótipos intermediários. Muito estudados são os genes da enzima de conversão da angiotensina, do angiotensinogênio, adrenoreceptor beta-2, alfa-aducina, óxido nítrico endotelial sintase, alfa 2 adrenoreceptor, beta1 adrenoreceptor, hormônio de crescimento, receptor tipo 1 da angiotensina 2, entre outros.<sup>2</sup>

Além da participação no desenvolvimento e manutenção da HAS, o desequilíbrio do sistema nervoso autonômico tem-se revelado importante

componente da fisiopatologia de várias doenças. Uma das maneiras utilizadas para se estudar o balanço autonômico no sistema cardiovascular é pelo estudo da variabilidade da frequência cardíaca ou da pressão arterial. O aumento da variabilidade da pressão arterial está associada a um maior grau de aterosclerose carotídea<sup>23,24,25</sup> e a um aumento da mortalidade por doença cardiovascular<sup>26</sup>. Quanto maior a magnitude da variabilidade da PA, pior o prognóstico<sup>25</sup>. A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) tem sido alvo de grande interesse. Desde 1965 tem sido verificada uma relação na alteração dos batimentos cardíacos com má evolução fetal<sup>29</sup>. Posteriormente, vários outros estudos também revelaram que a redução na VFC é um forte e independente preditor de mortalidade em indivíduos com cardiopatia isquêmica.<sup>28-31</sup>

De forma importante, no estudo de seguimento populacional de 36 anos em Framingham<sup>32</sup> detectou-se que a mortalidade cardiovascular entre pacientes hipertensos apresenta uma relação direta com o incremento da frequência cardíaca no período analisado.<sup>27,29,30,31</sup>

A hiperatividade simpática para o coração é preditora de eventos cardiovasculares em pacientes com infarto do miocárdio (ATRAMI)<sup>33</sup> e com insuficiência cardíaca. O aumento da atividade simpática durante as primeiras horas da manhã, também é parcialmente responsável pela maior ocorrência de morte súbita, acidente vascular cerebral e infarto do miocárdio nas primeiras horas da manhã.<sup>34,35,36</sup>

#### **1.4 - Receptores adrenérgicos e muscarínicos no controle do sistema cardiovascular**

A atividade simpática central e a periférica é mediada pela produção e liberação das catecolaminas, adrenalina, noradrenalina e dopamina, que atuam em receptores adrenérgicos (ADR) que se localizam tanto no sistema nervoso central (SNC) quanto no componente periférico.

A maior parte das terminações simpáticas pós-ganglionares utiliza a noradrenalina como transmissor. As principais catecolaminas são formadas pela hidroxilação e descarboxilação dos aminoácidos fenilalanina e tirosina. A fenilalanina hidroxilase, encontrada primariamente no fígado, catalisa a reação fenilalanina para tirosina, que é transportada para neurônios e hidroxilada e descarboxilada para formação de dopamina. A dopamina entra nas vesículas onde é convertida para norepinefrina pela dopamina- $\beta$ -hidroxilase. A noradrenalina é armazenada em vesículas granulosas no botão sináptico; o potencial de ação causa o influxo de  $Ca^{2+}$  para a terminação nervosa e com subsequente fusão da vesícula com a membrana plasmática e exocitose da NA na fenda sináptica.<sup>37</sup> A noradrenalina na fenda sináptica irá ativar os receptores adrenérgicos na membrana pós-sináptica, isto é, na célula efetora (receptores adrenérgicos pós-sinápticos tipo  $\alpha$  e  $\beta$ ) e também na membrana pré-sináptica, isto é, da própria terminação nervosa (receptor adrenérgico pré-sinápticos  $\alpha_2$ ). A estimulação dos receptores adrenérgicos pós-sinápticos causam modificação do estado funcional das células efectoras; por exemplo: no nó sinusal causam aumento da frequência

de despolarização das células do marca-passo cardíaco acarretando aumento da frequência cardíaca. Já a estimulação dos receptores adrenérgicos pré-sinápticos causam uma inibição da liberação exocitótica adicional da noradrenalina, diminuindo, portanto a atividade simpática (efeito de retroalimentação negativa).

Os receptores adrenérgicos alfa ( $\alpha$ ) adrenérgicos se apresentam na forma de dois subtipos: alfa1 ( $\alpha$ 1), alfa2 ( $\alpha$ 2), e os beta ( $\beta$ ) adrenérgicos apresentam os subtipos beta1 ( $\beta$ 1) e o beta2 ( $\beta$ 2). Estes receptores estão distribuídos de maneira diferente no corpo humano e apresentam funções distintas.<sup>37</sup>

Os **receptores adrenérgicos  $\alpha$ 1** são em sua grande maioria pós-juncionais; quando presentes na parede dos vasos sanguíneos levam à vasoconstrição e quando no coração aumentam o inotropismo. Apesar de existirem outros receptores adrenérgicos nos vasos ( $\beta$ 2, e em menor número  $\alpha$ 2) a resposta predominante do estímulo simpático vascular é decorrente do efeito da estimulação do receptor  $\alpha$ 1.<sup>38</sup>

Verificou-se recentemente, a existência de três sub-tipos de receptores  $\alpha$ 1:  $\alpha$ 1A,  $\alpha$ 1B,  $\alpha$ 1D, que são codificados por genes que se encontram nos cromossomos 8, 5 e 20 respectivamente<sup>39,40,41</sup>. Acredita-se que a diferença farmacológica decorra das diferenças de susceptibilidade à desensibilização<sup>42</sup> dos receptores e ao fato de apresentarem limiares distintos para seu down-regulation<sup>43</sup>. Um quarto sub-tipo de  $\alpha$ 1 foi detectado - o  $\alpha$ 1L -que parece ser uma variação no estado de conformação do  $\alpha$ 1A<sup>44</sup>.

Tem-se observado pouca diferença quanto às suas funções fisiológicas. Os receptores  $\alpha_1$  tem um papel crucial na regulação do tônus vascular<sup>38,45,46,47</sup> pois, mesmo em repouso, o tônus simpático mantém um estado de contração sustentada dos vasos mediada pela ativação desses receptores; quando a atividade simpática é inibida há queda significativa da PA.

No coração, a presença do receptor adrenérgico  $\alpha_1$  tem sido demonstrada nos ventrículos direito e esquerdo, porém a sua densidade é muito inferior que o dos receptores  $\beta$  adrenérgicos<sup>48</sup>. Os estudos sobre vias de sinalização intracelular têm revelado que a ativação do receptor  $\alpha_1$  não aumenta o AMPc, indicando que o sistema “proteína Gs / adenilciclase / AMPc” não está envolvido. Foi verificado que no coração de humanos, a noradrenalina leva a um aumento na formação do fosfato inositol através da sua ação no receptor  $\alpha_1$ , com um provável efeito inotrópico positivo. Sugere-se que os receptores  $\alpha_1$  se acoplam primariamente à via “proteína Gi insensível a pertussis / fosfolipase / inositol trifosfato/diacilglicerol (plc/ip5/dag)<sup>49</sup>. Estudos experimentais, demonstraram que este efeito é no máximo 15 a 35% do efeito evocado pelo estímulo dos receptores  $\beta$  adrenérgicos. Foi verificado também, a participação dos receptores  $\alpha_1$  no desenvolvimento de hipertrofia ventricular esquerda.<sup>48</sup>

Os **receptores adrenérgicos  $\alpha_2$**  estão presentes em maior número na porção pré-juncional, tanto a nível central quanto periférico, onde têm a função de realizar a retroalimentação negativa para liberação de NA na fenda sináptica<sup>37</sup>. Portanto, são fundamentais para a regulação da liberação

de catecolaminas na fenda sináptica, modulando a transmissão da atividade simpática ao coração e para os vasos.<sup>50</sup> Recentemente, foram diferenciados três sub-tipos de receptor  $\alpha_2$ : alfa 2A ( $\alpha_2$ -a), alfa 2B ( $\alpha_2$ -b), alfa 2C ( $\alpha_2$ -c), que são codificados nos cromossomos 10, 2 e 4 respectivamente<sup>51</sup>.

Os receptores são glicoproteínas homólogas, integrantes da membrana celular. A seqüência de aminoácidos no interior da terceira alça citoplasmática, parece ser particularmente importante para a interação entre o receptor e a proteína G adequada e, variações na seqüência dessa região levam às características distintas em cada subtipo de receptor  $\alpha_2$ , refletindo em diferentes funções. Estes receptores apresentam diferenças farmacológicas quando em contato com alguns antagonistas e estas diferenças têm sido utilizadas para caracterizar os subtipos dos  $\alpha_2$  em diferentes tecidos<sup>52</sup>. Ainda que os receptores  $\alpha_2$  estejam presentes em maior número na porção pré-juncional, dependendo da espécie estudada, os subtipos do receptor  $\alpha_2$  sofrem variações na sua concentração e localização. Por exemplo, no átrio e na veia cava de ratos encontra-se o subtipo  $\alpha_2$ -b, enquanto que no átrio direito e no córtex renal de humanos tem-se o subtipo  $\alpha_2$ -c.<sup>53</sup> Em diversos outros tecidos são encontrados receptores  $\alpha_2$  em locais pós-juncionais como na veia cava, aorta, coração, pulmão, gordura, rim, próstata, cólon.<sup>53-57</sup> A estimulação dos receptores  $\alpha_2$  acarreta diferentes efeitos, dependendo do local em que se encontram: a estimulação dos receptores  $\alpha_2$  presentes na musculatura lisa dos vasos pode diminuir a contratilidade do vaso; nas ilhotas pancreáticas (células beta) reduz a secreção da secretina; e nas plaquetas induz a agregação

plaquetária.<sup>58</sup> Vale ressaltar que, assim como os receptores  $\alpha_1$ , os receptores  $\alpha_2$ , também apresentam distintos comportamentos quanto a down-regulation.<sup>59</sup>

*In vivo*, os receptores  $\alpha_2$  são componentes essenciais na regulação da função cardiovascular<sup>60</sup>. Estes receptores, e em especial os receptores  $\alpha_2$ -c, são fundamentais para a regulação pré-sináptica do SNC influenciando a transmissão da atividade simpática ao coração e para os vasos.<sup>48,54</sup> A atividade simpática central e o controle da pressão arterial têm influência tônica controlada pelos receptores  $\alpha_2$ -a localizados em algumas regiões do SNC, mais precisamente, no tronco cerebral<sup>57</sup>. Estes receptores também vêm sendo relacionados à regulação do metabolismo de glicose e lipídeos e à HAS.<sup>57,61</sup>

No coração, tanto a existência quanto o papel dos  $\alpha_2$  receptores ainda é controverso. Estudos funcionais têm demonstrado a existência do receptor  $\alpha_2$  pré-sináptico mediando a liberação de NA no átrio de coração humano. Entretanto, até hoje não se sabe realmente qual é o subtipo envolvido nesta função.<sup>48</sup>

Os **receptores beta adrenérgicos**  $\beta$  são subdivididos em  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$  codificados por genes localizados respectivamente nos cromossomos 10, 5 e 8<sup>62</sup>. Estes receptores se diferenciam conforme a sua função e localização; porém na maioria das vezes interagem entre si. Além de sua existência no coração, os receptores  $\beta_1$  estão localizados nas adjacências imediatas das terminações nervosas adrenérgicas nos órgãos alvo periféricos, isto é, nos



rim, arteríolas, coronárias, músculo esquelético, pulmonares, vísceras abdominais.<sup>48</sup> Da mesma forma, os receptores  $\beta_2$  distribuem-se em diversos órgãos (sistema genito-urinário, pulmões, gorduras) além dos vasos sanguíneos e coração. Quando na parede dos vasos a sua estimulação se associa à vasodilatação, e no coração participam do aumento do inotropismo e cronotropismo.<sup>38,63,64</sup>

No coração de humanos, tanto o  $\beta_1$  quanto o  $\beta_2$ , coexistem, entretanto há o predomínio do  $\beta_1$ . A relação entre receptores  $\beta_1$ :  $\beta_2$  varia muito, com um predomínio de  $\beta_1$  (60-70%) sobre  $\beta_2$  (40-30%) nos átrios e nos ventrículos ( $\beta_1$  70-80% e  $\beta_2$  30-20%)<sup>38</sup>. Delmonte e cols. demonstraram a coexistência do  $\beta_2$  e  $\beta_1$  nos cardiomiócitos de ventrículo humano<sup>65</sup>. De forma importante, Rodefeld e cols. demonstraram que no nó sinoatrial a densidade de receptores  $\beta$  é cerca de 3x maior que no átrio adjacente. Embora o receptor  $\beta_1$  predomine também nos átrios, a densidade do receptor  $\beta_2$  é 2,5 vezes maior no Nó-Sinoatrial comparado ao tecido atrial<sup>66</sup>.

Os receptores adrenérgicos  $\beta_1$  e  $\beta_2$  induzem respostas cardiovasculares mediadas pela ação da NA e ADR. Independente do subtipo, eles se acoplam à proteína Gs, que estimula a adenil ciclase levando a um aumento no AMPc intracelular. O aumento no AMPc ativa a proteína kinase A (PKA) a qual fosforila as proteínas da membrana e produzem um aumento no influxo de cálcio (iCa, if) para dentro da célula. Estudos recentes têm demonstrado que a estimulação beta adrenérgica também aumenta o influxo de potássio (iK). O estímulo beta agonista

aumenta o potencial de ação no NSA assim como a PKA, abreviando a duração do potencial de ação e levando a um efeito inotrópico e cronotrópico positivo tanto *in vitro* quanto *in vivo*.<sup>5,67</sup>

Embora haja um predomínio no coração do  $\beta 1$  justificando sua importância, é interessante salientar que o receptor  $\beta 2$  exibe um acoplamento funcional com a adenil ciclase bem maior que o  $\beta 1$  sugerindo que a adenil-ciclase é preferencialmente ativada pelo estímulo da  $\beta 2$  ( $\beta 2$  é mais eficiente).<sup>51</sup> Esta observação têm sido feita no átrio direito e no ventrículo de humanos<sup>68,69</sup> mas o mecanismo relacionado ainda não é conhecido. Estudos experimentais têm verificado que esta diferença pode ser justificada por diferenças na compartimentalização do AMPc produzido dentro dos cardiomiócitos.

Experimentos *in vitro* utilizando estimulação elétrica em miócitos do ventrículo e do átrio demonstraram que tanto os receptores  $\beta 1$  quanto  $\beta 2$  apresentam efeito inotrópico positivo no átrio e no ventrículo. Porém, enquanto que no átrio direito e esquerdo o estímulo inotrópico máximo é igual entre os dois receptores ( $\beta 1$  e  $\beta 2$ ), nos ventrículos somente a estimulação do receptor  $\beta 1$  consegue o efeito inotrópico máximo. A estimulação farmacológica com catecolaminas, evidenciou que a isoprenalina e adrenalina conseguem evocar o efeito inotrópico positivo máximo nos dois receptores, enquanto que a NA (o principal neurotransmissor do sistema nervoso simpático), induz seu efeito inotrópico positivo máximo predominantemente via  $\beta 1$ .<sup>67</sup>

A distribuição dos receptores  $\beta$  no coração pode se alterar de maneira heterogênea em situações patológicas ou pela influência de medicamentos, levando a uma diminuição no seu número de maneira seletiva. A diminuição na densidade dos receptores se dá em situações de excesso de estímulo como na hiper-atividade simpática mediada pelo aumento excessivo de catecolaminas. Este fenômeno é denominado de down-regulation. É importante ressaltar que todos estes receptores participam do processo de down-regulation, entre si. E cada receptor apresenta um comportamento distinto em relação à down-regulation<sup>70</sup>, sendo demonstrado em vários estudos que esta é uma das grandes diferenças fisiológicas de cada receptor.<sup>48</sup> Embora o receptor  $\beta_3$  tenha sido encontrado nos vasos sanguíneos, realmente pouco se sabe de sua real presença e importância com relação ao sistema cardiovascular. Atualmente é reconhecida a participação dos receptores  $\beta_3$  no metabolismo de lipídeos.<sup>48</sup> Recentemente, tem-se sugerido a existência de outro  $\beta$  receptor:  $\beta_4$ , presente no tecido adiposo marrom e mediando uma estimulação máxima lipolítica<sup>71</sup> entretanto, ainda se discute se este tipo de receptor nada mais é que um estado particular do receptor  $\beta_1$ .

**Receptores muscarínicos:** existem 5 tipos de receptores muscarínicos (M). No coração a forma predominante é o tipo 2 (M2). A estimulação deste receptor pelo neurotransmissor do sistema nervoso parassimpático, a acetilcolina, leva a um inotropismo e cronotropismo negativos no átrio, enquanto que no ventrículo acarreta somente inotropismo negativo.

No átrio humano a ativação do receptor M2 estimula a abertura de canais de potássio na membrana das células causando o influxo de uma corrente positiva para dentro da célula (*ik*) levando a uma hiperpolarização da membrana, e como consequência redução na frequência de despolarização celular e diminuição da frequência cardíaca. Tanto no átrio quanto no ventrículo, a ativação dos M2 acoplada a proteína G inibitória Gi, a toxina pertussis (ptx-sensitive g-protein gi/go) leva a inibição da adenilciclase inibindo aumento do AMPc intracelular, levando a uma redução na corrente do L-type  $ca^{2+}$  e parece ser este o mecanismo predominante de inibir força de contração. Os M2 são encontrados 2,5 vezes mais no átrio que no ventrículo, e não existe o fenômeno de down-regulation na IC.<sup>48</sup>

### **1.5 - Polimorfismos dos Receptores $\beta$ 2 Adrenérgicos**

Na população em geral encontram-se freqüentemente mutações nos genes capazes de causar um desarranjo de grande relevância (por ter um impacto do ponto de vista funcional) sem, contudo, estarem relacionadas a doenças tipicamente mendelianas. Com estudos baseados no mapeamento de polimorfismos de nucleotídeo único (SPN) foi possível detectar cerca de 80% de todos os polimorfismos do ácido desoxirribonucleico (DNA), geralmente tendo somente duas variantes (alelos) facilitando sua análise. Um polimorfismo ocorre quando há uma troca na seqüência de bases

nitrogenadas localizadas no DNA de cromossomos homólogos, presente em pelo menos 1% da população.<sup>72</sup>

A presença de determinados polimorfismos pode ter uma repercussão funcional relacionada ao produto final do gene, que pode ser mensurável e ter participação em algumas alterações relacionadas a um estado patológico. Por exemplo, determinou-se que o polimorfismo inserção/deleção (I/D) do gene da ECA tem uma capacidade de codificação variada deste gene, o que leva a uma alteração funcional na atividade plasmática e tecidual da enzima de conversão da angiotensina<sup>73</sup>. Não obstante, a correlação direta entre polimorfismos e a presença de determinados fenótipos em estudos genéticos populacionais é muito difícil; provavelmente pela fragilidade em se determinar a relação causa-efeito.

Muitos genes estão envolvidos na regulação da atividade simpática e, dependendo da sua expressão, pode-se ter uma implicação funcional diferenciada. Estudos sobre o sistema adrenérgico vêm fortalecendo a hipótese de que variantes genéticas dos adrenoreceptores centrais ou periféricos têm um papel na fisiopatologia de doenças cardiovasculares como a HAS<sup>74-77</sup>. Isto pode ocorrer por uma maior expressão destes genes levando ao aumento do tônus simpático ou uma predisposição a um maior incremento da atividade simpática frente a situações de estresse. Uma vez que a participação e a função dos receptores adrenérgicos tem sido amplamente reconhecida, muito se tem pesquisado sobre a influência dos polimorfismos destes receptores na regulação cardiovascular em humanos.

Como mencionado, os receptores adrenérgicos  $\beta_2$  (cujo gene localiza-se no cromossomo 5) têm papel importante na regulação da função cardiovascular. Estudos recentes demonstraram que os receptores  $\beta_2$  apresentam diferentes polimorfismos<sup>78</sup>. A possibilidade de que alterações na expressão ou propriedades dos receptores adrenérgicos  $\beta_2$ , devido a um SNP, possa influenciar a função cardiovascular, ou contribuir para a fisiopatologia de diversas doenças como HAS, insuficiência cardíaca, obesidade, diabetes tipo II ou asma, é uma idéia que tem atraído muito interesse nos últimos 10 anos.<sup>78</sup>

Até o momento foram descritos 19 tipos de polimorfismos dos receptores adrenérgicos  $\beta_2$  (Leineweber 2004) sendo que pelo menos 3 apresentam alterações funcionais. Duas mutações de SNP que são de interesse no presente trabalho estão localizadas dentro de regiões codificadoras, na posição 46 (Arg/Gly, freqüência do alelo 0,40/0,60) e na posição 79 (Gln/Glu, freqüência do alelo 0,55/0,45) e têm como região regulatória imputada a região extracelular do receptor amino-terminal. Estes polimorfismos já foram previamente avaliados na literatura com relação à participação em respostas de dilatação vascular e em menor grau com relação ao controle da freqüência cardíaca e da pressão arterial.

