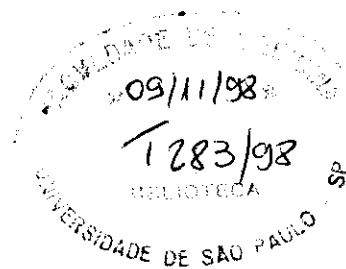


MARCO ANTONIO ROMEO CUOCO

**POLIMORFISMO DE INSERÇÃO/DELEÇÃO DO GENE DA ENZIMA
DE CONVERSÃO DA ANGIOTENSINA I EM PORTADORES
DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA**



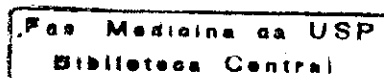
Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina.

Área de Concentração: Cardiologia
Orientador: Prof. Dr. Charles Mady



São Paulo

1998



Maria Aparecida de L. Castro Santos
MARIA APARECIDA DE L. CASTRO SANTOS
Bibl. Serviz. Científ. - 3342/11
Serviço de Documentação e Informação Científica
Serv. Bibl. Doc. - Fac. Medicina USP

FICHA CATALOGRÁFICA

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

Cuoco, Marco Antonio Romeo

**Polimorfismo de inserção/deleção do gene da enzima de conversão da
angiotensina I em portadores de insuficiência cardíaca / Marco Antonio Romeo
Cuoco. -- São Paulo, 1998.**

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

Área de concentração: Cardiologia.

Orientador: Charles Mady.

Descritores: 1.POLIMORFISMO (GENÉTICA)/genética 2.PEPTIDIL
DIPEPTIDASE A/ genética 3.MIOCARDIOPATIAS/genética

USP/FM/SBD-150/98

DEDICATÓRIA

2007 - 4.º semestre - 1.ª série

Dedico esta tese a meus pais:

Francisco e Norma

***“Criaram a semente, deram vida a ela e são a luz da
existência”***

e a

Paulo

“a semente irmã”

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Fúlvio Pileggi, pelos ensinamentos da Arte Médica e por ter-me incentivado ao Doutorado.

Ao Prof. Dr. José Antônio Ramires, pela acolhida entusiasmada ao presente estudo e incentivo à sua conclusão.

Ao Prof. Dr. Giovanni Bellotti, pela oportunidade que permitiu a evolução até a presente casuística.

Ao Prof. Dr. Alfredo José Mansur, pela orientação e pelo empenho em tornar a prática clínica mais eficiente por meio da atuação científica, contexto no qual emergiu o presente estudo.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Krieger, pela determinação aliada ao conhecimento científico, que permitiu conciliar ciência básica com prática clínica.

Ao Prof. Dr. Edimar Bocchi, pelo apoio, integração e conhecimentos compartilhados durante a construção da casuística.

Ao Prof. Dr. Charles Mady, pelo estímulo durante a realização do presente estudo.

Ao Dr. Humberto de Freitas, pela colaboração na constituição da casuística, e aos demais colegas da equipe médica de Ambulatório, que, aliando solidariedade ao conhecimento médico, enriquecem o convívio cotidiano

À Equipe do Laboratório de Biologia Molecular e, em particular, ao Dr. Alexandre Pereira, à sra. Glória de Fátima Alves da Mota, à srta. Ivy Anéas que, com competência e boa vontade, atenuaram a aridez das dificuldades cotidianas no decorrer do estudo.

À sra. Júlia Tizue Fukushima, por conciliar o conhecimento estatístico com a grandeza humana do diálogo e da troca de idéias e por toda a ajuda estatisticamente muito significativa.

Ao Prof. Dr. Luiz V. Décourt e ao Prof. Dr. Geraldo Verginelli, pelas sugestões na elaboração final deste trabalho.

Aos Drs. Desidério Favarato, Pedro Graziosi e Shri Jayanthi, pelas contribuições oportunas no decorrer do estudo.

A Dra. Anna Carla Goldberg e ao Prof. Paulo Otto, pelos esclarecimentos relacionados à Genética.

A srta. Agda Cecilia Munhoz e ao Dr. Cláudio Meneghetti, pelas contribuições relacionadas à Medicina Nuclear.

Ao Serviço de Documentação Científica e Biblioteca do Instituto do Coração, em particular à sra. Maria do Carmo Barreto, pelo auxílio na organização das referências.

Ao Serviço de Arquivo Médico e Estatística, em particular ao Serviço de Arquivo, coordenado pelo sr. Wallace Fernandes, pela competência e presteza no atendimento das solicitações de consulta aos registros hospitalares.

À Equipe do Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração, pela ajuda na coleta de sangue dos pacientes e à Equipe do Banco de Sangue, pela ajuda na coleta de sangue dos indivíduos do grupo controle, e

um agradecimento especial a todos os pacientes, sentido maior do nosso trabalho, pelo consentimento em participarem deste estudo.

SUMÁRIO



SUMÁRIO

	LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	
	RESUMO	
1.	INTRODUÇÃO	1
2.	OBJETIVOS	5
3.	CASUÍSTICA	6
4.	MÉTODOS	6
	4.1. Amostra e população de origem.....	6
	4.2. Critérios de inclusão.....	7
	4.3. Etiologias.....	7
	4.3.1. Critérios diagnósticos.....	7
	4.3.2. Distribuição das etiologias	8
	4.4. Condições associadas.....	9
	4.5. Variáveis ecocardiográficas.....	11
	4.6. Fração de ejeção dos ventrículos direito e esquerdo na ventriculografia radioisotópica.....	12
	4.7. Medicamentos em uso.....	12
	4.8. Evolução clínica.....	13
	4.9. Determinação dos genótipos associados ao polimorfismo I/D do gene da enzima de conversão da angiotensina I....	13
	4.10. Análise do polimorfismo I/D.....	18
	4.10.1. Análise de acordo com o padrão de herança genética.....	18
	4.10.2. Análise do polimorfismo I/D com relação às variáveis clínicas.....	18
	4.10.3. Análise do polimorfismo I/D com relação à evolução clínica.....	19
	4.10.4. Análise das variáveis clínicas e do polimorfismo I/D com relação à sobrevivência acima dos 50 anos de idade.....	19
	4.11. Análise estatística.....	20
5.	RESULTADOS	23
	5.1. Frequência dos alelos e análise do equilíbrio de Hardy- Weinberg em relação aos grupos controle e de pacientes.	23
	5.2. Polimorfismo I/D entre os grupos controle e de pacientes.	23
	5.3. Polimorfismo I/D e idade.....	24
	5.4. Polimorfismo I/D e sexo.....	25
	5.5. Polimorfismo I/D nas diferentes etiologias.....	26
	5.6. Polimorfismo I/D e condições associadas.....	27
	5.7. Polimorfismo I/D e variáveis ecocardiográficas.....	27
	5.8. Polimorfismo I/D e fração de ejeção dos ventrículos direito e esquerdo na ventriculografia radioisotópica.....	30
	5.9. Polimorfismo I/D e medicamentos em uso.....	31

