

Paula de Cássia Buck

Correlação entre polimorfismo e atividade da enzima  
conversora da angiotensina com o grau de hipertrofia  
miocárdica nas formas familiar e não familiar em  
pacientes com cardiomiopatia hipertrófica

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

Área de concentração: Cardiologia

Orientador: Dr. Fábio Fernandes

São Paulo

2006

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

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

©reprodução autorizada pelo autor

Buck, Paula de Cássia

Correlação entre polimorfismo e atividade da enzima conversora da angiotensina com o grau de hipertrofia miocárdica nas formas familiar e não familiar em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica / Paula de Cássia Buck. -- São Paulo, 2006.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Departamento de Cardio-Pneumologia.  
Área de concentração: Cardiologia.  
Orientador: Fábio Fernandes.

Descritores: 1.Cardiomiopatia hipertrófica 2.Polimorfismo genético 3.Peptidil dipeptidase 4.Hipertrofia ventricular esquerda 5.Genótipo 6.Freqüência do gene 7.Genética

USP/FM/SBD-410/06

Esta tese está de acordo com:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Annelise Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2004.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

*“Se queremos progredir, não devemos repetir a história, mas fazer uma nova história”*

*Mahatma Gandhi*

## DEDICATÓRIA

---

Ao meu querido esposo, José Roberto

Pelo amor, carinho, amizade, companheirismo, cumplicidade, incentivo, ensinamentos, compreensão nos momentos de ausência pela profissão e ajuda incondicional em todas as etapas da vida. Essa conquista também é sua.

Aos meus pais, Paulo e Rita

Que me deram a vida e nas etapas, dificuldades e tropeços, sacrifícios na formação, sempre me ensinaram a começar de novo, ter iniciativa, perseverança, independência e lutar sempre. Essa conquista também é de vocês.

Ao avô Ulisses (*in memoriam*) e ao meu irmão Paulo (*in memoriam*)

Estão orando e torcendo por mim onde estiverem. A saudade é grande.

Às avós Eliza e Áurea

Pelas orações, compreensão pela ausência e amor nos momentos mais difíceis da minha vida.

Aos meus sogros, Maria e José, ao cunhado Luís, aos enteados, Henrique e Heloisa e aos demais familiares, pelo apoio, incentivo e carinho nessa etapa da vida.

## AGRADECIMENTOS

---

Prof. Dr. Charles Mady

Pelo incentivo em todas as etapas do meu desenvolvimento como ser humano, profissional e pesquisadora, desde o primeiro momento que me recebeu na família “Cardio Geral”, pela confiança em mim depositada – minha gratidão, admiração e respeito.



Ao meu orientador e amigo Dr. Fábio Fernandes

Pela amizade, carinho, incentivo, otimismo, dedicação, bom humor e apoio desde o início dessa fase tão importante e enriquecedora da minha vida.

Ao amigo Dr. Edmundo Arteaga

Não oficialmente, mas de coração e por merecimento – meu co-orientador – que desde a minha seleção, quando dizia ter escolhido “O Ronaldinho da Cardio Geral”, agora promovida a “Ronaldinho Gaúcho”, demonstrou interesse, conhecimento e dedicação para que eu conseguisse realizar esse projeto tão importante da minha vida.

Agradeço pelo apoio e amizade.

Aos amigos Dra. Bárbara M. Ianni, Dr. Félix A. Ramires, Dr. Luciano Nastari, Dra. Vera M. C. Salemi, pela amizade, apoio, compreensão, carinho, bom humor, incentivo, preocupação nos momentos bons e nos difíceis da minha vida pessoal e profissional, por me acolherem na família “Cardio Geral”.

Ao Prof. Dr. Whady Armindo Hueb, pelo apoio, amizade e sugestões, sempre oportunas.

Aos Amigos Dr. Aloir Queiroz de Araújo Sobrinho e Dr. Afonso Y. Matsumoto, pela colaboração na atualização dos dados ecocardiográficos, bem como pelo apoio, amizade, dedicação e paciência em todo o nosso tempo de convivência.

À amiga Dra. Adriana Paula Tirone, pela amizade dedicada desde as primeiras experiências e viagens, orações, apoio nos momentos difíceis da vida pessoal e profissional. Apesar da distância está sempre presente.

À amiga Lucia Maria de Oliveira, pela amizade, atenção, sabedoria, dedicação, compreensão, perfeccionismo, equilíbrio, paciência e todo tempo dispensado para que concretizasse esse projeto importante da minha vida.

À amiga Simone Alves Dantas, pela amizade, colaboração e tempo dispensado na elaboração da apresentação.

Regina Deladore Batista, Wallace Pimentel de Souza e Daniel Martins Gregio, pela amizade e companheirismo.

Prof. Dr. José Eduardo Krieger, Dr. Alexandre da Costa Pereira, Dra. Edilamar M. Oliveira e Glória de Fátima Mota, pela realização da genotipagem do polimorfismo e dosagem da atividade da enzima conversora da angiotensina, que foi trabalhosa, complexa e dispendiosa, bem como pela oportunidade e conhecimentos transmitidos.

A Julia T. Fukushima, pela grande ajuda na análise estatística.

A Neusa Rodrigues Dini, Juliana Lattari Sobrinho e Eva M. Guiss de Oliveira, pelo apoio e dedicação.

A todos os meus agradecimentos!

# SUMÁRIO

LISTAS .....	i
Abreviaturas .....	ii
Figuras .....	iii
Gráficos .....	iii
Tabelas.....	iv
RESUMO .....	v
SUMMARY.....	viii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	8
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS .....	10
3.1. Casuística .....	11
3.1.1. Critério de inclusão.....	11
3.1.2. Critérios de exclusão.....	11
3.2. Métodos .....	12
3.2.1. Ecocardiograma com Doppler .....	12
3.2.2. Determinação do polimorfismo e da dosagem sérica da atividade da ECA .....	15
3.2.3. Análise estatística .....	25
3.2.4. Aspectos éticos .....	26
4. RESULTADOS .....	27
4.1. Epidemiológicos e clínicos .....	28
4.2. Polimorfismo e atividade da ECA.....	30

4.3. Ecocardiográficos .....	31
4.3.1 Hipertrofia e índice de massa do VE .....	31
4.3.2. Variáveis ecocardiográficas em relação ao polimorfismo e atividade da ECA .....	36
5. DISCUSSÃO .....	45
Implicações clínicas.....	51
Limitações do estudo.....	52
6. CONCLUSÕES .....	53
7. REFERÊNCIAS.....	55
APÊNDICES	

**LISTAS**

---

## ABREVIATURAS

$\beta$ -MHC: cadeia pesada da  $\beta$ -miosina cardíaca  
AE: átrio esquerdo  
alt: altura  
ASE: do inglês *American Society of Echocardiography*  
CF: classe funcional  
CMH: cardiomiopatia hipertrófica  
D: deleção  
Dd: diâmetro diastólico  
DNA: ácido desoxirribonucléico  
dp: desvio padrão  
ECA: enzima conversora da angiotensina  
ECO: ecocardiograma  
F: feminino  
FE: fração de ejeção  
g/m<sup>2</sup>: gramo por metro quadrado  
HVE: hipertrofia ventricular esquerda  
I: inserção  
IECA: inibidor da enzima conversora da angiotensina  
M: masculino  
M: média  
m<sup>2</sup>: metro quadrado  
mg/dl: miligrama por decilitro  
ml: mililitro  
mm: milímetro  
mmHg: milímetro de mercúrio  
MS: morte súbita  
N: não  
n: número de pacientes  
NYHA: *New York Heart Association*  
p: valor de significância  
PCR: reação em cadeia da polimerase (do inglês *polymerase chain reaction*)  
PP: parede posterior  
S: sim  
Sc: superfície corpórea  
SIV: septo interventricular  
Tn C: troponina C  
Tn I: troponina I  
Tn T: troponina T  
VE: ventrículo esquerdo

## FIGURAS

- Figura 1** – Exemplo da determinação dos genótipos I/D do gene da ECA por PCR ..... 20
- Figura 2** – Triplicata (3 *wells*) da amostra com o tampão e 1 *well* como controle negativo, no qual foi adicionado captopril ..... 23

## GRÁFICOS

- Gráfico 1** – Exemplo de gráfico elaborado a partir da atividade enzimática de um paciente determinada de forma contínua em fluorímetro ..... 24
- Gráfico 2** – Prevalência de pacientes com cardiomiopatia hipertrófica nas formas familiar e não familiar nos diferentes genótipos ..... 30
- Gráfico 3** – Comparação entre o índice de massa do ventrículo esquerdo e as formas familiar e não familiar ..... 32
- Gráfico 4** – Pacientes portadores de cardiomiopatia hipertrófica: formas familiar e não familiar em relação ao índice de massa do ventrículo esquerdo..... 33
- Gráfico 5** – Comparação entre a espessura do septo e as formas familiar e não familiar ..... 34
- Gráfico 6** – Comparação entre a espessura da parede posterior e as formas familiar e não familiar ..... 35
- Gráfico 7** – Distribuição entre os genótipos e o índice de massa do ventrículo esquerdo..... 36
- Gráfico 8** – Distribuição entre os genótipos e a espessura do septo..... 37
- Gráfico 9** – Distribuição entre os genótipos e a espessura da parede posterior ..... 38
- Gráfico 10** – Comparação entre a atividade da enzima conversora da angiotensina e o índice de massa do ventrículo esquerdo ..... 39



<b>Gráfico 11</b> – Comparação entre a atividade da enzima conversora da angiotensina e o índice de massa do ventrículo esquerdo nos pacientes com cardiomiopatia hipertrófica na forma familiar.....	40
<b>Gráfico 12</b> – Comparação entre a atividade da enzima conversora da angiotensina e o índice de massa do ventrículo esquerdo nos pacientes com cardiomiopatia hipertrófica na forma não familiar.....	41
<b>Gráfico 13</b> – Curva de regressão logística para o índice de massa $\geq 190$ g/m <sup>2</sup> segundo a atividade da enzima conversora da angiotensina em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica na forma familiar e não familiar .....	42
<b>Gráfico 14</b> – Correlação entre a espessura do septo e a atividade da enzima conversora da angiotensina em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica nas formas familiar e não familiar .....	43
<b>Gráfico 15</b> – Correlação entre a espessura da parede posterior e a atividade da enzima conversora da angiotensina em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica nas formas familiar e não familiar .....	44

## TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Caracterização da amostra: dados epidemiológicos e clínicos dos pacientes com cardiomiopatia hipertrófica nas formas familiar e não familiar .....	29
<b>Tabela 2</b> - Média das variáveis: índice de massa do ventrículo esquerdo, septo interventricular, parede posterior e átrio esquerdo nas formas familiar e não familiar .....	31

## RESUMO

---

Buck PC. *Correlação entre polimorfismo e atividade da enzima conversora da angiotensina com o grau de hipertrofia miocárdica nas formas familiar e não familiar em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006.

FUNDAMENTOS: O polimorfismo e a atividade da enzima conversora da angiotensina (ECA) contribuem, de forma significativa, na expressão fenotípica e no prognóstico de pacientes com cardiomiopatia. OBJETIVOS: Determinar o polimorfismo da ECA, realizar a sua dosagem sérica e correlacioná-los com o grau de hipertrofia miocárdica e o índice de massa do ventrículo esquerdo em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica (CMH) nas formas familiar e não familiar. CASUÍSTICA E MÉTODO: Foram estudados 136 pacientes consecutivos com CMH (69 da forma familiar e 67 da forma não familiar) com média de idade de  $40,53 \pm 17,45$  anos, sendo 76 do sexo masculino. Os indivíduos foram submetidos ao ecocardiograma para obtenção das medidas do septo interventricular, parede posterior e massa do ventrículo esquerdo e coleta de sangue para determinação do polimorfismo e dosagem sérica da atividade da ECA. RESULTADOS: Quanto ao genótipo do polimorfismo do gene da ECA, encontramos DD 47(35%), ID 71(52%) e II 18 (13%), sendo que do genótipo DD 34% na forma familiar e 36% na forma não familiar. A média da atividade da ECA foi de  $56.414 \pm 19.236$  para os pacientes com CMH na forma familiar e de  $55.085 \pm 22.634$  para a forma não familiar ( $p = 0,714$ ). A média do índice de massa do ventrículo esquerdo na forma familiar foi  $154 \pm 63$  g/m<sup>2</sup> e na forma não familiar foi  $174 \pm 57$  g/m<sup>2</sup> ( $p = 0,008$ ). A média do septo interventricular nas formas familiar e não familiar foi, respectivamente,  $19 \pm 5$  mm e  $21 \pm 5$  mm ( $p = 0,020$ ). A média da parede posterior do ventrículo esquerdo nas formas familiar e não familiar foi, respectivamente,  $10 \pm 2$  mm e  $12 \pm 3$  mm ( $p = 0,0001$ ). Não observamos correlação entre o polimorfismo e o grau

de hipertrofia miocárdica ( $p = 0,651$ ). Houve correlação positiva entre a atividade da ECA e o índice de massa do ventrículo esquerdo ( $p = 0,038$ ). Os pacientes com a forma familiar, pela curva de regressão logística, possuíam o risco de apresentar índice de massa  $\geq 190 \text{ g/m}^2$ , somente com o dobro do valor da atividade da ECA, quando comparados aos pacientes com a forma não familiar ( $p = 0,022$ ). **CONCLUSÕES:** Não houve diferença estatisticamente significativa entre o genótipo do polimorfismo e da atividade da ECA nos pacientes com CMH nas formas familiar e não familiar. Não houve correlação entre o polimorfismo da ECA e o grau de hipertrofia miocárdica. Houve correlação positiva entre a atividade da ECA e o índice de massa do ventrículo esquerdo.

**Descritores:** Cardiomiopatia hipertrófica; polimorfismo genético; peptidil dipeptidase A; hipertrofia ventricular esquerda; genótipo; frequência do gene; genética

## SUMMARY

---

Buck PC. *Correlation between polymorphism and activity of the angiotensin converting enzyme with the degree of myocardium hypertrophy in the familial and nonfamilial forms of the hypertrophic cardiomyopathy* [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006.

**BACKGROUND:** The polymorphism and the activity of the angiotensin converting enzyme (ACE) contributes of significant form in the phenotypic expression and the prognostic of patients with cardiomyopathy. **OBJECTIVES:** To determine the ACE polymorphism and ACE plasma levels in patients with hypertrophic cardiomyopathy (HCM) in the familial and nonfamilial forms and to correlate it with the degree of myocardium hypertrophy and with the left ventricular mass index. **PATIENTS AND METHODS:** 136 consecutive patients with HCM (69 of familial and 67 of nonfamilial forms) were studied. The mean age was  $40.53 \pm 17.45$  years, 76 were male. The individuals were submitted to the Echo-Doppler for the measurement of interventricular septum, wall thickness and the left ventricular mass index. The blood samples were taken for extraction of the DNA for the polymerase reaction and measurement of ACE plasma levels. **RESULTS:** Regarding the genotype of the ACE gene polymorphism, we found DD 47 (35%), ID 71 (52%) and II 18 (13%), being that of genotype DD 34% in the familial and 36% in the nonfamilial forms. The mean of the activity of the ACE was  $56.414 \pm 19.236$  for the patients with HCM in the familial form and  $55.085 \pm 22.634$  in the non familial form ( $p = 0.714$ ). The mean of the left ventricular mass index in the familial form was  $154 \pm 63$  g/m<sup>2</sup> and in the nonfamilial form was  $174 \pm 57$  g/m<sup>2</sup> ( $p = 0.0080$ ). The mean of interventricular septum in the familial and nonfamilial forms was  $19 \pm 5$  mm and  $21 \pm 5$  mm ( $p = 0.0200$ ), respectively. The mean of the wall thickness in the familial and nonfamilial forms was  $10 \pm 2$  mm and  $12 \pm 3$  mm ( $p = 0.0001$ ), respectively. We did not observe correlation between the

polymorphism and the degree of myocardium hypertrophy ( $p = 0.651$ ). A positive correlation between the activity of the ACE and the left ventricular mass index ( $p = 0.038$ ) was observed. In patients with the familial form, using a logistic regression curve, they had the risk to present the left ventricular mass index  $\geq 190$  g/m<sup>2</sup>, only with the double of the value of the activity of the ACE, when compared with the patients in the nonfamilial form ( $p = 0.022$ ). CONCLUSIONS: There was no difference between the patients with HCM in the familial and nonfamilial forms regarding genotype of the polymorphism and activity of the ACE. There was no correlation between the polymorphism of the ACE with the degree of myocardium hypertrophy. Positive correlation with the activity of the ACE and the left ventricular mass index was observed.

**Keywords:** Hypertrophic cardiomyopathy; genetic polymorphism; peptidyl-dipeptidase A; hypertrophy left ventricular; genotype; gene frequency; genetics.

## 1. INTRODUÇÃO

---



A cardiomiopatia hipertrófica (CMH) é uma doença primária do coração, caracterizada por hipertrofia miocárdica, sem dilatação ventricular, na ausência de outras situações anormais, cardíacas ou sistêmicas, que possam levar à hipertrofia <sup>1</sup>. Na maioria dos casos compromete o ventrículo esquerdo (VE), geralmente de forma assimétrica, com graus variados de gravidade e distribuição <sup>2</sup>.