Posição Imputada	SNP	Posição AA	Substituição AA	Região regulatória
(Região códon)				
46	A/G	16	Arg → Gli	Terminal N
79	C/G	27	Gln → Glu	Terminal N

*Modificado de Liggett 1995*

A = adenina, G = guanina, C = citosina, Arg = arginina, Gli = glicina, Gln = glutamina, Glu = ácido glutâmico

O polimorfismo do receptor  $\beta 2$  tipo Gln27Glu ocorre em decorrência da troca do nucleotídeo arginina (A) pelo nucleotídeo guanina (G) no gene, com conseqüente substituição do aminoácido glutamina (Gln) pelo ácido glutâmico (Glu) quando da síntese protéica. A presença do aminoácido glutamina (Gln) é considerado o tipo selvagem ou seja, o alelo mais freqüente na população, e a presença do ácido glutâmico (Glu) é considerada a mutação (o alelo menos freqüente na população).

O polimorfismo do receptor  $\beta 2$  Arg16Gly ocorre em decorrência da troca do nucleotídeo citosina (C) pelo nucleotídeo guanina (G) no gene, com conseqüente substituição do aminoácido arginina (Arg) pela glicina (Gly) quando da síntese protéica. A presença do aminoácido arginina (Arg) foi inicialmente, considerado o tipo selvagem, porém atualmente se observou que, na verdade, este alelo é o de menor freqüência, o que o colocaria na posição de mutante; apesar disto ele permaneceu com a classificação de tipo selvagem, por ter sido assim inicialmente descrito.<sup>79</sup>

### ***Importância funcional dos polimorfismos do receptor $\beta$ 2***

De um modo geral, a diferença funcional nestes receptores adrenérgicos  $\beta$ 2, se deve a uma alteração na sensibilização e down-regulation destes receptores frente a agonistas  $\beta$ 2 exógenos assim como catecolaminas endógenas.

Estudos *in vitro* demonstraram que o polimorfismo  $\beta$ 2 Gln27Glu não influencia a ligação do receptor com NA, nem as resposta de ativação máxima da adenilciclase induzidas pelo isoproterenol. Entretanto, ele confere uma maior resistência ao fenômeno de downregulation (diminuição do número de receptores disponíveis na membrana celular decorrente da internalização desses receptores) induzido pela estimulação pelas catecolaminas.

Sugere-se que a conformação alterada do receptor; associada a variante Glu27 pode resultar numa alterada susceptibilidade do receptor a degradação. Desta forma, especula-se que a responsividade do receptor  $\beta$ 2 seja maior em indivíduos com o polimorfismo Glu27 que nos indivíduos com o polimorfismo Gln27, devido a sua menor down regulation pelas catecolaminas.<sup>80</sup>

Estudos *ex vivo* sobre a dessensibilização das variantes Gln27Glu e Arg16Gly do receptor  $\beta$ 2 em diferentes tecidos humanos produziram resultados conflitantes. Chong e cols.<sup>81</sup> demonstraram que em mastócitos



pulmonares humanos as formas mutantes do receptor  $\beta_2$  (Gly16 e Glu27) são resistentes a dessensibilização induzida pelo isoproterenol, comparadas com os tipos selvagens (Arg16 e Gln27). Por outro lado, Moore e cols.<sup>82</sup> evidenciaram que os receptores  $\beta_2$  com o alelo Glu27 tinham maior dessensibilização que os receptores  $\beta_2$  com Gln27.

Com relação ao polimorfismo  $\beta_2$  Arg16Gly estudos *in vitro* demonstraram que a presença do Gly16 leva a um aumento na capacidade da down regulation (menor densidade de receptor) quando comparado com Arg16<sup>80</sup>. *In vivo* em modelo dinâmico, o que se vê funcionalmente é que apesar de a down regulation ser maior no alelo Gly16, funcionalmente, a resistência ocorre mais no grupo Arg16. Isto pode ser justificado pela ação das catecolaminas endógenas, que tem maior ligação e down regulation para o alelo Gly16 e não para o Arg16, fazendo com que quando se administra uma agonistas  $\beta_2$  exógeno, a reposta de dessensibilização seja maior para o alelo Arg16, alterando, portanto, a resposta funcional que se esperava. Ou seja o alelo Arg16 *in vivo* se comporta com prejuízo em sua função: menor vasodilatação, ou taquifilaxia a agonistas  $\beta_2$ <sup>79,80</sup>.

A **implicação clínica** destes polimorfismos no controle cardiovascular e nas doenças cardiovasculares vem sendo alvo de grande interesse. Alguns estudos foram realizados cujos resultados, por vezes, são divergentes. Comparando-se os diferentes polimorfismos  $\beta_2$  (Arg16Gly e Gln27Glu), não se observou diferença na vasodilatação máxima induzida por  $\beta_2$  agonistas, como a terbutalina; porém ocorreram diferenças na

sensibilização a esta droga. Os indivíduos com haplótipo selvagem (Arg16Arg/Gln27Gln) apresentaram maior sensibilidade quando comparados com Gly16Gly/Gln27Gln e Gly16Gly/Glu27Glu em resposta à administração venosa da terbutalina. Por outro lado quando se administrou o  $\beta$ 2 agonistas por via oral (uso crônico), observou-se que com o tempo ocorreu uma maior desensibilização para Arg16Arg/Gln27Gln versus Gly16Gly/Gln27Gln, e quase ausente para Gly16Gly/Glu27Glu, levando a uma taquifilaxia ou resistência à ação destes receptores para  $\beta$ 2 agonistas. Outros estudos já demonstraram a influência do alelo Arg16, tanto heterozigoto quanto homozigoto, na desensibilização em resposta ao uso crônico de  $\beta$ 2 agonistas (Arg16Arg e Arg16Gly).<sup>83</sup>

A influência destes polimorfismo  $\beta$ 2 na reatividade vascular tem sido estudada<sup>84</sup>. No estudo realizado em indivíduos jovens normotensos, a presença isolada da forma homozigota Gln27 e Arg16 apresentam menor vasodilatação arterial e venosa ao isoproterenol (estudo de fluxo sanguíneo em braço) que a forma homozigota Glu27 e Gly16<sup>85</sup>

Recentemente o mesmo resultado foi obtido em um estudo clínico<sup>86</sup> realizado com mulheres obesas com idade entre 20 e 40 anos e de etnia variada. As mulheres quando homozigotas para Gly16 e Glu27, apresentaram uma maior vasodilatação muscular em resposta stress mental e handgrip exercício (Gly16/Glu27>Gly16/Gln27 e >Arg16/Gln27), o que foi atribuído à presença do alelo Glu27, e não ao Gly16. Não houve diferença

na concentração das catecolaminas, perfil metabólico e na atividade simpática por microneurografia.

Em relação à pressão arterial, um estudo realizado com indivíduos adultos entre 23 e 37 anos e sadios, revelou que a forma homozigota para Gly16 apresentava maior aumento da PA sistólica e PA diastólica à infusão máxima de terbutalina e sem alteração na FC. A vasodilatação avaliada pela pletismografia foi menor no grupo Gly16, após infusão de terbutalina. Quando avaliado o códon 27 não houve diferença entre os dois grupos<sup>87</sup>

Boerwinkle e cols estudaram 2500 pessoas de 5889 famílias, e encontraram maior susceptibilidade em desenvolver HAS nos portadores do alelo Gly16 e Glu27.<sup>79,87-91</sup> Outros estudos não mostraram resultado semelhante.

Estudos avaliando a influência metabólica destes polimorfismos mostraram que a presença do genótipo homozigoto Glu27 associava-se a alterações metabólicas, como maior peso em mulheres. Em homens a presença do alelo Gln27 é que se relacionou à obesidade<sup>37,92</sup>. A influência do códon 16 no perfil metabólico foi estudada em um trabalho realizado na Itália, com 571 indivíduos da população geral. Verificou-se a associação entre o maior nível de glicemia de jejum, assim como uma maior prevalência de DM com a presença de pelo menos, um alelo Arg16 ( $p < 0.05$ ). O códon 27 não influenciou o perfil metabólico para glicemia.<sup>93</sup>

Castellano et al.<sup>93</sup> demonstraram em uma população de caucasianos-italianos, entre 35 e 64 anos de idade; que a presença de dois

polimorfismos (estudo de haplótipos), na sua forma homozigota para Arg16/Gln27, esteve relacionada a maior nível pressórico MAPA ( $p=0,03$ ). O interessante foi que quando se separaram os grupos pela idade média (49 anos), os indivíduos mais jovens (<49 anos), com homozigose para Arg16, apresentaram tendência a maior prevalência de HAS ( $p<0,07$ ). Este fato pode ser justificado pois outros estudos sugerem que a hiperatividade simpática é principalmente observada em indivíduos jovens hipertensos, quando se verifica um aumento na atividade simpática periférica e maior nível circulante de catecolaminas.<sup>94</sup> Este estudo levanta uma questão importante que é da influência da idade na repercussão funcional dos receptores  $\beta_2$ .

Estudos associando variabilidade da FC ainda são escassos quando se discute o papel dos polimorfismos  $\beta_2$ . A influência hereditária na FC já foi demonstrada<sup>10,95</sup> sendo que, a influência genética pode explicar a variação da FC em 24% african americans e 27% brancos. Em um estudo recente<sup>96</sup>, a presença do alelo Arg16 foi responsável por um aumento de 1,32 bpm a mais em indivíduos saudáveis enquanto que em hipertensos, ter o alelo Arg16, foi responsável por um decréscimo de 2,17 na FC. Apesar de não se ter uma lógica neste resultado, é fato a presença deste genótipo na regulação FC.

***Em resumo,***

- Existe uma correlação fisiopatológica entre aumento da atividade do sistema nervoso simpático com hipertensão arterial sistêmica e insuficiência cardíaca, e que todas estas alterações são marcadores de mau prognóstico cardiovascular.
- O mecanismo pelo qual o sistema nervoso simpático atua nos órgãos efetores (vasos e coração) é pela liberação de catecolaminas na sinapse do órgão efector onde se ligam a receptores específicos; existem vários tipos de receptores adrenérgicos cuja ativação causa diferentes efeitos nas células efectoras; genes de vários receptores adrenérgicos e também grande parte de seus polimorfismos já foram determinados e, finalmente, existem evidências de que diferentes polimorfismos estão associados a diferentes graus de atividade do receptor a nível celular, promovendo alterações na função do órgão com impacto variável no sistema que os integram.
- Há evidências que alguns polimorfismos dos receptores adrenérgicos apresentam correlações com aspectos funcionais do SNS e com estados patológicos relacionados com hiperatividade simpática (elevação da pressão arterial, da frequência cardíaca, dos níveis circulantes de noradrenalina, hipertrofia do ventrículo esquerdo), tanto em animais quanto em humanos;

- É fundamental o estudo da prevalência e do significado funcional da presença de diferentes polimorfismos em diferentes populações.
- Para a análise da consequência funcional de determinados polimorfismos de receptores adrenérgicos, é conveniente estudar um grupo de indivíduos com mínimas alterações em sistemas (no caso cardiovascular) que já estejam modificando resposta simpática conseqüentemente deve se dar preferência para o estudo de jovens normotensos.

Portanto, o objetivo de nosso estudo é o de avaliar a presença de polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta_2$ , isolados ou em associação, em uma população de jovens normotensos. Correlacionando-os com o padrão hemodinâmico da circulação, com a atividade simpática e com o perfil metabólico.

## **2. HIPÓTESE DO ESTUDO**

---

A presença dos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta_2$  pode estar associada a diferenças em fenótipos que tenham uma ligação direta com a atividade simpática, como no padrão hemodinâmico e no balanço autonômico na situação de repouso e/ou durante manobras que estimulem o aumento da atividade simpática. Fenótipos relacionados ao metabolismo de lípidos e glicose, que estão também ligados à atividade simpática, podem também sofrer influências dos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta_2$ .



### **3. OBJETIVOS**

---

1. Correlacionar a presença dos polimorfismos receptor  $\beta$ 2 tipo Gln27Glu e tipo Arg16Gly, de forma isolada e em associação, com variáveis funcionais hemodinâmicas e marcadores da atividade autonômica, durante repouso e em respostas a manobras que estimulam o sistema nervoso simpático em jovens sadios normotensos.
2. Correlacionar a presença dos polimorfismos do receptor  $\beta$ 2 tipo Gln27Glu e tipo Arg16Gly, de forma isolada e em associação, com variáveis antropométricas [índice de massa corpórea (IMC), circunferência abdominal (CA), relação cintura quadril (RCQ)] e perfil metabólico (dosagem sérica do colesterol total e frações, triglicérides, glicemia de jejum e insulina) e bioquímico (creatinina, potássio, taxa de hemoglobina e hematócrito).

## **4. MÉTODOS**

---

Entre o período de dezembro do ano de 2004 até março de 2006, realizou-se um estudo transversal onde foram incluídos 219 indivíduos jovens saudáveis.

Para o cálculo do tamanho da população a ser estudada foram utilizados dados de literatura sobre a prevalência dos polimorfismos de interesse em diferentes populações. Foi calculado o número suficiente da amostra de 189 indivíduos. O tamanho da amostra utilizado foi de 218 indivíduos, suficiente para demonstrar diferenças nas variáveis interessadas.

O recrutamento foi realizado por meio de divulgação direta em Universidades localizadas na cidade de São Paulo; divulgação interpessoal em ambiente de trabalho e de lazer; e via divulgação por e-mail em instituições públicas de trabalho, respeitando-se sempre as normas preconizadas para a boa prática clínica e de ética em pesquisa.

#### **4.1 - Casuística**

Foi composta por indivíduos jovens, a maioria estudantes universitários, moradores na cidade de São Paulo. Os que aceitaram participar do estudo foram submetidos a uma entrevista pelo pesquisador. Quando preenchiam os critérios de seleção eram então incluídos no protocolo. Um total de 218 indivíduos completaram o estudo.

#### **4.2 - Critérios de Seleção**

**Critérios de Inclusão:** Jovens, moradores na grande São Paulo, idade entre 18 anos e 30 anos, sadios (sem doenças crônicas em atividade ou em uso de medicamento), sem limitação de raça ou sexo.

**Critérios de Exclusão:** portadores de doenças crônicas com ou sem uso de medicamentos, gravidez, incapacidade física ou mental-intelectual que impossibilitasse a realização das manobras (respiração controlada ou teste de inclinação postural) julgada pelo pesquisador.

O Estudo foi submetido à avaliação e aprovação pelo Comitê de Ética e pesquisa do Instituto do Coração e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Todos os voluntários que aceitaram participar

do estudo foram informados sobre a pesquisa, leram e assinaram o termo de consentimento.

### **4.3 - Métodos - Execução da Pesquisa**

#### **A coleta dos dados ocorreu de dois momentos: Fase I e Fase II**

**FASE I** – Constou da avaliação clínica, da coleta de sangue para análise dos polimorfismos e da avaliação hemodinâmica e autonômica. Esta fase foi realizada no Laboratório de Pesquisa Clínica da Unidade de Hipertensão do InCor, FMUSP.

Os voluntários foram orientados a comparecer ao Laboratório de Investigação Clínica pela manhã, se abstendo de café ou álcool nas 12h que antecedia o exame. Deveriam também ingerir cerca de 500ml de água filtrada antes de saírem de casa, quando a caminho do InCor. Quando eram admitidos na sala de exame, assinavam o termo de consentimento pós-informado.

#### **4.3.1 Avaliação clínica**

Foram coletadas informações através de avaliação clínica sumária, interessando antecedentes familiares pessoais e de hábitos de vida, como tabagismo e ingestão de bebidas alcoólicas. A entrevista foi realizada pela

médica pesquisadora ou por duas pessoas previamente treinadas e envolvidas na pesquisa (fisioterapeuta, médico). As medidas antropométricas foram avaliadas segundo técnicas padronizadas. A medida da altura e do peso foi realizada com a balança comercial marca Filizola. Posteriormente foi calculado o Índice de Massa Corpórea (IMC) dividindo-se o peso em quilogramas pela altura elevada ao quadrado ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ ). Os valores de IMC optados como pontos de corte para estratificação da população em estudo, como de risco para obesidade e sobrepeso foram adaptados da classificação original da OMS 1995 (Organização Mundial da Saúde) categorizados como risco para obesidade: abaixo do peso  $<18,5$ , normal  $>18,5-24,9$ , sobrepeso ou pré- obeso  $\geq 25 \leq 29,9$ , obeso  $\geq 30$ .

Foram também mensuradas como medidas de obesidade, a circunferência abdominal (CA) e a relação cintura-quadril (RCQ); sendo os valores obtidos por uma fita métrica, graduada em milímetros. Considerou-se como referência da cintura, o ponto médio entre a borda do último arco costal e a crista ilíaca; e a do quadril, a maior circunferência entre o quadril e os glúteos. e a Relação Cintura-Quadril (RCQ). Sendo que CA  $<80\text{cm}$  e RCQ  $<0,85$  são considerados valores relacionados a baixo risco de complicações metabólicas e valores de CA  $\geq 80\text{cm}$  e RCQ  $\geq 0,85$ , estão associados a elevado risco para complicações metabólicas.

A seguir era realizada a avaliação hemodinâmica e autonômica, com a seguinte seqüência experimental: período basal e teste de inclinação postural (“Tilt Test”).

#### 4.3.2 Registro das variáveis hemodinâmicas e do sistema nervoso autonômico

A pressão arterial do consultório foi realizada com o indivíduo deitado (posição supina) após pelo menos 10 minutos de repouso. Realizado no membro superior esquerdo através do método auscultatório. Foi utilizado para aferição esfigmomanômetro de coluna de mercúrio devidamente calibrado. Os níveis de PA são classificados de acordo com o Consenso Brasileiro de Hipertensão.<sup>97</sup>

Os registros das variáveis hemodinâmicas (pressão arterial, frequência cardíaca, débito cardíaco e resistência vascular periférica) foram feitos durante todo o protocolo experimental, de maneira contínua batimento a batimento cardíaco.

Sendo que os valores de referência para normalidade serão:

PA < 140/90 mmHG e DC= 4 a 7l/min,

RVP terá como unidade: MU. medical unit em mmHg.s/ml.

$RVP = p(\text{pressão})/q(\text{fluxo})$ .  $RVP = MU = \text{pam}/\text{dc} \times 80 = \text{dyn.s}/\text{cm}^5$

Valor de Referência= 1,0 mmHg.s/ml.

A monitorização da pressão arterial foi realizada de maneira contínua e não invasiva, com o monitor de pressão FINOMETER (Finometer, FMS, Finapres Medical System BV, Holland). O equipamento utiliza como princípio



básico a técnica de fotopletiografia digital (colocando-se um manguito de pressão circundando a falange média dedo da mão esquerda) descrito por Penaz e desenvolvido por Wesseling<sup>98</sup> para fornecer curvas de pressão arterial de forma não invasiva e contínua, batimento a batimento. O equipamento é provido de um programa (software *BeatScope*) que é capaz de gerar dados hemodinâmicas como pressão arterial, frequência cardíaca, débito cardíaco e resistência vascular periférica, tendo como base as curvas de pressão arterial e dados do paciente como idade, sexo, peso e altura. Ainda que esses valores sejam também indiretos e, portanto, aproximados, existem informações na literatura sobre a validação deste método com medidas diretas e invasivas, demonstrando boa acurácia e valores sobreponíveis.<sup>99,100,101</sup> (Figura 2)

As curvas de pressão arterial obtida com o FINOMETER juntamente com o sinal do ECG foram registradas simultaneamente em outro computador provido de um sistema de aquisição e conversão de sinais biológicos AT/MCA-CODAS (DATAC Instruments Inc., Akron, Ohio, EUA). A frequência de amostragem dos sinais foi de 1000Hz. Os sinais armazenados foram posteriormente submetidos a uma rotina de análise para fornecer os valores de variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial e da sensibilidade espontânea do baroreflexo, que serão descritas a seguir. (Figura 3)

Para o registro da frequência cardíaca foram colocados três eletrodos no tórax do indivíduo, nas posições bipolares, para captação de sinal

eletrocardiográfico na derivação CM5. Após este sinal ser pré-amplificado (General Purpose Amplifier/Stemtech, Inc., GPA-4), ele era convertido de analógico para digital e, em seguida, armazenado para posterior análise.

O teste do estresse postural ou “tilt test” foi feito por meio da inclinação (elevação) passiva da maca a um ângulo de 60°, durante 15 minutos, se os indivíduos não apresentasse sintomas ou senão houvesse nenhuma alteração compatível com a necessidade de interrompê-lo.(conforme orientações padronizadas e vigoradas por normas de realização segura deste exame).

#### **4.3.3 Seqüência geral do protocolo: (Figura 4 e Figura 5)**

- O voluntário era posicionado em decúbito dorsal horizontal em uma maca reclinável e monitorizado com os eletrodos para registro do ECG, com o manguito de pressão arterial digital para registro das curvas de pressão no membro superior esquerdo
- Realizava-se a medida da pressão arterial de consultório, com esfigmomanômetro no braço esquerdo para ajuste do FINOMETER.
- Realizava-se uma punção venosa no membro superior direito para coleta de material sanguíneo para as análises descritas a seguir.