5.10.	Polimorfismo I/D e evolução clínica.....	31
5.10.1.	Polimorfismo I/D e o aparecimento dos sintomas.....	31
5.10.2.	Polimorfismo I/D e o aparecimento dos sintomas nas diferentes etiologias.....	32
5.10.3.	Polimorfismo I/D e o intervalo entre o nascimento e o óbito.....	36
5.10.4.	Polimorfismo I/D e a probabilidade de sobrevivência entre as diferentes etiologias.....	39
5.10.5.	Polimorfismo I/D e o intervalo entre o início dos sintomas e o óbito.....	40
5.10.6.	Polimorfismo I/D e a probabilidade de sobrevivência a partir do início dos sintomas nas diferentes etiologias.....	41
5.10.7.	Polimorfismo I/D e o intervalo entre o nascimento e o tratamento cirúrgico da insuficiência cardíaca.....	42
5.10.8.	Polimorfismo I/D e o intervalo entre o início dos sintomas e o tratamento cirúrgico da insuficiência cardíaca.....	42
6.	DISCUSSÃO	43
6.1.	Seleção de pacientes.....	43
6.2.	Seleção do grupo controle.....	45
6.3.	Reação em cadeia da polimerase.....	45
6.4.	Etiologias.....	47
6.5.	Dados relacionados com idade e sexo.....	48
6.6.	Análise dos resultados relacionados ao polimorfismo I/D.....	49
6.6.1.	Equilíbrio de Hardy-Weinberg.....	49
6.6.2.	Distribuição dos genótipos em relação aos grupos controle e de pacientes.....	50
6.6.3.	Polimorfismo I/D em relação à idade e ao sexo... ..	51
6.6.4.	Polimorfismo I/D e condições associadas.....	51
6.6.5.	Polimorfismo I/D e variáveis ecocardiográficas e da ventriculografia radioisotópica.....	52
6.6.6.	Polimorfismo I/D e as diferentes etiologias.....	53
6.6.7.	Polimorfismo I/D e o aparecimento dos sintomas.....	59
6.6.8.	Polimorfismo I/D e mortalidade.....	61
6.6.9.	Polimorfismo I/D e tratamento cirúrgico.....	64
6.6.10.	Análise dos padrões de herança genética.....	65
7.	CONCLUSÕES	68
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
	SUMMARY	
	APENDICE	

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

cm =	centímetro
D. =	doença
dATP =	deoxinucleotídeo adenina trifosfato
dCTP =	deoxinucleotídeo citosina trifosfato
dGTP =	deoxinucleotídeo guanina trifosfato
dTTP =	deoxinucleotídeo timina trifosfato
DNA =	ácido desoxirribonucleico
EDTA =	ácido etilenodiaminotetracético
g =	grama
HAS =	hipertensão arterial sistêmica
IC =	intervalo de confiança
KCl =	cloreto de potássio
MgCl ₂ =	cloreto de magnésio
μl =	microlitro
ml =	mililitro
mm =	milímetro
mM =	milimol
pM =	picomol
TRIS =	tris(hidroximetil)aminometano
V =	volt
vs. =	<i>versus</i>

RESUMO



RESUMO

O polimorfismo de inserção/deleção (I/D) do gene da enzima de conversão da angiotensina I foi estudado em coorte de sobreviventes de 333 portadores de insuficiência cardíaca, de idades entre 13 e 68 ($43,3 \pm 10,5$) anos, 262 (78,7%) dos quais eram homens e 71 (21,3%) mulheres. O grupo controle foi constituído de 807 doadores voluntários de sangue com idades entre 18 e 60 ($31,5 \pm 9,3$) anos, 557 (69%) dos quais eram homens e 250 (31%) mulheres. A insuficiência cardíaca foi atribuída à cardiomiopatia dilatada idiopática em 125 (37,6%) pacientes. Nos demais pacientes as etiologias foram: a cardiomiopatia isquêmica em 63 (18,9%), a cardiomiopatia da doença de Chagas em 58 (17,4%), a cardiomiopatia hipertensiva em 41 (12,3%), a cardiomiopatia alcoólica 24 (7,2%), a cardiomiopatia valvar em 11 (3,3%) e a cardiomiopatia periparto em 11 (3,3%). A determinação dos genótipos associados ao polimorfismo I/D foi realizada pela reação em cadeia da polimerase. Foram estudadas a distribuição dos genótipos entre os indivíduos do grupo controle e os pacientes e as prováveis associações do polimorfismo I/D com diferentes variáveis clínicas e com a evolução. Essas análises foram realizadas de acordo com o padrão de herança genética atribuído ao alelo D (co-dominante, recessivo ou dominante). Na análise estatística foram utilizados o teste do qui-quadrado, o teste *t-Student*, a análise de variância (ANOVA), o método de Kaplan-Meier, o teste *log-rank* e a regressão de Cox.

A frequência do genótipo DD foi menor no grupo de pacientes, considerando-se o caráter recessivo atribuído ao alelo D ($p=0,034$). Os portadores do genótipo DD apresentaram maior média de valores do diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo determinado pelo ecocardiograma, quando foi atribuído caráter recessivo ao alelo D ($p=0,031$). O intervalo decorrido do nascimento até o aparecimento dos sintomas foi menor nos

portadores do genótipo DD com cardiomiopatia alcoólica, ao ser atribuído caráter recessivo ao alelo D ($p=0,033$). O intervalo entre o nascimento e o aparecimento dos sintomas foi menor nos portadores do genótipo DD com cardiomiopatia hipertensiva, quando foi atribuído caráter co-dominante ($p=0,048$) ou recessivo ($p=0,024$) ao alelo D. Os portadores do genótipo DD apresentaram maior mortalidade após os 50 anos, ao ser atribuído caráter co-dominante ($p=0,007$) ou recessivo ($p=0,002$) ao alelo D. As variáveis independentes relacionadas com a maior mortalidade após os 50 anos de idade, ao ser atribuído caráter recessivo ao alelo D, foram: a idade ($p<0,001$), o genótipo DD ($p=0,003$), o diabetes melito ($p=0,003$) e a doença de Chagas ($p=0,005$). Atribuindo-se caráter co-dominante ao alelo D, as variáveis independentes relacionadas com maior mortalidade foram: a idade ($p<0,001$), a doença de Chagas ($p=0,004$), o diabetes melito ($p=0,005$) e o genótipo DD ($p=0,015$).

Os resultados obtidos permitem sugerir que o genótipo DD está associado com maior morbidade e mortalidade em determinados grupos de pacientes com insuficiência cardíaca.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A insuficiência cardíaca é um problema de saúde pública no Brasil. De acordo com dados do Sistema Único de Saúde, em 1996 foram registradas 426.177 hospitalizações por insuficiência cardíaca, com gastos da ordem de 150 milhões de reais (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1996). No mesmo ano, 27.402 óbitos foram atribuídos a essa condição. A insuficiência cardíaca reduz a sobrevivência dos indivíduos acometidos (FREITAS *et al.*, 1996) e ocupa o terceiro lugar entre as causas de óbito por doenças cardiovasculares (LOTUFO *et al.*, 1995). Em outros países, a prevalência da insuficiência cardíaca foi da ordem de 2,5% da população com mais de 45 anos (HO *et al.*, 1993a) a 13% em homens com mais de 65 anos (ERIKSSON *et al.*, 1989). A taxa de sobrevivência, decorridos 5 anos do início dos sintomas, foi de 25% nos homens e de 38% nas mulheres (HO *et al.*, 1993a). Portanto, o impacto da insuficiência cardíaca sobre a saúde da população é dos mais relevantes.

Dentre os mecanismos fisiopatológicos mobilizados na insuficiência cardíaca, destaca-se o sistema renina-angiotensina e a conseqüente ativação da angiotensina II (FRANCIS, 1985). As ações da angiotensina II estão relacionadas com alterações hemodinâmicas (FOWLER; HOLMES, 1964, WHELAN *et al.*, 1969, MORAVEC *et al.*, 1984), no crescimento celular e na remodelação ventricular (MORGAN; BAKER,

1991, WEBER; BRILLA, 1991). Particularmente relevante é a ativação específica do sistema renina-angiotensina cardíaco (LINDPAINTER; GANTEN, 1991, HIRSCH *et al.*, 1991). Evidências clínicas reiteram a importância do sistema renina-angiotensina na insuficiência cardíaca: o tratamento com drogas inibidoras da enzima de conversão da angiotensina I (ECA) alivia os sintomas, atenua as alterações hemodinâmicas e aumenta a sobrevida dos pacientes (CONSENSUS, 1987, SOLVD, 1991, SOLVD, 1992).