A prevalência na população geral é de 0,2% e entre os portadores de cardiopatia é de 0,5% <sup>3</sup>. Assim, com base nesta prevalência e na projeção intercensitária da população residente no nosso país em 2006 (186.770.613), temos um valor estimado de 373.541 portadores da doença <sup>4</sup>.

A mortalidade anual dos pacientes com CMH é de 3%-4%, sendo maior que 6% em crianças <sup>5</sup>. Quando comparada à de pacientes não selecionados observa-se mortalidade semelhante (0,5%-1,5%) à da população geral adulta <sup>6, 7, 8</sup>. No entanto, há subgrupos com maior morbimortalidade que estão relacionados com morte súbita (MS), piora da insuficiência cardíaca e fibrilação atrial com acidente vascular cerebral <sup>9</sup>. Outros estudos sugerem ser a hipertrofia do VE marcador prognóstico na doença e observaram que a espessura da parede ventricular  $\geq 30$  mm estava associada com maior incidência de MS na CMH <sup>10, 11</sup>.

A CMH é uma doença geneticamente complexa, de evolução e prognósticos variados, apresentada com grande heterogeneidade fenotípica

<sup>6, 8</sup> que vem suscitando intensa investigação há várias décadas. Teare (1958) <sup>12</sup> descreveu a CMH em oito pacientes, nos quais observou-se alta incidência de MS, Braunwald *et al.* (1964) <sup>13</sup> e Frank *et al.* (1968) <sup>14</sup> descreveram várias famílias com CMH denotando uma transmissão hereditária da doença. Em 1989 demonstrou-se etiologia ligada a um gene alterado no cromossomo 14 <sup>3, 15</sup>.

São conhecidas alterações específicas nos genes codificadores das proteínas sarcoméricas que estão associadas a mudanças na estrutura e função ventricular e são transmitidas de forma autossômica dominante em 60% a 82% dos casos <sup>9</sup>. As proteínas sarcoméricas envolvidas são: cadeia pesada da  $\beta$ -miosina cardíaca ( $\beta$ -MHC), troponina I (Tn I), troponina T (Tn T), troponina C (Tn C),  $\alpha$ -tropomiosina, cadeias leves da miosina reguladora e essencial e proteína C de ligação à miosina cardíaca <sup>7, 16</sup>.

As mutações genéticas específicas estão associadas às mudanças em um aspecto particular da função da proteína sarcomérica e podem afetar a ativação dos miofilamentos e a contração. Por exemplo, algumas mutações da cadeia pesada da  $\beta$ -miosina e da troponina T relacionam-se com a maior incidência de morte prematura, quando comparadas a outras mutações <sup>6</sup>.

Os genes mutantes da cadeia pesada da  $\beta$ -MHC, da proteína C de ligação à miosina e da troponina T respondem por aproximadamente 60%

a 70% dos casos <sup>17</sup>.

Clark *et al.* (1973) <sup>18</sup> e van Dorp *et al.* (1976) <sup>19</sup>, realizando estudo ecocardiográfico de familiares de pacientes com CMH, demonstraram ser esta doença autossômica dominante, com elevado mas variável grau de penetrância.

A CMH é, provavelmente, a doença cardiovascular mais freqüente transmitida geneticamente <sup>12, 17</sup>. Em nosso meio, Tirone *et al.* <sup>20</sup> realizaram o primeiro estudo com enfoque nas alterações genéticas da forma familiar da CMH. Neste estudo demonstrou-se a importância do fator genético relacionado às mutações nos genes da  $\beta$ -miosina e da proteína C de ligação à miosina.

Embora a etiologia seja genética, alguns estudos descrevem também fatores ambientais para explicar a variedade da expressão fenotípica. Estes fatores isolados não ocasionariam a doença, mas afetariam a gravidade. Baseado nestes dados, o polimorfismo deleção/inserção (D/I) do gene da enzima conversora da angiotensina (ECA) aparece na literatura como sendo um importante fator modificador, caracterizado pelos alelos D e I, resultando em três genótipos distintos: II, ID e DD. É descrita prevalência em pacientes com CMH heterozigótica – 50%, homozigótica – 30% e II – 20% que está associada a diferentes níveis plasmáticos da ECA e sua atividade <sup>6, 21, 22, 23</sup>.

Observou-se, inicialmente, que a frequência do alelo D estava aumentada somente em famílias com alta incidência de MS e que havia relação com o aumento da hipertrofia cardíaca, demonstrada posteriormente<sup>22</sup>, sendo mais prevalente em pacientes com CMH quando comparada à dos parentes sem a doença <sup>24</sup>.

O genótipo DD é mais freqüente que ID ou II em pacientes de famílias com CMH que nas formas isoladas. É descrito em portadores de CMH com genótipo DD aumento de 6 vezes na massa do VE, quando comparado ao genótipo II. Além disso, o genótipo DD estava associado a maior hipertrofia do VE no septo interventricular, ápice e parede lateral. Na CMH a deleção homozigótica associava-se a maior nível sérico de atividade da ECA, risco adicional para infarto do miocárdio, cardiomiopatia dilatada, gravidade da hipertrofia, incidência de MS e de fibrilação atrial <sup>25, 26, 27</sup>. O genótipo DD parece ter papel significativo no grau de penetrância e na expressão fenotípica em pacientes com CMH <sup>6</sup>.

A literatura mostra diferentes estudos com o polimorfismo da ECA em pacientes com CMH em diversas populações, comparando afetados e seus familiares não afetados e sua associação com as mutações das proteínas sarcoméricas. Concluíram que estes fatores estão presentes e influenciam a expressão fenotípica da hipertrofia e o prognóstico e que o

alelo D e o genótipo DD também são fatores predisponentes para expressar a CMH <sup>24, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33</sup>.

A ECA participa da conversão da angiotensina I em angiotensina II (ação vasoconstritora) no coração e em outros sistemas e na hidrólise da bradicinina (ação vasodilatadora) <sup>23</sup>. A angiotensina II é um fator mediador importante na hipertrofia miocárdica secundária, no remodelamento pós-infarto do miocárdio e na insuficiência cardíaca. Tem efeito pró-fibrótico no miocárdio e, embora não esteja aumentada no sangue de pacientes com CMH, parece existir uma relação entre o fenótipo e o polimorfismo genético da ECA <sup>34</sup>.

A fibrose miocárdica intersticial interfere, principalmente, na contração e relaxamento ventricular e é considerada fator de evolução desfavorável em longo prazo, podendo estar envolvida na gênese da MS na CMH <sup>9</sup>.

Unverferth *et al.* (1987) <sup>35</sup> encontraram aumento significativo da fibrose no miocárdio dos portadores de CMH, principalmente no septo interventricular (SIV).

Outros estudos sugerem que a fibrose miocárdica é uma das principais causas de disfunção diastólica na CMH. A dilatação atrial, encontrada na grande maioria dos pacientes com a doença, estaria relacionada à diminuição da complacência ventricular e ao grau de fibrose.

Este achado tem importância clínica, pois dados da literatura demonstram que o aumento do diâmetro do AE está relacionado à piora funcional e dos sintomas<sup>36, 37</sup>.

Sabendo-se dos efeitos da angiotensina II no miocárdio, da evidência da relação entre o fenótipo, do polimorfismo genético da ECA e do fato de não haver dados na literatura demonstrando correlação entre o polimorfismo e a atividade da ECA nas formas familiar e não familiar com o grau de hipertrofia miocárdica houve o interesse em desenvolver o presente estudo.

## 2. OBJETIVOS

---

- Determinar o polimorfismo da enzima conversora da angiotensina e realizar a sua dosagem sérica em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica nas formas familiar e não familiar.
- Correlacionar o polimorfismo e a atividade da enzima conversora da angiotensina com o grau de hipertrofia miocárdica e o índice de massa do ventrículo esquerdo.



### 3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

---

### 3.1. Casuística

Foram selecionados 152 portadores de CMH, consecutivamente, em seguimento no Ambulatório da Unidade Clínica de Miocardiopatias do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor – HC-FMUSP).

#### 3.1.1. Critério de inclusão

- Ecocardiograma da época do estudo com diagnóstico de hipertrofia sem dilatação do VE, com espessamento da parede ventricular >15 mm nos portadores de CMH e >13 mm em familiares <sup>38</sup>.

#### 3.1.2. Critérios de exclusão

- Uso de inibidores da ECA e/ou bloqueadores dos receptores tipo 1 da angiotensina II
- Hipertensão arterial (pressão sistólica maior que 139 mmHg e diastólica maior que 89 mmHg) <sup>39</sup>
- Co-morbidades (creatinina  $\geq 1,5$  mg/dl, glicemia  $\geq 126$  mg/dl)

A forma familiar foi caracterizada por história de morte súbita, acometimento e/ou diagnóstico de CMH em parentes com menos de 40 anos até o 3º grau de parentesco <sup>33</sup>. Se esses critérios não fossem

encontrados eram definidos como forma não familiar.

Foram selecionados 81 pacientes com a forma não familiar e 71 com a forma familiar.

Dos 81 acometidos da forma não familiar, dez casos foram excluídos por fazerem uso de inibidores da ECA e bloqueadores dos receptores tipo 1 da angiotensina II, na ocasião da realização do ecocardiograma e da coleta da amostra de sangue, e quatro por não haver alíquota suficiente de soro congelado e/ou DNA. Dos 71 pacientes acometidos com a forma familiar, dois foram excluídos, por não haver alíquota suficiente de soro congelado e/ou DNA.

## 3.2. Métodos

### 3.2.1. Ecocardiograma com Doppler

Foi realizado para avaliação da estrutura e função das câmaras cardíacas, com o paciente em decúbito lateral esquerdo, segundo técnica previamente descrita e incluiu análise das imagens nos modos M (unidimensional), bidimensional e análise espectral de fluxos cardíacos segundo a técnica de Doppler. O aparelho utilizado foi da marca *Acuson* modelo *Sequóia.512* (*Mountainview, CA*), utilizando-se transdutor multifreqüencial (2-3,5 MHz). Todos os exames foram realizados por dois

observadores distintos e os resultados expressos pela média dos valores, gravados em papel termo-sensível e fitas de videocassete para eventual revisão e arquivados na Unidade Clínica de Miocardiopatias.

As imagens do ventrículo esquerdo, obtidas pela ecocardiografia bidimensional com a utilização de incidências padronizadas, foram utilizadas para avaliar, em tempo real, o padrão de contração regional e global da estrutura ventricular e também para orientar na aquisição do modo M. As medidas das dimensões internas do VE foram obtidas pelo modo M, no final da sístole e final da diástole, com auxílio de registro eletrocardiográfico simultâneo, de acordo com as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia (ASE) <sup>38</sup>, assim como as medidas das espessuras do septo interventricular e da parede livre no final da diástole. A técnica de Doppler também foi utilizada na detecção e quantificação de regurgitações valvares, assim como na detecção, quantificação e cálculos para a estimativa de gradientes de pressão intraventricular.

As medidas dos diâmetros internos do VE, obtidas no final da sístole e da diástole, permitiram os cálculos da fração de ejeção (em porcentagem), conforme metodologia já estabelecida <sup>40</sup>. Portanto, as variáveis ecocardiográficas estudadas foram: espessura do septo interventricular e da parede posterior do ventrículo esquerdo no final da

diástole na região de maior espessura do ventrículo (em milímetros); diâmetro diastólico do átrio esquerdo (em milímetros) pela fórmula do cubo; diâmetro interno do VE no final da diástole (em milímetros); fração de ejeção do VE, também pela fórmula do cubo; gradiente da via de saída do ventrículo esquerdo (em milímetros de mercúrio).

Foram utilizados os critérios de normalidade previamente estabelecidos para as medidas das dimensões ventriculares <sup>41</sup>. A fração de ejeção foi considerada normal para valores acima de 0,60. Os valores anormais para septo e parede posterior foram >15 mm para os portadores de CMH e >13 mm para os familiares. O gradiente na via de saída do VE foi considerado significativo quando >30 mmHg.

A massa do ventrículo esquerdo foi obtida com o uso da fórmula:

$$\text{massa VE (g)} = 0,8\{1,04[(Dd + PP + SIV)^3 - (Dd)^3] \} + 0,6$$

onde:

Dd = diâmetro diastólico do VE, em cm

PP = espessura da parede posterior, em cm

SIV = espessura do septo interventricular, em cm <sup>42</sup>

O cálculo da superfície corpórea foi feito com o uso da fórmula:

$$\text{SC (m}^2\text{)} = \text{peso}^{0,425} \times \text{alt}^{0,725} \times 0,00718 \quad ^{43}$$

Posteriormente, foi indexada a massa do VE para a superfície corpórea, com o uso da fórmula:

$$\text{índice de massa do ventrículo esquerdo} = \text{massa/SC (g/m}^2\text{)}$$

### 3.2.2. Determinação do polimorfismo e da dosagem sérica da atividade da ECA

Foram colhidas amostras de sangue em dois tubos – um seco, para a dosagem sérica da atividade da ECA e outro com EDTA, para determinar o genótipo.

#### a) Estudo genético

Das amostras de sangue periférico armazenadas em tubos contendo anticoagulante (K3) foi realizada a extração do DNA genômico no Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular – InCor - HC-FMUSP.

##### ▪ Extração do DNA

- Material: 8 ml de sangue periférico coletado em tubo contendo K3.
- Hemólise: o sangue total foi transferido para um tubo Falcon de 50 ml, completado para 20 ml com tampão A (1 mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , 144 mM  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), agitado no aparelho *Daigger Vortex Genie 2 TM* (A. Daigger & Co., Inc), sendo a seguir mantido a 4°C durante 10

- minutos e depois centrifugado a 4°C durante 10 minutos a 3000 rpm.
- Lavagem: descartou-se o sobrenadante, sendo a seguir adicionados 20 ml de tampão A e o sedimento leucocitário ressuspenso pela agitação (Vortex), mantido a 4°C durante 10 minutos e centrifugado a 4°C por mais 10 minutos a 3000 rpm.
  - Lise: descartou-se o sobrenadante, ressuspenso-se o sedimento leucocitário em 3 ml do tampão B (10 mM Tris HCl pH 8,0, 400 mM NaCl, 2 mM Na<sub>2</sub>EDTA pH 8.0) + 200 µl de sulfato deodecil de sódio 10% + 500 µl de tampão C com proteinase K [2 µl de proteinase K 20 mg/ml diluída em 5 ml de tampão C (50µl de sulfato deodecil de sódio 10%, 2µl de Na<sub>2</sub> EDTA 0,5M pH 8.0, 488 ml de água destilada)] e mantido a 37°C (estufa) por aproximadamente 18 horas.
  - Precipitação: adicionou-se 1 ml de solução D (NaCl 6M), misturou-se vigorosamente durante 1 minuto (Vortex), centrifugou-se a 4°C durante 20 minutos a 3000 rpm, sendo a seguir transferido o sobrenadante para um tubo Falcon de 15 ml, adicionado 1 volume de etanol 100% (mantido a -20°C) e retirou-se o DNA precipitado, sendo transferido para um tubo de 1,5 ml contendo 1 ml de etanol 70% (mantido a -20°C), centrifugou-se a 4°C por 15 minutos a 13500 rpm, descartou-se o sobrenadante e deixou-se secar bem o tubo à temperatura ambiente.
  - Dosagem: para fazer a dosagem do DNA este deve estar solubilizado por 24 horas. Para isso adicionou-se ao DNA 1 ml de TE diluído uma vez (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH=8,0). Em seguida, utilizou-se o espectrofotômetro (*modelo Ultrospec III, da marca Pharmacia LKB*), para estimar a concentração. Foram utilizados 10 µl da solução de DNA e adicionados 990 µl de água ou TE, obtendo-se 1 ml de volume total no tubo de *Eppendorf* de

1,5 ml. Em cada cubeta de quartzo do espectrofotômetro foi colocado o volume total do tubo de *Eppendorf* (que contém o DNA que será dosado) e na cubeta chamada de "branca" utilizou-se o mesmo volume de água ou TE. Foram feitas leituras na densidade óptica (DO) de 260 nm (onde se tem o DNA puro) e 280 nm (onde se tem DNA misturado com RNA) e a relação  $DO_{260}/DO_{280}$  deveria estar entre 1,5 a 2,0 para se ter concentração adequada de DNA. A concentração do DNA em ng/ $\mu$ l foi estimada da seguinte forma:  $DO_{260} \times \text{diluição} \times \text{fator}$ , na qual a diluição foi calculada pelo volume total que havia no tubo de *Eppendorf* em  $\mu$ l dividido pela quantidade da solução de DNA adicionada em  $\mu$ l, obtendo  $1000/10 = 100$ . O fator do DNA é sempre 50.

**b) Preparo das amostras para realização da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR)**

A técnica de PCR consiste da síntese *in vitro* de seqüências definidas de DNA. A reação de síntese é enzimática e necessita de iniciadores (*primers*) que são oligonucleotídeos com cerca de 20 nucleotídeos para a amplificação de regiões específicas do DNA, O fragmento de DNA a ser amplificado, chamado seqüência alvo, é identificado por um par específico de *primers* que flanqueiam a região de interesse <sup>44</sup>.