- 
- Após 30 minutos de repouso, iniciava-se a coleta do material sanguíneo para a genotipagem e dosagem das catecolaminas séricas.
  - Iniciava-se então, o registro das variáveis hemodinâmicas em repouso com o indivíduo respirando espontaneamente (denominado período BASAL ou de REPOUSO) com a duração de 10 minutos.
  - Após esse período permitiu-se um período de recuperação, por cerca de 5 minutos.
  - A seguir, a maca era inclinada a 60 graus e permanecia nessa posição por 15 minutos (denominado período de “Tilt Test” ou estresse postural). Esta fase era interrompida caso o voluntário apresentasse qualquer tipo de desconforto ou sinais e sintomas de baixo débito cardíaco, bradiarritmias ou mesmo queda dos níveis de pressão arterial que justificasse a interrupção do exame.
  - Após este momento, retornava-se a maca à posição de decúbito dorsal horizontal e realizava-se imediatamente a coleta de mais material sanguíneo para análise da segunda amostra de catecolaminas.
  - Em seguida era realizado um registro em decúbito dorsal horizontal por 10 minutos de recuperação, sendo o voluntário dispensado e orientado a dar continuidade à fase II do projeto.



**Figura 2.** Registro FINOMETER



**Figura 3.** Registro dos sinais adquiridos : sinal do ECG (segundo canal), sinal da PA não invasiva (terceiro canal), sinal da respiração (quarto canal)



Figura 4. BASAL (fase 1)



**Figura 5.** Tilt Test (fase 1)

## **FASE II**

Esta fase constou da coleta de nova amostra de sangue para realização de análises laboratoriais em um outro dia, respeitando um intervalo máximo de 30 dias entre as duas fases.

Os voluntários compareceram ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, após 12 horas de jejum, e realizaram coleta de sangue através de punção venosa periférica. Foram realizadas as seguintes análises bioquímicas e metabólicas: taxa de hemoglobina e hematócrito, creatinina, potássio, glicemia de jejum, colesterol total e frações, triglicérides, potássio e insulina.

As técnicas de análise utilizadas são padronizadas e utilizadas de rotina pelo referido laboratório.

### **4.3.4. Métodos de análise dos dados autonômicos, das catecolaminas e dos genótipos**

#### **Análise das catecolaminas**

A análise das catecolaminas séricas foi realizada no Laboratório de Nefrologia da UNIFESP, sob direção da Profa. Dra Dulce Casarini. Noradrenalina (NOR), adrenalina (AD) e dopamina (DA) plasmáticas foram dosadas utilizando-se cromatografia líquida de alta performance com detecção eletroquímica (0,5 volts) (HPLC-ED), de acordo com técnica



padronizada no Laboratório, segundo método descrito por Naffah-Mazzacoratti e cols., 1992<sup>103</sup>. O sangue foi coletado na presença de heparina e mantido a 4°C até centrifugação em centrífuga refrigerada a 4°C por 10 min (3000rpm). O plasma foi congelado a -70°C até ser processado.

O sistema de HPLC consiste de uma bomba modelo LC-10AD VP e um detector amperométrico L-ECD-6A e um injetor Rheodyne com “loop” com capacidade de 100 µL. Os cromatogramas foram registrados e integrados pelo próprio Software HPLC VP. Acoplado a esse sistema foi utilizada uma coluna de fase reversa Shim-pack CLC-ODS (M), C18, 5 µ (4,6 x 250 mm), com pré-coluna RP 18 Licrospher 100, 5 µm (4 x 4 mm). A coluna foi equilibrada e eluída isocriticamente com tampão fosfato dibásico de sódio 20 mM, pH 2,64, contendo ácido cítrico 20 mM, metanol 10% e 556 mg/L de ácido heptânico sulfônico, sob um fluxo de 0,8 mL/minuto. Os cálculos foram feitos a partir da seguinte fórmula:

$$\frac{\mu\text{g A/mL}}{\text{PstA/PstDHBA}} = \frac{\text{PsA/PsDHBA} \times \text{quantidade do padrão} \times \text{fator de diluição}}{\text{PstA/PstDHBA}}$$

onde: A=amina; Ps= área do pico da amina na amostra; PstA=área do pico da amina no padrão; PsDHBA=área do pico de DHBA (dihidroxibenzilamina) na amostra; e PstDHBA=área do pico de DHBA no padrão. DHBA é o padrão interno de extração, usado para cálculo de recuperação nos tempos de retenção esperado.

Todos os padrões são provenientes da Sigma Co. Os resultados foram expressos em µg/mL de plasma. Os valores de referência para a Noradrenalina são 144,00-352,00 µg/mL.

A extração foi realizada segundo o seguinte protocolo: de 2 mL a 1 mL de plasma foram adicionados a 50 mg de alumina ácida (Sigma Co), mais 1 ou 3 mL de tampão Tris-EDTA  $1,0 \times 10^3$  mM, pH 8,0, e 40  $\mu$ L de DHBA (8 ng), e agitados durante 10 minutos. Após esse período, o sobrenadante foi retirado e a alumina lavada por 3 vezes com 1 mL de H<sub>2</sub>O, sendo centrifugada por 3 minutos para retirada total do sobrenadante. As aminas foram, então, eluídas em 400  $\mu$ L de ácido perclórico 100 mM e injetado (100  $\mu$ L) no sistema de HPLC para análise desse material.

### **Análise do genótipo**

A análise do material genético foi realizada no Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LGBM) do InCor, com métodos já estabelecidos e que serão, de forma breve, descritos a seguir.

O DNA genômico foi extraído de sangue periférico por meio de protocolo já estabelecido e de uso corrente no LGBM, como descrito previamente<sup>92</sup>

Após reação de PCR utilizando primers específicos para cada polimorfismo, foi realizada digestão com endonuclease de restrição específica para cada polimorfismo. O produto destas digestões foi finalmente resolvido em gel de agarose e armazenado em formato digital para consultas futuras.

## Genotipagem

- Polimorfismo do receptor  $\beta$ 2 tipo **Gln27Glu**

Está localizado no cromossomo 5 e é caracterizado pela substituição da glutamina (Gln) pelo ácido glutâmico (Glu) na posição 27, com as seguintes possibilidades genotípicas : Gln/Gln, Gln/Glu e Glu/glu.

- Polimorfismo do receptor  $\beta$ 2 tipo **Gly16Arg:**

Está localizado no cromossomo 5 e é caracterizado pela substituição da Glicina (Gly) pela Arginina (Arg) na posição 16, com as seguintes possibilidades genotípicas: Arg/Arg, Arg/Gly, Gly/Gly

## Análise da variabilidade do intervalo R-R e da PA

**Variabilidade no Domínio do Tempo:** A série temporal da FC foi obtida por meio da determinação do intervalo de pulso (IP) do sinal da pressão arterial, e foi analisada no domínio do tempo por meio da análise da variância do intervalos dos batimentos normais (NN).<sup>104</sup>. A variabilidade da FC foi apresentada na forma de mediana e seus percentis (25-75).

## **Variabilidade no Domínio da Frequência (Análise Espectral):**

Inicialmente se realizou a edição manual dos sinais através da detecção dos

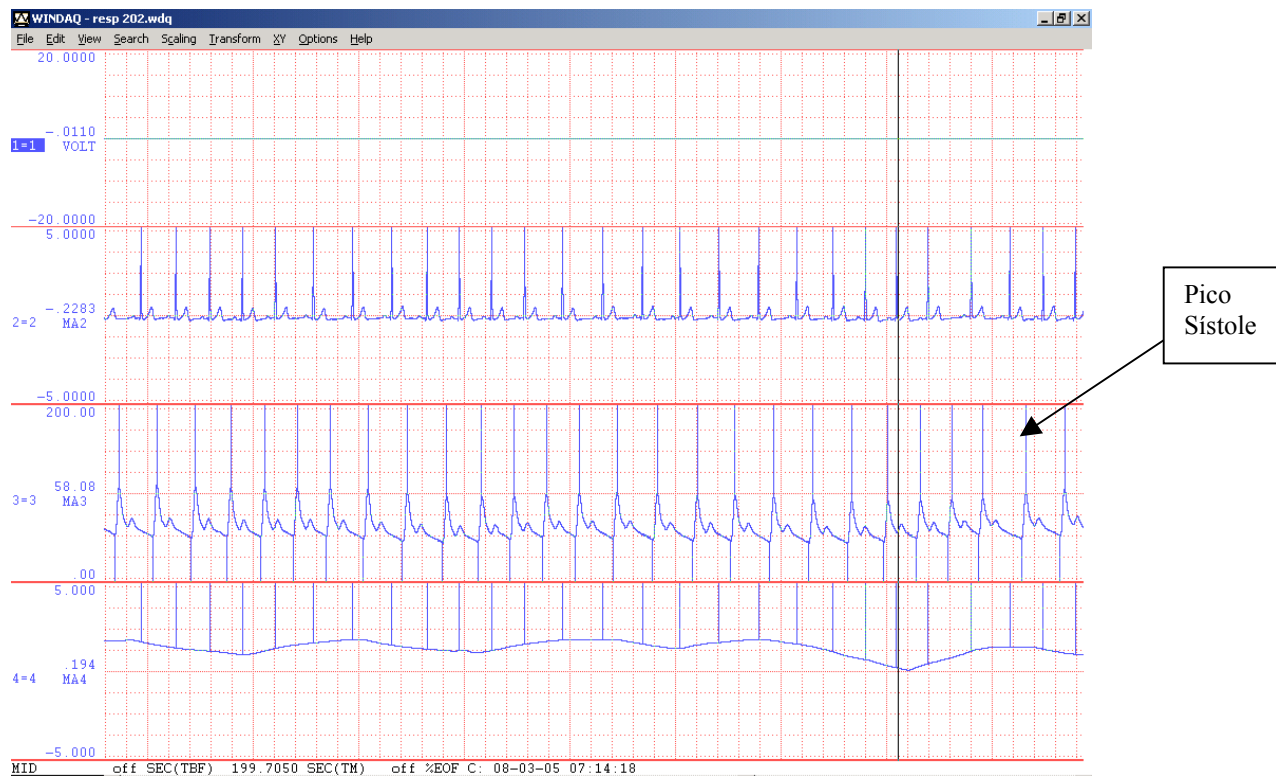
eventos sistólicos (pico) do sinal da PAS batimento a batimento. **FIGURA 6** O IP foi estimada pelo intervalo entre sístoles consecutivas. Após inspeção visual de todas as séries obtidas fez-se a regularização da periodicidade por interpolação spline cúbica ( $f_i=250$  Hz) e, após isto, a redução do número de pontos por decimação (18 vezes).

Em seguida cada batimento cardíaco foi identificado através da utilização de algoritmo através do programa Matlab<sup>MT</sup> (método de Welch) que realizou a detecção automática dos eventos sistólicos da onda de pressão, gerando o resultado final da análise espectral com as respectivas faixas de interesse. (Figura 7)

A análise dos sinais foi realizada respeitando cada momento do protocolo (total de dois momentos):

**Basal:** foram excluídos os três primeiros minutos de registro do período basal a fim de se aguardar a estabilização do sinal, sendo analisado o período a seguir durante cinco minutos de registro contínuo.

**Manobra de Estresse Postural (Tilt Test):** Após a inclinação da maca, foram desprezados os três primeiros minutos de registro a fim de se aguardar a estabilização do sinal, e então, foram analisados os próximos cinco minutos seguintes de maneira contínua.



**Figura 6.** Edição manual dos sinais através da detecção dos eventos sistólicos (pico= seta) do sinal da PAS batimento a batimento

A faixa de frequências de interesse para análise espectral no homem encontra-se no intervalo que vai de 0 até em torno de 3Hz. A potência espectral foi integrada em três faixas de frequência de interesse (HF,LF,VLF) e foi realizada a razão entre duas delas (LF/HF) para se avaliar o balanço autonômico.

- *freqüências altas (HF) entre 0,4 e 0,15 Hz – Parassimpático*
- *freqüências baixas (LF) entre 0,15-0,04 Hz – Simpático*
- *freqüências muito baixas (VLF) menores que 0,04 Hz.*

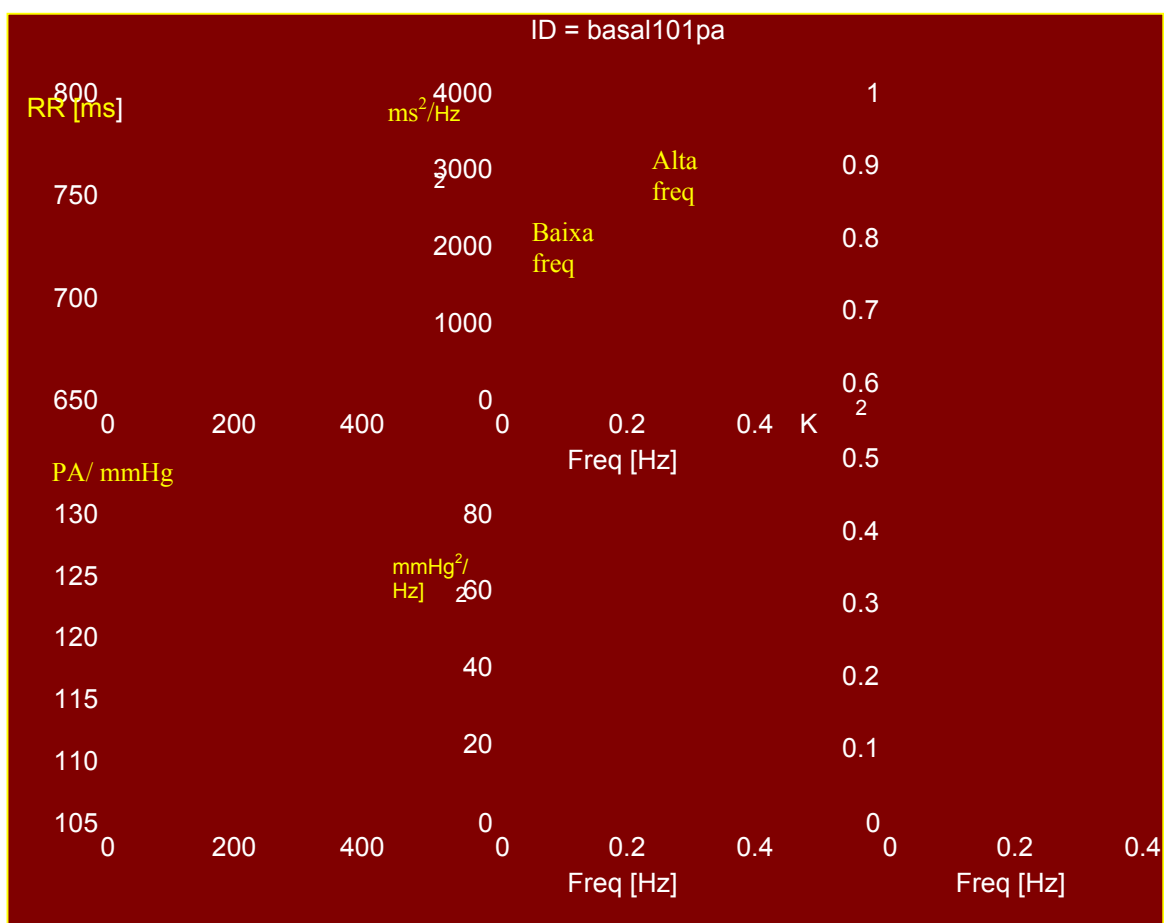
- *balanço autonômico: LF/HF*

Os componentes da variabilidade da FC no domínio da frequência foram analisados e apresentados na sua forma normalizada (nu); ou seja:

- $LF\ nu = \text{potência de LF} / (\text{potência total } ms^2 - VLF) \times 100$
- $HF\ nu = \text{potência de HF} / (\text{potência total } ms^2 - VLF) \times 100$
- $LF/HF = \text{relação LF } ms^2 / \text{HF } ms^2$
- Sensibilidade do baroreflexo (índice alfa) :  $\sqrt{LFRR/LFPA}$  (ms/mmHg)

Índice alfa é caracterizado pelo grau de mudança na frequência cardíaca por cada mudança na unidade da pressão arterial. A qual pode ser quantificada pela resposta sistêmica cardiovascular através de um estímulo. A inclinação da linha de regressão entre a PAS e o intervalo de pulso nesta seqüência nos fornece o ganho da magnitude do reflexo.

Na análise espectral o baroreflexo é analisado através de uma frequência de banda entre 0.04 a 0.35hz. E é resultado de uma relação de coerência entre PAS e o intervalo RR; sendo que cada componente deve oscilar em uma mesma potencia espectral. E a sensibilidade do baroreflexo é expressa através do ganho da função de transferência da coerência relacionada às mudanças na PA com cada mudança no intervalo RR.



**Figura 7.** Ondas (faixas) de freqüência Análise Spectral (baseado no Hz)

#### 4.3.5 -Análise Estatística

Considerou-se uma perda de 20% por vezes de coleta, considerando risco Alfa menor ou igual a 5% e risco Beta menor ou igual a 20%. Foi calculado o número suficiente da amostra de 189 indivíduos. Ao final do estudo foram incluídos um total de 219 indivíduos. Deste excluiu-se um indivíduo por ser portador de Sd. de Marfan. O tamanho da amostra utilizado foi de (218), suficiente para demonstrar diferenças nas variáveis interessadas. As variáveis contínuas e semicontínuas foram confrontadas à curva Normal e determinadas como não paramétricas pelo teste de distância Kolmogorov-Smirnov. Os dados paramétricos foram representados na forma de mediana e quartis. Os dados categóricos foram representados por frequência absoluta (n) e relativa (%).

Foi realizada previamente análise de Covariância para dados faltantes para determinação de Vies de Coleta.

**Análise Transversal:** foi realizada quando as variáveis foram confrontadas contra o desfecho principal e foram representados de duas formas, como se segue:

- Na comparação de dois grupos foi utilizado teste de Mann-Whitney para dados não paramétricos e Qui-quadrado de Pearson (quociente entre frequências absolutas) para dados categóricos.



- Na comparação de de três ou mais grupos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis com teste de Bonferroni, para contraste das diferenças. Quanto aos dados categóricos será utilizado o teste de Qui-quadrado de Pearson.

**Análise Longitudinal:** foi realizada quando as variáveis foram confrontadas contra o desfecho principal e foram representados de duas formas, como se segue:

- Na comparação de dois tempos foi utilizado teste de Wilcoxon para dados não paramétricos .

- Quando apresentados na forma de três ou mais categorias foi utilizado o teste de Friedman com teste de Muller-Dunn, para contraste das diferenças.

**Análise Multivariada:** foi realizada por regressão Logística, utilizando como variáveis candidatas as que obtiverem significância estatística e razão de verossimilhança e odds adequados. Sendo significância estatística  $p \leq 0.20$

Será considerado risco alfa menor ou igual a 5% de cometer erro tipo I ou de 1º espécie e risco Beta menor ou igual a 20% de cometer erro tipo II ou de 2º espécie.

## **5. RESULTADOS**

---

Os resultados serão apresentados primeiro analisando o grupo total de indivíduos. A seguir, os dados serão apresentados seguindo uma classificação de acordo com a presença dos diferentes genótipos, influência do alelo mutante e dos haplótipos para os dois polimorfismos de interesse.

## **5.1 - Análise da população geral**

### **5.1.1 - Análise dos dados demográficos, antropométricos e de pressão arterial de consultório na população geral**

As características gerais da população estudada estão representadas na Tabela 1. De um total de 218 indivíduos, 101 (46,3%) eram do gênero masculino e 117 (53,7%) pertenciam ao gênero feminino. O número total de tabagistas foi de 18 dividido igualmente entre os sexos, e 38,8% das mulheres faziam uso de anticoncepcional hormonal.

A pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), o índice de massa corpórea (IMC), a circunferência abdominal (CA) e a

relação cintura quadril (RCQ) estiveram com valores dentro do limite da normalidade.

### 5.1.2- Análise dos exames laboratoriais metabólicos e bioquímicos na população geral

Os valores do colesterol total e frações, triglicérides, potássio, creatinina, glicemia de jejum, hemoglobina, hematócrito e insulina, se encontraram dentro dos limites da normalidade (Tabela 2).

**TABELA 1.** Valores das variáveis antropométricas e da pressão arterial de consultório da população estudada.

Variável	Mediana (25%—75%)
IDADE	23 (21—26)
PAS	110 (110—120)
PAD	70 (65,8—75)
IMC	21,4 (20,1—24,1)
CA	74 (68—80)
CQ	93,5 (90—99,4)
RCQ	0,78 (0,7—0,8)

PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg). IMC= Índice de massa corpórea ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ ), CA = circunferência abdominal (cm)  
RCQ = relação cintura-quadril (cm).

**TABELA 2 - Valores das variáveis metabólicas e bioquímicas da população total estudada.**

<b>Variável</b>	<b>Mediana (25%—75%)</b>
Colesterol Total	161,5 (143—179,7)
Triglicérides	74 (53,2—94,7)
Colesterol HDL	62 (52,2—68)
Colesterol LDL	87 (67,7—98,7)
Colesterol VLDL	15 (11—19)
Glicose	85 (81—88)
Creatinina	0,86 (0,7—1,0)
Potássio	4,3 (4,1—4,5)
Hemoglobina	14,3 (13,2—15,2)
Hematócrito	42,55 (39,8—44,6)
Insulina	6 (4,2—8,3)

Colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol VLDL, glicose, creatinina, hemoglobina e hematócrito, expressos em mg/dL; Potássio expresso em mEq/L, Insulina expressa em ul/mL.