O papel da enzima de conversão da angiotensina I na regulação da síntese de angiotensina II foi demonstrado em estudos experimentais, nos quais sobrecargas de pressão levaram ao aumento da atividade da enzima de conversão e da produção local de angiotensina II, tanto nos vasos (OKAMURA *et al.*, 1986) quanto no coração (SCHUNKERT *et al.*, 1993).

Há evidências da existência de fatores genéticos determinantes dos níveis plasmáticos da enzima de conversão da angiotensina I (ALHENGELAS *et al.*, 1991). Num mesmo indivíduo, esses níveis são estáveis, mas podem variar em até 5,7 vezes em diferentes indivíduos. Admite-se que tal variação seja influenciada pela presença de um gene principal (CAMBIEN *et al.*, 1988).

As diferenças na seqüência de bases localizadas no DNA de cromossomos homólogos, quando estudadas no contexto de uma população, são chamadas polimorfismos (ROBERTS; TOWBIN, 1993, HOUSMAN, 1995). Esses polimorfismos podem estar presentes tanto em regiões codificadoras (*exons*), quanto em regiões não codificadoras (*introns*)

dos genes (HOUSMAN, 1995). A probabilidade de um indivíduo ter seqüências diferentes de DNA próximas ao sítio polimórfico determinará a utilidade daquele sítio em estudos genéticos (HOUSMAN, 1995).

No gene da enzima de conversão da angiotensina I, mais especificamente no *intron* 16, encontra-se um polimorfismo que consiste na presença - inserção (I) ou ausência - deleção (D) de 287 pares de bases (pb), resultando em três genótipos distintos: DD, DI e II (RIGAT *et al.*, 1990, 1992). Esse polimorfismo influencia os níveis plasmáticos da enzima de conversão: portadores do genótipo DD possuem níveis plasmáticos dessa enzima mais elevados do que os dos portadores do genótipo II. Níveis intermediários foram observados nos heterozigotos (RIGAT *et al.*, 1990).

Em 1992, um estudo demonstrou que o polimorfismo I/D era um marcador em forte desequilíbrio de ligação com uma variante gênica responsável pela regulação tanto do nível quanto da atividade plasmática da enzima de conversão (TIRET *et al.*, 1992).

Posteriormente, demonstrou-se que os níveis teciduais dessa enzima também estavam aumentados em portadores do genótipo DD (COSTEROUSSE *et al.*, 1993).

Baseados na associação entre a presença do alelo D e os níveis plasmáticos da enzima de conversão, bem como no papel desempenhado pelo sistema renina-angiotensina em determinadas doenças do sistema cardiocirculatório (ALDERMAN *et al.*, 1991, VELTMAR *et al.*, 1991), alguns autores estudaram a associação do polimorfismo I/D com a doença arterial

coronária (CAMBIEN *et al.*, 1992), a hipertensão arterial sistêmica (HARRAP *et al.*, 1993) e a insuficiência cardíaca (RAYNOLDS *et al.*, 1993).

Em relação à insuficiência cardíaca há estudos que demonstram a associação entre essa condição e o polimorfismo I/D (RAYNOLDS *et al.*, 1993, OHMACHI *et al.*, 1995, ANDERSSON *et al.*, 1996), enquanto outros estudos não confirmam tal associação (MONTGOMERY *et al.*, 1995, SANDERSON *et al.*, 1996). Não há, portanto, um consenso sobre o real papel desempenhado pelo polimorfismo I/D. Além disso, permanece a indagação se esse polimorfismo atuaria na patogênese, seria um fator de suscetibilidade ou modificador de determinada expressão genética.

Nesse contexto, elaboramos o presente estudo com a finalidade de avaliar a distribuição do polimorfismo I/D do gene da enzima de conversão da angiotensina I em portadores de insuficiência cardíaca e contribuir para o melhor entendimento dessa condição clínica.

OBJETIVOS

Fac. Medicina da USP
Biblioteca Central

2. OBJETIVOS

1. Estudar a distribuição dos genótipos DD, DI e II, associados ao polimorfismo I/D do gene da enzima de conversão da angiotensina I, em portadores de insuficiência cardíaca de diferentes etiologias.
2. Estudar a relação do polimorfismo I/D com diferentes variáveis clínicas.
3. Estudar a relação do polimorfismo I/D com a evolução dos portadores de insuficiência cardíaca.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

CASUÍSTICA E MÉTODOS

3. CASUÍSTICA

Foram estudados 333 portadores de insuficiência cardíaca no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. As idades dos pacientes variaram de 13 a 68 ($43,3 \pm 10,5$) anos, 262 (78,7%) dos quais eram homens e 71 (21,3%) mulheres.

O grupo controle foi constituído por 807 doadores voluntários de sangue, com idades entre 18 e 60 ($31,5 \pm 9,3$) anos, 557 (69%) dos quais eram homens e 250 (31%) mulheres.

4. MÉTODOS

4.1. Amostra e população de origem

Foi constituída uma coorte de sobreviventes, de março de 1995 a julho de 1997, selecionada a partir de um grupo de 652 pacientes avaliados desde abril de 1991 quanto à necessidade de tratamento cirúrgico de insuficiência cardíaca. O seguimento dos pacientes estendeu-se até março de 1998.

4.2. Critérios de inclusão

Foram incluídos os portadores de insuficiência cardíaca, diagnosticada com base no quadro clínico (McKEE *et al.*, 1971), com fração de ejeção do ventrículo esquerdo menor ou igual a 45% no ecocardiograma ou fração de ejeção do ventrículo esquerdo menor ou igual a 35% na ventriculografia radioisotópica.

4.3. Etiologias

4.3.1. Critérios diagnósticos

O diagnóstico etiológico baseou-se nos critérios da Organização Mundial de Saúde (REPORT, 1980, RICHARDSON, 1996) e nos critérios utilizados por outros autores.

a) Cardiomiopatia dilatada idiopática: presença de dilatação ventricular esquerda ou biventricular, acompanhada de contração miocárdica diminuída de causa desconhecida (DEC; FUSTER, 1994).

b) Cardiomiopatia isquêmica: história de infarto do miocárdio ou de revascularização miocárdica ou obstrução igual ou maior a 70% de uma ou mais artérias coronárias na angiografia.

c) Cardiomiopatia da doença de Chagas: presença de teste sorológico positivo para doença de Chagas (FERREIRA; ÁVILA, 1995).

d) Cardiomiopatia hipertensiva: história de hipertensão arterial sistêmica, definida por critérios previamente estabelecidos (REPORT, 1988),

na ausência de outras causas que pudessem justificar a insuficiência cardíaca.

e) Cardiomiopatia alcoólica: história de consumo de 80 gramas de etanol por dia por um período igual ou superior a 10 anos (REGAN, 1990) ou de 140 gramas de etanol por dia por um período igual ou superior a 5 anos (STEVENSON; PERLOFF, 1988), na ausência de outra causa que justifique a insuficiência cardíaca.

f) Cardiomiopatia valvar: história de doença valvar ou de tratamento cirúrgico de doença valvar em um indivíduo com disfunção do ventrículo esquerdo desproporcional às condições anormais de sobrecarga.

g) Cardiomiopatia periparto: desenvolvimento de dilatação ventricular esquerda e de disfunção sistólica no último mês de gravidez ou até 5 meses após o parto, na ausência de etiologia definida ou doença cardíaca demonstrável durante a gravidez (MANOLIO *et al.*, 1992).

4.3.2. Distribuição das etiologias

A insuficiência cardíaca foi atribuída à cardiomiopatia dilatada idiopática em 125 pacientes (37,6%). A cardiomiopatia isquêmica foi diagnosticada em 63 (18,9%) indivíduos, a cardiomiopatia da doença de Chagas em 58 (17,4%), a cardiomiopatia hipertensiva em 41 (12,3%), a cardiomiopatia alcoólica em 24 (7,2%), a cardiomiopatia valvar em 11(3,3%) e a cardiomiopatia periparto em 11 (3,3%). Os portadores destas duas últimas cardiopatias foram agrupados como "outras" etiologias.