A reação de PCR foi utilizada para amplificar a seqüência do gene da ECA. Foi utilizado um par de marcador (*primers*) para o gene completo da ECA (deleção + inserção):

- POLhACE1 – 5' CTG-GAG-ACC-ACT-CCC-ATC-CTT-TCT 3'



- POLhACE2 – 5' GAT-GTG-GCC-ATC-ACA-TTC-GTC-AGA-T 3'.

Foi utilizado um par de marcador (*primers*) para uma fração do gene da ECA (inserção):

- POLhACE3 – 5' TGG-GAC-CAC-AGC-GCC-CGC-CAC-TAC 3'
- POLhACE4 – 5' TCG-CCA-GCC-CTC-CCA-TGC-CCA-TAA 3'.

Para uma amostra colocou-se na placa de PCR 0,4 µl do DNA em solução com concentração de 100 ng/µl, bem no fundo de cada espaço da placa sem contaminar as laterais. Em seguida, preparou-se, em um tubo de *Eppendorf* de 1,7 ml, a mistura para a concentração de 100 ng/µl: 1,8 µl de tampão (250 mM cloreto de potássio (KCl), 12,5 mM cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>), 50 mM Tris-hydrochloric acid (pH 9,0), 0,5% Triton X-100 e H<sub>2</sub>O Milli-Q q.s.p. 13,4 ml) + dNTPs (que são as bases nitrogenadas-A/C/G/T), 0,4 µl do marcador 1 (solução de 5,0 pmole/µl), 0,4 µl do marcador 2 (solução de 5,0 pmole/µl), 0,5 µl de dimetil sulfóxido (solução a 99,5%), 6,5 µl de H<sub>2</sub>O Milli-Q e 0,06 µl de Taq DNA polimerase (concentração de 5 U/µl).

Desta mistura distribuíram-se 9,6 µl em cada poço da placa de PCR (que já continha 0,4 µl do DNA), totalizando um volume final de reação

de 10  $\mu$ l (a concentração desta mistura no volume final de 10  $\mu$ l é de 50 mM de cloreto de potássio, 2,5 mM de cloreto de magnésio, 10 mM de Tris base pH 9,0, 0,1% Triton X-100 e 0,05  $\mu$ M de cada um dos dNTPs) <sup>45</sup>.

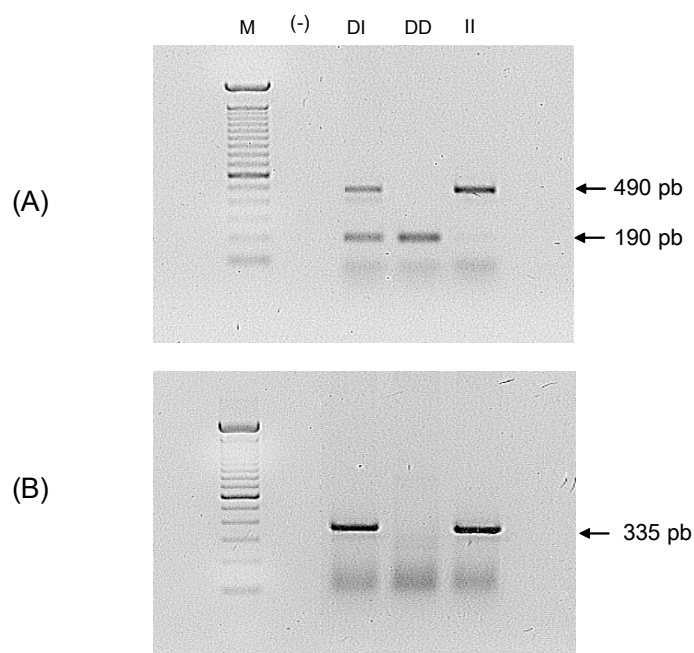
Colocou-se a placa de PCR no aparelho termociclador (*PTC-225/Peltier Thermal Cycler, da marca MJ Research Inc, Watertown, Massachussets, USA*), com a seguinte programação: um ciclo a 94°C por 1 min, 30 ciclos a 92°C por 30 segundos, 58°C por 3 min, 72°C por 1 min e um ciclo a 72°C por 10 min para o gene completo da ECA (deleção e inserção).

Como controle negativo usamos uma amostra com ausência de DNA. Após o término da reação, as amostras do PCR foram analisadas por eletroforese em gel de agarose de 1% <sup>46</sup>.

As amostras genotipadas como DD foram submetidas a uma segunda reação de PCR com a seguinte programação: um ciclo a 94°C por 1 min, 30 ciclos a 92°C por 30 segundos, 69°C por 3 min, 72°C por 1 min e um ciclo a 72°C por 10 min para confirmação do genótipo DD.

Como controle positivo, usamos uma amostra sabidamente II e como controle negativo usamos uma amostra com ausência de DNA. Após o término da reação as amostras do PCR foram analisadas por eletroforese

em gel de agarose de 1,8% e somente as amostras que continham o alelo I foram amplificadas (figura 1).



**Figura 1** - Exemplo da determinação dos genótipos I/D do gene da ECA por PCR.

Gel de agarose 1% (A) e 1,8% (B) corado com brometo de etídeo

- (A): reação de PCR com utilização dos *primers* 1 e 2; M - marcador de peso molecular (100 pb DNA *ladder* / GIBCO BRL); (-) - controle negativo; DI - genótipo DI (190 pb e 490 pb); DD - genótipo DD (190 pb); II - genótipo II (490 pb);
- (B): reação de PCR com utilização dos *primers* 3 e 4; o produto de amplificação de 335 pb corresponde à região do gene que contém a inserção

### **b.1) Preparo do gel de agarose 1% e 1,8%**

Para a concentração de 1% pesou-se 1,0 g de agarose e para a de 1,8% pesou-se 1,8 g; a seguir adicionou-se 100 ml de TAE (40 mM Tris-acetato, 1mM EDTA, pH=8,0). Dissolveu-se no aparelho de microondas com potência máxima por 3 min, adicionou-se 50 µl de brometo de etídeo (1 mg/ml), homogeneizou-se levemente e em seguida colocou-se a solução em placa de acrílico até a sua polimerização completa. Montou-se o gel em uma cuba horizontal de eletroforese, adicionando-se 500 ml de TAE diluído uma vez. A cuba que contém o gel foi, então, ligada a uma fonte de eletroforese (*GIBCO BRL Programmable Power Supply, modelo 4001P da marca Life Technologies*), com voltagem fixada em 100 Volts. Foram aplicados 12 µl das amostras, correndo-se o gel por 1 hora (o que determina o tempo de corrida é o tamanho do fragmento amplificado na reação de PCR).

### **b.2) Preparo das amostras do produto de PCR**

Utilizou-se um corante chamado *running buffer* com a seguinte composição: 30% de glicerol, 0,25% de azul de bromofenol e 0,25% de xileno cianol e H<sub>2</sub>O deionizada q.s.p. para 10 ml.

Para preparar as amostras a serem analisadas colocou-se 10  $\mu\text{l}$  do produto de PCR e 2  $\mu\text{l}$  de *running buffer*, obtendo-se assim um volume final de 12  $\mu\text{l}$ . Em um tubo à parte foi feito o marcador com a seguinte composição: 1  $\mu\text{l}$  de 100 *bp ladder* (250 ng), 0,9  $\mu\text{l}$  de TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH = 8,2) diluído uma vez e 2  $\mu\text{l}$  de *running buffer*. As amostras foram centrifugadas rapidamente e, a seguir, aplicou-se o volume total das amostras e do *ladder* 100 bp (12  $\mu\text{l}$ ) nos poços do gel. Deixou-se correr por 1 hora.

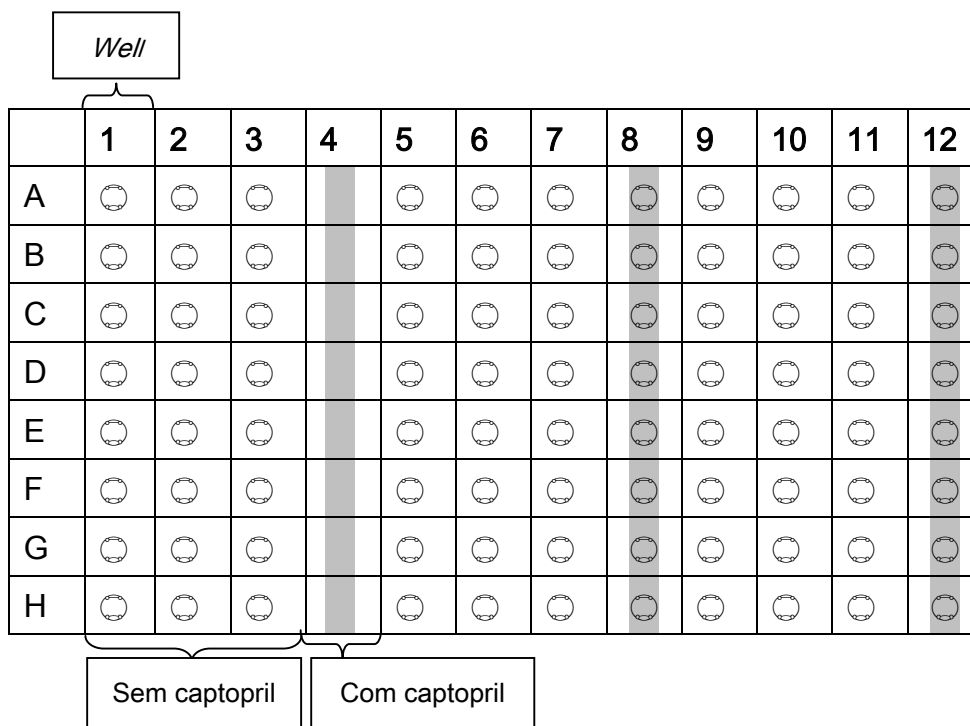
Em seguida foi retirado o gel da cuba e colocado no aparelho *Eagle Eye™ II* (*Stratagene®*), que funciona com a emissão de raios ultravioleta (UV) que ao incidir no brometo de etídeo emite fluorescência captada por uma máquina fotográfica, transformando-a em imagem real.

Desta forma conseguimos analisar e genotipar cada indivíduo.

### c) Dosagem sérica da atividade da ECA

Para o ensaio foram utilizados 3  $\mu\text{l}$  de soro mantidos sob incubação a 4°C com uma solução de Abz-FRK (Dnp) P-OH (Abz = ácido ortho-aminobenzóico; Dnp = dinitrophenil) 15  $\mu\text{M}$  em tampão (Tris-HCl 1 mM, NaCl 50 mM e ZnCl<sub>2</sub> 10  $\mu\text{M}$ ), em triplicata num volume final

de 200  $\mu$ l. Como controle negativo, a hidrólise do Abz-FRK(Dnp)P-OH foi abolida no homogeneizado de soro por 0,5 M de captopril (figura 2).



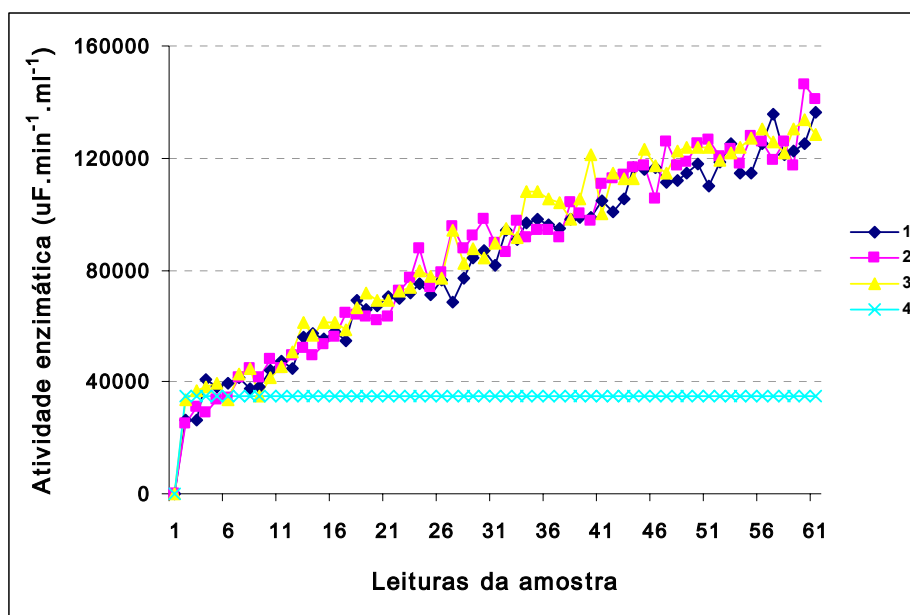
**Figura 2** – Triplicata (3 *wells*) da amostra com o tampão e 1 *well* como controle negativo, no qual foi adicionado captopril

Numa segunda etapa a atividade enzimática foi determinada de forma contínua em fluorímetro ( $\lambda_{em} = 420\text{nm}$  e  $\lambda_{ex} = 320\text{ nm}$ ), isto é, medindo-se a fluorescência por 60 minutos (uma leitura por minuto), no aparelho *Wallac Victor 2 1420 Multilabel Counter (Perkin Elmer Life Sciences)*. Este método se baseia na utilização de um substrato fluorescente (Abz-FRK(Dnp)P-OH) que é clivado com alta afinidade pela

ECA ( $K_{cat}/K_m = 45,4 \cdot 10^{-4} \cdot s^{-1}$ )<sup>47</sup>. Como controle negativo, a hidrólise do Abz-FRK(Dnp)P-OH foi abolida no homogeneizado de soro por 0,5 M de captopril.

A partir da leitura das amostras foi obtida uma curva de fluorescência por unidade de tempo e a inclinação desta curva resultou na atividade da ECA, que foi convertida em  $\mu\text{mol}$  de substrato hidrolisado por minuto (gráfico 1).

A atividade da ECA está expressa em  $\text{uF} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$ .



**Gráfico 1** – Exemplo de gráfico elaborado a partir da atividade enzimática de um paciente determinada de forma contínua em fluorímetro ( $\lambda_{em} = 420\text{nm}$  e  $\lambda_{ex} = 320\text{ nm}$ ), isto é, medindo-se a fluorescência por 60 minutos (uma leitura por minuto)

### 3.2.3. Análise estatística

As variáveis qualitativas foram apresentadas em tabelas contendo frequências absolutas (n) e relativas (%). A associação destas variáveis com a massa do VE  $>190$  g/m<sup>2</sup> foi avaliada com o teste qui-quadrado. A correlação das medidas ecocardiográficas com o polimorfismo e a atividade da ECA foi feita pelo teste de Spearman.

As variáveis quantitativas foram apresentadas descritivamente em tabelas contendo média, desvio padrão, valores mínimos e máximos. As médias foram comparadas com o teste t-Student. As variáveis que apresentaram significância estatística na análise univariada foram utilizadas no ajuste do modelo de regressão logística.

Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes <sup>48</sup>.



#### **3.2.4. Aspectos éticos**

Este trabalho foi aprovado pela Comissão Científica do InCor-HC-FMUSP (SDC – 1387/98/082, reaberto em 2005) e pela Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq nº 360/98).

Todos os pacientes que participaram deste estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido após esclarecimento verbal sobre os objetivos e detalhes do estudo (conforme resolução do Conselho Nacional de Saúde 196, de 10/10/1996).

## 4. RESULTADOS

---

#### 4.1. Epidemiológicos e clínicos

Foram avaliados 136 pacientes portadores de CMH, sendo 69 (50,74%) com a forma familiar e 67 (49,26%) com a forma não familiar.

A média da idade foi de 40,53 anos (variando de 3 a 96 anos; dp = 17,45), sendo 76 (55,88%) do sexo masculino e 60 (44,12%) do feminino.

Em relação à classe funcional da *New York Heart Association* (CF NYHA), 72 pacientes (54,14%) encontravam-se em CF I, 47 (35,34%) em II, 12 (9,02%) em III e 2 (1,50%) em IV.

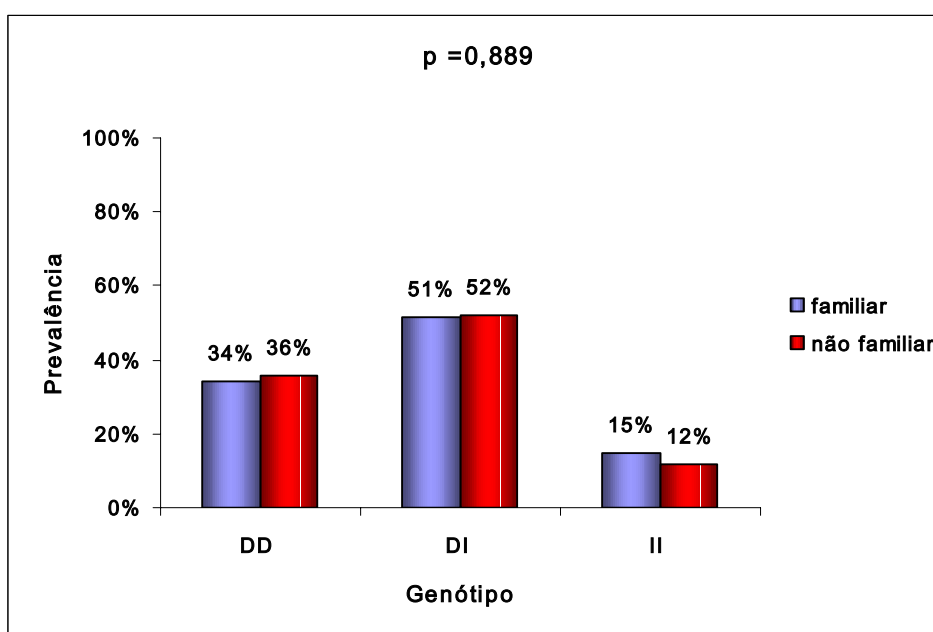
Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre as formas familiar e não familiar com relação às variáveis gênero, idade e CF (tabela1).