### 5.1.3 - Análise da Noradrenalina na população total:

A noradrenalina foi dosada em dois períodos: basal (pré-estresse) e imediatamente após o “tilt test” (pós estresse). A tabela 3 revela que a noradrenalina no momento basal (1) e após o “tilt test” (2), esteve dentro dos limites da normalidade. Porém verifica-se que houve um aumento em seu valor após o “tilt test”. Ao se analisar o delta percentual entre o período basal e após “tilt test” verificou-se que esta manobra foi responsável pelo

aumento significativo da noradrenalina ( $p=0,0001$ ). Este aumento após o após “tilt test”, revelou a eficácia da manobra em estimular o sistema nervoso simpático.

**TABELA 3** - Valores da noradrenalina sérica durante o período de repouso (Nor 1) e após “tilt test” (Nor 2), e delta percentual ( $\Delta$  Nor) entre o período basal e após “tilt test” encontrados na população total.

Catecolamina	Mediana (25%—75%)
Nor 1	66,92 (35,6—99,8)
Nor 2	83,22 (54,4—128,0)
$\Delta$ Nor	120,4 * (73,4—153,2)

\* Teste estatístico: Wilcoxon Signed Rank Test \*  $P<0,0001$   
VR Nor: expresso em pg/mL

#### 5.1.4 - Análise das variáveis hemodinâmicas da população total

As Tabelas 4 e 5 referem-se às variáveis hemodinâmicas (PAS, PAD, PAM, FC, DC e RVP) em valores absolutos e do delta percentual entre o basal e após “tilt test”, respectivamente. A tabela 4, especificamente, revela que estas variáveis estiveram com os valores dentro da normalidade; porém apresentaram comportamentos distintos em cada fase do experimento. A FC se elevou com o após “tilt test”, assim como a PAD e a RVP. Por outro lado a PAM, o DC e a PAS apresentaram uma queda durante o “tilt test”. Ao se comparar o delta percentual entre os momentos repouso (basal) e “tilt test” (Tabela 5) verificou-se que todas as respostas hemodinâmicas encontradas,

tiveram significância estatística. O padrão hemodinâmico encontrado está de acordo com o esperado nessa população frente a esta manobra.

**TABELA 4 -** Valores das variáveis hemodinâmicas nos momentos basal e “tilt test” encontrados na população total

	<b>BASAL</b>	<b>TILT</b>
	Mediana (25%—75%)	Mediana (25%—75%)
FC	65,38 (57,1—73,5)	81,58 (75,2—89,0)
PAS	118,75 (114,2—123,6)	112,94 (104,2—119,4)
PAD	67,41 (63,8—71,7)	68,61 (63,0—73,7)
PAM	86,69 (83,3—92,0)	84,82 (80,1—90,9)
DC	5,26 (5,0—6,7)	5,19 (4,6—6,0)
RVP	0,96 (0,9—1,1)	0,99 (0,9—1,1)

FC expresso em batimentos por minutos (bpm), PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg), PAM= pressão arterial média (mmhg), DC= débito cardíaco (l/min), RVP= resistência vascular periférica (MU)

**TABELA 5** - Delta percentual dos valores das variáveis hemodinâmicas entre o momento basal e “tilt test” encontrados na população total

	<b>Delta% basal/tilt</b>	<b>Mediana (25%—75%)</b>
Δ FC		123,98* (116,8—135,8)
Δ PAS		94,93* (90,7—98,2)
Δ PAD		101,5* (97,6 —104,8)
Δ PAM		97,3* (94,6—101,0)
Δ DC		95,82** (88,2—101,8)
Δ RVP		102,09* (97,1—110,9)

Δ =delta; FC expresso em batimentos por minutos(bpm), PAS = pressão arterial sistólica (mmHg) PAD = pressão arterial diastólica (mmHg), PAM= pressão arterial média (mmHg), DC=débito cardíaco (l/min), RVP= resistência vascular periférica (MU)

Teste estatístico: Wilcoxon signed Rank \* p<0,05, \*\*p<0,0001

### 5.1.5 - Análise da modulação autonômica para o coração na população total

Ao se analisar os valores absolutos destas variáveis (Tabela 6), no período basal vs o “tilt test” verificou-se uma diminuição na variância RR, um aumento no componente LF, diminuição no componente HF, levando a um aumento na relação LF/HF. O conjunto das respostas sugere um aumento da atividade simpática, o que é o esperado frente a esta manobra. Houve também uma diminuição no índice alfa LF, indicando uma menor variabilidade da FC frente a modificações na pressão arterial.

A Tabela 7 demonstra o delta percentual dos valores da modulação autonômica para o coração entre os momentos basal e “tilt test”. As



repercussões no balanço autonômico decorrentes da manobra de inclinação postural tiveram significância estatística ( $p < 0,0001$ ).

**TABELA 6** - Valores das variáveis de modulação autonômica para o coração durante o momento basal e “tilt test” na população total

<b>Basal</b>	<b>Mediana (25%—75%)</b>
Variância RR (ms)	3700,45 ( 2479,09—5983,50)
LF nu (%)	28,44 (22,82—33,71)
HF nu (%)	37,11 ( 28,92—48,40)
LF/HF (nu)	0,74 ( 0,48—1,06)
Índice alfa LF	16,20 (11,06—21,53)
<b><u>Tilt test</u></b>	
Variância RR (ms)	2823,93 ( 1872,02—4207,22)
LF nu (%)	39,52 ( 28,256—48,66)
HF nu (%)	14,85 ( 10,35—20,667)
LF/HF (nu)	2,88 ( 1,80—4,39)
Índice alfa LF	8,87 ( 7,17—11,38)

Variância RR= variância do intervalo RR, LF nu = componente de baixa frequência normalizado, HF nu = componente de alta frequência normalizado, índice alfa LF: índice alfa do componente LF.

**TABELA 7 -** Delta percentual das variáveis de modulação autonômica para o coração entre os momentos basal e “tilt test” na população total

<b>Delta % basal/tilt</b>	<b>Mediana (25%—75%)</b>
Δ Variância RR	69,31* (50,54—121,95)
Δ LF nu	142,10* (102,89—185,24)
Δ HF nu	38,69* (23,42—60,18)
Δ LF/HF nu	364,58* (218,35—711,68)
Δ alfa LF	59,37* (42,05—86,91)

Δ= delta, Variância RR= variância do intervalo RR, LF nu = componente de baixa frequência normalizado, HF nu = componente de alta frequência normalizado, alfa LF: índice alfa do componente LF Teste estatístico - Wilcoxon Signed Rank \* p<0,0001

## **5.2 - Distribuição dos polimorfismos do receptor adrenérgico β2 Gln27Glu e Arg16Gly na população estudada**

A Tabela 8 expressa a distribuição dos genótipos para os respectivos polimorfismos do receptor adrenérgico β2 Gln27Glu e Arg16Gly na população estudada. O Equilíbrio de Hardy-Weinberg esteve presente para todos os polimorfismos. Importante ressaltar que o alelo mutante (assim denominado por ser o de menor prevalência) se confirmou na população estudada, e esteve de acordo com a literatura: Glu27Glu 8,9% e Arg16Arg 24,0%.

**TABELA 8** - Distribuição dos genótipos dos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta 2$  tipos Gln27Glu e Arg16Gly na população total

<b>Gln27Glu</b>	<b>Gln/Gln</b>	<b>Gln/Glu</b>	<b>Glu/Glu</b>
(n=213)	106 (49,8%)	88 (41,3%)	19 (8,9%)
<b>Arg16Gly</b>	<b>Arg/Arg</b>	<b>Arg/Gly</b>	<b>Gly/Gly</b>
(n=213)	51 (24,0%)	91 (42,7%)	71 (33,3%)

Resultado de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg

### **5.3 - Influência do genótipo relacionado ao polimorfismo do receptor adrenérgico $\beta 2$ Gln27Glu**

#### **5.3.1 - No perfil antropométrico e na pressão arterial de consultório**

A Tabela 9 demonstra que houve significativa relação entre a RCQ e a presença do alelo Glu. A presença do alelo Glu, conferiu uma menor RCQ, sendo que a forma homozigota do Glu (Glu/Glu) apresentou menor RCQ que a forma heterozigota. (Gln/Gln > RCQ que Gln/Glu > Glu/Glu) com significância estatística ( $p=0,008$ ). Assim, os indivíduos com o genótipo Gln/Gln apresentaram maior RCQ. As demais variáveis antropométricas não apresentaram, de maneira significativa, diferenças em seu valor, conforme os distintos genótipos. Importante ressaltar que todos os valores estiveram dentro dos limites da normalidade.

**TABELA 9** - Dados antropométricos da população de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu.

Variáveis	Gln/Gln	Gln/Glu	Glu/Glu	p
N	106	88	19	
PAS	110,00 (110,00—120,00)	114,50 (110,00—120,00)	115,00 (110,00—120,00)	0,878
PAD	70,00 (70,00—75,00)	70,00 (70,00—80,00)	70,00 (65,00—80,00)	0,800
IMC	22,49 (20,58—25,18)	22,59 (20,41—25,28)	22,99 (20,33—24,17)	0,734
CU	75,75 (70,00—83,00)	76,00 (69,50—86,00)	71,50 (65,50—80,00)	0,152
CQ	95,00 (90,00—102,00)	97,00 (93,00—102,50)	97,00 (91,63—102,25)	0,498
RCQ	0,80 (0,75—0,84)	0,79 (0,74—0,84)	0,73 (0,72—0,79)	0,008*

PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg). IMC= Índice de massa corpórea ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ ), CA = circunferência abdominal (cm)

RCQ = relação cintura-quadril (cm)

Teste estatístico: Kruskal-Wallis. \*  $p=0,008$ ,

### 5.3.2 - No perfil metabólico e bioquímico

A análise entre as variáveis metabólicas e bioquímicas conforme os genótipos relacionados ao polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu não apresentaram diferenças significativas entre os distintos genótipos (Tabela 10).

**TABELA 10** - Análises metabólicas e bioquímicas da população de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu

Variáveis	Gln/Gln	Gln/Glu	Glu/Glu	p
N	106	88	19	
Colesterol T	163,50 (139,00—189,75)	162,50 (146,75—181,75)	172,00 (154,00—195,00)	0,459
Triglicérides	76,50 (53,50—103,25)	75,00 (52,75—106,75)	83,00 (75,00—86,00)	0,632
Colesterol HDL	58,00 (48,00—66,50)	55,00 (47,50—68,25)	61,00 (52,00—81,00)	0,523
Colesterol LDL	88,50 (70,00—105,25)	87,00 (74,50—106,50)	91,00 (82,00—112,00)	0,816
Colesterol VLDL	15,00 (10,75—21,00)	15,00 (10,75—21,25)	17,00 (15,00—17,00)	0,558
Glicose	84,00 (81,00—88,00)	85,50 (80,75—90,25)	86,00 (81,00—96,00)	0,805
Creatinina	0,86 (0,70—0,98)	0,90 (0,76—1,00)	0,80 (0,75—0,89)	0,199
Potássio	4,30 (4,10—4,60)	4,40 (4,10—4,50)	4,40 (4,15—4,48)	0,859
Hemoglobina	14,10 (13,48—15,53)	14,50 (13,40—15,60)	13,70 (13,10—14,60)	0,269
Hematócrito	42,75 (39,95—45,85)	43,10 (40,00—46,10)	39,60 (38,20—44,30)	0,211
Insulina	6,00 (4,30—9,00)	6,70 (4,50—9,30)	7,10 (4,53—9,38)	0,576

Colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol VLDL, glicose, creatinina, hemoglobina e hematócrito, expressos em mg/dL; Potássio expresso em mEq/L, Insulina expressa em ul/mL.

Teste estatístico: Kruskal-Wallis, p=NS

### 5.3.3 - Nas variáveis hemodinâmicas

Na Tabela 11 encontram-se os valores absolutos das variáveis hemodinâmicas durante os distintos momentos estudados para cada genótipo.

Ainda que os valores das variáveis não tenham atingido diferença estatística o que se observou foi um comportamento discretamente diferentes entre os grupos. A análise dos padrões homozigotos (GluGlu vs GlnGln) foram muito semelhantes. O que se verificou foi que o grupo heterozigoto (Gln27Glu) apresentou maiores valores de FC, PAD, PAM e DC em todos os momentos; e, por outro lado, a RVP, apresentou o menor valor também em todos os momentos estudados.

Ao se comparar os deltas entre o momento basal e tilt test também não se observaram diferenças estatísticas (Tabela 12). Entretanto podemos pontuar discretas alterações na resposta hemodinâmica: o grupo homozigoto Glu/Glu comparado ao homozigoto Gln/Gln apresentou maior aumento da FC e do DC associado a uma menor elevação da RVP e da PA (ainda que estatisticamente semelhantes).

**TABELA 11** - Valores das variáveis hemodinâmicas durante o momento basal e o “tilt test” de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu

	<b>Gln/Gln</b>	<b>Gln/Glu</b>	<b>Glu/Glu</b>
<b>N</b>	106	88	19
<b>Basal</b>			
FC	63,95 (56,76—71,34)	65,18 (57,44—72,06)	64,59 (57,932—73,19)
PAS	119,01 (113,39—125,82)	119,96 (114,56—125,09)	121,15 (117,065—125,99)
PAD	68,00 (64,807—72,10)	68,67 (64,627—71,43)	67,11 (64,935—70,25)
PAM	87,18 (82,971—92,11)	88,61 (83,582—92,54)	86,62 (83,363—91,64)
DC	5,36 (4,78—6,30)	5,64 (5,21—6,47)	5,16 (4,585—6,16)
RVP	0,95 (0,83—1,08)	0,91 (0,83—1,02)	0,98 (0,86—1,13)
<b>Tilt test</b>			
FC	82 (75,91—89,71)	83 (72,39—88,23)	79 (75,565—93,74)
PAS	112,69 (106,58—117,75)	116,03 (107,31—119,93)	109,81 (104,97—118,8)
PAD	69,27 (65,09—73,21)	69,80 (66,05—73,87)	66,14 (61,93—70,44)
PAM	85,62 (81,94—90,29)	86,93 (81,18—91,82)	83,35 (78,54—88,24)
DC	5,13 (4,72—6,08)	5,31 (4,78—6,17)	4,94 (4,16—5,80)
RVP	0,99 (0,85—1,11)	0,96 (0,84—1,07)	1,05 (0,83—1,18)

FC expresso em batimentos por minutos (bpm), PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg), PAM= pressão arterial média (mmhg), DC=débito cardíaco (l/min), RVP=resistência vascular periférica (MU)

**TABELA 12** - Análise dos deltas percentuais das variáveis hemodinâmicas entre o momento basal e o “tilt test” de acordo com genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu.

	Gln/Gln	Gln/Glu	Glu/Glu	p
N	106	88	19	
$\Delta$ FC	126,83 (118,01—135,92)	125,78 (115,38—133,63)	129,38 (120,22—134,71)	0,419
$\Delta$ PAS	94,19 (90,89—98,67)	94,49 (90,62—99,23)	93,89 (88,65—97,69)	0,32
$\Delta$ PAD	101,52 (98,03—104,81)	101,81 (98,86—105,90)	99,08 (95,89—104,4)	0,45
$\Delta$ PAM	97,57 (94,91—100,73)	97,68 (95,56—102,08)	95,90 (93,68—101,08)	0,72
$\Delta$ DC	94,66 (88,59—104,04)	95,24 (89,08—100,63)	97,12 (90,81—104,28)	0,497
$\Delta$ RVP	100,96 (94,85—109,20)	102,90 (98,74—111,49)	99,3 (90,80—105,86)	0,136

$\Delta$ = delta,FC expresso em batimentos por minutos (bpm), PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg), PAM= pressão arterial média (mmhg), DC=débito cardíaco (l/min), RVP=resistencia vascular periférica (MU):  
Teste estatístico: Kruskal-Wallis. p=NS

#### 5.3.4 - Na catecolamina sérica

A análise dos valores da noradrenalina no basal foi semelhante entre os grupos. Antes e após tilt teste, independente do genótipo existente, houve significativo incremento em seu valor em resposta à manobra. O valor do incremento (delta percentual) não foi diferente entre os diferentes genótipos (Tabela 13).



**TABELA 13** - Valores absolutos da noradrenalina durante situação basal e “tilt test”; e do delta percentual entre o período basal e tilt test de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta_2$  Gln27Glu.

	Gln/Gln	Gln/Glu	Glu/Glu
N	106	88	19
NOR 1	52,00 (36,11—98,29)	70,38 (41,47—99,82)	47,09 (30,81—93,61)
NOR 2	76,69* (56,20—120,77)	84,13* (55,29—127,69)	77,82* (45,99—116,53)
$\Delta$ NOR	128,31 (76,86—155,34)	121,75 (75,19—150,32)	136,08** (100,39—162,10)

Teste estatístico: Kruskal-Wallis\* =  $p < 0,05$  basal vs manobra.

\*\*  $p = 0,613$  na análise do delta entre os grupos VR Nor: expresso em pg/mL

### 5.3.5 - Modulação autonômica para o coração

A modulação autonômica cardíaca avaliada por meio dos parâmetros estabelecidos foi semelhante entre os grupos no momento basal (Tabela 14). Como esperado, a manobra do “tilt test” foi eficaz em provocar o aumento da atividade simpática, o que se tornou evidente quando verificamos que ocorreu o aumento do componente LF, queda do componente HF e aumento da relação LF/HF, para todos os genótipos analisados.

De forma importante, pudemos detectar que o comportamento das respostas foi diferente entre genótipos. Como apresentado nas Tabelas 14 e 15 os genótipos associados a presença do alelo Glu foram associados a valores significativamente mais elevados do componente LF durante o tilt teste, tanto em sua forma heterozigota (Gln/Glu) quanto na forma

---

homozigota (Glu/Glu), sendo que, quando presente nesta última forma o aumento foi ainda maior ( $p= 0,027$ ).

O mesmo comportamento esteve presente com relação ao componente LF/HF que foi significativamente mais elevado nos genótipos com a presença do alelo Glu (Gln/Glu e Glu/Glu), sendo que o genótipo Gln/Glu apresentou o maior componente LF/HF quando comparado ao Glu/Glu ( $p=0,014$ ). As alterações do componente HF não foram estatisticamente diferentes entre os genótipos.

**TABELA 14** - Valores absolutos das variáveis de modulação autonômica para o coração durante situação basal e “tilt test” de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu

Basal	Gln/Gln	Gln/Glu	Glu/Glu
N	106	88	19
Variância RR (ms)	4240,29 (2300,97—6714,44)	3829,12 (2530,699—7295,35)	4601,405 (2825,743—6740,31)
LF nu (%)	30,21 (22,08—37,50)	27,50 (21,925—33,09)	29,28 (16,352—38,21)
HF nu (%)	31,85 (22,42—42,97)	34,4 (25,928—44,37)	35,93 (26,398—44,94)
LF/HF (nu)	0,94 (0,56—1,61)	0,76 (0,529—1,13)	0,79 (0,37—1,62)
Índice alfa LF	15,422 (10,91—20,29)	13,732 (9,546—18,659)	12,519 (9,839—19,02)
<b>Tilt test</b>			
Variância RR (ms)	3009,69 * (1891,776—4639,87)	3465,22 * (1894,06—4613,63)	3204,94* (1543,322—4295,83)
LF nu (%)	32,79 * (24,986—48,67)	41,45* (32,371—51,25)	42,64* (37,506—56,34)
HF nu (%)	16,20 (9,657— 21,63)	13,88 (9,329—20,49)	15,82 (12,102—21,12)
LF/HF (nu)	2,361 * (1,601—3,85)	3,24* (2,026—4,86)	2,82* (1,731—4,06)
Índice alfa	8,925 * (7,15—11,30)	8,867* (6,979—11,04)	9,03* (7,038—10,68)

$\Delta$ = delta, Variância RR= variância do intervalo RR, LF nu = componente de baixa frequência normalizado, HF nu = componente de alta frequência normalizado, índice alfa LF: índice alfa do componente LF

\* p<0,01 momento basal vs tilt test dentro de cada um dos (genótipos)

**TABELA 15** - Análise dos deltas percentuais entre o momento basal e “tilt test” das variáveis de modulação autonômica para o coração de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta_2$  Gln27Glu

	Gln/Gln	Gln/Glu	Glu/Glu	p
N	106	88	19	
$\Delta$ Variância RR	69,37 (38,76—138,76)	70,01 (48,37—131,26)	57,55 (43,52—86,48)	0,503
$\Delta$ LF nu	130,54 (91,86—188,81)	153,84 (115,57—219,30)	168,67 (99,30—232,90)	0,027*
$\Delta$ HF nu	44,49 (25,93—71,49)	44,01 (26,58—59,66)	50,94 (34,21—72,87)	0,389
$\Delta$ LF/HF nu	280,98 (162,85—498,89)	395,43 (252,46—708,63)	347,93 (161,44—639,86)	0,014*
$\Delta$ Índice alfa LF	55,07 (44,01—81,96)	66,35 (45,58—84,15)	75,72 (40,56—90,48)	0,192

$\Delta$ = delta, Variância RR= variância do intervalo RR, LF nu = componente de baixa frequência normalizado, HF nu = componente de alta frequência normalizado, índice alfa LF: índice alfa do componente LF

Teste estatístico: Kruskal Wallis, \* p=0,027 e p=0,014 comparação entre grupos (genótipos)

## 5.4 - Influência da presença do alelo Glu27 nos parâmetros estudados

### 5.4.1- No perfil antropométrico, metabólico e bioquímico, nas variáveis hemodinâmicas e nos valores de noradrenalina

Como apresentado na Tabela 16, não ocorreram diferenças significativas nos valores absolutos das variáveis antropométricas, metabólicas e bioquímicas relacionada a presença do alelo Glu27(Glu/Glu + Glu/Gln vs Gln/Gln).