4.4. Condições associadas

Dos 327 (98,2%) pacientes com informação disponível, eram diabéticos 27 (8,3%), dos quais cinco (1,5%) eram dependentes de insulina. As demais condições associadas estão representadas na tabela 1.

Tabela 1. Condições associadas em relação às diferentes cardiopatias.

ETIOLOGIA	n	HISTÓRIA DE		TABAGISMO (CIGARROS/DIA)		ETILISMO*				
		n	n (%)	n	n (%)	≤ 20	> 20	LEVE	MODERADO	ACENTUADO
HAS										
		n (%)	≤ 20	> 20	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
ALCOÓLICA	24	8 (33,3)	23	14 (60,9)	3 (13)	24	-	-	24 (100)	
DOENÇA DE CHAGAS	56	10 (17,9)	43	16 (37,2)	5 (11,6)	42	9 (21,4)	7 (16,7)	5 (11,9)	
IDIOPÁTICA	125	38 (30,4)	103	47 (45,6)	11 (10,7)	90	11 (12,2)	24 (26,7)	-	
HIPERTENSIVA	41	41 (100)	35	17 (48,6)	1 (2,9)	31	2 (6,5)	5 (16,1)	20 (64,5)	
ISQUÊMICA	60	31 (51,7)	49	29 (59,2)	12 (24,5)	43	10 (23,3)	7 (16,3)	6 (14)	
OUTRAS	22	5 (22,7)	20	8 (40)	1 (5)	16	1 (6,3)	1 (6,3)	-	
TOTAL	328	133	273	131	33	246	33	44	55	

n = número de pacientes com informação disponível; n (%) = número e porcentagem de pacientes em relação a cada condição

* O consumo de álcool foi classificado em leve (menor ou igual a 8g de etanol por dia) (KEMM, 1993), moderado (entre 8 e 80g de etanol por dia, por um período menor que 5 anos) e acentuado (80g de etanol por dia, por um período igual ou superior a 10 anos ou 140g de etanol por dia, por um período igual ou superior a 5 anos)

4.5. Variáveis ecocardiográficas

Os exames de ecocardiograma foram realizados na rotina do Serviço de Ecocardiografia. As medidas das variáveis estudadas foram determinadas de acordo com as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia (SAHN *et al.*, 1978). A função ventricular esquerda foi percentualmente estimada por meio da fração de ejeção de acordo com métodos previamente estabelecidos (POMBO *et al.*, 1971). O número de pacientes com informação disponível e as médias e os desvios padrão das variáveis estudadas são apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Variáveis ecocardiográficas

VARIÁVEL	n (%)	MÉDIA ± DESVIO PADRÃO
diâmetro do átrio esquerdo (mm)	321 (96,4)	46,8 ± 7,7
diâmetro da aorta (mm)	319 (95,8)	33,5 ± 4,1
espessura do septo interventricular (diástole) (mm)	320 (96,1)	8,2 ± 1,1
espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo (diástole) (mm)	320 (96,1)	8,2 ± 1,1
diâmetro do ventrículo esquerdo, fina. da sístole (mm)	325 (97,6)	64,5 ± 8,4
diâmetro do ventrículo esquerdo, fina. da diástole (mm)	325 (97,6)	74,7 ± 8,5
fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%)	327 (98,2)	35,0 ± 6,0
diâmetro do ventrículo direito (mm)	309 (92,8)	26,3 ± 6,4

4.6. Fração de ejeção dos ventrículos direito e esquerdo na ventriculografia radioisotópica

A ventriculografia radioisotópica foi realizada na rotina do Serviço de Medicina Nuclear, com o emprego de soluções de cloreto estanoso e de pertecnetato ($^{99m}\text{Tc O}_4$). As imagens cintilográficas foram obtidas com o paciente em posição supina, na incidência oblíqua anterior esquerda, perpendicular ao septo interventricular e sincronizadas ao eletrocardiograma. Foi utilizada câmara à cintilação Siemens, modelo LEM+, com campo de visão de 25cm e colimador de furos paralelos. A determinação das frações de ejeção dos ventrículos direito e esquerdo obedeceu a critérios previamente estabelecidos (MURPHY; PORT, 1996). A fração de ejeção do ventrículo esquerdo foi determinada em 318 (95,5%) pacientes e a média de seus valores foi de $20,8 \pm 7,4\%$. A fração de ejeção do ventrículo direito foi determinada em 225 (67,6%) pacientes e a média de seus valores foi de $23,6 \pm 8,8\%$.

4.7. Medicamentos em uso

Os grupos de medicamentos em uso pelos pacientes foram: os digitalálicos em 298 (89,8%) de 332 pacientes com informação disponível, os diuréticos em 327 (98,5%) de 332 pacientes, os inibidores da enzima de conversão da angiotensina I em 318 (96,1 %) de 331 pacientes, os nitratos em 43 (14,3%) de 332 pacientes, a hidralazina em 10 (3%) de 332

pacientes, os betabloqueadores em 12 (3,6%) de 331 pacientes e a amiodarona em 51 (15,4%) de 331 pacientes.

4.8. Evolução clínica

Foram estudados os seguintes intervalos tempo em anos: a) do nascimento até o início dos sintomas de insuficiência cardíaca, b) do nascimento até a última avaliação, óbito ou tratamento cirúrgico da insuficiência cardíaca, c) do início dos sintomas até a última avaliação, óbito ou tratamento cirúrgico da insuficiência cardíaca. Para efeito de análise, o tempo entre o nascimento e o óbito foi subdividido em faixas etárias (menor que 25 anos, entre 25 e 50 anos e maior que 50 anos).

4.9. Determinação dos genótipos associados ao polimorfismo I/D do gene da enzima de conversão da angiotensina I

Foram colhidos 9 ml de sangue de veia do antebraço, armazenados em tubos de ensaio contendo EDTA e conservados a 4°C.

Extração do DNA: foi realizada a partir da separação dos leucócitos, de acordo com procedimentos previamente descritos (MILLER *et al.*, 1988).

Dosagem da concentração de DNA: foi realizada por espectrofotometria, utilizando-se espectrofotômetro Pharmacia Lkb-Ultrospec II, de acordo com métodos previamente estabelecidos (SAMBROOK *et al.*, 1989).

Preparo das soluções para amplificação por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR)

Realizado de acordo com procedimentos previamente descritos e modificados (CAUFIELD *et al.*, 1994, LINDPAINTER *et al.*, 1995). Procedeu-se à feitura das soluções com 8 μ l de cada um dos trifosfatos de deoxinucleotídeo 100 mM: dATP, dCTP, dGTP e dTTP, 400 μ l de tampão 10x (500 mM de KCl₂, 20 mM de MgCl₂, 100 mM de ácido TRIS-hidroclórico [pH 9,0] e Triton X-100 1%) e 288 μ l de água destilada, perfazendo um total de 720 μ l, mantidos a -20°C.

Na seqüência, foram feitas as soluções para a amplificação por meio da reação em cadeia da polimerase. Em um tubo de 0,2 ml foram colocadas: 1 μ l da solução contendo o DNA a ser analisado, 4,5 μ l da solução contendo os deoxinucleotídeos, 1 μ l do *primer* 1 (12,5 pM), cuja estrutura é CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT e 1 μ l do *primer* 2 (12,5 pM), cuja estrutura é GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT (RIGAT *et al.*, 1992), além de 1,25 μ l de dimetilsulfóxido 5% (FOGARTY *et al.*, 1994) e 13,25 μ l de água destilada.