**Tabela 1** - Caracterização da amostra: dados epidemiológicos e clínicos dos pacientes com cardiomiopatia hipertrófica nas formas familiar e não familiar

Variáveis	Forma		p	
	familiar	não familiar		
n	69 (51%)	67 (49%)	-	
Idade (anos)	38 ± 18	43 ± 7	0,062	
Sexo	M	35 (51%)	41 (61%)	0,219
	F	34 (49%)	26 (39%)	0,219
CF	I	35 (51%)	38 (57%)	0,281
	II	29 (42%)	20 (30%)	0,281
	III	4 (6%)	8 (12%)	0,281
	IV	1 (1%)	1 (1%)	0,281

## 4.2. Polimorfismo e atividade da ECA

Quanto ao genótipo do polimorfismo do gene da ECA, encontramos o seguinte resultado: DD 47 (34,81%), ID 71(51,85%) e II 18 (13,33%), sendo que do genótipo DD 34% na forma familiar e 36% na forma não familiar (gráfico 2).



**Gráfico 2** – Prevalência de pacientes com cardiomiopatia hipertrófica nas formas familiar e não familiar nos diferentes genótipos

A média da atividade da ECA foi 56.414 para os pacientes com CMH na forma familiar (variando de 8.397 a 98.946; dp = 19.236), e na forma não familiar foi 55.085 (variando de 3.539 a 100.007; dp = 22.634) ( $p = 0,714$ ).

### 4.3. Ecocardiográficos

#### 4.3.1 Hipertrofia miocárdica e índice de massa do VE

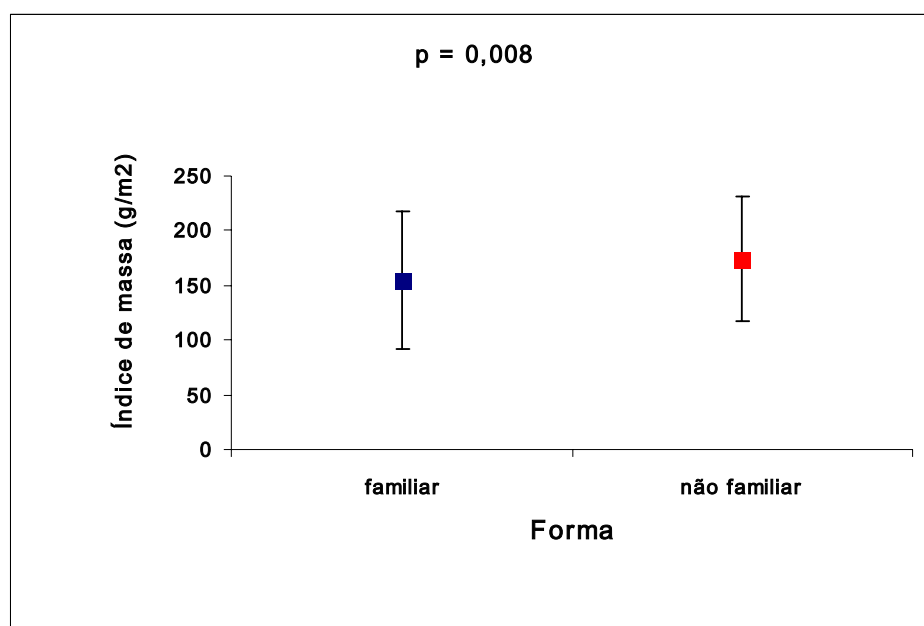
A média do índice da massa do VE foi 164 g/m<sup>2</sup> (variando de 76 a 474; dp = 61). A média do índice da massa do VE para os pacientes com CMH na forma familiar foi 154 g/m<sup>2</sup> (variando de 76 a 374; dp = 63) e na forma não familiar foi 174 g/m<sup>2</sup> (variando de 98 a 474; dp = 57) (p = 0,0080). A média do septo foi 19 mm para os pacientes com CMH na forma familiar (variando de 13 a 39; dp = 5) e na forma não familiar foi 21 (variando de 13 a 41; dp = 5) (p = 0,020). A média da parede posterior para os pacientes com CMH na forma familiar foi 10 mm (variando de 6 a 19; dp = 2) e na forma não familiar 12 mm (variando de 7 a 22; dp = 3) (p = 0,0001).

A tabela 2 mostra as médias das variáveis ecocardiográficas nas formas familiar e não familiar.

**Tabela 2** - Média das variáveis: índice de massa do ventrículo esquerdo (VE), septo interventricular (SIV), parede posterior (PP) e átrio esquerdo (AE) nas formas familiar e não familiar

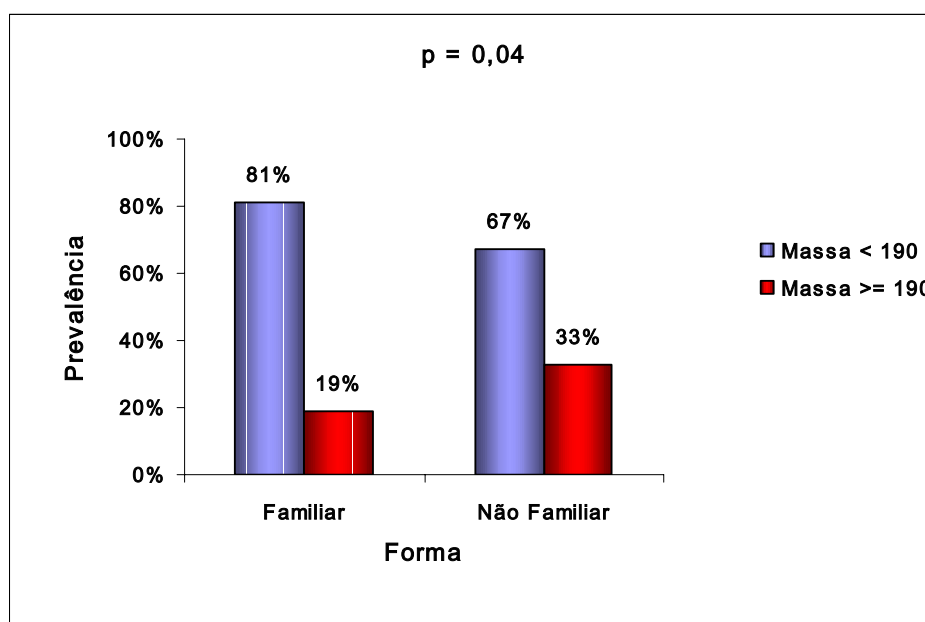
Variáveis	Forma				p
	familiar		não familiar		
	média	dp	média	dp	
Índice de massa do VE (g/m <sup>2</sup> )	154	63	174	57	0,0080
SIV (mm)	19	5	21	5	0,0200
PP (mm)	10	2	12	3	0,0001
AE (mm)	42	8	44	9	0,5247

A forma não familiar apresentou maior índice de massa do VE, quando comparada à forma familiar, sendo estatisticamente significativa ( $p = 0,0008$ ; gráfico 3).



**Gráfico 3** – Comparação entre o índice de massa do ventrículo esquerdo e as formas familiar e não familiar

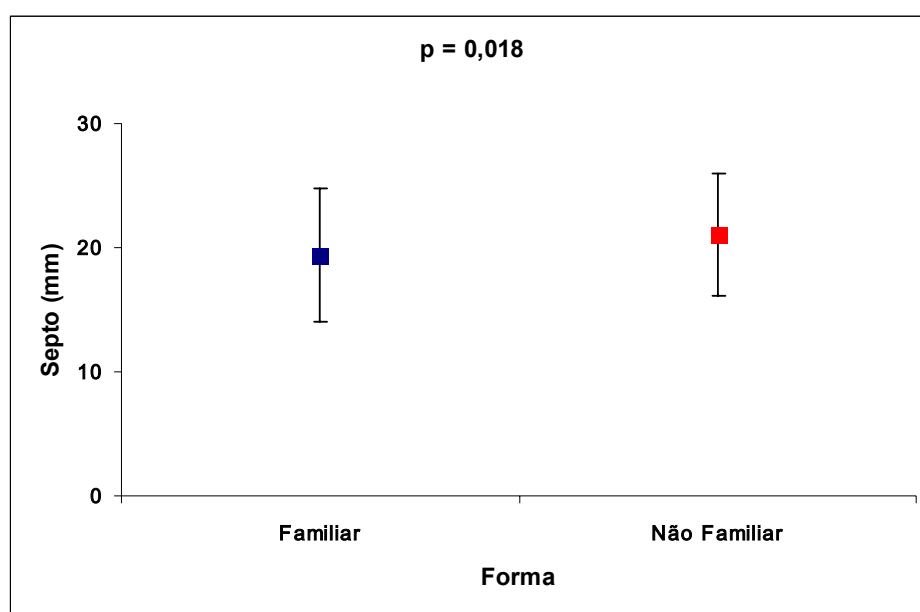
Na forma familiar havia 13 pacientes (19%) e na forma não familiar 22 (33%) com o índice de massa do VE  $\geq 190$  g/m<sup>2</sup> ( $p = 0,04$ ; gráfico 4).



**Gráfico 4** – Pacientes portadores de cardiomiopatia hipertrófica: formas familiar e não familiar em relação ao índice de massa do ventrículo esquerdo

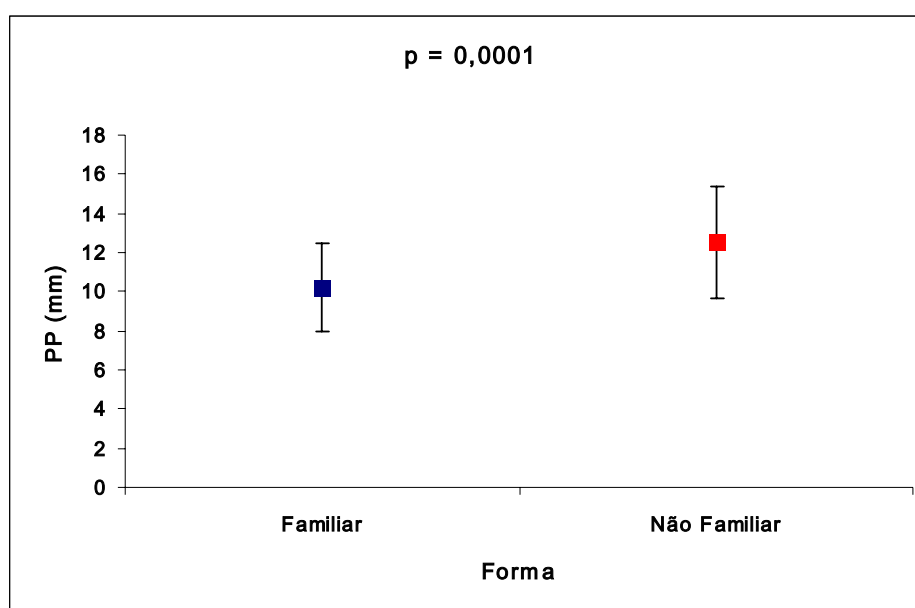


A forma não familiar apresentou maior grau de hipertrofia quando comparada à forma familiar sendo estatisticamente significante ( $p = 0,018$ ; gráfico 5).



**Gráfico 5 –** Comparação entre a espessura do septo e as formas familiar e não familiar

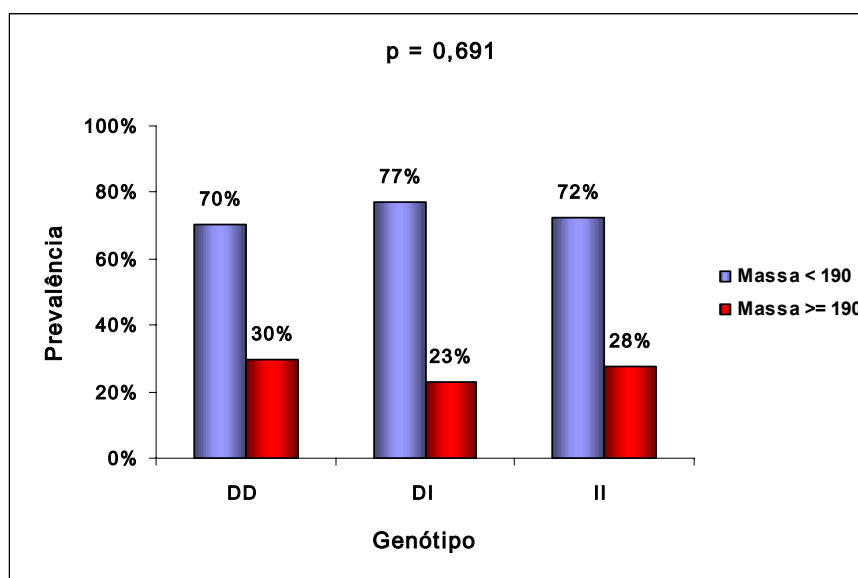
A forma não familiar também apresentou maior espessura da parede posterior quando comparada à forma familiar, sendo estatisticamente significativa ( $p = 0,0001$ ; gráfico 6).



**Gráfico 6** – Comparação entre a espessura da parede posterior e as formas familiar e não familiar

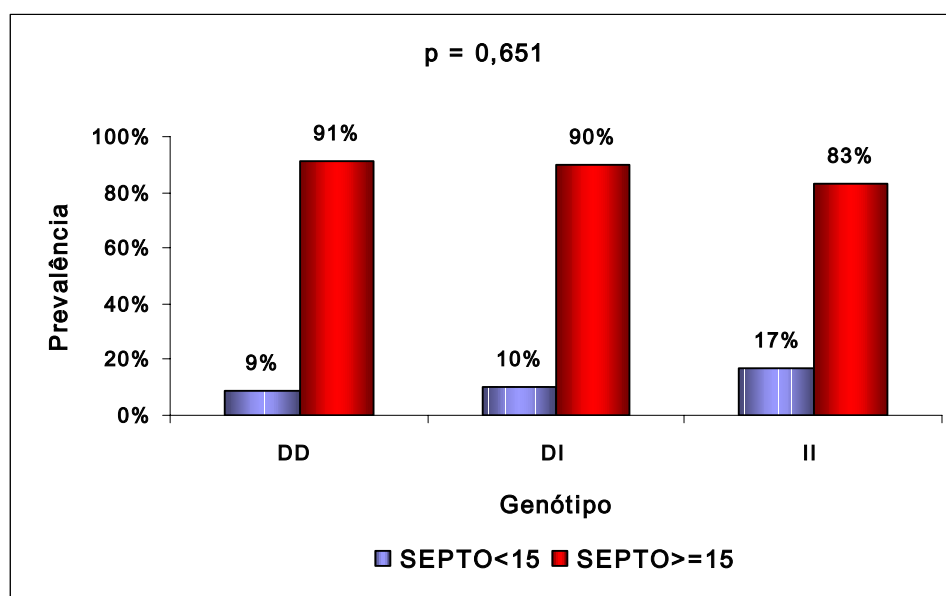
#### 4.3.2. Variáveis ecocardiográficas em relação ao polimorfismo e atividade da ECA

A distribuição entre os três tipos de genótipo (DD, ID e II) e o índice de massa do VE não demonstrou diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,691$ ; gráfico 7).



**Gráfico 7** – Distribuição entre os genótipos e o índice de massa do ventrículo esquerdo

A distribuição entre os três tipos de genótipo (DD, ID e II) e a espessura do septo não demonstrou diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,651$ ; gráfico 8).



**Gráfico 8** – Distribuição entre os genótipos e a espessura do septo

A distribuição entre os três tipos de genótipo (DD, ID e II) e a espessura da parede posterior não demonstrou diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,799$ ; gráfico 9).