A análise dos valores do delta entre basal e “tilt test” para o nível sérico da noradrenalina e para o perfil hemodinâmico também não revelou diferenças significativas entre os grupos (Tabelas 18 e 19).

**TABELA 16** - Dados antropométricos da população de acordo com a presença do alelo Glu27

	<b>Alelo Gln (Gln/Gln)</b>	<b>Alelo Glu (Glu/Glu + Glu/Gln)</b>	<b>p</b>
N	106	107	
PAS	110,00 (110,00—120,00)	115,00 (110,00—120,00)	0,617
PAD	70,00 (70,00—75,00)	70,00 (70,00—80,00)	0,606
Peso	62,40 (55,00—76,20)	65,50 (55,88—76,68)	0,475
IMC	22,49 (20,58—25,18)	22,66 (20,40—25,23)	0,929
CA	75,75 (70,00—83,00)	75,50 (68,75—84,50)	0,972
CQ	95,00 (90,00—102,00)	97,00 (92,25—102,25)	0,284
RCQ	0,80 (0,75—0,84)	0,78 ( 0,73—0,84 )	0,184

PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg).

IMC= Índice de massa corpórea (Kg/m<sup>2</sup>), CA = circunferência abdominal (cm)

RCQ = relação cintura-quadril (cm).

teste estatístico -Mann Whitney, p=NS

**TABELA 17** - Valores das variáveis metabólicas e bioquímicas da população de acordo presença alelo Glu27,

Variáveis	Alelo Gln (Gln/Gln)	Alelo Glu (Glu/Glu + Glu/Gln)	p
N	106	107	
Colesterol Total	163,50 (139,00—189,75)	163,00 (148,00—184,50)	0,812
Triglicérides	76,50 (53,50—103,25)	78,00 (55,50—105,50)	0,625
Colesterol HDL	58,00 (48,00—66,50)	56,00 (49,00—69,50)	0,863
Colesterol LDL	88,50 (70,00—105,25)	89,00 (75,00—107,00)	0,877
Colesterol VLDL	15,00 (10,75—21,00)	16,00 (11,00—21,00)	0,545
Glicose	84,00 (81,00—88,00)	86,00 (81,00—90,50)	0,672
Creatinina	0,86 (0,70—0,98)	0,88 (0,77—1,00)	0,586
Potássio	4,30 (4,10—4,60)	4,40 (4,10—4,50)	0,682
Hemoglobina	14,10 (13,48—15,53)	14,45 (13,28—15,33)	0,882
Hematócrito	42,75 (39,95—45,85)	43,05 (39,55—45,43)	0,726
Insulina	6,00 (4,30—9,00)	6,70 (4,50—9,15)	0,322

Colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol VLDL, glicose, creatinina, hemoglobina e hematócrito, expressos em mg/dL; Potássio expresso em mEq/L, Insulina expressa em uI/mL.

Teste estatístico -Mann Whitney, p=NS

**TABELA 18** - Delta percentual da noradrenalina entre momento basal e tilt test, de acordo com a presença do alelo Glu 27

Variáveis	Alelo Gln (Gln/Gln)	Alelo Glu (Glu/Glu + Glu/Gln)	p
N	106	107	
Δ nora	128,31 (76,86—155,34)	123,02 (77,21—151,20)	0,709

Teste estatístico: Wilcoxon Signed Rank . p=NS

**TABELA 19** - Delta percentual dos valores das variáveis hemodinâmicas de acordo com a presença do alelo Glu entre o momento basal e “tilt test”.

Variáveis	Alelo Gln (Gln/Gln)	Alelo Glu (Glu/Glu + Glu/Gln)	p
N	106	107	
Δ FC	126,83 (118,0—135,9)	126,94 (118,1—133,5)	0,447
Δ Pas	94,19 (90,9—98,7)	94,49 (90,5—98,7)	0,661
Δ Pad	101,52 (98,0—104,8)	101,68 (97,5—105,5)	0,625
Δ Pam	97,57 (94,9—100,7)	97,57 (94,9—101,7)	0,697
Δ DC	94,66 (88,6—104,0)	95,33 (89,4—100,7)	0,634
Δ RVP	100,96 (94,9—109,2)	102,66 (98,2—110,1)	0,291

FC expresso em batimentos por minutos (bpm), PAS = pressão arterial sistólica (mmHg),

PAD = pressão arterial diastólica (mmHg), PAM= pressão arterial média (mmhg),

DC= débito cardíaco (l/min), RVP= resistência vascular periférica (MU)

Teste estatístico: Wilcoxon Signed Rank . p= NS

#### 5.4.2 - Na modulação autonômica para o coração

A presença do alelo Glu 27 esteve associada a um maior aumento da atividade simpática em resposta a manobra do “tilt teste”, caracterizado pelo maior incremento do componente LF ( $p=0,007$ ) e maior relação LF/HF ( $p=0,006$ ). O componente HF se manteve maior no grupo do alelo Glu 27 porém, sem significância estatística. Essa resposta foi semelhante a observada quando se avaliou o impacto dos genótipos que continham que continham o respectivo alelo. O índice alfa apresentou uma tendência em ser maior no grupo alelo Glu27 ( $p=0,069$ ).

**TABELA 20** - Análise do delta percentual das variáveis de modulação autonômica para o coração entre o momento basal e “tilt test” de acordo com a presença do alelo Glu.

Delta basal/tilt	Alelo Gln (Gln/Gln)	Alelo Glu (Glu/Glu + Glu/Gln)	p
N	106	107	
$\Delta$ Variância RR	69,37 (38,76—138,76)	67,74 (46,71—121,91)	0,863
$\Delta$ LF nu	130,54 (91,86—188,81)	155,17 (114,96—226,88)	0,007*
$\Delta$ HF nu	44,49 (25,93—71,49)	46,32 (27,96—61,56)	0,601
$\Delta$ LF/HF nu	280,98 (162,85—498,89)	386,94 (250,84—667,61)	0,006*
$\Delta$ índice alfa LF	55,07 (44,01—81,96)	67,58 (45,14—84,38)	0,069

$\Delta$ = delta, Variância RR= variância do intervalo RR, LF nu = componente de baixa frequência normalizado, HF nu = componente de alta frequência normalizado, alfaLF: índice alfa do componente LF. Teste estatístico: Wilcoxon signed Rank \*  $p=0,007$ , \*  $p=0,006$



## 5.5 - Influência do genótipo relacionado ao polimorfismo do receptor adrenérgico $\beta 2$ Arg16Gly

### 5.5.1 – No perfil antropométrico e na pressão arterial de consultório

Não houve diferença significativa nos valores dos dados antropométricos e hemodinamicos, quando analisados conforme os diferentes genótipos para o polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly. Todos os valores estiveram dentro do limite da normalidade.

Tabela (21)

**TABELA 21** - Dados antropométricos da população de acordo com os genótipos relacionados ao polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly.

antrop	Arg/Arg	Arg/Gly	Gly/Gly	p
N	51	91	71	
IDADE	23,00 (21,00—27,00)	23,00 (21,00—27,00)	23,00 (20,00—26,00)	0,634
PAS	115,00 (110,00—120,00)	110,00 (110,00—120,00)	115,00 (110,00—120,00)	0,117
PAD	70,00 (69,00—75,00)	70,00 (70,00—80,00)	70,00 (70,00—80,00)	0,587
Peso	67,55 (58,50—81,68)	62,90 (54,58—74,45)	63,40 (54,50—77,05)	0,258
IMC	23,20 (20,74—27,14)	22,11 (20,55—24,56)	22,63 (20,36—25,21)	0,442
CA	76,50 (71,00—84,75)	75,00 (68,75—83,00)	75,25 (69,13—82,00)	0,632
CQ	97,00 (91,25—104,75)	96,00 (92,00—101,00)	96,25 (90,63—102,38)	0,827
RCQ	0,80 (0,77—0,83)	0,79 (0,74—0,84)	0,78 (0,73—0,84)	0,685

PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg).

IMC= Índice de massa corpórea ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ ), CA = circunferência abdominal (cm)

RCQ = relação cintura-quadril (cm).

Teste estatístico: Kruskal Wallis. p=NS

### 5.5.2 - No perfil metabólico e bioquímico

Não houve diferença significativa nos valores das variáveis metabólicas e bioquímicas quando analisados conforme os diferentes genótipos para o polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly. Todos os valores estiveram dentro do limite da normalidade (Tabela 22).

**TABELA 22** - Análises das variáveis metabólicas e bioquímicas da população de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly

	Arg/Arg	Arg/Gly	Gly/Gly	p
N	51	91	71	
Colesterol T	157,00 (133,50—183,00)	166,00 (141,25—188,25)	166,50 (148,75—185,75)	0,479
Triglicérides	80,00 (55,00—103,50)	75,50 (55,75—106,25)	76,50 (53,25—101,50)	0,938
Colesterol HDL	56,00 (49,00—65,00)	59,50 (45,00—67,25)	57,00 (50,50—69,75)	0,799
Colesterol LDL	88,00 (66,00—106,50)	88,50 (74,00—102,25)	89,00 (75,25—113,25)	0,699
Colesterol VLDL	16,00 (11,00—20,50)	15,00 (11,00—21,00)	15,50 (11,00—20,50)	0,924
Glicose	84,00 (80,50—88,00)	84,50 (80,00—89,00)	86,50 (81,00—90,00)	0,780
Creatinina	0,91 (0,72—1,10)	0,82 (0,70—1,00)	0,87 (0,78—0,96)	0,127
Potássio	4,45 (4,20—4,60)	4,30 (4,00—4,50)	4,40 (4,10—4,50)	0,214
Hemoglobina	14,00 (13,25—15,40)	14,40 (13,30—15,70)	14,40 (13,50—15,08)	0,889
Hematócrito	42,20 (39,75—45,70)	43,30 (39,70—46,50)	42,90 (39,80—44,88)	0,805
Insulina	6,40 (3,80—9,30)	6,55 (4,30—9,53)	6,20 (4,65—8,30)	0,927

Colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol VLDL, glicose, creatinina, hemoglobina e hematócrito expressos em mg/dL; Potássio expresso em mEq/L, Insulina expressa em ul/mL.

Teste estatístico: Kruskal Wallis

### **5.5.3 - Nas variáveis hemodinâmicas**

As variáveis hemodinâmicas apresentaram um comportamento semelhante conforme os distintos genótipos relacionados ao polimorfismo Arg16Gly durante todos os momentos do protocolo (Tabela 23). A análise dos deltas percentuais das variáveis entre o momento basal e “tilt test” foram semelhantes entre os grupos com os diferentes genótipos; somente o genótipo Arg/Arg apresentou uma tendência a uma maior FC ( $p=0,062$ ) (na Tabela 24).

**TABELA 23** - Valores absolutos das variáveis hemodinâmicas durante o momento basal, a respiração controlada e o “tilt test” de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly

	Arg/Arg	Arg/Gly	Gly/Gly
<b>Basal</b>	51	91	71
FC	60,43 (53,31—69,04)	65,84 (59,56—72,29)	65,90 (58,85—72,61)
PAS	118,99 (114,23—123,67)	120,018 (114,32—125,91)	119,596 (113,68—125,72)
PAD	67,54 (64,46—69,95)	69,327 (64,85—72,69)	67,929 (64,68—71,67)
PAM	86,15 (83,251—90,84)	88,43 (83,58—92,96)	88,21 (82,66—91,81)
DC	5,23 (4,66—6,34)	5,624 (5,16—6,47)	5,55 (5,07—6,28)
RVP	0,97 (0,813—1,12)	0,929 (0,85—1,04)	0,93 (0,84—1,07)
<b>Tilt test</b>			
FC	81,11 (69,67—88,55)	83,26 (75,7—90,61)	65,90 (58,85—72,61)
PAS	113,14 (106,40—120,02)	113,95 (106,63—119,53)	113,35 (107,21—118,77)
PAD	69,06 (64,10—73,12)	69,95 (65,64—73,97)	69,16 (65,66—72,64)
PAM	85,68 (80,22—90,59)	86,55 (81,82—91,08)	85,75 (81,18—90,04)
DC	5,28 (4,73—6,02)	5,19 (4,78—6,21)	5,17 (4,60—5,95)
RVP	0,94 (0,84—1,13)	0,98 (0,84—1,08)	0,97 (0,85—1,14)

FC expresso em batimentos por minutos (bpm), PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg), PAM= pressão arterial média (mmhg), DC= débito cardíaco (l/min), RVP= resistência vascular periférica (MU)

**TABELA 24** - Análise do delta percentual das variáveis hemodinâmicas entre o momento basal e o “tilt test” de acordo com genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly

Delta basal/tilt	Arg/Arg	Arg/Gly	Gly/Gly	p
N	51	91	71	
$\Delta$ FC	129,96 (123,44—142,27)	124,86 (115,42—136,18)	124,00 (118,84—131,15)	0,062
$\Delta$ PAS	94,30 (90,86—98,90)	93,89 (90,17—99,23)	94,81 (92,84—97,69)	0,642
$\Delta$ PAD	101,77 (97,76—105,06)	101,12 (97,69—104,38)	101,87 (98,56—105,13)	0,675
$\Delta$ PAM	97,68 (94,93—101,17)	96,86 (94,02—102,08)	98,39 (95,82—101,25)	0,400
$\Delta$ DC	98,49 (88,09—106,36)	94,28 (88,56—100,92)	95,52 (90,03—100,63)	0,222
$\Delta$ RVP	98,69 (92,37—107,82)	102,49 (96,76—110,98)	103,43 (98,74—109,72)	0,203

FC expresso em batimentos por minutos (bpm), PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg), PAM= pressão arterial média (mmhg), DC=débito cardíaco (l/min), RVP= resistência vascular periférica (MU)  
 Teste estatístico: Kruskal Wallis.

#### 5.5.4 – Na noradrenalina sérica

A análise dos valores da noradrenalina antes e após o “tilt test” revelou que houve significativo incremento em seu valor com a referida manobra ( $p < 0,05$ ), independente do genótipo. Ao se avaliar a resposta entre os grupos, o delta entre o momento basal e “tilt test”, os incrementos não foram diferentes entre os grupos (Tabela 25).

**TABELA 25** - Valores absolutos da noradrenalina durante o momento basal e “tilt test”, e do delta percentual entre o período basal e tilt test de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta_2$  Arg16Gly

	Arg/Arg	Arg/Gly	Gly/Gly
N	51	91	71
NORA 1	52,53 (37,81—97,29)	66,96 (38,88—102,42)	56,46 (35,84—99,85)
NORA 2	83,66 (67,89—129,84)	72,96 (46,20—123,85)	82,96 (52,44—119,29)
$\Delta$ NORA	135,91 (96,53—159,09)	115,72 (72,66—142,62)	124,89* (79,66—155,49)

Teste estatístico: Kruskal Wallis \*P= NS Nora Expresso em pg/ml

### 5.5.5 – Na modulação autonômica para o coração

As variáveis foram semelhantes entre os genótipos no momento basal (Tabela 26). Em resposta a manobra de “tilt test” ocorreu aumento da atividade simpática e queda da atividade parassimpática, caracterizada pelo aumento do componente LF e diminuição do componente HF. Não foram observadas diferenças significativas entre os genótipos (Tabela 27). Importante ressaltar que a análise do índice alfa relacionado ao Arg/Arg vs Gly/Gly demonstrou uma maior queda para o Arg/Arg ( $p=0,008$ ), indicando que os grupos homozigotos apresentam diferentes padrão com relação ao índice que avalia o baroreflexo.

**TABELA 26** - Valores absolutos das variáveis de modulação autonômica para o coração durante situação basal e “tilt test” de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Arg16Gly

<b>Basal</b>	<b>Arg/Arg</b>	<b>Arg/Gly</b>	<b>Gly/Gly</b>
Variância RR (ms)	5151,30 (2704,14—8835,89)	4240,29 (2180,42—6369,54)	3628,28 (2648,69—6291,10)
LF nu (%)	30,08 (22,96—33,89)	27,96 (20,04—37,33)	26,50 (21,52—37,60)
HF nu (%)	32,69 (24,40—47,70)	31,22 (20,70—42,98)	35,45 (26,50—47,36)
LF/HF (nu)	0,91 (0,48—1,35)	0,86 (0,58—1,56)	0,78 (0,53—1,26)
Índice alfa LF	17,90 (12,80—24,19)	13,31 (9,58—19,06)	14,06 (9,76—17,97)
<b>Tilt test</b>			
Variância RR (ms)	2896,80 (1636,12—5220,16)	3465,22 (1894,06—4613,63)	3005,03 (1933,49—4338,84)
LF nu (%)	33,14 (24,76—45,69)	39,66 (29,26—49,14)	41,85 (30,15—58,91)
HF nu (%)	16,32 (9,99—21,31)	15,11 (9,55—20,56)	14,92 (10,26—21,49)
LF/HF (nu)	2,34 (1,65—4,20)	2,87 (1,82—4,36)	2,91 (1,72—4,79)
Índice Alfa LF	9,37 (7,56—11,44)	8,46 (6,52—10,66)	9,00 (7,17—11,54)

Variância RR= variância do intervalo RR, LF nu = componente de baixa frequência normalizado, HF nu = componente de alta frequência normalizado, alfaLF: índice alfa do componente LF

**TABELA 27** - Análise dos deltas percentuais entre o momento basal e “tilt test” das variáveis de modulação autonômica para o coração de acordo com os genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta_2$  Arg16Gly

Delta basal/tilt	Arg/Arg	Arg/Gly	Gly/Gly	p
N	51	91	71	
$\Delta$ Variância RR	56,19 (28,45—95,06)	75,48 (42,39—141,91)	67,95 (49,51—123,09)	0,102
$\Delta$ LF nu	127,56 (92,86—176,29)	150,60 (105,37—210,32)	152,49 (110,98—227,61)	0,079
$\Delta$ HF nu	44,66 (23,44—63,79)	46,32 (28,23—69,18)	40,87 (26,13—71,68)	0,836
$\Delta$ LF/HF nu	295,78 (163,11—508,93)	309,39 (196,52—593,72)	389,57 (181,13—659,08)	0,352
$\Delta$ índice alfa LF	51,16 (36,46—74,95)	64,88 (44,92—82,51)	69,46 (46,71—88,85)	0,008*

$\Delta$ = delta, Variância RR= variância do intervalo RR, LF nu = componente de baixa frequência normalizado,

HF nu = componente de alta frequência normalizado, alfaLF: índice alfa do componente LF

Teste estatístico: Kruskal Wallis. \* P=0,008

## 5.6 - Influência da presença do alelo Arg 16 nos parâmetros estudados

Devemos ressaltar que na nossa população o alelo Arg16 foi o alelo de menor frequência como já havíamos demonstrado. Baseado nesse resultado optamos por analisar o impacto da presença do alelo Arg16 nas variáveis de interesse.



### 5.6.1 - No perfil antropométrico, da PA do consultório, metabólico e bioquímico, hemodinâmico e da noradrenalina

Não houve influência da presença do alelo Arg16 no valor das variáveis antropométricas, metabólicas, bioquímicas e da PA do consultório, durante todos os momentos estudados, conforme (Tabelas 28 e 29). A análise dos valores do delta entre repouso e “tilt test” para o nível sérico da noradrenalina e para o perfil hemodinâmico não revelou diferenças significativas entre os grupos (Tabelas 30 e 31). Com exceção de uma tendência a uma menor PAS do consultório ( $p=0,068$ ), quando presente o alelo Arg 16.

**TABELA 28** - Dados antropométricos da população, de acordo com a presença do alelo Arg 16

Variáveis	Alelo Arg (Arg/Arg + Arg/Gly)	Alelo Gly (Gly/Gly)	p
N	142	71	
PAS	110,00 (110,00—120,00)	115,00 (110,00—120,00)	0,068
PAD	70,00 (70,00—80,00)	70,00 (70,00—80,00)	0,779
Peso	64,10 (56,23—76,13)	63,40 (54,50—77,05)	0,507
IMC	22,44 (20,72—25,16)	22,63 (20,36—25,21)	0,648
CA	76,00 (70,00—83,50)	75,25 (69,13—82,00)	0,612
CQ	96,00 (92,00—102,00)	96,25 (90,63—102,38)	0,755
RCQ	0,79 (0,75—0,83)	0,78 (0,73—0,84)	0,544

PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg).