Reação em cadeia da polimerase propriamente dita

Realizada com modificações dos métodos previamente descritos (ROBERTS; TOWBIN, 1993, LINDPAINTER *et al.*, 1995). Os tubos foram colocados no aparelho termociclador (PTC-200 Peltier Thermal Cycler) e deixados a 94°C por 10 minutos e após este período a 75°C por mais 10 minutos, findos os quais foram adicionados 0,125 μ l da DNA-polimerase *Thermus aquaticus*, diluída em 3 μ l de tampão 1X (50 mM de KCl, 2,0 mM de

MgCl₂, 10 mM de ácido TRIS-hidroclórico e Triton X-100 0,1%), perfazendo um total de 25 µl por tubo. O DNA foi então amplificado por 30 ciclos com denaturação a 94°C por um minuto, seguindo-se o anelamento a 58°C por um minuto e extensão a 72°C por um minuto e trinta segundos. Após a adição de 5µl de tampão com glicerol 30%, 15µl da mistura foram resolvidos em gel de agarose a 1%, contendo 40 mM de TRIS acetato, 2 mM de EDTA e 1 µg de brometo de etídio por ml da solução. A placa com o gel e as amostras com os fragmentos de DNA foram acoplados a uma fonte e submetidos a uma corrente elétrica de 70V por 60 minutos. Os produtos da amplificação dos alelos D e I foram posteriormente identificados por transluminiscência com luz ultravioleta como bandas distintas. Os fragmentos contendo a inserção, por apresentarem maior peso molecular, 490 pb, possuem também menor mobilidade, enquanto que fragmentos com deleção são mais leves (190 pb) e possuem maior mobilidade, permitindo assim a separação dos mesmos em bandas distintas no gel de agarose. Nas amostras de indivíduos heterozigotos, as duas bandas são visíveis (figura 1). Devido ao fato de que a banda correspondente à variante D do gene é preferencialmente amplificada, cada amostra com o genótipo DD foi submetida a uma segunda amplificação pela reação em cadeia da polimerase, com um par de *primers* que reconhece uma seqüência específica da inserção: o *primer 3* (TGGGACCACAGCGCCCGCCACTAC) e o *primer 4* (TCGCCAGCCCTCCCATGCCATAA) (LINDPAINTER *et al.*, 1995). Essa reação produz amplificação tão-somente na presença do alelo I (fragmento de 335 pb) e nenhum produto nas amostras com o genótipo DD.

Dessa forma, a possibilidade de que a variante I do gene não seja identificada torna-se mínima.

As soluções contendo os *primers* 3 e 4 foram submetidas a uma nova amplificação, obedecendo às mesmas condições da reação anterior, mudando somente as condições da reação em cadeia da polimerase : a denaturação é feita a 94°C por 30 segundos e o anelamento a 69°C. Outra diferença com a primeira reação é a relacionada com a análise do produto da reação que, nessa segunda reação, é realizada em gel de agarose a 1,8%.

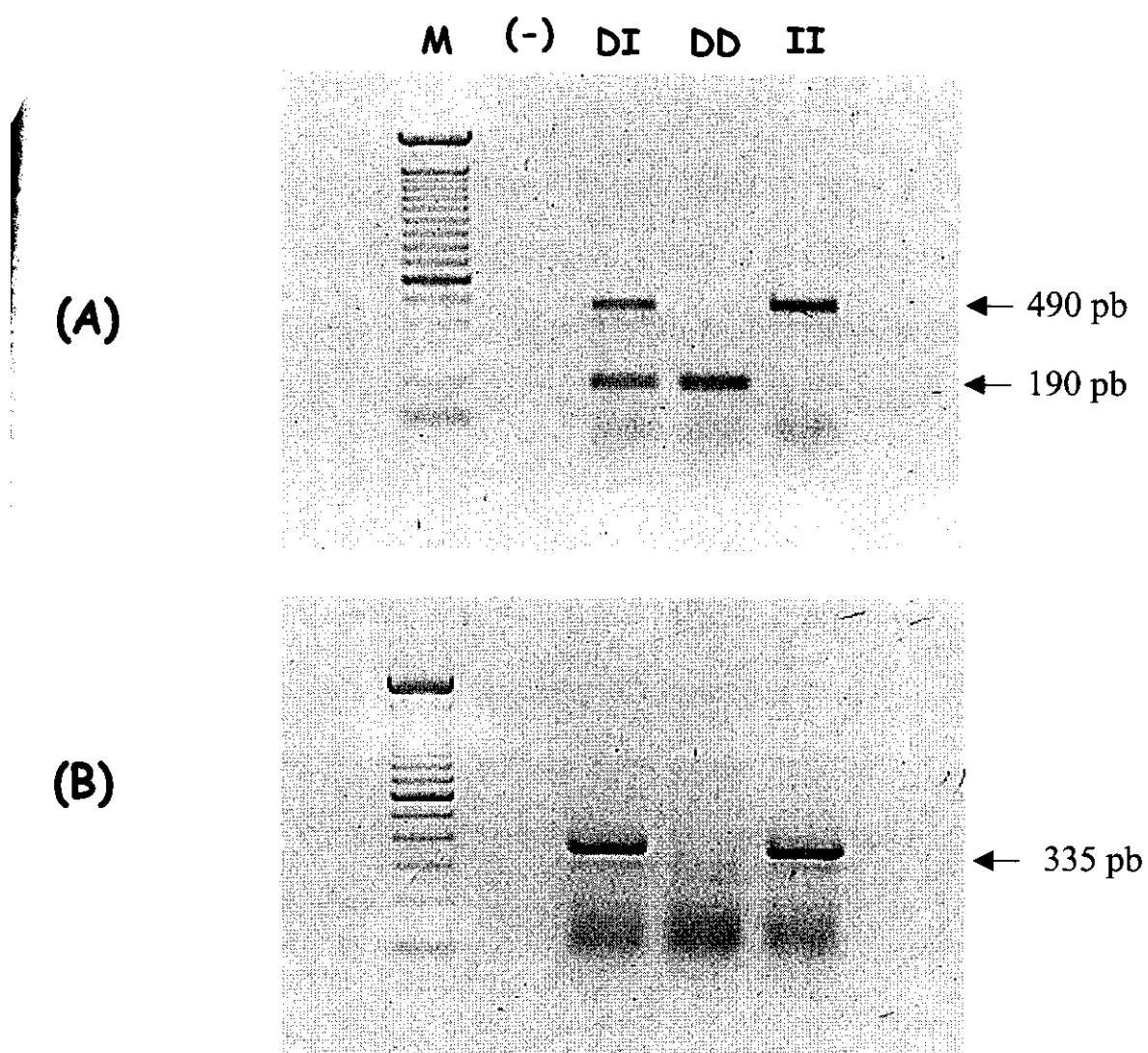


FIGURA 1 - Determinação do polimorfismo I/D do gene da ECA por PCR
 Gel de agarose 1% (A) e 1,8% (B) corado com brometo de etídio
 (A) Reação de PCR com utilização dos *primers* 1 e 2
 M: marcador de peso molecular (100 pb DNA ladder/ GIBCO BRL);
 (-): controle negativo; **DI**: genótipo DI (190 pb e 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.

4.10. Análise do polimorfismo I/D

4.10.1. Análise de acordo com o padrão de herança genética

A comparação da distribuição dos genótipos entre os grupos de pacientes e controle e as possíveis relações do polimorfismo I/D com as diferentes variáveis, bem como com a evolução clínica, foram realizadas de acordo com o padrão de herança genética atribuído ao alelo D (LINDPAINTER *et al.*, 1995). Dessa forma, atribuindo-se caráter co-dominante ao alelo D, os três genótipos foram analisados separadamente (DD *versus* DI *versus* II), ao passo que na atribuição de caráter recessivo ao alelo D, os portadores do genótipo DD foram analisados comparativamente aos portadores do alelo I considerados como grupo único (DD *versus* DI e II). A atribuição de caráter dominante ao alelo D implicou no estudo dos portadores do alelo D considerados como grupo único em relação aos homozigotos portadores do alelo I (DD e DI *versus* II).