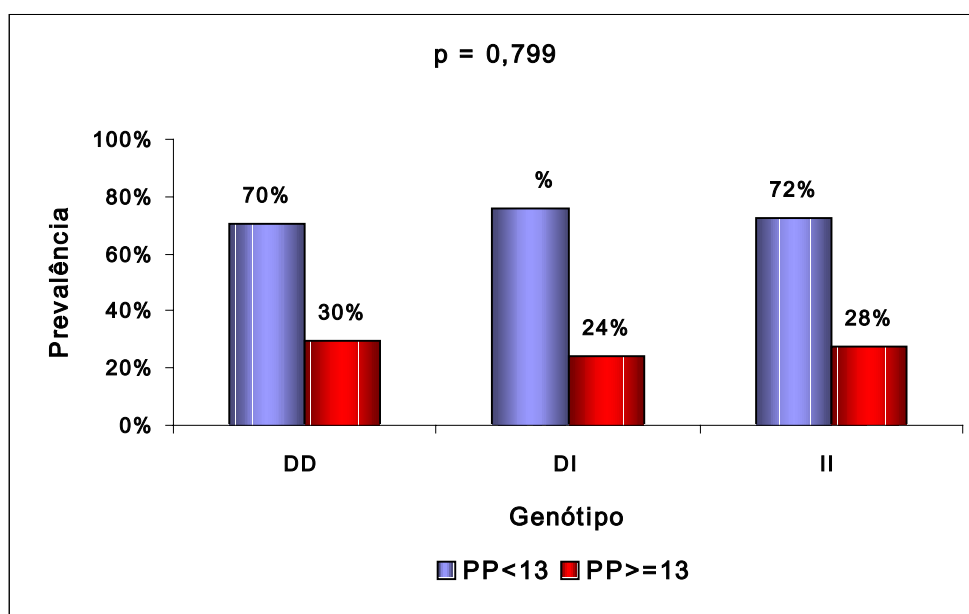
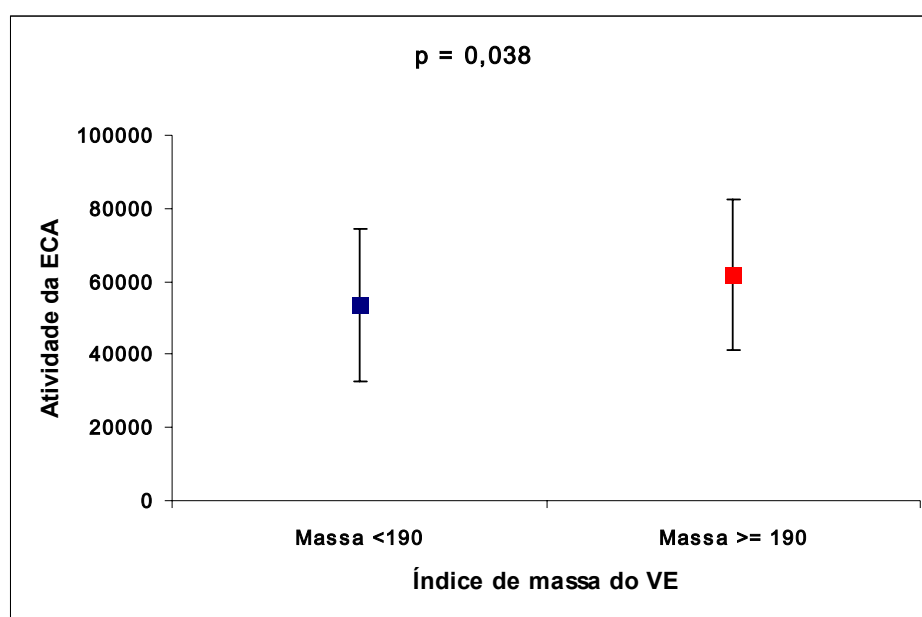


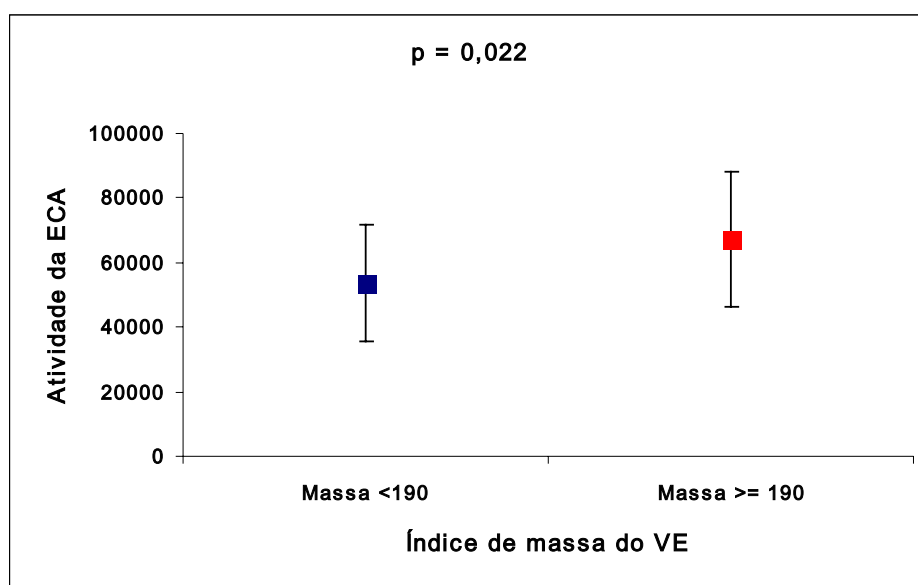
Gráfico 9 – Distribuição entre os genótipos e a espessura da parede posterior

A atividade da ECA em relação ao índice de massa do VE demonstrou que os pacientes com maior atividade da ECA apresentavam maior índice de massa do VE ( $p = 0,038$ ; gráfico 10).



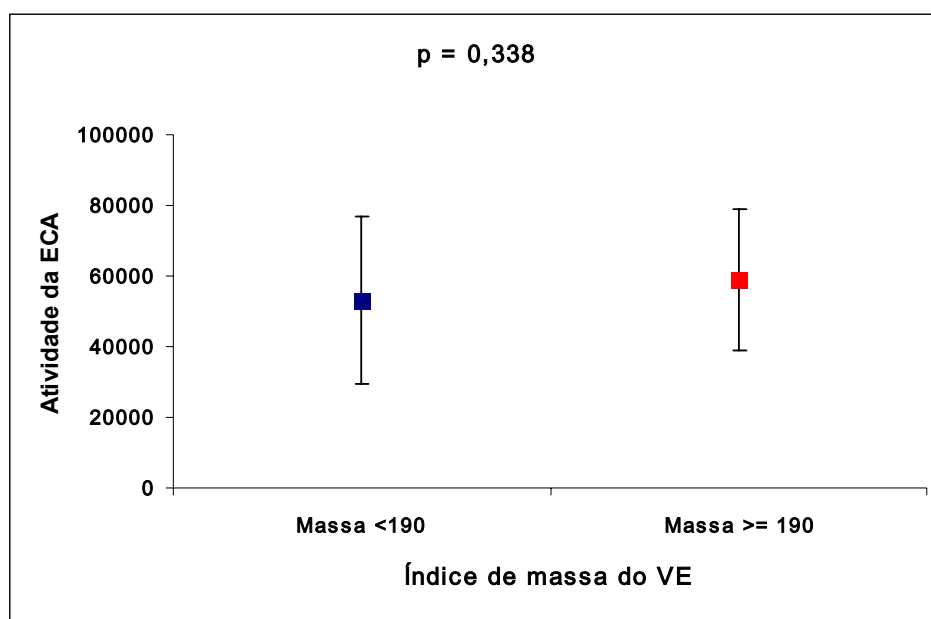
**Gráfico 10** – Comparação entre a atividade da enzima conversora da angiotensina e o índice de massa do ventrículo esquerdo

A atividade da ECA nos pacientes com CMH na forma familiar quando analisados, separadamente, em relação ao índice de massa do VE demonstrou que os pacientes com maior atividade da ECA apresentavam maior índice de massa do VE ( $p = 0,022$ ; gráfico 11).



**Gráfico 11** – Comparação entre a atividade da enzima conversora da angiotensina e o índice de massa do ventrículo esquerdo nos pacientes com cardiomiopatia hipertrófica na forma familiar

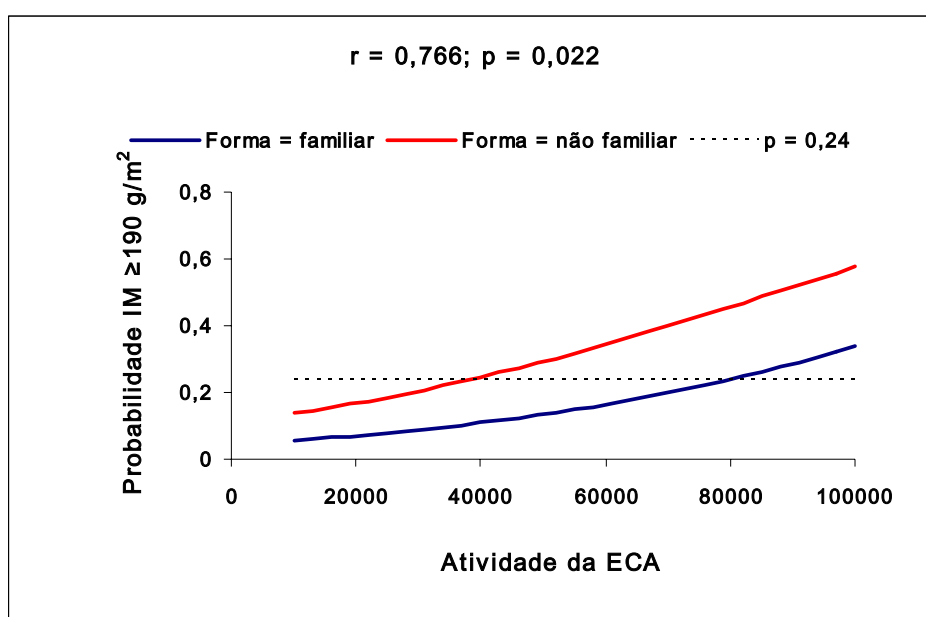
A atividade da ECA nos pacientes com CMH na forma não familiar quando analisados, separadamente, em relação ao índice de massa do VE não demonstrou diferença estaticamente significativa ( $p = 0,338$ ; gráfico 12).



**Gráfico 12** – Comparação entre a atividade da enzima conversora da angiotensina e o índice de massa do ventrículo esquerdo nos pacientes com cardiomiopatia hipertrófica na forma não familiar

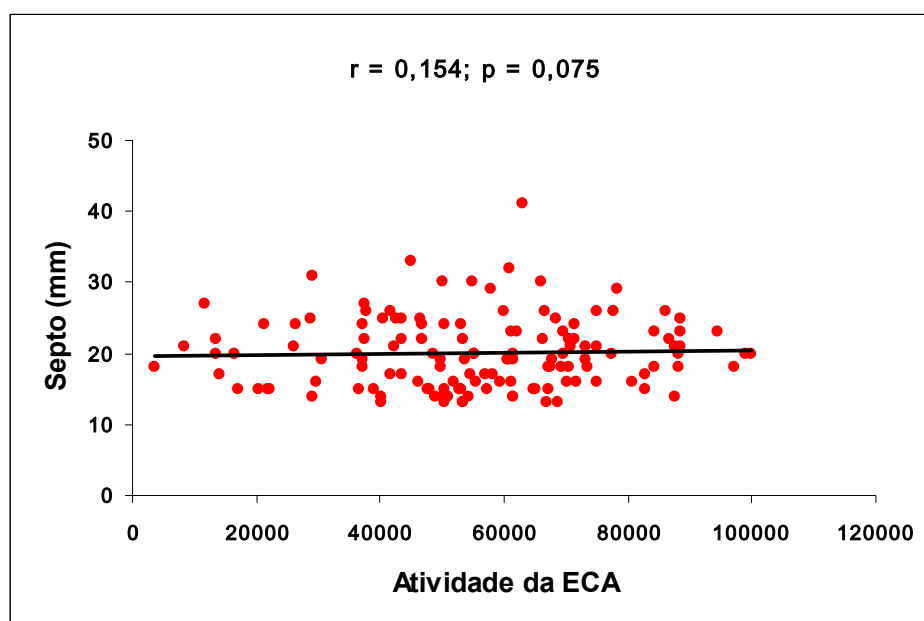


Nos pacientes com a forma familiar, pela curva de regressão logística, possuíam o risco de apresentar índice de massa VE  $\geq 190$  g/m<sup>2</sup>, somente com o dobro do valor da atividade da ECA, quando comparados aos pacientes com a forma não familiar ( $p = 0,022$ ; gráfico 13).



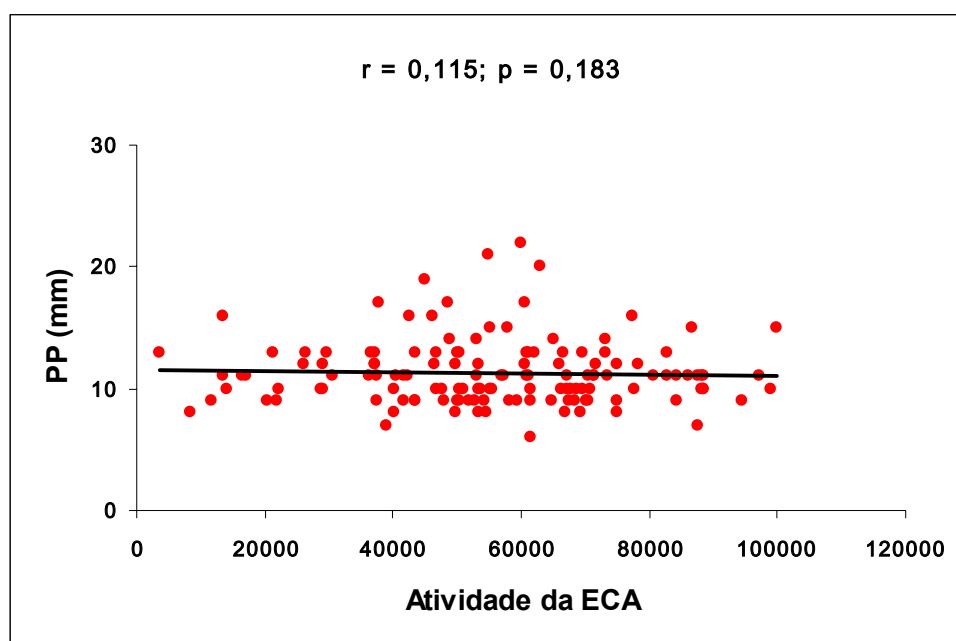
**Gráfico 13** – Curva de regressão logística para o índice de massa  $\geq 190$  g/m<sup>2</sup> segundo a atividade da enzima conversora da angiotensina em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica nas formas familiar e não familiar

Não houve correlação entre a espessura do septo e a atividade da ECA ( $p = 0,075$ ; gráfico 14).



**Gráfico 14** – Correlação entre a espessura do septo e a atividade da enzima conversora da angiotensina em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica nas formas familiar e não familiar

Não houve correlação entre a espessura da parede posterior e a atividade da ECA ( $p = 0,183$ ; gráfico 15).



**Gráfico 15** – Correlação entre a espessura da parede posterior e a atividade da enzima conversora da angiotensina em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica nas formas familiar e não familiar

## 5. DISCUSSÃO

---

Neste trabalho encontramos prevalência de 35% para o genótipo DD, 51% para ID e 13% para II. Por outro lado, o genótipo DD não mostrou diferença estatisticamente significativa em relação às formas familiar e não familiar. Além disso, observamos que não houve diferença estatisticamente significativa do alelo D na forma familiar (86%) e na forma não familiar (88%). A prevalência do genótipo DD e sua relação com a hipertrofia miocárdica foi relatada em vários estudos. Contudo, raros são aqueles que analisaram a relação do genótipo da ECA com o grau de hipertrofia miocárdica nas formas familiar e não familiar da CMH <sup>29</sup>.

Neste estudo identificamos o genótipo do polimorfismo da ECA e sua dosagem sérica, correlacionamos o polimorfismo e a atividade da ECA com o grau de hipertrofia miocárdica e a massa do VE nos pacientes com CMH nas formas familiar e não familiar.

Marian *et al.* <sup>24</sup> determinaram a frequência da distribuição do polimorfismo da ECA em 100 pacientes com CMH e 106 irmãos e descendentes não afetados e demonstraram maior incidência do alelo D nos parentes com CMH e que o genótipo DD estava presente em excesso nos pacientes com CMH, principalmente, naqueles com história de MS quando comparados aos não afetados.

Em adição, Yoneya *et al.* <sup>26</sup> estudaram o polimorfismo do gene da ECA em 80 pacientes japoneses com CMH nas formas familiar e não familiar

e 88 irmãos e descendentes não afetados, mas com história familiar de CMH. Concluíram que o alelo D da ECA é um dos fatores de contribuição genética associado à hipertrofia cardíaca e que o genótipo DD da ECA pode ser um potencial marcador genético. Observaram dois pontos interessantes relativos ao polimorfismo I/D: a) a frequência do alelo D foi significativamente menor que a demonstrada nos europeus; b) a frequência do alelo D na forma não familiar foi mais alta do que na forma familiar e nos controles, mas não foi o que encontramos no nosso estudo.

Por outro lado, diferente dos resultados citados anteriormente, Yamada *et al.* <sup>49</sup> observaram que o polimorfismo não estava relacionado com CMH em pacientes japoneses, que as variações deste polimorfismo não contribuíram para a origem ou progressão da doença e prevalência diferente dos outros estudos para os genótipos da ECA. Assim, identificaram o genótipo DD – 11%, ID – 45% e II – 44% nos 71 pacientes com CMH na forma não familiar. Encontraram também, DD – 14%, ID – 45% e II – 41% no grupo controle, mostrando que não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os acometidos.