IMC= Índice de massa corpórea (Kg/m<sup>2</sup>), CA = circunferência abdominal (cm)

RCQ = relação cintura-quadril (cm).

Teste estatístico - Wilcoxon signed Rank, p= NS

**TABELA 29** - Análises metabólicas e bioquímicas da população de acordo com presença alelo Arg 16

Variáveis	Alelo Arg (Arg/Arg + Arg/Gly)	Alelo Gly (Gly/Gly)	p
N	142	71	
Colesterol Total	163,00 (139,00—185,00)	166,50 (148,75—185,75)	0,475
Triglicérides	78,00 (56,00—105,00)	76,50 (53,25—101,50)	0,871
Colesterol HDL	58,00 (48,00—66,00)	57,00 (50,50—69,75)	0,586
Colesterol LDL	88,00 (71,00—105,00)	89,00 (75,25—113,25)	0,801
Colesterol VLDL	16,00 (11,00—21,00)	15,50 (11,00—20,50)	0,942
Glicose	84,00 (80,00—88,00)	86,50 (81,00—90,00)	0,482
Creatinina	0,90 (0,70—1,00)	0,87 (0,78—0,96)	0,41
Potássio	4,30 (4,10—4,53)	4,40 (4,10—4,50)	0,588
Hemoglobina	14,25 (13,30—15,60)	14,40 (13,50—15,08)	0,857
Hematócrito	42,95 (39,73—46,18)	42,90 (39,80—44,88)	0,683
Insulina	6,40 (4,30—9,30)	6,20 (4,65—8,30)	0,751

Colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol VLDL, glicose, creatinina, hemoglobina e hematócrito, expressos em mg/dL; Potássio expresso em mEq/L, Insulina expressa em ul/mL.  
 Teste estatístico - Wilcoxon signed Rank. p=NS

**TABELA 30** - Análise do delta percentual da noradrenalina entre o momento basal e “tilt test” de acordo com a presença do alelo Arg 16

Variáveis	Alelo Arg (Arg/Arg + Arg/Gly)	Alelo Gly (Gly/Gly)	p
N	142	71	
Δ nora	125,99 (76,9—152,4)	124,89 (79,7—155,5)	0,64

Teste estatístico - Wilcoxon signed Rank. p=NS  
 Nora expresso em pg/ml

**TABELA 31** - Análise do delta percentual das variáveis hemodinâmicas entre o momento basal e “tilt test” de acordo com a presença do alelo Arg 16

Variáveis	Alelo Arg (Arg/Arg + Arg/Gly)	Alelo Gly (Gly/Gly)	p
N	142	71	
Δ FC	127,18 (117,09—136,98)	124,00 (118,84—131,15)	0,166
Δ PAS	94,15 (90,30—99,22)	94,81 (92,84—97,69)	0,411
Δ PAD	101,50 (97,74—104,81)	101,87 (98,56—105,13)	0,498
Δ PAM	97,05 (94,36—101,73)	98,39 (95,82—101,25)	0,249
Δ DC	95,25 (88,44—102,40)	95,52 (90,03—100,63)	0,697
Δ RVP	100,67 (94,87—109,44)	103,43 (98,74—109,72)	0,268

FC expresso em batimentos por minutos (bpm), PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg), PAM= pressão arterial média (mmhg), DC=débito cardíaco (l/min), RVP= resistência vascular periférica (MU)  
 Teste estatístico - Wilcoxon signed Rank.p=NS

### 5.6.2 - Na modulação autonômica para o coração segundo influência da presença do alelo Arg16

Na Tabela 32 pode-se verificar que o índice alfa apresentou uma maior queda quando da presença do alelo Arg16 ( $p=0,026$ ). Essa resposta foi semelhante a observada quando se avaliou o impacto dos genótipos que continham que continham o respectivo alelo. A presença do alelo Arg16 esteve associada a uma menor ativação do SNS frente à manobra do “tilt test”; embora sem significado estatístico.

**TABELA 32** - Análise do delta percentual das variáveis de modulação autonômica para o coração entre o momento basal e “tilt test” de acordo com a presença do alelo Arg 16

Delta basal/tilt	Alelo Arg (Arg/Arg + Arg/Gly)	Alelo Gly (Gly/Gly)	p
N	142	71	
Δ Variância RR	68,77 (38,31—136,96)	67,95 (49,51—123,09)	0,715
Δ LF nu	139,85 (101,35—192,76)	152,49 (110,98—227,61)	0,197
Δ HF nu	46,04 (27,69—68,14)	40,87 (26,13—71,68)	0,753
Δ LF/HF nu	308,11 (189,01—536,22)	389,57 (181,13—659,08)	0,176
Δ índice alfa LF	57,25 (41,57—81,71)	69,46 (46,71—88,85)	0,026*

Δ= delta, Variância RR= variância do intervalo RR, LF nu = componente de baixa frequência normalizado,

HF nu = componente de alta frequência normalizado, alfaLF: índice alfa do componente LF teste estatístico - Wilcoxon signed Rank. \*p =0,026

### 5.7 - Distribuição dos haplótipos encontrados relacionados aos polimorfismos do receptor adrenérgico β2 Gln27Glu e Arg16Gly na população estudada

Dentre as combinações possíveis para estes genótipos, encontrou-se um total de seis. A forma mutante pura (Glu27Glu/Arg16/Arg) não foi encontrada, e este dado está de acordo com a literatura, pois esta forma está presente em menos de 1% na população. (O-E. Brodde. 2003)

**TABELA 33** - Frequência dos haplótipos dos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta_2$  Gln27Glu e Arg16Gly

	Gln27Gln/ Arg16Arg	Gln27Gln/ Arg16Gly	Gln27Glu/ Arg16Gly	Gln27Gln/ Gly16gly	Gln27Glu/ Gly16Gly	Glu27Glu/ Gly16Gly
N213 (%)	40 (18,8%)	54 (25,4%)	47 (22,1%)	23 (10,8%)	31 (14,6%)	18 (8,5%)

## 5.8 - Influência dos haplótipos relacionados aos polimorfismos do receptor adrenérgico $\beta_2$ Gln27Glu e Arg16Gly

### 5.8.1 - No perfil antropométrico, bioquímico, metabólico, na pressão arterial de consultório e noradrenalina sérica

A Tabela 34 mostra que para os dados antropométricos, a RCQ apresentou uma tendência ( $p=0,076$ ) a um menor valor para o haplótipo Glu27Glu/Gly16Gly quando comprado com o haplótipo Gln27Gln/Gly16gly. Este dado está de acordo com o encontrado ao se estudar a influência do genótipo Gln27Glu (Tabela 9) na mesma variável. Para as demais variáveis antropométricas, metabólicas e bioquímicas durante os momentos estudados, não se encontrou diferença significativa entre os haplótipos apresentados (Tabela 34). A análise dos valores do delta entre repouso e “tilt test” para o nível sérico da noradrenalina também não revelou diferença significativa entre os diferentes grupos (Tabela 36).

**TABELA 34 - Dados antropométricos da população**

	<b>Gln27Gln/ Arg16Arg</b>	<b>GlnGln27/ Arg16gly</b>	<b>Gln27Glu/ Arg16Gly</b>	<b>Gln27Gln/ Gly16gly</b>	<b>Gln27Glu/ Gly16Gly</b>	<b>Glu27Glu/ Gly16Gly</b>	<b>p</b>
<b>N</b>	40	54	47	23	31	18	
<b>PAS</b>	115,00 (110,00—120,00)	110,00 (110,00—120,00)	120,00 (110,00—120,00)	110,00 (110,00—120,00)	110,00 (110,00—120,00)	112,50 (110,00—120,00)	0,220
<b>PAD</b>	70,00 (69,25—75,00)	70,00 (70,00—77,00)	70,00 (70,00—80,00)	70,00 (70,00—75,00)	70,00 (70,00—80,00)	70,00 (65,00—80,00)	0,890
<b>IMC</b>	23,19 (20,68—27,57)	22,25 (20,54—24,98)	22,20 (20,26—25,64)	22,56 (20,87—25,21)	22,20 (20,90—25,01)	23,13 (19,88—24,26)	0,927
<b>CA</b>	75,50 (71,00—84,50)	77,00 (69,63—83,00)	75,25 (69,25—86,00)	77,00 (70,00—82,75)	76,00 (68,00—86,00)	71,00 (65,50—80,00)	0,679
<b>CQ</b>	97,00 (90,50—105,25)	96,00 (92,00—101,00)	96,75 (93,38—102,75)	94,75 (89,50—102,75)	97,00 (92,00—102,00)	96,00 (91,25—102,50)	0,943
<b>RCQ</b>	0,79 (0,77—0,82)	0,80 (0,74—0,84)	0,78 (0,73—0,86)	0,82 (0,75—0,84)	0,79 (0,74—0,84)	0,73 (0,72—0,79)	0,076

PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg).

IMC= Índice de massa corpórea (Kg/m<sup>2</sup>), CA = circunferência abdominal (cm)

RCQ = relação cintura-quadril (cm).

Teste estatístico: Kruskal Wallis

**TABELA 35** - Análises metabólicas e bioquímicas da população de acordo com os haplótipos relacionados aos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta_2$  Gln27Glu e Arg16Gly

	Gln27Gln/ Arg16Arg	Gln27Gln/ Arg16gly	Gln27Glu/ Arg16Gly	Gln27Gln/ Gly16gly	Gln27Glu/ Gly16Gly	Glu27Glu/ Gly16Gly	P
N	40	54	47	23	31	18	
Col Total	159,50 (134,25—190,25)	161,00 (139,00—174,00)	169,50 (143,50—200,25)	180,00 (140,50—199,50)	161,50 (148,00—182,25)	171,50 (153,25—187,50)	0,848
Triglic	80,50 (51,00—109,25)	74,00 (53,75—94,50)	82,50 (55,75—112,75)	79,00 (58,50—108,50)	72,00 (49,00—121,50)	80,50 (72,50—86,00)	0,744
Col HDL	59,50 (48,75—65,75)	58,00 (48,75—66,50)	55,00 (45,00—66,25)	54,00 (44,50—65,00)	64,00 (51,00—74,25)	60,50 (51,50—72,75)	0,678
Col LDL	89,50 (69,25—106,25)	87,00 (69,75—101,00)	93,00 (75,00—106,75)	95,00 (64,50—129,00)	87,00 (79,75—111,25)	90,00 (78,00—104,00)	0,962
Col VLDL	16,00 (10,00—21,75)	15,00 (10,50—19,00)	16,50 (11,00—22,75)	16,00 (12,00—22,00)	14,50 (10,00—24,25)	16,50 (14,50—17,00)	0,721
Glicose	84,00 (80,75—88,50)	85,00 (81,75—88,25)	83,50 (78,50—89,50)	81,00 (77,00—87,50)	87,50 (81,00—91,00)	86,50 (82,50—97,00)	0,434
Creatinina	0,91 (0,72—1,10)	0,80 (0,70—0,90)	0,90 (0,73—1,02)	0,89 (0,69—0,98)	0,90 (0,80—0,99)	0,80 (0,75—0,89)	0,202
Potássio	4,50 (4,18—4,60)	4,30 (4,20—4,55)	4,30 (3,90—4,50)	4,20 (4,10—4,50)	4,40 (4,20—4,65)	4,40 (4,10—4,50)	0,439
Hb	14,15 (13,28—15,73)	14,15 (13,50—15,28)	14,50 (13,00—15,80)	14,10 (13,45—15,35)	14,65 (14,10—15,25)	13,70 (13,05—14,70)	0,532
Ht	42,35 (39,40—46,58)	43,05 (40,55—44,83)	43,30 (38,80—47,10)	42,70 (39,65—45,00)	43,15 (41,00—45,10)	39,50 (38,18—44,53)	0,594
Insulina	6,15 (3,90—9,43)	5,50 (4,10—9,30)	6,80 (4,30—9,90)	6,20 (4,70—7,90)	6,20 (5,25—8,40)	6,00 (4,45—9,95)	0,970

Colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol VLDL, glicose, creatinina, hemoglobina e hematócrito, expressos em mg/dL; Potássio expresso em mEq/L, Insulina expressa em uI/mL.

Teste estatístico: Kruskal Wallis

**TABELA 36** - Análise dos deltas percentuais da noradrenalina entre os momentos basal e “tilt test” de acordo com os haplótipos relacionados aos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu e Arg16Gly

	Gln27Gln/ Arg16Arg	GlnGln27/ Arg16Gly	Gln27Glu/ Arg16Gly	Gln27Gln/ Gly16Gly	Gln27Glu/ Gly16Gly	Glu27Glu/ Gly16Gly	P
N	40	54	47	23	31	18	
$\Delta$ nora	127,29 (76,87—155,67)	129,94 (79,50—160,78)	118,53 (70,79—140,30)	141,61 (123,28—160,77)	113,70 (62,56—150,30)	136,08 (100,39—162,10)	0,216

Teste estatístico: Kruskal Wallis

Valor expresso em pg/ml

### 5.8.2 - Nas variáveis hemodinâmicas

A Tabela 37 revelou que manobra de “tilt test” ocasionou a elevação da FC em todos os grupos, porém este aumento foi significativo quando da presença do haplótipo GlnGln27/Arg16Gly vs o haplótipo Gln27Gln/Gly16Gly ( $p=0,006$ ). A presença do haplótipo Gln27Gln/Gly16Gly associou-se a uma tendência a um maior valor na RVP quando comparado com o haplótipo Gln27Gln/Arg16Arg ( $p=0,074$ ).



**TABELA 37** - Análise dos deltas percentuais das variáveis hemodinâmicas entre os momentos basal e “tilt test” de acordo com os haplótipos relacionados aos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta_2$  Gln27Glu e Arg16Gly

Delta basal/ tilt	Gln27Gln/ Arg16Arg	GlnGln27/ Arg16Gly	Gln27Glu/ Arg16Gly	Gln27Gln/ Gly16Gly	Gln27Glu/ Gly16Gly	Glu27Glu/ Gly16Gly	p
N	40	54	47	23	31	18	
FC	129,42 (123,8—143,3)	129,96 <sup>*</sup> (120,7—138,1)	120,75 (114,0—133,1)	119,19 <sup>*</sup> (113,2—127,3)	126,94 (121,0—132,0)	129,38 (120,2—134,7)	<b>0,006</b>
PAS	94,20 (90,82—97,6)	93,94 (89,9—99,8)	94,20 (90,27—99,3)	95,53 (93,85—97,96)	94,75 (90,62—97,57)	93,89 (88,65—97,69)	0,882
PAD	101,12 (97,30—104,7)	101,57 (97,7—105,6)	101,32 (97,63—104,7)	102,19 (99,21—105,7)	102,02 (99,92—105,90)	99,08 (95,89—104,37)	0,952
PAM	97,42 (94,64—100,9)	96,87 (94,0—102,2)	97,05 (94,12—102,4)	98,50 (97,25—100,86)	98,63 (95,91—101,63)	95,90 (93,68—101,08)	0,958
DC	98,47 (89,9—105,3)	94,00 (88,6—105,7)	94,92 (88,00—98,5)	93,45 (87,86—99,1)	96,24 (90,08—100,6)	97,12 (90,81—104,3)	0,465
RVP	98,53 <sup>*</sup> (93,8—107,3)	99,54 (92,13—109,0)	103,19 (98,7—113,2)	105,88 <sup>*</sup> (99,5—112,8)	103,50 (100,19—109,1)	99,36 (90,80—105,9)	0,074

FC expresso em batimentos por minutos (bpm), PAS = pressão arterial sistólica (mmHg),

PAD = pressão arterial diastólica (mmHg), PAM= pressão arterial média (mmHg),

DC= débito cardíaco (l/min), RVP= resistência vascular periférica (MU)

Teste estatístico: Kruskal Wallis

### 5.8.3 - Na modulação autonômica para o coração

A Tabela 38 demonstrou que houve uma tendência ( $p=0,086$ ) a um maior incremento no componente LF quando se comparou o delta entre os momentos basal e “tilt test” das variáveis de modulação autonômica para o coração. Este valor foi maior para o haplótipo Glu27Glu/Gly16Gly quando comparado com o Gln27Gln/Arg16Arg. Isto pode estar associado à presença do alelo Glu27, pois previamente já havíamos demonstrado que indivíduos portadores deste alelo ou de seu genótipo na forma homozigota, apresentavam um maior incremento do componente LF. (Tabelas 14 e 20)

Ao se comparar o delta para o componente HF verificou-se que o haplótipo Gln27Glu/Gly16Gly apresentou o menor valor quando comparado com o Glu27Glu/Gly16Gly, porém isto não foi significativo, repetindo o mesmo ocorrido quando se estudava o alelo Glu27. Provavelmente estes resultados influenciaram a tendência estatística verificada no delta LF/HF para o haplótipo Gln27Glu/Gly16Gly, que apresentou a maior relação LF/HF e para o haplótipo Gln27Gln/Arg16Arg (menor valor). O delta do índice alfa LF apresentou de maneira significativa ( $p=0,046$ ), um maior valor relacionado aos haplótipos Gln27Glu/Gly16Gly e menor valor para o haplótipo Gln27Gln/Arg16Arg. Provavelmente esta influência esteve relacionada a presença do alelo Gly16, pois este mesmo comportamento foi apresentado quando se estudava o este alelo.

**TABELA 38** - Análise dos deltas percentuais das variáveis de modulação autonômica para o coração entre os momentos basal e “tilt test” de acordo com os haplótipos relacionados aos polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta_2$  Gln27Glu e Arg16Gly

	Gln27Gln/ Arg16Arg	GlnGln27/ Arg16Gly	Gln27Glu/ Arg16Gly	Gln27Gln/ Gly16Gly	Gln27Glu/ Gly16Gly	Glu27Glu/ Gly16Gly	p
N	40	54	47	23	31	18	
$\Delta$ Variância RR	57,42 (28,24—106,70)	68,00 (43,08—139,35)	75,48 (35,19—135,22)	56,60 (38,31—129,28)	80,77 (62,75—136,92)	57,55 (43,52—86,48)	0,389
$\Delta$ LF nu	118,81 <sup>&amp;</sup> (84,47—167,30)	144,71 (98,34—197,52)	156,46 (114,68—241,46)	154,66 (98,56—227,61)	147,22 (120,34—221,78)	168,67 <sup>&amp;</sup> (99,30—232,90)	<sup>&amp;</sup> 0,086
$\Delta$ HF nu	44,36 (21,64—69,69)	44,33 (26,95—70,34)	47,34 (9,71—61,14)	48,58 (27,30—86,54)	35,43 (22,66—48,09)	50,94 (34,21—72,87)	0,398
$\Delta$ LF/HF nu	268,91 <sup>&amp;</sup> (155,65—530,36)	300,34 (187,23—425,40)	389,86 (232,37—655,58)	317,28 (134,98—614,01)	517,15 <sup>&amp;</sup> (304,36—1008,8)	347,93 (161,44—639,86)	<sup>&amp;</sup> 0,071
$\Delta$ índice alfa LF	46,28 <sup>*</sup> (35,74—81,94)	57,25 (44,73—80,10)	66,35 (41,30—82,20)	61,32 (46,63—82,97)	78,70 <sup>*</sup> (55,92—97,35)	75,72 (40,56—90,48)	<sup>*</sup> 0,046

$\Delta$ = delta, Variância RR= variância do intervalo RR, LF nu = componente de baixa frequência normalizado, HF nu = componente de alta frequência normalizado, alfaLF: índice alfa do componente LF Teste estatístico: Kruskal Wallis. <sup>&</sup>p=tendência, p=0,046

## **6. DISCUSSÃO**

---

A principal contribuição do presente trabalho foi a de demonstrar a associação entre presença do alelo mutante Glu27 do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta_2$  Gln27Glu com uma maior atividade simpática para o coração. Esse fato foi caracterizado pela detecção de maior aumento da atividade simpática (maior componente LF e maior relação LF/HF) durante manobra de “tilt teste” em jovens portadores dos genótipos com presença do alelo Glu27 na sua forma homozigota (Glu/Glu) e na forma heterozigota (Gln/Glu) comparados aos jovens portadores da forma selvagem (genótipo Gln/Gln). Ainda, na avaliação do impacto da presença do alelo, quando comparamos em conjunto os indivíduos portadores de um ou dois alelos Glu (Glu/Glu + Gln/Glu) aos portadores do genótipo selvagem (Gln/Gln) esta observação foi confirmada. A relevância deste fato é a de se detectar *in vivo* o impacto do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta_2$ , que embora não seja o receptor adrenérgico mais prevalente no coração, tem influência existem dados que sugerem seu papel no crotropismo e no inotropismo cardíacos, conforme dados da literatura. O papel funcional do receptor adrenérgico  $\beta_2$  e de seus polimorfismos é um tema gera muita controversa, e os dados

disponíveis na literatura são ainda conflitantes<sup>80</sup>. Deve-se ressaltar, no entanto, que o presente trabalho é o primeiro a correlacionar o fenótipo “atividade simpática para o coração” com os polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta_2$ .