4.10.2. Análise do polimorfismo I/D com relação às variáveis clínicas

Foram estudadas as relações com a idade, o sexo, as etiologias, as condições associadas, variáveis ecocardiográficas, variáveis da ventriculografia radioisotópica e medicamentos em uso.

4.10.3. Análise do polimorfismo I/D com relação à evolução clínica

Foram estudados os seguintes intervalos de tempo em anos: a) do nascimento até o início dos sintomas, b) do nascimento até a última avaliação, óbito, ou tratamento cirúrgico da insuficiência cardíaca, c) do início dos sintomas até a última avaliação, óbito ou tratamento cirúrgico da insuficiência cardíaca.

O intervalo considerado entre o nascimento e o óbito foi subdividido de acordo com a faixa etária (menor que 25 anos, entre 25 e 50 anos e maior que 50 anos).

4.10.4. Análise das variáveis clínicas e do polimorfismo I/D com relação à sobrevivência acima dos 50 anos de idade

Com relação ao intervalo de tempo compreendido entre o nascimento até a última avaliação ou óbito nos pacientes com mais de 50 anos, foram analisadas as seguintes variáveis: idade, sexo, condições associadas, etiologias, polimorfismo I/D, diâmetros sistólico e diastólico do ventrículo esquerdo determinados pelo ecocardiograma, fração de ejeção do ventrículo esquerdo no ecocardiograma e fração de ejeção do ventrículo esquerdo na ventriculografia radioisotópica.

4.11. Análise estatística

Na análise do equilíbrio genético dos grupos controle e de pacientes, bem como dos grupos das diferentes etiologias, foi utilizada a equação de Hardy-Weinberg (HARDY, 1908), associada ao teste do qui-quadrado (ROSNER, 1986). Para os grupos das diferentes etiologias, foi utilizado o método de Cannings e Edwards (CANNINGS; EDWARDS, 1969). Na análise entre o polimorfismo I/D e as variáveis classificatórias foi utilizado o teste qui-quadrado (ROSNER, 1980). Com relação às variáveis contínuas e com mais de dois grupos, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) (ROSNER, 1986) e, na presença de significância, o teste de Tukey (ROSNER, 1986) na discriminação das diferenças. Com relação a grupos dicotomizados, foi utilizado o teste *t-Student* (ROSNER, 1986).

Na análise da relação do polimorfismo I/D com a evolução clínica, foi utilizado o método de Kaplan-Meier (LEE, 1980) e o teste *log-rank* (LEE, 1980) para a comparação entre os portadores de cada genótipo, inclusive nos grupos de diferentes etiologias.

Na determinação das variáveis independentes relacionadas com a sobrevivência acima dos 50 anos de idade, foi utilizada, além dos métodos univariados, a regressão de Cox (LEE, 1980). A seleção de variáveis foi feita pelo procedimento *stepwise* (LEE, 1980).

O nível de significância utilizado foi de 0,05. Na realização dos cálculos estatísticos foi utilizado o *software Statistical Analysis System* (SAS/STAT, 1989).

Dinâmica das entradas e saídas de pacientes da população de origem

A dinâmica das entradas e saídas (óbitos ou realização de tratamento cirúrgico de insuficiência cardíaca) de pacientes foi analisada semestralmente de 1991 até 1998. A diferença foi estatisticamente significativa na proporção de entradas e saídas entre os semestres no período analisado (tabela 3).

Tabela 3. Proporção de entradas e saídas (do primeiro semestre de 1991 até o primeiro semestre de 1998)

ANO (SEMESTRE)	ENTRADAS (n)	ENTRADAS (%)	SAÍDAS (n)	SAÍDAS/ENTRADAS (%)
1991 (1 ^o)	78	7,7	41	52,6
1991 (2 ^o)	96	9,4	41	42,7
1992 (1 ^o)	63	6,2	28	44,4
1992 (2 ^o)	67	6,6	20	29,8
1993 (1 ^o)	95	9,3	29	30,5
1993 (2 ^o)	104	10,2	29	27,9
1994 (1 ^o)	65	6,4	19	29,2
1994 (2 ^o)	69	6,8	25	36,2
1995 (1 ^o)	58	5,7	19	32,8
1995 (2 ^o)	82	8,1	29	35,4
1996 (1 ^o)	65	6,4	18	27,7
1996 (2 ^o)	64	6,3	8	12,5
1997 (1 ^o)	31	3,0	1	3,2
1997 (2 ^o)	49	4,8	1	2
1998 (1 ^o)	32	3,1	-	-
TOTAL	1018	100	308	30,3

p= 0,001

Não houve diferença estatisticamente significativa na proporção de saídas entre os pacientes genotipados e não genotipados com informação disponível (tabela 4).

Tabela 4. Proporção de saídas entre os pacientes não genotipados e genotipados

CONDIÇÃO	VIVOS E NÃO OPERADOS (%)	ÓBITOS OU OPERADOS (%)	TOTAL
não genotipados	482 (70,4)	203 (29,6)	685
genotipados	236 (70,9)	97 (29,1)	333
TOTAL	718 (70,5)	300 (29,6)	1018

p=0,868

Comissão de Ética

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Todos os pacientes e indivíduos do grupo controle assinaram termo de consentimento para a participação no estudo, de acordo com os critérios da Comissão de Ética em Pesquisa Médica.

RESULTADOS



5. RESULTADOS

5.1. Freqüência dos alelos e análise do equilíbrio de Hardy-Weinberg em relação aos grupos controle e de pacientes

A freqüência do alelo D no grupo controle foi de 0,62 e nos pacientes de 0,58, enquanto que a freqüência do alelo I foi de 0,38 no grupo controle e de 0,42 nos pacientes. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as freqüências observadas dos genótipos em relação às esperadas no grupo controle ($p=0,402$) e no grupo de pacientes ($p=0,948$), bem como nas freqüências observadas e esperadas dos genótipos dos portadores de cardiomiopatia alcoólica ($p=0,625$), cardiomiopatia da doença de Chagas ($p=0,629$), cardiomiopatia hipertensiva ($p=0,537$), cardiomiopatia dilatada idiopática ($p=0,568$) e cardiomiopatia isquêmica ($p=0,556$), obedecendo, assim, à equação de Hardy-Weinberg.

5.2. Polimorfismo I/D entre os grupos controle e de pacientes

A distribuição dos genótipos nos grupos controle e de pacientes não apresentou diferença estatisticamente significativa, considerando-se o alelo D com caráter co-dominante ($p=0,106$). O grupo controle apresentou maior freqüência de portadores do genótipo DD em relação aos portadores de outros genótipos, quando foi atribuído caráter recessivo ao alelo D

($p=0,034$). Não houve diferença estatisticamente significativa na distribuição dos genótipos, ao ser atribuído caráter dominante ao alelo D ($p=0,430$) (tabela 5).

Tabela 5. Polimorfismo I/D nos grupos controle e de pacientes

GENÓTIPO	CONTROLE n (%)	PACIENTES n (%)	TOTAL
DD	323 (40,0)	111 (33,3)	434
DI	361 (44,7)	165 (49,6)	526
II	123 (15,3)	57 (17,1)	180
DD	323 (40,0)	111 (33,3)	434
DI e II	484 (60,0)	222 (66,7)	706
DD e DI	684 (84,8)	276 (82,9)	960
II	123 (15,2)	57 (17,1)	180
TOTAL	807	333	1140

5.3. Polimorfismo I/D e idade

A média de idade no grupo de pacientes ($43,3 \pm 10,5$ anos) foi maior do que a média no grupo controle ($31,5 \pm 9,3$ anos) ($p=0,0001$). A diferença das médias das idades entre os portadores dos três genótipos não foi estatisticamente significativa, tanto no grupo controle quanto no de pacientes (tabela 6).