Lopez *et al.* <sup>29</sup> estudaram o efeito do polimorfismo dos genes da ECA na expressão fenotípica de pacientes espanhóis com CMH em um grupo de 40 pacientes, 26 com a forma familiar e 14 com a forma não familiar, comparados a um grupo controle de 289 indivíduos saudáveis e

concluíram que o alelo D e o genótipo DD foram fatores predisponentes para expressar a CMH.

Nesta mesma linha de raciocínio, Doolan *et al.*<sup>31</sup> estudaram a progressão da hipertrofia do VE e o polimorfismo do gene da ECA na CMH. O polimorfismo do gene da ECA demonstrou que o genótipo DD tem maior progressão da hipertrofia do VE quando comparado aos outros genótipos. A presença do polimorfismo DD pode ser um marcador importante para identificar indivíduos com CMH que, provavelmente, terão maior progressão da doença. Estes dados não coincidiram com os encontrados em nossa casuística, na qual não houve diferença estatisticamente significativa entre os tipos de genótipo e alelos nas formas familiar e não familiar e o grau de hipertrofia miocárdica avaliada pelo ecocardiograma.

Em adição, Perkins *et al.*<sup>33</sup>, em uma coorte com 289 pacientes com CMH com a forma não familiar, avaliaram o polimorfismo da ECA nas alterações da doença e demonstraram que os pacientes com o genótipo DD têm maior nível da ECA, angiotensina II e, conseqüentemente, aumento da hipertrofia e da fibrose. Concluíram que o genótipo DD influencia o grau de hipertrofia do VE e a gravidade da doença. Estes dados indicam que a cardiomiopatia hipertrófica pode ser considerada uma doença poligênica com diferentes graus de mutação e penetrância, o que leva a diferentes genótipos e expressões fenotípicas. Em nosso meio, tal fato poderia ser

explicado pelo alto grau de miscigenação ao longo da nossa colonização. Nesta mesma linha de raciocínio, Tesson *et al.*<sup>28</sup> demonstraram que o genótipo da ECA pode influenciar a expressão fenotípica da hipertrofia e que esta influência depende da mutação, reforçando o conceito de múltiplos modificadores genéticos em pacientes com CMH forma familiar. Dados semelhantes foram observados por Lechin *et al.*<sup>22</sup> com a demonstração de que o gene da ECA modifica a expressão fenotípica em pacientes com CMH.

Ortlepp *et al.*<sup>30</sup> estudaram o polimorfismo genético no sistema renina-angiotensina-aldosterona associado à expressão da hipertrofia do VE na CMH. Observaram vários polimorfismos que influenciavam tanto a prevalência quanto o grau de hipertrofia do VE causada pela mutação do gene da proteína C de ligação à miosina.

Neste estudo observamos que os pacientes com CMH na forma não familiar apresentavam maior índice de massa do VE, maior grau de hipertrofia do septo e parede posterior, quando comparada à forma familiar. Acreditamos que a justificativa para este achado poderia ser o critério de inclusão usado em nosso estudo – espessamento da parede ventricular >15 mm nos pacientes e >13 mm em familiares. Todavia, quando fizemos a análise estatística, agrupando pacientes com CMH nas formas familiar e não



familiar com septo >15 mm, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,784$ ).

Além disso, observamos que os pacientes com maior atividade da enzima conversora da angiotensina apresentavam maior índice de massa do ventrículo esquerdo.

Sabe-se que a ECA participa da conversão da angiotensina I em angiotensina II e que esta é um fator mediador importante na hipertrofia e na fibrose miocárdica. Desta forma, estudo experimental de CMH utilizando losartan potássico demonstrou diminuição do acúmulo de colágeno no VE <sup>50</sup>. Dados semelhantes foram observados por Lin *et al.* <sup>51</sup> estudando camundongos modificados geneticamente para o gene troponina T. Estes autores observaram que o tratamento com losartan potássico levou à diminuição da fibrose miocárdica e à expressão do colágeno tipo I.

Estudo realizado em nosso meio <sup>52</sup> em pacientes com CMH utilizando losartan potássico revelou melhora clínica, avaliada pela classe funcional (NYHA), diminuição dos níveis plasmáticos do peptídeo natriurético tipo B e melhora da disfunção diastólica demonstrada pelo ecocardiograma. Estes resultados abrem perspectivas clínicas com o bloqueio do sistema renina-angiotensina-aldosterona em pacientes com CMH.

Os dados observados no presente estudo permitiram individualizar e selecionar os pacientes com CMH que apresentavam maior atividade da

ECA e, conseqüentemente, maior índice de massa do VE ao tratamento com bloqueadores dos receptores da angiotensina II.

Além disso, pacientes com a forma familiar possuíam o risco de apresentar índice de massa do ventrículo esquerdo  $\geq 190$  g/m<sup>2</sup>, somente com o dobro do valor da atividade da ECA, quando comparados aos pacientes com a forma não familiar. Portanto, acreditamos que o antagonismo da ECA pode ser diferente entre as formas familiar e não familiar. Novos estudos são necessários para avaliação desta possibilidade.

## Implicações clínicas

### ▪ Papel da biologia molecular no diagnóstico e tratamento

A recente evolução das técnicas da genética molecular e sua aplicação decifrando as bases das doenças hereditárias têm facilitado as descobertas da medicina molecular e poderão ajudar na estratificação do prognóstico, inclusive dos assintomáticos. O diagnóstico de CMH, anteriormente, era estabelecido pelo ecocardiograma em adultos ou com a presença de sintomas. Com o advento da identificação das mutações genéticas o diagnóstico poderá ser realizado antes ou imediatamente após o nascimento, com apenas uma amostra de sangue. A identificação da mutação e do polimorfismo da ECA poderá indicar indivíduos com maior

risco de desenvolvimento de hipertrofia e fibrose antes e independente da presença de sintomas <sup>6</sup>. A dosagem da atividade da ECA pode auxiliar na individualização e seleção dos pacientes para o uso do tratamento com bloqueadores do sistema renina-angiotensina-aldosterona.

- **Papel da enfermagem**

As enfermeiras devem estar envolvidas em todos os aspectos do seguimento de pacientes com doenças genéticas, incluindo o diagnóstico, estratificação do risco de complicações, orientando o paciente e familiares, e auxiliando no seguimento em longo prazo.

## Limitações do estudo

- Tamanho da amostra: o número de pacientes incluídos pode ser considerado pequeno se comparado ao valor estimado de portadores da doença existentes em nosso país; no entanto, ainda é uma doença subdiagnosticada.
- Custo elevado do método utilizado para a determinação do polimorfismo e dosagem sérica da atividade da ECA.

## 6. CONCLUSÕES

---

- Não houve diferença estatisticamente significativa entre o genótipo do polimorfismo e a atividade da enzima conversora da angiotensina nos pacientes com cardiomiopatia hipertrófica nas formas familiar e não familiar.
  
- Não houve correlação entre o polimorfismo da enzima conversora da angiotensina com o grau de hipertrofia miocárdica. Houve correlação positiva entre a atividade da enzima conversora da angiotensina e o índice de massa do ventrículo esquerdo.

## 7. REFERÊNCIAS

---

1. Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet*. 1997;350:127-33.
2. Maron BJ, Epstein SE. Hypertrophic cardiomyopathy: a discussion of nomenclature. *Am J Cardiol*. 1979;43:1242-4.
3. Maron BJ, Gardin JM, Flack JM, Gidding SS, Kurosaki TT, Bild DE. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study. Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults. *Circulation*. 1995;92:785-9.
4. Ministério da Saúde - DATASUS - Informações de saúde: morbidade e mortalidade. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/infsaude/demogr./popresidente>
5. McKenna W, Deanfield J, Faruqi A, England D, Oakley C, Goodwin J,. Prognosis in hypertrophic cardiomyopathy: role of age and clinical, electrocardiographic and hemodynamic features. *Am J Cardiol*. 1981;47:532-8.
6. Marian AJ, Roberts R. Recent advances in the molecular genetics of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 1995;92(5):1336-47.
7. Spirito P, Seidman CE, McKenna WJ, Maron BJ. The management of hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 1997;336:775-85.
8. Arteaga E, Ianni BM, Fernandes F, Mady C. Benign outcome in a long-term follow-up of patients with hypertrophic cardiomyopathy in Brazil. *Am Heart J*. 2005;149:1099-105.

9. Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review. *JAMA* 2002;287:308-13.
10. Elliott PM, Gimeno Blanes JR, Mahon NG, Poloniecki JD, McKenna WJ. Relation between severity of left-ventricular hypertrophy and prognosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet*. 2001;357:420-4.
11. Spirito P, Bellone P, Harris KM, Bernabo P, Bruzzi P, Maron BJ. Magnitude of left ventricular hypertrophy and risk of sudden death in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2000;342:1778-85.
12. Teare RD. Asymmetrical hypertrophy of the heart in young adults. *Br Heart J*. 1958;20:1-10.
13. Braunwald E, Lambrew CT, Rockoff SD, Ross J Jr, Morrow AG. Idiopathic hypertrophic subaortic stenosis: a description of the disease based upon an analysis of 64 patients. *Circulation*. 1964;IV(suppl):IV-3-IV-119.
14. Frank S, Braunwald E. Idiopathic hypertrophic subaortic stenosis: clinical analysis of 126 patients with emphasis on the natural history. *Circulation*. 1968;37:759-788.
15. Louie EK, Edwards LC. Hypertrophic cardiomyopathy. *Prog Cardiovasc Dis*. 1994;36:275-308.



16. Richard P, Charron P, Carrier L, Ledeuil C, Cheav T, Pichereau C, Benaiche A, Isnard R, Dubourg O, Burban M, Gueffet JP, Millaire A, Desnos M, Schwartz K, Hainque B, Komajda M; EUROGENE Heart Failure Project. Hypertrophic Cardiomyopathy: Distribution of Disease Genes, Spectrum of Mutations, and Implications for a Molecular Diagnosis Strategy. *Circulation*. 2003;107:2227-32.
17. Marian AJ. On genetic and phenotypic variability of hypertrophic cardiomyopathy: nature versus nurture. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38:331-4.
18. Clark CE, Henry WL, Epstein SE. Familial prevalence and genetic transmission of idiopathic hypertrophic subaortic stenosis. *N Engl J Med*. 1973;289:709-14.
19. van Dorp WG, Ten Cate FJ, Vletter WB, Dohmen H, Roelandt J. Familial prevalence of asymmetric septal hypertrophy. *Eur J Cardiol*. 1976;4:349-57.
20. Tirone AP, Arteaga E, Pereira A da C, Krieger JE, Buck PC, Ianni BM, Mady C. Research of markers for the genes of the heavy chain of cardiac beta-myosin and myosin binding protein C in relatives of patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Arq Bras Cardiol*. 2005;84:467-72.

21. Danser AH, Schalekamp MA, Bax WA, van den Brink AM, Saxena PR, Riegger GA, Schunkert H. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation*. 1995;92:1387-8.
22. Lechin M, Quinones MA, Omran A, Hill R, Yu QT, Rakowski H, Wigle D, Liew CC, Sole M, Roberts R, et al. Angiotensin-I converting enzyme genotypes and left ventricular hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 1995;92:1808-12.
23. Pfeufer A, Osterziel KJ, Urata H, Borck G, Schuster H, Wienker T, Dietz R, Luft FC. Angiotensin-converting enzyme and heart chymase gene polymorphisms in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 1996;78:362-4.
24. Marian AJ, Yu QT, Workman R, Greve G, Roberts R. Angiotensin-converting enzyme polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death. *Lancet*. 1993; 342:1085-6.
25. Iwai N, Ohmichi N, Nakamura Y, Kinoshita M. DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation*. 1994;90:2622-8.
26. Yoneya K, Okamoto H, Machida M, Onozuka H, Noguchi M, Mikami T, Kawaguchi H, Murakami M, Uede T, Kitabatake A. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Am Heart J*. 1995;130:1089-93.

27. Ishanov A, Okamoto H, Yoneya K, Watanabe M, Nakagawa I, Machida M, Onozuka H, Mikami T, Kawaguchi H, Hata A, Kondo K, Kitabatake A. Angiotensinogen gene polymorphism in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Am Heart J.* 1997;133:184-9.
28. Tesson F, Dufour C, Moolman JC, Carrier L, al-Mahdawi S, Chojnowska L, Dubourg O, Soubrier E, Brink P, Komajda M, Guicheney P, Schwartz K, Feingold J. The influence of the angiotensin I converting enzyme genotype in familial hypertrophic cardiomyopathy varies with the disease gene mutation. *J Mol Cell Cardiol.* 1997;29:831-8.
29. Lopez-Haldon J, Garcia-Lozano JR, Martinez Martinez A, Nunez-Roldan A, Burgos Cornejo J. The effect of polymorphisms of the angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen genes on the phenotypic expression of Spanish patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Med Clin (Barc).* 1999;113:161-3.
30. Ortlepp JR, Vosberg HP, Reith S, Ohme F, Mahon NG, Schroder D, Klues HG, Hanrath P, McKenna WJ. Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin-aldosterone system associated with expression of left ventricular hypertrophy in hypertrophic cardiomyopathy: a study of five polymorphic genes in a family with a disease causing mutation in the myosin binding protein C gene. *Heart.* 2002;87:270-5.
31. Doolan G, Nguyen L, Chung J, Ingles J, Semsarian C. Progression of left ventricular hypertrophy and the angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2004;96:157-63.

32. Gilanowska G, Domal-Kwiatkowska D, Smolik S, Wilczewski P, Szarek J, Nowalany-Kozielska E, Mazurek U, Wodniecki J, Wilczok T. Familial hypertrophic cardiomyopathy. Insertion-deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor. *Kardiol Pol.* 2005;62:440-50.
33. Perkins MJ, Van Driest SL, Ellsworth EG, Will ML, Gersh BJ, Ommen SR, Ackerman MJ. Gene-specific modifying effects of pro-LVH polymorphisms involving the renin-angiotensin-aldosterone system among 389 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 2005;26:2457-62.
34. Kawano H, Do YS, Kawano Y, Starnes V, Barr M, Law RE, Hsueh WA. Angiotensin II has multiple profibrotic effects in human cardiac fibroblasts. *Circulation.* 2000;101:1130-7.
35. Unverferth DV, Baker PB, Pearce LI, Lautman J, Roberts WC. Regional myocyte hypertrophy and increased interstitial myocardial fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 1987;59:932-6.
36. Olivotto I, Cecchi F, Casey SA, Dolaro A, Traverse JH, Maron BJ. Impact of atrial fibrillation on the clinical course of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2001;104:2517-24.
37. Yamaji K, Fujimoto S, Yutani C, Ikeda Y, Mizuno R, Hashimoto T, Nakamura S. Does the progression of myocardial fibrosis lead to atrial fibrillation in patients with hypertrophic cardiomyopathy? *Cardiovasc Pathol.* 2001;10:297-303.

38. Henry WL, DeMaria AN, Gramiak R, King DL, Kisslo JA, Popp RL, Sahn DJ, Schiller NB, Tajik A, Teichholz LE, Weyman AE. Report of the American Society of Echocardiography Committee on Nomenclature and Standards in Two-dimensional Echocardiography. *Circulation*, 1980;62:212-7.
39. Gomes MAM, Nobre F, Amodeo C et al. IV Brazilian Guidelines on Hypertension. *Arq Bras Cardiol*. 2004;82:7-14 (suplemento).
40. Schiller NB, Shah PM, Crawford M, DeMaria A, Devereux R, Feigenbaum H, Gutgesll H, Schnittger I. American Society of Echocardiography Committee on Standards, subcommittee on quantification of two-dimensional echocardiograms. Recommendations for quantification of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*. 1989;2:358-67.
41. Vasan RS, Larson MG, Levy D, Evans JC, Benjamin EJ. Distribution and categorization of echocardiographic measurements in relation to reference limits. *Circulation*. 1997;96:863-13.
42. Gottdiener JS, Bednarz J, Devereux R, Gardin J, Klein A, Manning WJ, Morehead A, Kitzman D, Oh J, Quinones M, Schiller NB, Stein JH, Weissman NJ. *J Am Soc Echocardiogr* 2004;17:1086-1119.
43. DuBois D, Dubois EF. A formula do estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch Intern Med*. 1961;17:863
44. Mullis KB. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am*. 1990;262:56-65.

45. Caulfield M, Lavender P, Farrall M, Munroe P, Lawson M, Turner P, Clark AJL. Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension. *N Engl J Med.* 1994;330:1629-33.
46. Jen J, Kim H, Piantadosi S, Liu ZF, Levitt RC, Sistonen P, Kinzler KW, Vogelstein B, Hamilton SR. Allelic loss of chromosome 18q and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med.* 1994;331:213-21.
47. Alves MF, Araujo MC, Juliano MA, Oliveira EM, Krieger JE, Casarini DE, Juliano L, Carmona AK. A continuous fluorescent assay for the determinations of plasma and tissue angiotensin I-converting enzyme activity. *Braz J Med Biol Res.* 2005;38:861-8.
48. Rosner, B. Fundamentals of biostatistics. 4<sup>a</sup> edição. New York: Duxbury Press; 1994
49. Yamada Y, Ichihara S, Fujimura T, Yokota M. Lack of association of polymorphisms of the angiotensin converting enzyme and angiotensinogen genes with nonfamilial hypertrophic or dilated cardiomyopathy. *Am J Hypertens.* 1997;10(8):921-8.
50. Masutomo K, Makino N, Fushiki MS. Effects of losartan on the collagen degradative enzymes in hypertrophic and congestive types of cardiomyopathic hamsters. *Mol Cell Biochem.* 2001;224:19-27.
51. Lim DS, Lutucuta S, Bachireddy P, Youker K, Evans A, Entman M, Roberts R, Marian AJ. Angiotensin II blockade reverses myocardial fibrosis in a transgenic mouse model of human hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2001;103(6):789-91.