Iremos inicialmente analisar aspectos relacionados à casuística e métodos utilizados no presente trabalho que são de fundamental importância para assegurar a consistência dos resultados obtidos. A seguir, abordaremos o impacto dos nossos dados à luz do conhecimento atual.

### **Freqüência dos polimorfismos adrenérgicos $\beta_2$ e característica da população estudada.**

O número de indivíduos estudados esteve de acordo com o cálculo inicial da amostra. Na população avaliada, a freqüência dos polimorfismos encontrada foi suficiente para podermos estudar a sua repercussão clínica-funcional.

A distribuição dos alelos esteve de acordo com o equilíbrio de Hardy Weinberg. Isto significa que o locus em consideração exibe uma taxa de mutação constante em nossa população, não houve nenhuma seleção a favor ou contra um determinado fenótipo (todos os genótipos são igualmente viáveis), a população foi suficientemente grande para que não tenha havido flutuação aleatória; não ocorreu nenhuma alteração da estrutura

populacional por migração e a população se caracteriza por acasalamento aleatório.

Esta primeira verificação é importante uma vez que a heterogeneidade dos resultados relacionados a estudos sobre o tema polimorfismo genético pode decorrer de erros metodológicos<sup>105</sup>.

A característica da população estudada, de jovens normotensos e saudáveis, dá maior credibilidade na repercussão funcional dos polimorfismos no controle autonômico, visto esta população estar livre de patologias que *per se* levam a alteração no balanço autonômico (obesidade, diabetes, HAS, IC, entre outras).

De fato, os dados antropométricos, a pressão arterial de consultório, os parâmetros metabólicos, bioquímicos e hemodinâmicos estavam dentro do limite da normalidade.

O comportamento das variáveis hemodinâmicas, da noradrenalina sérica e das variáveis que avaliam o balanço autonômico durante a manobra de estresse postural foi condizente com a resposta esperada na população de indivíduos saudáveis, ou seja um aumento na atividade simpática com diminuição da parassimpática e aumento da noradrenalina sérica.

Não foram excluídos jovens que usavam anticoncepcional (n=45) nem os que eram tabagistas (n=18), os quais foram orientados para que se abster do cigarro nas 12 horas que precediam o exame.

Avaliamos o balanço autonômico para o coração por meio da análise da variabilidade da FC no domínio do tempo (variância) e da análise espectral, decompondo os componentes no domínio da frequência: componente LF (que reflete primordialmente a atividade simpática); componente HF (que reflete a atividade do parassimpático) e relação LF/HF (que traduz o balanço simpático/parassimpático). Os critérios utilizados estão de acordo com as diretrizes internacionais <sup>104</sup>.

### **Influência dos genótipos do polimorfismo do receptor adrenérgico $\beta 2$ Gln27Glu, nas variáveis de interesse**

Demonstramos que houve significativa relação entre a RCQ e os genótipos que apresentam o alelo Glu. A presença do alelo mutante Glu na forma homozigota (Glu/Glu) ou heterozigota (Gln/Gln) conferiu uma menor RCQ comparado ao grupo portador do genótipo selvagem (Gln/Gln). Ainda, indivíduos com o genótipo homozigoto Glu/Glu tiveram menor RCQ que os portadores do genótipo heterozigoto (Gln/Glu), com significância estatística ( $p= 0.008$ ). Entretanto, ao se estudar a influência da presença do alelo Glu27 (Glu/Glu + Gln/Glu vs Gln/Gln) esta relação com a RCQ, não foi encontrada.

A RCQ é considerada uma medida que reflete de forma indireta a quantidade de gordura visceral, e estaria relacionada ao metabolismo dos lípidos. Vários trabalhos têm demonstrado a associação do polimorfismo adrenérgico  $\beta 2$  Gln27Glu com o metabolismo dos lipídios (maior obesidade,



resistência à insulina, diabetes tipo 2<sup>106,107</sup>. Especificamente, o alelo relacionado à obesidade é o alelo mutante, o alelo Glu27<sup>106,108,109</sup>. Outros estudos, de forma semelhante ao presente trabalho, não conseguiram demonstrar esta associação<sup>80</sup>. Pereira e cols. demonstraram em uma população com maior faixa etária que há uma tendência de os indivíduos portadores do alelo Gln27 apresentarem um maior IMC. No mesmo trabalho, na análise de regressão logística a presença do Gln27Gln isoladamente não confirmou esta relação, e sim somente quando associado ao polimorfismo  $\beta$ 2 Thr164Ile. Para entender a diferença nos resultados entre os estudos, podemos inferir que o impacto da presença do alelo mutante nas variáveis que avaliam o metabolismo pode sofrer mudanças associadas ao envelhecimento, fato já demonstrado por Castellano e cols<sup>96</sup>. Ainda, os indivíduos com esse substrato genético (presença do alelo Glu27) podem apresentar maior susceptibilidade às influências do meio ambiente, como dieta e sedentarismo.

Para as demais variáveis antropométricas e metabólicas não obtivemos diferenças estatísticas significativas entre os portadores dos diferentes genótipos Gln27Glu. A presença do alelo mutante Glu27 também não teve impacto nessa variáveis.

Foi identificado um comportamento hemodinâmico discretamente diferente para os indivíduos portadores da forma homozigota Glu/Glu, quando comparado aos jovens portadores dos outros genótipos durante a manobra de “tilt teste”. O grupo de indivíduos com genótipo Glu/Glu

apresentou uma maior queda da PA e da RVP associada a um maior incremento da FC, assim como um maior aumento na noradrenalina. Ainda que este comportamento não tenha sido estatisticamente diferente dos demais genótipos, pode-se inferir que no grupo homozigoto Glu/Glu o maior aumento da atividade simpática cardíaca e periférica procura compensar um menor aumento da RVP.

Durante o repouso, não foram observadas diferenças dessas variáveis entre os portadores dos diferentes genótipos. A manobra de “tilt test” induziu o aumento da atividade simpática para todos os genótipos analisados, caracterizada pelo aumento do componente LF, queda do componente HF e aumento da relação LF/HF. Neste momento, no entanto, pudemos detectar que o comportamento das respostas foi diferente entre genótipos. Os indivíduos com genótipos que apresentam o alelo mutante Glu27 tiveram valores significativamente mais elevados do componente LF durante o tilt teste, tanto em sua forma heterozigota (Gln/Glu) quanto na forma homozigota (Glu/Glu) quando comparados com os indivíduos portadores do genótipo selvagem (Gln/Gln). Esse fato se confirmou quando se avaliou o impacto da presença do alelo27 (Glu/Glu + Gln/Glu vs Gln/Gln) no aumento do componente LF, que também apresentou significância estatística. Corroborando a presença de maior atividade simpática associada ao alelo mutante, a análise da relação LF/HF foi significativamente mais elevada nos indivíduos que têm genótipos com a presença do alelo Glu (Gln/Glu e Glu/Glu) comparado com indivíduos portadores do genótipo Gln/Gln; sendo que, indivíduos com genótipo Gln/Glu, apresentaram maiores

aumentos de LF/HF quando comparados aos portadores de Glu/Glu. Este resultado também se confirmou ao se estudar o alelo Glu27 isoladamente. Existem poucos estudos clínicos em humanos que avaliaram a associação entre polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta_2$  Gln27Glu e atividade simpática, sendo o nosso dado, portanto, original. Nossos dados sugerem que a presença do alelo mutante Glu27 está associado a uma maior atividade do receptor não na situação de repouso, mas sim, durante uma manobra que estimula a atividade simpática.

Estudos experimentais identificaram a presença do receptor adrenérgico  $\beta_2$  no coração, com maior densidade no Nó Sinoatrial. Comparados aos receptores adrenérgicos  $\beta_1$ , que predominam no coração, estes receptores estão ligados a dois tipos de G-proteínas que ativam diferentes segundos mensageiros, sendo esta característica associada à diferença em aspectos funcionais das células, como exemplo, proteção à apoptose. Recentemente, alguns trabalhos vêm demonstrando o impacto do polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta_2$  na capacidade de dessensibilização do receptor frente à estimulação contínua do agonista (fenômeno de downregulation – diminuição do número de receptores disponíveis na membrana celular decorrente da internalização desses receptores). Estudos *in vitro* demonstraram que o polimorfismo  $\beta_2$  Gln27Glu não influencia a ligação do receptor com NA, nem a resposta de ativação máxima da adenilciclase induzidas pelo isoproterenol. Entretanto, ele confere uma maior resistência ao fenômeno de downregulation induzido pela estimulação pelas catecolaminas. Sugere-se que a conformação alterada do

receptor associada a variante Glu27 pode resultar numa menor susceptibilidade do receptor a degradação. Desta forma, especula-se que a responsividade do receptor  $\beta$ 2 seja maior em indivíduos com o polimorfismo Glu27 que nos indivíduos com o polimorfismo Gln27, devido a sua menor “downregulation” pelas catecolaminas<sup>83</sup>. Em conjunto, estes estudos vêm demonstrando que a presença do alelo Glu27 induz a uma maior função do receptor  $\beta$ 2 quando estimulado.

Estudos *ex vivo* sobre a desensibilização das variantes Gln27Glu e também do Arg16Gly do receptor em diferentes tecidos humanos produziram resultados conflitantes. Chong e cols (84) demonstraram que em mastócitos pulmonares humanos as formas mutantes do receptor  $\beta$ 2 (Gly16 e Glu27) são resistentes a desensibilização induzida pelo isoproterenol, comparadas com os tipos selvagens (Arg16 e Gln27). Por outro lado, Moore e cols. evidenciaram que os receptores  $\beta$ 2 com o alelo Glu27 tinham maior desensibilização (menos resistentes) que os receptores  $\beta$ 2 com Gln27<sup>85</sup>.

Nossos dados corroboram as observações de que a presença do alelo mutante Glu27 está associada a maior atividade do receptor adrenérgico  $\beta$ 2 cardíaco quando estimulado pelo agonista (noradrenalina) visto que os indivíduos com genótipos que apresentam o alelo Glu27 tiveram valores significativamente mais elevados do componente LF e da relação LF/HF durante o “tilt teste”. Esse fato é reforçado pela observação de que o comportamento hemodinâmico foi semelhante entre os genótipos durante o “tilt teste”. Se o comportamento do grupo homocigoto fosse

significativamente diferente dos demais, poderíamos inferir que a maior atividade simpática global (coração e noradrenalina sérica) ocorreu na tentativa de corrigir uma maior queda da PA decorrente de menor aumento da RVP durante o “tilt teste”. De fato alguns estudos clínicos vêm conseguindo relacionar o alelo Glu27 a maior capacidade de vasodilatação reflexa (estudo kadu, ref 88) o que justificaria a maior modulação autonômica a favor do aumento da atividade simpática, frente a todos os resultados encontrados (maior LF, tendência a menor HF, maior LF/HF, tendência a maior FC, DC) para o alelo Glu27 tanto isoladamente quando analisado através de seus genótipos.

### **Influência do genótipo relacionado ao polimorfismo do receptor adrenérgico $\beta$ 2 Arg16Gly**

Não encontramos diferenças nas variáveis antropométricas, nos valores de pressão arterial de consultório, nos parâmetros metabólicos e hemodinâmicos, e nos valores de noradrenalina entre os indivíduos que apresentaram os diferentes genótipos do receptor adrenérgico  $\beta$ 2 Arg16Gly e para a os indivíduos que tinham a presença do alelo Arg16 (Arg/Arg + Arg/Gly) quando comparados aos demais (Gly/Gly). Como dissemos anteriormente, consideramos para análise do impacto de forma isolada o alelo Arg16, que no nosso estudo foi o alelo de menor frequência.

Apesar de ter havido uma tendência a um maior incremento na FC durante o “tilt test” para os portadores do genótipo Arg/Arg comparado aos demais genótipos ( $p=0,062$ ), quando se comparou o impacto da presença do alelo Arg16, esta tendência desapareceu. Em um estudo na literatura, a presença do alelo Arg16 foi responsável por um aumento de 1.32 bpm em indivíduos saudáveis quando comparados com indivíduos hipertensos (ref 99).

Ao se avaliar as variáveis relacionadas ao balanço autonômico, foi possível detectar uma significativa diferença nos valores do índice alfa. Os portadores dos genótipos com a presença do alelo Arg16 na forma homocigota (Arg/Arg) e heterocigota (Arg/Gly) apresentaram maior queda do índice alfa durante o “tilt teste” quando comparados com os indivíduos portadores do genótipo Gly/Gly. O mesmo comportamento foi observado quando se avaliou em conjunto os portadores do alelo mutante (Arg/Arg +Arg/Gly) com os indivíduos que apresentam os alelos selvagens (Gly/Gly).

A pequena relação entre este tipo de polimorfismo com as variáveis analisadas no nosso estudo pode ser justificada por um mecanismo de ação destes receptores.

Estudos *in vitro* demonstraram que a presença do Gly16 leva a um aumento na capacidade da downregulation, quando comparado com a presença do alelo Arg16<sup>83</sup>. *In vivo*, o que se vê observa é que apesar de a downregulation ser maior no alelo Gly16, funcionalmente, a sensibilidade ao agonista ocorre mais facilmente no grupo portador do alelo Arg16.<sup>82,83</sup>

Talvez o modelo de estímulo escolhido neste experimento possa não ter sido o mais adequado para avaliar o impacto deste tipo de polimorfismo nos fenótipos determinados. Vale ressaltar porém, que houve uma tendência a um maior incremento da FC nos indivíduos portadores do alelo Arg durante o tilt test.

### **Influência dos haplótipos dos polimorfismos do receptor adrenérgico $\beta_2$ Gln27Glu e Arg16Gly:**

Dentre as seis formas de haplótipos encontrada, não verificamos a forma homozigota dos alelos mutantes (Arg16Arg/Glu27Glu). (Tabela 33) Este dado está de acordo com a literatura, pois esta forma é extremamente rara na natureza, com uma frequência menor que 1% na população<sup>80</sup>.

As Tabelas 34, 35 e 36 demonstraram que para as variáveis antropométricas, de pressão arterial do consultório, metabólicas e bioquímicas, durante todos os momentos estudados, não houve diferença significativa entre seus valores. Porém, vale ressaltar que a RCQ apresentou um menor valor para o haplótipo Glu27Glu/Gly16Gly quando comparado com o haplótipo Gln27Gln/Gly16Gly ( $p=0.076$ ). Este dado sugere talvez, uma influência do genótipo Gln27Glu especialmente relacionado ao alelo Glu27 em sua forma homozigota, pois verificamos anteriormente que este alelo esteve relacionado, de maneira significativa, a uma menor RCQ. Para as demais análises dos valores do delta entre repouso e tilt test para o nível

sérico da noradrenalina também não foi encontrado diferença significativa entre os diferentes grupos (Tabelas 35 e 36).

A Tabela 37 revelou que a análise do delta entre o momento basal e tilt test elevou a FC em todos os grupos, porém este incremento foi maior de maneira significativa quando da presença do haplótipo Gln27Gln/Arg16Gly vs o haplótipo Gln27Gln/Gly16Gly ( $p=0,006$ ). Este fato embora não justifique, pode sugerir a influência do alelo Arg16 na FC, pois quando analisamos o genótipo Arg16Arg (Tabela 24) também verificamos um maior incremento na FC, após o tilt test,  $p=0,062$ . Foi verificado também que a presença do haplótipo Gln27Gln/Arg16Arg esteve relacionada à queda da RVP após o tilt test quando comparado com o haplótipo Gln27Gln/Gly16Gly, embora de maneira não significativo ( $p=0,074$ ). Ressaltamos este fato, pois vários estudos vêm demonstrando a associação do alelo Gly16 a uma maior vasodilatação<sup>88,89</sup>.

Em relação ao balanço autonômico (tabela 38), o delta do índice alfa LF apresentou um menor valor para o haplótipo Gln27Gln/Arg16Arg; quando comparado com o haplótipo Gln27Glu/Gly16Gly e isto teve significância estatística ( $p=0.046$ ), provavelmente esta influência esteve relacionada à presença do alelo Arg16, que apresentou este comportamento quando estudado previamente (Tabelas 27 e 32).

Houve também um maior incremento, embora não significativo, no componente LF quando se comparou o delta entre os momentos basal e “tilt test” das variáveis de modulação autonômica para o coração ( $p=0.086$ ). Este



valor foi maior para o haplótipo Glu27Glu/Gly16Gly quando comparado com o Gln27Gln/Arg16Arg, isto pode ser justificado pela presença do alelo Glu27 pois, previamente, já havíamos demonstrado que a presença do alelo ou de seu genótipo na forma homozigótica esteve relacionada a um maior incremento do componente LF.

Quando se comparou o delta para o componente HF verificou-se que o haplótipo Gln27Glu/Gly16Gly apresentou o menor valor quando comparado com o Glu27Glu/Gly16Gly, porém isto não teve significância estatística, repetindo o mesmo ocorrido quando se estudava este alelo Glu27. Provavelmente estes resultados influenciaram a tendência estatística verificada no delta LF/HF para os haplótipos Gln27Glu/Gly16Gly, que apresentou a maior relação LF/HF e o haplótipo Gln27Gln/Arg16Arg que apresentou o menor valor. Interessante ressaltar que, conforme já discutido, provavelmente a maior diferença entre estes receptores se deve ao fato dos distintos comportamentos frente a seu estímulo, relacionado a “downregulation”. Em um estudo realizado comparando-se a resposta dos diversos haplótipos relacionado ao polimorfismo  $\beta 2$  (Arg16Gly e Gln27Glu), à infusão aguda de terbutalina, não se observou diferença na vasodilatação máxima induzida por este  $\beta 2$  agonistas, porém ocorreram diferenças na sensibilização a esta droga. Os indivíduos com haplótipo selvagem (Arg16Arg/Gln27Gln) apresentaram maior sensibilidade quando comparados com Gly16Gly/Gln27Gln e Gly16Gly/Glu27Glu no momento de administração venosa da terbutalina<sup>86</sup>. Podemos ao menos inferir que para a resposta distinta em relação ao índice alfa, talvez este mecanismo esteja

contribuindo, pois a manobra de tilt test que aumenta a noradrenalina funcionaria como um estímulo agudo a este receptor, que nesta forma polimórfica, tem a sua expressão maior.

Sabemos que ainda é muito difícil se justificar os mecanismos pelos quais os polimorfismos dos receptores  $\beta_2$  influenciam a regulação cardiovascular. Visto a variedade de respostas que estas variações gênicas apresentam tanto in vitro quanto in vivo, quando estimulados, e ao fato de que são estudos de associação. Porém, este trabalho tem como relevante contribuição o fato que receptores adrenérgicos  $\beta_2$  estão influenciando a regulação cardiovascular de indivíduos jovens e saudáveis, demonstrando a relevância clínica destes receptores no coração.

## **7. CONCLUSÕES**

---

- Os polimorfismos do receptor adrenérgico  $\beta_2$  tipo Gln27Glu e Arg16Gly têm influência na regulação autonômica cardíaca, aumentando a atividade simpática e diminuindo a atividade baroreflexa, respectivamente, durante manobra de estresse postural em indivíduos jovens normotensos.
- Os genótipos Gln27Glu e Glu27Glu estão associados a menor RCQ.

## **8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

1. Michelini L. Regulação neuro-humoral da pressão arterial. In: Fisiologia, Ayres MM, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. pp. 473-88.
2. Kaplan NM. Primary Hypertension: Pathogenesis. In: Clinical Hypertension, Kaplan NM. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. pp. 41-99.
3. Krieger EM, Irigoyen MC, Krieger JE. Fisiopatologia da hipertensão. RSCESP 1999; 9:1-7.
4. Gilmore Joseph P., Zucker Irving H. Reflex Control of the Circulation.1991. Autonomic Nervous System Control of Heart Rate and Atrioventricular Nodal Conduction. Chapter 3. page- 67-101
5. Matthew N. Levy, Peter J. Swartz. Vagal control of the heart: experimental basis and clinical application. (The BakKen Research Center series; v.7.Copyright 1994. Futura Publishing Company, Inc). page 173-205
6. Wyss JM. The role of sympathetic nervous system in hypertension. Curr Opin Nephrol Hypertens1993; 2:265-273

7. Victor RG e Mark AL. The sympathetic nervous system in human hypertension. In: Laragh JH, Brenner BM, eds. Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management, 2 ed. New York: Raven Press Ltd. 1995; pp755-773
8. Irigoyen MCC, Krieger EM. Baroreflex control of sympathetic activity in experimental hypertension. Braz J Med Biol Res 1998; 31:1213-1220
9. Lund-Johansen P. Central haemodynamics in essential hypertension at rest and during exercise: a 20 year follow-up study. J Hypertens 1989; 7(suppl 6):S52-S55.
10. Lopes HF; Bernardes Silva H; Consolim-Colombo FM; Barreto Filho JAS; Riccio GMG; Giorgi DMA; Krieger. Autonomic abnormalities demonstrable in young normotensive subjects who are children of hypertensive patients. Brazilian J. Med Biol Research 2000; 33:51-54
11. Lopes HF, Bernardes Silva H, Barreto Filho JAS, Consolim-Colombo FM, Giorgi DMA, Krieger EM. Lipid metabolism alterations in normotensive subjects with positive family history of hypertension. Hypertension 1997; 30(3 pt 2):629-631
12. Esler M. The sympathetic nervous system and catecholamine release and plasma clearance in normal blood pressure control, in aging and hypertension. In: Laragh JH, Brenner BM, eds. Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management, 2 ed. New York: Raven Press Ltd., 1995; pp
13. Yu S-M, Tsai S-Y, Guh J-H e cols. Mechanism of catecholamine-induced proliferation of vascular smooth muscle cells. Circulation 1996; 94:547-554.