Tabela 6. Idade em relação aos grupos controle e de pacientes de acordo com o polimorfismo I/D

GENÓTIPO	n (%)	MÉDIA ± DESVIO PADRÃO (ANOS)
CONTROLES		
DD	323 (40,0)	31,5 ± 9,5
DI	361 (44,7)	31,3 ± 9,2
II	123 (15,3)	32,1 ± 9,0
TOTAL	807	31,5 ± 9,3
		p=0,759
PACIENTES		
DD	111 (33,3)	42,4 ± 10,9
DI	165 (49,6)	43,7 ± 10,3
II	57 (17,1)	43,8 ± 10,5
TOTAL	333	43,3 ± 10,5
		p=0,576

5.4. Polimorfismo I/D e sexo

A diferença na distribuição dos genótipos entre homens e mulheres não se apresentou como estatisticamente significativa nos grupos controle e de pacientes (tabela 7). Houve predomínio de homens no grupo de pacientes (p=0,001).

Tabela 7. Distribuição segundo o sexo nos grupos controle e de pacientes em relação ao polimorfismo I/D

GENÓTIPO	SEXO MASCULINO (%)	SEXO FEMININO (%)	TOTAL
CONTROLES			
DD	228 (40,9)	95 (38,0)	323
DI	251 (45,1)	110 (44,0)	361
II	78 (14,0)	45 (18,0)	123
TOTAL	557	250	807
			p=0,329
PACIENTES			
DD	91 (34,7)	20 (28,2)	111
DI	125 (47,7)	40 (56,3)	165
II	46 (17,6)	11 (15,5)	57
TOTAL	262	71	333
			p=0,427

5.5. Polimorfismo I/D nas diferentes etiologias

Não houve diferença estatisticamente significativa na distribuição dos genótipos entre os portadores das diferentes etiologias, considerando-se o alelo D com caráter co-dominante (tabela 8), recessivo ($p=0,298$) ou dominante ($p=0,185$).

Tabela 8. Polimorfismo I/D nas diferentes etiologias

ETIOLOGIA	GENÓTIPO DD (%)	GENÓTIPO DI (%)	GENÓTIPO II (%)	TOTAL
Alcoólica	9 (37,5)	12 (50,0)	3 (12,5)	24
Doença de Chagas	21 (36,2)	31 (53,5)	6 (10,3)	58
Hipertensiva	13 (31,7)	18 (43,9)	10 (24,4)	41
Idiopática	40 (32,0)	62 (49,6)	23 (18,4)	125
Isquêmica	21 (33,3)	28 (44,5)	14 (22,2)	63
Outras	7 (31,8)	14 (63,6)	1 (4,6)	22
TOTAL	111	165	57	333

p=0,603

5.6. Polimorfismo I/D e condições associadas

A diferença na distribuição dos genótipos entre os indivíduos com diferentes condições associadas não apresentou significância estatística ($p > 0,05$).

5.7. Polimorfismo I/D e variáveis ecocardiográficas

A diferença das médias dos valores das variáveis ecocardiográficas entre os portadores dos três genótipos não foi estatisticamente significativa, considerando-se o caráter co-dominante do alelo D (tabela 9).

Tabela 9. Variáveis ecocardiográficas e polimorfismo I/D (alelo D com caráter co-dominante)

VARIÁVEL	MÉDIA ± DESVIO PADRÃO			p
	DD	DI	II	
diâmetro do átrio esquerdo (mm)	46,9 ± 6,1	46,6 ± 8,1	47,2 ± 7,2	0,883
diâmetro da aorta (mm)	34,0 ± 4,5	33,1 ± 3,7	33,5 ± 4,6	0,227
espessura do septo interventricular (diástole) (mm)	8,1 ± 1,0	8,3 ± 1,1	8,3 ± 1,2	0,312
espessura da parede posterior (diástole) (mm)	8,1 ± 1,0	8,2 ± 1,1	8,4 ± 1,1	0,237
diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo (final da sístole) (mm)	65,9 ± 7,5	64,0 ± 8,6	63,1 ± 9,1	0,079
diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (final da diástole) (mm)	76,0 ± 7,9	74,3 ± 8,4	73,5 ± 9,8	0,135
fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%)	34,5 ± 4,5	35,0 ± 6,8	36,2 ± 5,9	0,256
diâmetro do ventrículo direito (mm)	25,9 ± 6,1	26,8 ± 6,5	25,6 ± 6,6	0,373

Os portadores do genótipo DD apresentaram média mais elevada dos valores do diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo comparativamente aos portadores dos outros genótipos, ao ser atribuído caráter recessivo ao alelo D (tabela 10).

Tabela 10. Variáveis ecocardiográficas e polimorfismo I/D (alelo D com caráter recessivo)

VARIÁVEL	MÉDIA ± DESVIO PADRÃO		p
	DD	DI e II	
diâmetro do átrio esquerdo (mm)	46,9 ± 7,5	46,7 ± 7,8	0,885
diâmetro da aorta (mm)	34,0 ± 4,5	33,2 ± 4,0	0,103
espessura do septo interventricular (diástole) (mm)	8,1 ± 1,0	8,3 ± 1,1	0,130
espessura da parede posterior (diástole) (mm)	8,1 ± 1,0	8,3 ± 1,1	0,158
diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo (final da sístole) (mm)	65,9 ± 7,5	63,8 ± 8,7	0,031
diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (final da diástole) (mm)	76,0 ± 7,9	74,1 ± 8,7	0,056
fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%)	34,5 ± 5,4	35,2 ± 6,3	0,459
diâmetro do ventrículo direito (mm)	25,9 ± 6,1	26,5 ± 6,6	0,459

A diferença das médias dos valores das variáveis ecocardiográficas entre os portadores dos diferentes genótipos não foi estatisticamente significativa, levando-se em conta o caráter dominante do alelo D (tabela 11).

Tabela 11. Variáveis ecocardiográficas e polimorfismo I/D (alelo D com caráter dominante)

VARIÁVEL	MÉDIA ± DESVIO PADRÃO		p
	DD e DI	II	
diâmetro do átrio esquerdo (mm)	46,7 ± 7,8	47,2 ± 7,2	0,685
diâmetro da aorta (mm)	33,5 ± 4,1	33,5 ± 4,6	0,998
espessura do septo interventricular (diástole) (mm)	8,2 ± 1,1	8,3 ± 1,2	0,780
espessura da parede posterior (diástole) (mm)	8,2 ± 1,1	8,4 ± 1,1	0,179
diâmetro esquerdo (final da sístole) (mm)	64,8 ± 8,2	63,1 ± 9,1	0,190
diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (final da diástole) (mm)	75,0 ± 8,2	73,5 ± 9,8	0,244
fração da ejeção do ventrículo esquerdo (%)	34,7 ± 6,0	36,3 ± 5,9	0,077
diâmetro do ventrículo direito (mm)	26,5 ± 6,4	25,6 ± 6,6	0,369

5.8. Polimorfismo I/D e fração de ejeção dos ventrículos direito e esquerdo na ventriculografia radioisotópica

A diferença das médias dos valores da fração de ejeção do ventrículo direito entre os portadores dos três genótipos não foi estatisticamente significativa, considerando-se o caráter co-dominante ($p=0,716$), recessivo ($p=0,808$) ou dominante ($p=0,414$).

Não houve diferença estatisticamente significativa das médias dos valores de fração de ejeção do ventrículo esquerdo entre os portadores dos

diferentes genótipos, considerando-se o caráter co-dominante ($p=0,464$), recessivo ($p=0,953$) ou dominante ($p=0,233$).