52. Araujo AQ, Arteaga E, Ianni BM, Buck P, Rabello R, Mady C. Effect of Losartan on left ventricular diastolic function in patients with nonobstructive hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol*, 2005;96:1563-7.

## APÊNDICES

---



# Apêndice 1

HOSPITAL DAS CLÍNICAS  
DA  
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no final deste)

### I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

#### 1. NOME DO PACIENTE

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: ..... SEXO: .M  F

DATA NASCIMENTO: ...../...../.....

ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....

BAIRRO: ..... CIDADE .....

CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....) .....

#### 2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE: ..... SEXO: M  F

DATA NASCIMENTO: ...../...../.....

ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....

BAIRRO: ..... CIDADE: .....

CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....) .....

### II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

#### 1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA

Estudo dos marcadores genéticos em familiares de pacientes portadores de cardiomiopatia hipertrófica

PESQUISADOR: Charles Mady

CARGO/FUNÇÃO: Supervisor INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 15.904

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto do Coração

#### 3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO

RISCO MÍNIMO

RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO

RISCO MAIOR

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

#### 4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 24 meses

**III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:**

1. justificativa e os objetivos da pesquisa ; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais;
  3. desconfortos e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos;
  5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.
- 
1. Será feito um exame de sangue para ver se existe algum traço da doença que seja parecido com o de algum membro de sua família; ao mesmo tempo, será feita uma avaliação clínica através do eletrocardiograma e do ecocardiograma.
  2. Avaliação clínica: consta de entrevista e exame físico
    - Colheita de amostra de sangue de rotina
    - Eletrocardiograma de rotina
    - Ecocardiograma de rotina
  3. Não existe nenhum desconforto nem riscos, uma vez que estes exames são feitos de forma rotineira em hospital.
  4. Será feita uma avaliação cardiológica e o paciente poderá saber precocemente se é portador ou não da doença.
  5. Não existem.

---

**IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:**

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.
  2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
  3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.
  4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.
  5. viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.
-

**V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.**

Prof. Dr. Charles Mady  
Instituto do Coração – Divisão Clínica – Equipe de Cardiopatias Gerais  
Av. Dr. Eneas C. Aguiar, 44 – CEP:05403-900  
Fone: 3069.5057 Fone/Fax: 30.69.5346

Dr. Edmundo Arteaga  
Instituto do Coração – Divisão Clínica – Equipe de Cardiopatias Gerais  
Av. Dr. Eneas C. Aguiar, 44 – CEP:05403-900  
Fone: 3069.5057 Fone/Fax: 30.69.5346

Dra. Adriana P. Tirone  
Instituto do Coração – Divisão Clínica – Equipe de Cardiopatias Gerais  
Av. Dr. Eneas C. Aguiar, 44 – CEP:05403-900  
Fone: 3069.5057 Fone/Fax: 30.69.5346

**VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:**

---

**VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO**

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa  
São Paulo, de de 19 .

\_\_\_\_\_  
assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

\_\_\_\_\_  
assinatura do pesquisador  
(carimbo ou nome Legível)

**INSTRUÇÕES PARA PREENCHIMENTO**  
**(Resolução Conselho Nacional de Saúde 196, de 10 outubro 1996)**

1. Este termo conterà o registro das informações que o pesquisador fornecerá ao sujeito da pesquisa, em linguagem clara e acessível, evitando-se vocábulos técnicos não compatíveis com o grau de conhecimento do interlocutor.
2. A avaliação do grau de risco deve ser minuciosa, levando em conta qualquer possibilidade de intervenção e de dano à integridade física do sujeito da pesquisa.
3. O formulário poderá ser preenchido em letra de forma legível, datilografia ou meios eletrônicos.
4. Este termo deverá ser elaborado em duas vias, ficando uma via em poder do paciente ou seu representante legal e outra deverá ser juntada ao prontuário do paciente.
5. A via do Termo de Consentimento Pós-Informação submetida à análise da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa -CAPPesq deverá ser idêntica àquela que será fornecida ao sujeito da pesquisa.

## Apêndice 2

Mem. CC. 1560

São Paulo, 06 de outubro de 2005.

Ao  
Prof. Dr. Charles Mady

**Ref.: Protocolo de Pesquisa 1387/98/082**

A Comissão Científica do Instituto do Coração, apreciou na sessão 481/05/17 de 6.10.2005, a solicitação da reabertura do Protocolo de Pesquisa SDC 1387/98/082 "**Estudo dos Marcadores Genéticos Familiares em Pacientes Portadores de Cardiomiopatia Hipertrófica**", e foi o seguinte parecer: "**Aprovado**".

Atenciosamente,

  
Selma C. Quiaia Fortunato  
Secretária da Comissão Científica  
InCor - HC.FMUSP

## Apêndice 3



Mem. CC. 0262



São Paulo, 23 de fevereiro de 2006.

Ao  
Prof. Dr. Charles Mady

**Ref.: Protocolo de Pesquisa SDC 1387/98/082**

A Comissão Científica do Instituto do Coração, apreciou na sessão 488/06/02 de 23.02.2006, a solicitação para a utilização do material biológico do Protocolo de Pesquisa SDC 1387/98/082 “**Estudo dos Marcadores Genéticos Familiares em Pacientes Portadores de Cardiomiopatia Hipertrófica**”, conforme memorando CO2/mem\_ca02 – L1-2006(UCM). Interessado: Prof. Dr. Charles Mady, e foi o seguinte parecer: “**Aprovado**”.

Atenciosamente,

Selma C. Quiaia Fortunato  
Secretária da Comissão Científica  
InCor - HC.FMUSP

## Apêndice 4



### **APROVAÇÃO**

O Presidente da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em 27.03.06, **APROVOU**, *ad referendum*, autorização para utilização do material biológico armazenado para dosagem do nível da enzima conversora, prevista no Protocolo de Pesquisa nº **360/98**, intitulado "Estudo dos marcadores genéticos em familiares de pacientes portadores de cardiomiopatia hipertrófica", apresentado pela COMISSÃO CIENTÍFICA E DE ÉTICA DO INCOR, tendo em vista não ter sido realizada na ocasião por falta de tempo hábil.

Pesquisador(a) Responsável: Prof. Dr. Charles Mady

CAPPesq, 27 de Março de 2006.

PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO  
Presidente da Comissão Ética para Análise  
de Projetos de Pesquisa

## Apêndice 5



Ref: Mem. CC. 0305 - 23.02.06

Á

**Comissão Científica e de Ética do InCor**

O Presidente da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em 11.04.06, tomou conhecimento da inclusão da Sra. Paula de Cássia Buck e Dr. Fábio Fernandes como co-pesquisadores no Protocolo de Pesquisa nº 360/98 intitulado: "Estudo dos marcadores genéticos familiares em pacientes portadores de cardiomiopatia hipertrófica".

Pesquisador(a) Responsável: Prof. Dr. Charles Mady

CAPPesq, 11 de Abril de 2006.

**PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO**  
Presidente da Comissão de Ética para Análise  
de Projetos de Pesquisa



## Apêndice 6



Ref.: Mem. CC.0306 - 23.02.06

Á

Comissão Científica e de Ética do InCor

O Presidente da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em 11.04.06, tomou conhecimento que o Protocolo de Pesquisa nº 360/98 "Estudo dos marcadores genéticos familiares em pacientes portadores de cardiomiopatia hipertrófica", será tese de doutorado da Sra. Paula Cássia Buck com o título "Correlação do poliformismo da enzima conversora da angiotensina (ECA) em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica com a hipertrofia septal", tendo como orientador o Dr. Fábio Fernandes.

Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Charles Mady

São Paulo, 11 de Abril de 2006.

**PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO**  
Presidente da Comissão de Ética para Análise  
de Projetos de Pesquisa

## Apêndice 7

Iniciais	Registro	DN	1º cons.	Idade (anos)	Sexo M=1; F=2	CF NYHA	ECO					Forma F=1; NF=2	TRATAMENTO		
							DATA	SEPTO	PP	AE	VE		PROPA	VERA	AMIOD
ACO	5022681-J	20/03/37	16/09/83	46	1	1	1998	21	9	44	46	2	0	0	200
ANP	7039017-C	04/12/36	28/05/02	67	1	1	2004	18	13	51	44	2	0	0	0
AFG	-	15/10/43	7/1/1999	55	1	2	1999	39	19	57	35	1	0	0	0
MAS	5357411-H	07/01/84	16/08/01	17	1	3	2001	41	20	39	36	2	60	0	0
AP	5025105-B	14/03/72	06/07/83	32	2	1	2005	29	12	34	37	2	0	0	0
AA	2182474-J	19/06/24	08/11/90	75	2	2	1999	17	11	38	37	2	0	240	0
AH	5211333-J	29/03/45	28/09/96	54	1	3	1999	23	9	51	43	2	0	480	0
AAS	5026795-A	01/07/82	23/02/05	23	1	1	2005	20	11	31	44	2	0	0	0
AAA	55426667-F	27/12/70	14/04/05	34	1	1	2005	31	12	44	42	2	0	0	0
AGM	55339519-I	27/02/65	28/03/03	38	1	1	2003	16	11	36	47	1	0	0	0
AHB	5297910-E	17/08/83	10/05/00	18	1	1	2001	18	9	38	40	1	0	0	0
ASP	5297439-J	29/11/51	25/04/00	51	1	1	2002	18	11	41	42	2	480	0	0
ACNC	55390636-k	15/11/85	12/11/04	19	2	1	2004	29	15	32	35	2	120	0	0
ACP	3190497-H	07/11/55	22/12/97	45	2	2	2000	14	9	50	47	1	240	160	0
AFL	5248828-A	04/06/50	10/11/97	55	1	2	2005	26	22	47	38	2	240	240	0
AMBL	5254576-C	18/09/65	16/03/98	33	2	4	1998	27	9	52	38	1	0	0	0
AGS	2498219-G	04/08/48	28/11/89	56	2	2	2005	19	13	45	50	2	240	320	0
ACT	5023472-D	20/02/42	24/10/83	57	1	3	1999	26	10	45	45	1	0	240	0
AJXG	55397203-D	12/07/53	16/08/05	52	1	1	2005	24	13	33	47	2	0	0	0
AB	5289612-K	26/10/61	04/11/99	38	1	2	1999	14	10	39	44	1	0	0	0
AMA	5104352-C	20/05/42	30/06/89	57	2	2	1999	17	9	50	35	1	320	0	0
APBM	55378796-E	27/04/70	16/06/03	33	1	1	2003	18	10	34	46	2	0	0	0
AFT	55370743-H	24/09/58	24/06/02	43	1	1	2002	16	9	35	53	1	0	0	0
APG	5133589-J	20/02/25	17/01/99	74	2	1	1999	15	13	45	41	2	0	0	0
BTM	5215388-C	09/07/83	14/12/95	14	1	1	1999	22	11	41	46	2	0	0	0
CMC	55424247-E	03/05/85	08/03/05	19	1	1	2005	22	10	36	39	2	0	0	0
CFLC	-	1965	1995	34	2	1	1999	13	8	33	37	1	0	0	0
CBC	5207045-D	25/07/65	14/07/95	34	2	3	1999	15	9	55	57	2	0	0	0
CP	44201360-G	20/07/51	24/06/02	52	1	1	2003	16	11	37	50	2	0	0	0
CFT	5033150-G	30/04/61	10/08/84	38	1	2	2000	20	10	51	56	1	0	0	200
CO	5100989-E	28/07/48	18/04/89	51	2	2	1999	20	15	36	45	2	0	480	200
CFV	55395531-F	27/02/52	08/06/05	53	1	1	2005	24	13	38	31	2	160	0	0
CRRBF	55374399-E	02/06/83	09/12/99	16	1	1	1999	20	10	36	47	1	0	0	0
CMP	55393196-I	07/06/79	09/03/05	25	1	1	2005	30	13	34	37	2	0	0	0
CBP	55436423-B	14/11/61	25/10/05	44	2	1	2005	22	15	45	41	2	0	0	0
CRB	5296258-G	12/05/55	22/03/00	44	1	1	1999	14	9	38	39	1	0	0	0
CRABS	55370735I	27/09/57	12/08/02	44	2	1	2002	25	13	38	42	1	0	0	0
DLS	5059293-A	31/03/84	17/01/99	16	2	4	2000	13	10	48	36	2	0	160	0
DFRF	5357673-B	04/02/60	23/05/01	41	2	1	2001	16	8	39	43	1	40	0	0
DFA	5357441-J	25/07/54	25/04/01	47	2	2	2001	16	10	38	39	1	0	0	0
EBN	5087387-J	16/02/56	27/06/88	43	2	2	1999	22	9	57	45	1	80	160	0
EMO	55387407-I	22/01/80	29/06/04	24	2	1	2004	26	17	41	29	2	0	80	0
ETT	5290078-F	27/10/83	24/11/99	16	1	1	1999	22	11	36	43	1	0	0	0
EHC	5272568-B	05/09/76	26/01/99	24	1	1	2000	18	11	32	36	1	0	0	0
ERPS	5200269-J	16/06/72	24/02/95	27	2	1	1999	18	13	33	45	2	0	240	0
ELSF	55373674-I	11/04/74	19/01/99	25	2	1	1999	15	9	38	43	1	0		0
EMI	5114564-F	15/04/39	06/03/90	59	2	1	1998	19	13	34	40	2	0	240	0
EALN	5005938-C	15/08/46	10/01/79	52	1	3	1998	18	11	58	55	2	0	320	0

Iniciais	Registro	Genótipo	Atividade da ECA	Observação	OUTRO
ACO	5022681-J	DI	74911,7	0	0
ANP	7039017-C	DI	37246,6	0	Atenolol 100
AFG	-	DI	56457,6	sem medicação	0
MAS	5357411-H	II	63070,8	0	0
AP	5025105-B	DI	78336,1	Hipertrofia infero-apical/sem medicação	0
AA	2182474-J	DI	82835,1	FA com Varfarina	0
AH	5211333-J	DD	94452,1	MP DDD 22/02/96 - Pouca melhora	HCTZ 50
AAS	5026795-A	II	88283,6	sem medicação	0
AAA	55426667-F	DI	29245,4	0	Dilacorón 40
AGM	55339519-I	DD	61082,2	Forma familiar c/MS/sem medicação	0
AHB	5297910-E	DD	70505,9	sem medicação	0
ASP	5297439-J	DD	84263,7	0	0
ACNC	55390636-k	DI	57862,6	0	0
ACP	3190497-H	DI	50171,2	0	Gluciformin +HCTZ + Cloridrato de Amilorida
AFL	5248828-A	DD	59938,8	Diabetes + HAS	Daonil
AMBL	5254576-C	DI	11825,2	TEVE EI PÓS ALCOOLIZAÇÃO	0
AGS	2498219-G	DD	73137,2	MPD Dez/00	0
ACT	5023472-D	DI	77826,6	Óbito em 23/07/2002 Ca de pulmão	Atenolol 100 + Anlodipina
AJXG	55397203-D	DD	21244,8	0	Atenolol 100 + Dilacorón 160 + Gluciformin
AB	5289612-K	II	40113,2	sem medicação	0
AMA	5104352-C	DD	41788,7	0	HCTZ + Clonidrato de Amilorida
APBM	55378796-E	DI	88105,3	0	Atenolo 50
AFT	55370743-H	DD	51935,7	sem medicação	0
APG	5133589-J	DI	36530,0	0	Diltiazem + AAS + Sinva + HCTZ
BTM	5215388-C	DD	71388,0	0	Atenolo 50
CMC	55424247-E	DI	66231,4	sem medicação	0
CFLC	-	DI	53445,1	sem medicação	0
CBC	5207045-D	DD	47893,2	0	Atenolol 100
CP	44201360-G	DI	80808,3	sem medicação	0
CFT	5033150-G	DD	98946,1	0	Furosemida 40 + Espiro 25 + Marevan 5 +Carvedilol 37,5
CO	5100989-E	DD	100007,0	NEO de Colon operado	0
CFV	55395531-F	DD	50347,1	0	0
CRRBF	55374399-E	II	61440,3	sem medicação	0
CMP	55393196-I	II	50200,6	sem medicação	0
CBP	55436423-B	DD	86781,0	0	Metropolol 100 + Furosemida 20
CRB	5296258-G	DI	61459,5	sem medicação	0
CRABS	55370735I	DD	43622,7	0	Atenolol 100
DLS	5059293-A	DD	68614,6	Óbito em 01/02/2002 - MS	Atenolol 200 + Furosemida 40
DFRF	5357673-B	DI	75055,8	0	0
DFA	5357441-J	DI	55616,3	0	Atenolol 50
EBN	5087387-J	II	43533,5	0	0
EMO	55387407-I	II	37694,5	0	Furosemida 40
ETT	5290078-F	DI	70582,2	sem medicação	0
EHC	5272568-B	DI	67077,7	sem medicação	0
ERPS	5200269-J	DI	3539,1	0	0
ELSF	55373674-I	DI	64730,5	sem medicação	0
EMI	5114564- F	DD	60781,7	MP DDD 08/02/1996 + BEM	0
EALN	5005938 C	DD	97201,4	0	Varfarina