14. Folkow B. Structural factor primary and secondary hypertension. *Hypertension* 1990; 16:89-101
15. Henry JP, Liu J, Meehan WP. Psychosocial stress and experimental hypertension. in Laragh JH, Brenner BM eds. *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis, and Management*, 2 ed Raven Press, Ltd. New York 1995; pp 905-921
16. Psychological stress and hypertension. in Swales JD ed. *Textbook of Hypertension*. Blackweel Science Inc. UK 1994; pp 633-654. (Kaplan, e Cobb and Rose, 1973)
17. Franchini KG e Krieger EM. Neurogenic hypertension in the rat. In: Ganten D, ed, *Handbook of Hypertension. Experimental and Genetic Models*. Amsterdam:Elsevier Publishers Company, 1993; pp119-146.
18. Pickering TG. The effects of environmental and lifestyle factors on blood pressure and the intermediary role of the sympathetic nervous system. *J Hum Hypertens* 1997; 11(Suppl 1):S9-S18.
19. Krieger EM, Salgado HC, Michelini LC. Ressetting of the baroreceptors. in Gyton AC, Hall JE eds. *Cardiovascular Physiology IV. International Review of Phisiology*, vol 26, University Park Press, Baltimore 1982; pp 119-146
20. Pitzalis MV, Passantino A, Massari F, et al. Diastolic dysfunction and baroreflex sensitivity in hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 1141-1145
21. Floras JS, Hassan MO, Jones JV e cols. Consequences of impaired arterial baroreflexes in essential hypertension: effects on pressor responses, plasma noradrenaline and blood pressure variability. *J Hypertens* 1988; 6:525-535



22. Harrap SB: Hypertension : Genes versus environment . Lancet 344:169,1994
23. Kaplan NM. Primary Hypertension: Pathogenesis. In: Clinical Hypertension, Kaplan NM. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. measurement of blood pressure; page 25 -55.
24. Mancia G, Parati G, Hennig M, et al. Ambulatory blood pressure variability and carotid artery damage. Hypertension 2000;36:684.
25. Sander D, Kukla C, Klingelhofer J. et al. Relationship between circadian blood pressure patterns and progression of early carotid atherosclerosis. Circulation 2000; 102:1536-1541.
26. Kikuya M, Hozawa A, Ohokubo T. et al. Prognostic significance of blood pressure and heart rate variabilities. Hypertension 2000; 36: 901-906.
27. Hon EH, Lee ST. Electronic evaluations of the fetal heart rate patterns preceding fetal death: further observations. Am J Obstet Gynecol. 1965; 87: 814-826.
28. Wolf MM, Varigos GA, Hunt D, Sloman JG. Sinus Arrhythmia in acute myocardial infarction. Med J Aust. 1978;2: 52-53
29. Kleiger RC., Miller JP, Bigger JT, Moss AJ, and the Multicenter Post-Infarction Research acute myocardial infarction. Am J Cardiol. 1987; 59: 256-262
30. Malik M, Farrell T, Cripps T, Camm AJ. Heart rate variability in relation to prognosis after myocardial infarction: selection of optimal processing techniques. Eur heart J. 1989;10:1060-1074

31. Bigger JT, Fleiss JL, Steinman RC, Rolnitzky LM, Kleiger RE, Rottman JN. Frequency domain measures of heart period variability and mortality after myocardial infarction. *Circulation*. 1992; 85:164-171
32. Gillman MV, Kannel WB, Belanger A, D'Agostinho RB. Influence of heart rate on mortality among persons with hypertension: the Framingham study. *Am Heart J* 1993; 125:1148-1154
33. La Rovere, Maria Teresa; Bigger, J Thomas Jr; Marcus, Frank I; Mortara, Andréa; Schwartz, Peter J. For the ATRAMI Investigators. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. *Lancet* 1998; 351: 478-84
34. Panza GA, Epstein SE, Quyyumi AA. Circadian variation in vascular tone and its relation to  $\alpha$ -sympathetic vasoconstrictor activity. *New Eng J Med* 1991; 325:986-990
35. Somers VR, Dyken ME, Mark AL, Abboud FM. Sympathetic-nerve activity during sleep in normal subjects. *N Eng J Med* 1993; 328:303-307
36. Cohen MC e Muller JE. Onset of acute myocardial infarction-circadian variations and triggers. *Cardiovasc Res* 1992; 26:831-838.
37. Goodman & Gilman's. the Pharmacological Basis of Therapeutics-Hardman. Tenth Edition.
38. Guimaraes S, Paiva MQ. Two distinct adrenoceptor-biophases in the vasculature: one for alpha- and the other for beta-agonists. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 1981 Jun;316(3):195-9.

39. Guimarães S Further study of the adrenoceptors of the saphenous vein of the dog: influence of factors with interfere with the concentrations of agonists at the receptor level. *Eur J Pharmacol*,1975; 34: 9-19.
40. Hieble JP, Bylund DB, Clarke DE, Eikenburg DC, Langer SZ, Lefkowitz RJ, Mineman KP and Ruffolo BB International Union of Pharmacology. X. Recommendation for nomenclature of  $\alpha$ 1-adrenoceptors: consensus update. *Pharmacol Rev.* (1995) 47 : 267-270 .
41. Michel MC, Kenny B and Schwinn DA Classification of the  $\alpha$ 1-adrenoceptor subtypes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* (1995) 352:1-10.
42. Lattion A-L, Diviani D and Cotecchia S (1994) Truncation of the receptor carboxyl terminus impairs agonist-dependent phosphorylation and desensitization of the  $\alpha$ 1b-adrenergic receptor. *J Biol Chem* 269:22887-22893
43. Yang M, Ruan J, Voller M, Schalken J and Michel MC Differential regulation of human  $\alpha$ 1-adrenoceptor subtypes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* (1999) 359:439-446.
44. Ford APDW, Chang DJ, Clarke DE, Daniels DV, Eglen RM, Gever JR, Jasper JR, IKava MS, Lachnit WG, Lesnick JD, Melov TD, Stepan GT and Williams TJ Alpha-1A-versus alpha-1L-adrenoceptors: a pharmacological comparison. *Pharmacol Toxicol*(1998) 83:12-15.
45. McGrath, Evidence for more than one type of postjunctional  $\alpha$ -adrenoceptor. *Biochem Pharmacol*(1982) 31: 467-484.
46. Minneman KP  $\alpha$ 1-Adrenergic receptor subtypes, inositol phosphates and sources of cell calcium. *Pharmacol.* (1988) Rev 40:87-119

47. Bylund DB, Regan JW, Faber JE, Hieble JP, Triggle CR and Ruffolo RR Jr. Vascular  $\alpha$ -adrenoceptors: from the gene to the human. *Can J Physiol Pharmacol*(1995) 73:533-543
48. Otto-Erich Brodde, Heike Bruck, Kirsten Leineweber, Torsten Seyfarth. Presence, distribution and physiological function of adrenergic and muscarinic receptor subtypes in the human heart. *BasicResCardiol* 96: 528 – 538 (2001)
49. Anderson KE, Lambert KA, Woodcock EA The norepinephrine-stimulated inositol phosphate response in human atria. *J Mol Cell Cardiol* (1995) 27:2415–2419.
50. Shelli L. Kirsten and paul a. Insel. Autonomic Nervous System Pharmacogenomics: a Progress Report. *The american Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 56:31-52.2004
- 51 Human alpha 2-adrenergic receptor subtype distribution: widespread and subtype- selective expression of alpha 2c10, alpha 2c4 e alpha 2c2 mRNA in multiples tissues.-Eason MG, Liggett SB, *Mol Pharmacol* 1993 Jul;44(1) : 70-5) -(Circulation. 1998; 98:1329-1334)
- 52 Hieble JP, Ruffolo RR Jr and Starke K. Identification, characterization and subclassification  $\alpha$ 2- adrenoceptors: an overview, in  $\alpha$ 2-adrenergic Receptors: Structure, Function and Therapeutic Implications (Lanier SM, Limbired LE eds) (1996) pp 1-18, Harwood, Amsterdam.).
- 53 Molderings and Göthert M Pharmacological characterization of the inhibitory  $\alpha$ 2-autoreceptors on the sympathetic nerves of human, rat and rabbit blood vessels. *Fudam Clin Pharmacol*(1993); 7:372).

- 54 Rump CL, Bohmann C, Schauble U, Schöllhorn J and Limberger N (1995)  $\alpha_2$ -Adrenoceptor-modulated release of noradrenaline in human right atrium. *Br J Pharmacol* 116: 2617-2624).
- 55 Kersten M . Small , Lynne E. Wagoner , Albert M. Levin, Sharon L.R.Lardia,Stephen B Liggett, Synergistic polymorphisms of Beta 1 e alfa 2 *NEJM*,2002;347: 1135-42
- 56 Hein L, Altman JD, Kobilka BK, Two functionally distinct alpha 2 – adrenergic receptors regulate sympathetic neurotransmission, *Nature* 1999, Nov 11; 402(6758) : 181-4
57. Irene Gravas, Haralambos Gavras. Role of alpha2-adrenergic receptors in hypertension. *AJH* 2001; 14: 171S-177S
58. Bylund DB, Hass NA, Cerutis DR and Blaxall HS (1995<sup>a</sup>) Characterization of alpha-2 adrenergic receptor subtypes. *Pharmacol Commun* 6: 87-90).
59. Heck DA and Bylund DB Differential down-regulation of alpha-2 adrenergic receptor subtypes. *Life Sci* (1998) 62:1467-1472)
60. Ruffolo RR, Nichols AJ, Stadel JM and Hieble JP Structure and function of  $\alpha_2$ -adrenoceptors. *Pharmacol Rev* (1991) 43:475-501
61. Michel MC, Plogmann C, brodde O-E. et al. Functional correlates of alpha(2A)-adrenoceptor gene polymorphism in the HANE study. *Nephrol Dial Transplant*. 1999 Nov;14(11):2657-63
62. Bylund DB, Eikenberg DC, Hieble JP, Langer SZ, Lefkowitz JR, Minneman KP, Molinoff PB, Ruffolo RR and Trendelenburg IV International Union of Pharmacology Nomenclature of Adrenoceptors. *Pharmacol Rev* (1994) 46: 121-136.

63. Taira N, Yabuuchi Y, Yamashita S. et al., Profile of beta-adrenoceptors in femoral, superior mesenteric and renal vascular beds of dogs. *Br J Pharmacol.* 1977 Apr;59(4):577-83
64. Vatner D.E., Vatner S.F., Homj C.Y. et al. Loss of high affinity cardiac beta adrenergic receptors in dogs with heart failure. *J Clin Invest.* 1985 Dec;76(6):2259-64
65. Del Monte F, Kaumann Aj, Poole-Wilson PA, Wynne DG, Pepper J, Harding SE Coexistence of functioning  $\beta_1$ -and  $\beta_2$ -adrenoceptors in single myocytes from human ventricle. *Circulation* (1993) 88: 854-863.
66. Rodefeld MD, Beau SL, Schuessler RB, Boineau JP, Saffitz JEBeta-adrenergic and muscarinic cholinergic receptor densities in the human sinoatrial node: identification of a high beta 2-adrenergic receptor density. *J Cardiovasc Electrophysiol*(1996) 7: 1039-1049
67. Brodde O-E, Michel MC. Adrenergic and muscarinic receptors in the human heart. *Pharmacol Ver.* 1999;51:651-689.
68. Bristow MR, Hershberger rE, Port JD, Minobe W, Rasmussen R  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ - adrenergic receptor-mediated adenylate cyclase stimulation in nonfailing and failing human ventricular myocardium. *Mol Pharmacol* (1989) 35: 295-303
69. Kaumann AJ, Hall JÁ, Murray KJ, Wells FC, Brown MJ (1989) a comparison of the effects of adrenaline and noradrenaline on human heart: the role of  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ - adrenoceptors in the stimulation of adenylate cyclase and contractile force. *Eur heart J* 10 (Suppl B): 29-37
70. Heart Failure Pathophysiology, Molecular Biology and Clinical Management. Arnold M. Katz,M.D.,2000.Lippincott Williams Wilkns 238-239

71. Preitner F, Muzzin P, Revelli J-P, Seydoux J, Galitzky J, Berlan M, Lafontan M and Giacobino J-P (1998) Metabolic response to various  $\beta$ -adrenoceptor agonists in  $\beta$ 3-adrenoceptor knockout mice: evidence for a new  $\beta$ -adrenergic receptor in Brown adipose tissue. *Br J Pharmacol* 124: 1684-1688);
72. Anthony j. F.Griffiths, Jeffrey H. Miller, David T. Suzuki, Richard C. Lewontin e William M. Gelbart. Introdução à genética. Sétima edição. 2000. Editora Guanabara Koogan. Genética e o Organismo pag1-21.
73. Jeunemaitre X. Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin system therapie. 1998 May-Jun;53(3):271-7
74. Skrabal, F., Kotanko, P., Meister, B., Doll, G., Gruber, G. Augmented upregulation of adrenoceptor ratio induced by salt and the development of essential hypertension. *Kidney Internat* 1988; 34(Suppl25):23-27
75. Kotanko, P., Höglinger, O., Skrabal, F. adrenoceptor density in fibroblast culture correlates with human NaCl sensitivity. *Am. J. Physiol.* 1992; 263:C623-C627,
76. Kotanko, P., Höglinger, O., Binder, A., Skrabal, F. Further evidence for reduced adrenoceptor expression and modification of its density at a level beyond gene expression. *Diabetologia*, 1995; 38:126-128,
77. Skrabal, F., Kotanko, P., Höglinger, O., Reimann-Weber, A., Horwath, J., Kenner, T. Reduced adrenoceptors on cultured fibroblasts of female patients with essential hypertension (submitted)
78. Kirsten Leineweber, Otto-Erich Brodde. Beta2-adrenoceptor polymorphisms: Relation between in vitro and in vivo phenotypes. *Life Science* 74 (2004) 2803-2814.

79. Kersten M Small, Dennis W. McGraw, and Stepehn B. Liggett. Pharmacology and Physiology of Human Adrenergic Receptor Polymorphisms. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2003, 43: 381-411
80. K.Leineweber , R. Büscher, h. Bruck, O-E. Brodde. B-Adrenoceptor polymorphisms Naunnyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol (2004) 369:1-22.
81. Chong LK, Chowdry J, Ghahramami P, Peachell PT Influence of genetic polumorphisms in the (beta)2 –adrenoceptor on desensitisation in human lung mast cells. *Pharmacogenetics* (2000) 10: 153-162
82. Moore PE, Laporte JD, shore AS Polymorphism of the beta(2)-adrenergic receptor gene and desensitization in human airway smooth muscle. *Am J Respir Crit Care Méd* (2000) 162:2117-2124
83. Heike Bruck, Leineweber K, Otto-Erich Brodde, phd. Human beta2-adrenergic receptor gene haplotypes and venodilation in vivo. *Clin pharmacol ther* 2005;78:232-8.
84. John r. Cockcroft, Anastasios G. Gazis, Joseph p. Noon. Beta 2 adrenoceptor polymorphism Determines Vascular Reactivity in Humans. *Hypertension* 2000;36:371-375.
85. Zhong liu , Sunni A. Barnes, Lynn A. Sokolnicki and John H. Eisenach. Beta-2 adrenergic receptor polymorphisms and the forearm blood flow response to mental stress. *Clin Auton Res* (2006) 16: 105-112.
86. Trombetta IC, Batalha LT, Rondon MU, et al. Gly16 + Glu 27 2-adrenoceptor polymorphisms caused increased forearm blood flow responses to mental stress and handgrip in humans. *J. Appl. Physiol* 2005; 98: 787-794



87. Brian D. Hoit, Damodhar P. Suresh, Laura Craft and Stephen B. Liggett, md. Beta2- adrenergic receptor polymorphisms at amino acid 16 differentially influence agonist-stimulated blood pressure and peripheral blood flow in normal individuals. *Am heart j* 2000; 139:537-42.
88. Naslund T, Silberstein D.J., Wood A.J. Low sodium intake corrects abnormality in beta-receptor-mediated arterial vasodilation in patients with hypertension: correlation with beta-receptor function in vitro *Clin pharmacol ther.* 1990;48 (1):87-95
89. Stein C.M., Nelson R. Deegan R, Wood A.J. Forearm beta adrenergic receptor-mediated vasodilation is impaired, without alteration of forearm norepinephrine spillover, in borderline hypertension. *J. Clin Invest.* 1995 jul ;96 (1):579-585
90. = 87. Brian D. Hoit, Damodhar P. Suresh, Laura Craft and Stephen B. Liggett, md. Beta2- adrenergic receptor polymorphisms at amino acid 16 differentially influence agonist-stimulated blood pressure and peripheral blood flow in normal individuals. *Am heart j* 2000; 139:537-42.
91. Maciej Tomaszewski, Nick J.R. Brian, Fadi J. Charchar and Anna f Dominiczak. Essential hypertension and beta2- Adrenergic Receptor Gene: Linkage and Association Analysis. *Hypertension* 2002; 40 286-291.
92. Alexandre C. Pereira; Marcilene S. Floriano; Glória F.A. Mota; Roberto S. Cunha; Fernando L. Herkenhoff; José G. Mill; José E. Krieger . Beta2 adrenoceptor functional gene variants, obesity, and blood pressure level interactions in the general population . *Hypertension.* 2003 Oct;42(4):685-92.

93. Maurizio Castellano, Enrico Agabiti-Rosei. Hypertension.  $\beta$ 2-Adrenergic Receptor Gene Polymorphism, Age, and Cardiovascular Phenotypes. 2003; 41:361-367.
94. Julius S, Valentini M, Palatini P. Overweight and hypertension: a 2-way street? Hypertension. 2000; 35: 807-813.
95. Wilk J.B., Myers, R. H. et al. Evidence for a gene influencing heart rate on chromosome 4 among hypertensives. Hum Genet 2002,111, 207-213.
96. J. B. Wilk, R. H. Myers, J. S. Pankow and R. C. Ellison. Adrenergic Receptor Polymorphisms Associated with Resting Heart rate: The HyperGEN study. 2006,70, 566-573.
97. V Diretrizes Brasileira de Hipertensão Arterial; Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Hipertensão e Sociedade Brasileira de Nefrologia. 2006. pag. 1-48.
98. Finometer . FMS, Finapres Medical System BV . copyright 2003 FMS. CE0344).
99. O'Brien E, Mee F, Atkins N, O'Malley K : Inaccuracy of the random zero sphygmomanometer. The Lancet 1990; 336: 1465-1468.
100. AAMI: American national Standard ANSI/AAMI SP10-1992: Electronic or automated sphygmomanometers. Association for the Advancement of Medical Instrumentation. 1993, Arlington, VA
- 101 Bos WJW, van Goudoever J, van Montfrans GA, van den Meiracker AH, Wesseling KH: Reconstruction of brachial artery pressure from noninvasive finger pressure measurement. Circulation 1996; 94: 1870-1875)

- 
- 102 Imholz BPM, Wieling W, van Montfrans GA, Wesseling FH: Fifteen years experience with finger arterial pressure monitoring: assessment of the technology. *Cardiovasc Res* 1998; 38: 605-616).
103. Mesangial cells are able to produce catecholamines in vitro. *J Cell Biochem.* 2003 May 1;89(1):144-51 Di Marco, G. S., Naffah-Mazzacoratti Md Mda, G.; Vio, C. P.; Dos Santos, O. F.; Schor, N. Casarini, D. E
104. Task Force: Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Eur Heart J.* 1996; 17:354-381
- 105- Thompson & Thompson *Genética Médica.* Editora Guanabara. Quinta edição. 1993. capítulo 7. genes nas populações. Pag 100,114.
- 106- Large V, Hellstrom L, Reynisdottir F, et al. Human beta-2 adrenoceptor gene polymorphisms are highly frequent in obesity and associate with altered beta-2 adrenoceptor function. *J Clin Invest* 1997; 100:3005-3013
- 107- Ishiyama-Shigemoto S, Yamada K, Yuan X, Ichikawa F, Nonaka K. Association of polymorphisms in the beta2-adrenergic gene with obesity, hypertriglyceridaemia, and diabetes mellitus. *Diabetologia* 42: 98-101
- 108- Hellstrom L, Large V, Reynisdottir S, et al. The different effects of a Gln27Glu beta 2- adrenoceptor gene polymorphism on obesity males and females. *J Intern Med* 1999; 245: 253-259
- 109- Mori Y, Kim – Motoyama H, Ito Y, Katakura T, Yasuda K, Ishiyama-Shigemoto S, Yamada K, et al. The Gln27Glu beta2-adrenergic receptor variant is associated with obesity due to subcutaneous fat

accumulation in Japanese men. *Biochem Biophys Res Commun* 258:  
138-140