Iniciais	Registro	DN	1ª cons.	Idade (anos)	Sexo M=1; F=2	CF NYHA	ECO					Forma F=1; NF=2	TRATAMENTO		
							DATA	SEPTO	PP	AE	VE		PROPA	VERA	AMIOD
ETN	5078439-I	28/11/66	29/12/87	39	1	2	2005	17	10	51	49	2	0	480	0
FAB	5280144-J	06/04/87	22/03/99	12	2	1	1999	13	8	37	44	1	0	0	0
FTLC	5272569-A	04/12/89	21/08/98	9	1	1	1998	19	6	33	36	1	0	0	0
FWA	-	19/04/65	17/11/98	33	1	2	1998	15	10	36	45	1	0	0	0
FRB	-	1931	1999	88	2	1	1999	18	11	38	45	1	0	0	0
FAFG	5270280-D	28/12/40	17/01/99	58	1	2	1998	22	10	50	44	1	0	0	200
FAFGJ	-	26/10/79	21/01/99	20	1	1	1999	25	11	39	38	1	0	0	0
FCL	55329255-H	21/02/53	18/06/02	46	1	1	1999	19	12	40	50	2	0	0	200
GG	55396497-C	19/08/60	18/07/05	45	1	1	2005	24	13	42	37	2	0	0	0
GALS	5101251-A	08/11/49	24/04/89	49	2	2	1998	15	9	49	49	1	0	0	0
GOM	5194319-I	06/02/84	17/10/94	15	1	3	1999	23	9	38	34	1	0	0	0
HSP	5262801-J	09/10/46	05/08/98	53	2	2	1999	24	14	41	38	1	0	80	0
IGC	5353583-A	08/08/43	04/12/00	57	2	2	2001	16	13	48	45	2	0	0	0
ICR	55426241-A	18/01/66	17/05/05	39	1	2	2005	20	17	62	40	2	0	0	0
IMSS	55385185-I	19/04/72	25/03/04	31	2	1	2004	30	21	40	30	2	240	0	0
JAS	-	19/06/54	13/07/99	45	1	2	1999	15	11	40	45	1	0	0	0
JMLA	55424325-I	22/05/22	08/03/05	82	2	2	2005	17	9	49	45	2	0	0	0
JF	5221249-J	12/07/66	18/01/96	29	1	2	1996	26	12	42	45	2	120	0	0
JVBN	5361149-E	04/10/83	05/09/01	17	1	1	1999	18	9	47	42	1	0	0	0
JGM	5185826-A	12/09/48	03/05/94	45	1	3	1998	19	10	56	53	2	0	0	200
JAPF	55413600-H	25/09/58	19/08/04	46	1	0	2004	20	11	46	47	2	0	0	0
JEA	-	05/05/66	03/05/00	32	1	2	2000	15	9	42	43	1	80	0	0
JFS	5251957-G	25/03/54	19/01/98	43	1	3	1998	15	10	43	43	2	320	0	0
JGS	5289672-E	06/09/66	03/12/98	32	1	2	1999	27	9	45	45	1	400	240	0
JLS	5277580-A	24/04/66	23/04/99	33	1	1	1999	25	10	45	46	2	80	0	0
JNFS	-	19/02/72	30/09/99	27	1	1	1999	15	9	42	43	1	0	0	0
JRS	5276062-H	12/08/69	28/01/99	30	1	1	1999	18	8	34	39	1	0	0	0
JPJ	55386838-J	07/11/47	02/06/04	56	1	1	2004	19	12	54	33	2	40	0	0
LFS	5021827-H	15/05/83	09/08/83	17	1	1	2000	20	11	42	34	2	0	0	0
LS	5173285-H	13/01/46	12/01/05	59	1	1	2005	24	12	53	40	1	0	0	200
LCA	5245245-D	17/03/48	29/08/97	49	2	2	2003	26	13	42	41	2	0	0	200
LFF	5230969-H	15/09/59	21/11/96	41	2	2	2000	15	10	42	45	1	320	0	0
LMFS	55370741-J	19/12/77	24/06/02	24	2	1	2002	15	13	44	45	1	0	0	0
LVRS	5289367-D	25/02/80	24/11/98	18	2	1	1998	19	17	35	40	2	0	0	0
LGC	55374127-C	05/03/72	29/10/02	30	1	1	2000	23	10	46	49	2	0	0	0
LCB	5218686-K	27/07/72	29/02/96	29	1	1	1996	16	12	32	39	2	0	0	0
LGBBS	55425470-A	05/05/81	16/03/05	23	1	1	2005	23	10	37	43	2	0	0	0
LHGA	5094305-A	25/07/67	17/01/99	36	1	1	2004	25	12	45	42	2	0	0	0
MF	5021552-E	28/10/32	29/07/83	72	1	2	2005	24	11	86	52	2	160	80	0
MAJ	-	08/12/04	07/04/00	96	2	2	2000	14	10	29	40	1	0	0	0
MASM	3171430-G	20/08/37	17/01/99	67	2	2	2005	26	11	43	35	2	80	0	0
MAS	55379827-E	25/06/51	01/08/03	52	2	2	2002	20	13	44	36	2	0	160	0
MDC	-	30/04/44	04/03/99	55	2	2	1999	16	9	51	43	1	0	0	0
MLA	5133704-I	04/06/53	15/05/91	46	2	2	1999	21	10	30	46	1	0	320	0
MSC	55387976-B	29/11/64	22/07/04	40	2	1	2005	19	11	36	42	2	60	0	0
MELS	5151550-D	10/08/46	03/06/92	53	2	2	1999	30	12	48	53	1	200	0	200
MFTG	55370744-G	02/10/62	24/06/02	40	2	2	2002	25	11	52	43	1	0	0	0
MHGS	5085558-I	17/08/43	19/05/88	45	2	2	1988	21	12	47	46	2	0	0	200

Iniciais	Registro	Atividade		Observação	OUTRO
		Genótipo	da ECA		
ETN	5078439-I	DD	14216,8	0	Atenolol 100 + Furosemda 40 + Espiro 25 + Sinvastatina 10
FAB	5280144-J	DI	40173,7	sem medicação	0
FTLC	5272569-A	DI	61612,8	sem medicação	0
FWA	-	DI	50511,7	sem medicação	0
FRB	-	DD	73361,0	sem medicação	0
FAFG	5270280-D	II	53299,3	Óbito 28/06/2005 - Tu de intestino	0
FAFGJ	-	II	40459,1	0	Atenolol
FCL	55329255-H	DD	49772,7	0	0
GG	55396497-C	DI	26400,3	0	Atenolol 100 + Gardenal
GALS	5101251-A	DI	21824,8	0	HCTZ
GOM	5194319-I	DD	84331,1	0	Atenolol 300
HSP	5262801-J	II	53221,3	0	0
IGC	5353583-A	DI	29659,5	0	Atenolol 100
ICR	55426241-A	DI	48530,6	0	Nadolol 160
IMSS	55385185-I	DI	54881,3	0	Verapamil suspenso há 7 dias
JAS	-	DI	17205,0	0	0
JMLA	55424325-I	DI	58225,1	0	Metoprolol 100 + Furosemda 40 + Espiro 25
JF	5221249-J	DD	75097,1	0	Dilacoron 80
JVBN	5361149-E	DI	67566,6	sem medicação	0
JGM	5185826-A	DI	53651,1	0	Varfarina
JAPF	55413600-H	DI	36280,9	0	Atenolol 100 + Sertralina
JEA	-	DI	20549,6	0	Genfibrozila 600
JFS	5251957-G	DI	22239,1	0	0
JGS	5269672-E	DI	37522,3	0	0
JLS	5277580-A	II	28683,7	0	0
JNFS	-	DI	52788,3	sem medicação	0
JRS	5276062-H	DD	49745,1	sem medicação	0
JPJ	55386838-J	DD	37096,7	0	0
LFS	5021827-H	DI	16492,1	0	Atenolol 150
LS	5173265-H	DI	37213,2	0	0
LCA	5245245-D	DI	66736,1	0	0
LFF	5230969-H	DI	47716,2	0	HCTZ + Clordrato de Amilorida
LMFS	55370741-J	DD	82809,3	sem medicação	0
LVRS	5269367-D	DD	60701,5	sem medicação	0
LGC	55374127-C	DI	69738,0	0	Atenolol 50
LCB	5218686-K	DI	71834,4	sem medicação	0
LGBBS	55425470-A	DD	88647,3	sem medicação	0
LHGA	5094305-A	II	46548,0	0	Atenolol 100
MF	5021552-E	DI	71251,2	0	HCTZ + Varfarina
MAJ	-	II	51003,4	sem medicação	0
MASM	3171430-G	DI	41577,8	0	0
MAS	55379827-E	DI	69598,8	0	0
MDC	-	DD	59308,7	0	Digoxina 0,125 + Slow K + AAS + Furosemda 40
MLA	5133704-I	DD	70707,9	0	0
MSC	55387976-B	DD	30562,0	0	0
MELS	5151550-D	DI	65922,9	0	0
MFTG	55370744-G	DD	88424,8	0	Atenolol 50
MHGS	5085558-I	DI	26075,3	0	Atenolol 125

Iniciais	Registro	DN	1ª cons.	Idade (anos)	Sexo M=1; F=2	CF NYHA	ECO					Forma F=1; NF=2	TRATAMENTO		
							DATA	SEPTO	PP	AE	VE		PROPA	VERA	AMIOD
MMMP	5183529-I	04/08/62	10/03/94	32	2	-	1987	15	10	30	42	2	0	160	0
MMB	2514525-B	27/11/22	10/11/99	77	2	1	1999	13	12	40	44	1	0	0	0
MMFB	5112192-C	25/12/37	28/12/89	62	2	3	1999	21	14	50	47	1	240	0	200
MPB	-	12/09/62	12/03/99	37	2	1	1999	21	8	47	48	1	80	0	0
MRBS	55431847-A	12/07/53	25/07/05	47	2	1	2000	13	9	33	36	1	0	0	0
MFB	5201698-C	20/05/73	29/03/95	26	2	1	1999	17	8	32	40	1	160	0	0
MSC	5287459-J	05/03/92	03/08/99	7	1	1	1999	14	9	36	31	1	0	0	0
MT	5290082-I	04/03/78	19/05/99	21	1	1	1999	13	8	36	44	1	0	0	0
MAS	5355410-H	21/10/52	12/02/01	49	1	1	2002	25	16	44	38	2	0	0	0
MFS	5172166-E	04/01/28	14/05/02	74	1	2	2002	22	16	48	39	2	0	0	0
NFB	5071126-G	02/05/65	30/07/87	34	2	2	1999	26	11	55	61	1	0	160	0
NMBA	55370728-I	28/10/58	05/08/02	44	2	1	2002	15	11	44	46	1	0	0	0
NPS	55389147-J	11/01/64	10/09/04	41	1	3	2005	23	13	55	48	2	120	0	0
OS	5023454-H	28/09/52	25/10/83	31	1	2	2005	20	16	59	51	2	0	240	0
ODF	-	15/08/34	22/10/99	65	2	1	1999	14	14	47	40	1	160	0	0
OMS	3328585-H	14/3/1946	4/2/2000	59	1	1	2005	22	13	48	44	2	0	240	0
OKI	4069443-J	30/08/59	19/11/99	40	1	1	1999	22	11	46	45	1	160	0	0
PAV	5098457-D	02/10/47	17/01/99	52	1	1	1999	21	11	58	44	2	160	0	200
PECB	5241849-G	01/11/96	26/02/99	3	1	2	1999	21	7	26	28	1	0	0	0
RSG	-	19/02/77	07/01/99	22	2	2	1999	33	19	44	46	1	0	0	0
RHF	5156688-B	14/05/35	02/09/92	65	2	1	2000	20	11	53	42	1	0	0	0
RN	5154043-I	20/02/71	27/07/92	28	2	3	1999	23	13	46	49	2	160	0	0
RSS	5243337-K	01/09/75	30/07/97	23	2	1	1998	24	10	64	47	1	0	0	200
RMBC	5107821-K	16/08/54	16/01/99	45	2	2	1999	19	10	51	42	1	0	0	0
RGS	5283547-I	20/02/70	03/03/00	29	2	2	2000	20	10	38	40	1	240	160	0
RSG	5267808-K	21/07/73	04/11/98	25	2	2	1998	17	11	52	46	1	0	240	400
SBS	2232547-B	16/12/47	13/12/01	53	2	2	2001	15	7	35	40	2	0	0	0
SM	5015085-J	09/05/30	02/07/82	69	1	2	1999	15	14	43	59	2	0	160	0
STS	55391431-H	11/01/82	15/12/04	23	1	1	2005	32	11	33	44	1	0	0	0
SS	-	17/02/60	08/02/00	39	1	1	1999	17	9	32	39	1	0	0	0
SFS	5256072-F	19/10/83	07/04/98	16	1	1	1999	25	9	40	45	1	0	0	0
TFF	55392001-F	18/05/86	12/01/05	18	1	1	2005	20	15	27	38	2	0	0	0
VJN	55393257-E	02/12/47	24/02/05	58	2	1	2005	16	16	53	52	2	0	0	0
VF	5357443-H	25/10/64	02/05/01	37	1	1	2001	18	8	45	47	1	0	0	0
VRB	5001996-G	16/11/60	29/06/78	40	1	2	1999	14	11	57	74	1	0	0	0
VLP	5008761-E	13/12/47	16/01/99	57	2	1	2004	14	10	39	43	2	0	0	0
VOM	5194318-J	06/02/84	17/10/94	15	1	2	1999	21	10	37	40	1	0	0	0
WRB	5242239-G	18/06/65	02/07/97	34	1	3	1999	19	12	56	49	1	240	0	0
WD	5241126-K	27/10/38	14/10/99	61	1	2	1999	16	9	40	44	1	320	0	0
ZC	5200233-C	07/03/38	20/02/95	57	1	-	1996	15	11	46	40	2	480	0	0

Iniciais	Registro	Genótipo	Atividade da ECA	Observação	OUTRO
MMMP	5183529-I	DI	67227,4	0	0
MMB	2514525-B	DI	53322,1	0	HCTZ + Cloridrato de Amilorida
MMFB	5112192-C	DI	73265,0	Óbito 04/02/2003 - Complicações AVC	Varfarina
MPB	-	DD	87397,6	0	0
MRBS	55431847-A	DI	50309,6	sem medicação	0
MFB	5201698-C	DI	54506,3	0	Atenolol 25
MSC	5287459-J	DD	54301,8	sem medicação	0
MT	5290082-I	DD	66765,8	sem medicação	0
MAS	5355410-H	DI	42537,3	sem medicação	0
MFS	5172166-E	DD	13374,7	0	Furosemida 40 + Metildopa 750 + Nifedipina 40 + AAS
NFB	5071126-G	DI	86060,9	Óbito em 04/05/2001	Furosemida + Varfarina
NMBA	55370728-I	DI	53020,3	sem medicação	0
NPS	55389147-J	DD	61998,4	0	0
OS	5023454-H	DD	77308,6	0	Dilacorón 160 + Bezafibrato
ODF	-	II	48752,5	0	AAS
OMS	3328585-H	DI	46896,5	0	0
OKI	4069443-J	II	37407,3	0	0
PAV	5098457-D	DI	42322,9	MPD 1999	Atenolol 50
PECB	5241849-G	DD	87525,3	sem medicação	0
RSG	-	DI	44923,6	sem medicação	0
RHF	5156688-B	DD	13435,7	sem medicação	0
RN	5154043-I	DI	61312,4	MPD 22/11/1995	0
RSS	5243337-K	DI	46769,3	0	Atenolol 100
RMBC	5107821-K	DD	67745,1	sem medicação	0
RGS	5283547-I	DD	55320,9	0	Dilacorón
RSG	5267808-K	DI	57126,2	0	0
SBS	2232547-B	II	39113,9	sem medicação	0
SM	5015085-J	DD	65176,3	Óbito em 10/01/2000	0
STS	55391431-H	DI	61005,2	sem medicação	0
SS	-	DI	43582,6	sem medicação	0
SFS	5256072-F	DI	68296,0	sem medicação	0
TFF	55392001-F	DI	55243,8	sem medicação	0
VJN	55393257-E	DI	46220,9	0	Carvedilol 25 + Espironolactona 25 + Digoxina 0,25
VF	5357443-H	DD	69385,3	sem medicação	0
VRB	5001996-G	DD	87501,4	Óbito em 10/09/2006 / sem medicação	0
VLP	5008761-E	DI	29084,8	sem medicação	0
VOM	5194318-J	DD	88530,2	0	Atenolol 100
WRB	5242239-G	DI	60718,2	0	0
WD	5241126-K	II	70131,0	0	Diltiazem 120
ZC	5200233-C	II	57432,4	0	0