5.9. Polimorfismo I/D e medicamentos em uso

Não houve diferença estatisticamente significativa na proporção de uso dos diferentes grupos de medicamentos entre os portadores dos genótipos DD, DI e II ($p>0,05$).

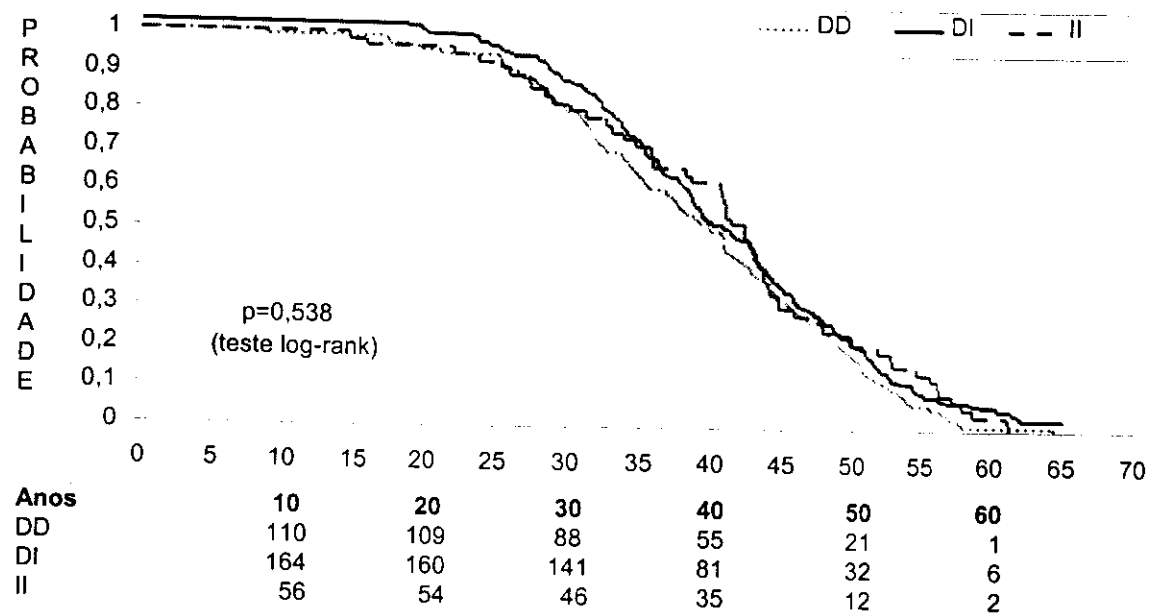
5.10. Polimorfismo I/D e evolução clínica

5.10.1. Polimorfismo I/D e o aparecimento dos sintomas

O tempo decorrido entre o nascimento e o aparecimento dos sintomas variou de 8,8 a 65,1 ($40,4 \pm 10,4$) anos e pôde ser determinado em 330 pacientes.

A diferença na probabilidade de aparecimento de sintomas entre os portadores dos três genótipos não foi estatisticamente significativa, considerando-se o caráter co-dominante ($p=0,538$) (gráfico 1), recessivo ($p=0,329$) ou dominante ($p=0,411$) do alelo D.

Gráfico 1. Probabilidade de aparecimento dos sintomas em relação aos genótipos (alelo D com caráter co-dominante). Os números na parte debaixo do gráfico representam o número de pacientes livres de sintomas a cada 10 anos



5.10.2. Polimorfismo I/D e o aparecimento dos sintomas nas diferentes etiologias

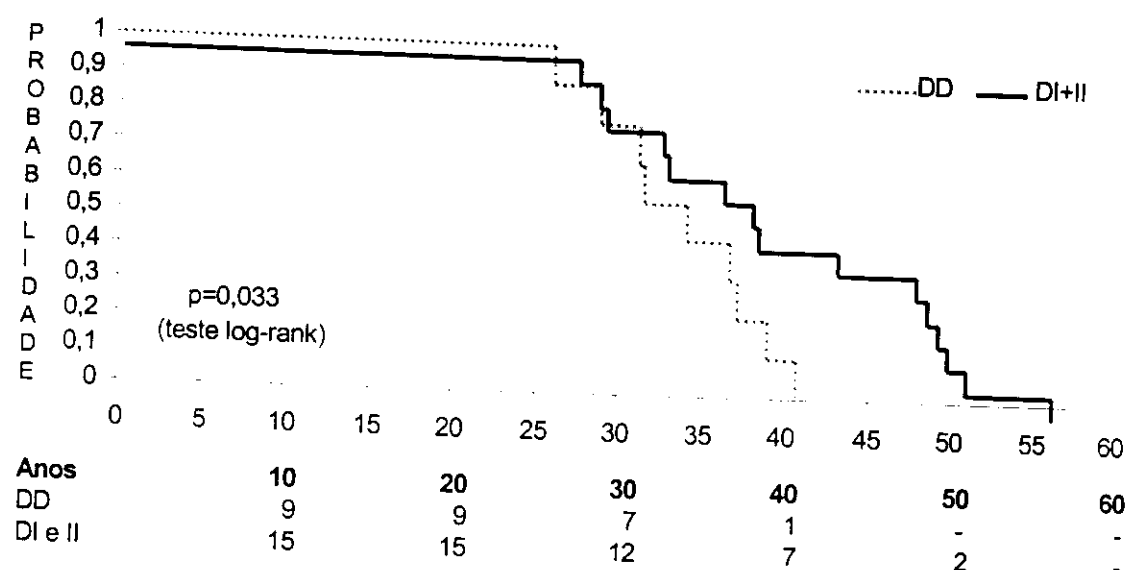
Com exceção das etiologias alcoólica e hipertensiva, não houve diferença estatisticamente significativa na probabilidade de aparecimento dos sintomas entre os portadores dos três genótipos nas diferentes etiologias (tabela12).

Tabela 12. Probabilidade de significância da comparação entre o polimorfismo I/D e o aparecimento dos sintomas nas diferentes etiologias

ETIOLOGIA	GENÓTIPOS	VALORES DA PROBABILIDADE DE SIGNIFICÂNCIA (p)
Alcoólica	DD vs. DI vs. II	0,092
	DD vs. DI e II	0,033
	DD e DI vs. II	0,416
Doença de Chagas	DD vs. DI vs. II	0,565
	DD vs. DI e II	0,307
	DD e DI vs. II	0,996
Hipertensiva	DD vs. DI vs. II	0,048
	DD vs. DI e II	0,024
	DD e DI vs. II	0,776
Idiopática	DD vs. DI vs. II	0,308
	DD vs. DI e II	0,216
	DD e DI vs. II	0,600
Isquêmica	DD vs. DI vs. II	0,777
	DD vs. DI e II	0,478
	DD e DI vs. II	0,761

Em relação aos portadores de cardiomiopatia alcoólica, houve uma associação estatisticamente significativa entre o aparecimento dos sintomas e a presença do genótipo DD, quando foi atribuído caráter recessivo ao alelo D ($p=0,033$). O tempo de aparecimento dos sintomas foi menor nos portadores do genótipo DD comparativamente aos indivíduos portadores dos genótipos DI e II (gráfico 2).

Gráfico 2. Probabilidade de aparecimento dos sintomas em portadores de cardiomiopatia alcoólica em relação ao polimorfismo I/D (alelo D com caráter recessivo)



Em relação aos portadores de cardiomiopatia hipertensiva, constatou-se associação estatisticamente significativa entre o aparecimento dos sintomas e a presença do genótipo DD. Foi observado que o tempo de aparecimento dos sintomas nos portadores desse genótipo foi menor, comparativamente aos portadores dos outros genótipos, quando foi atribuído ao alelo D caráter co-dominante ($p=0,048$) (gráfico 3), ou recessivo ($p=0,024$) (gráfico 4).

Gráfico 3. Probabilidade de aparecimento dos sintomas em portadores de cardiomiopatia hipertensiva em relação ao polimorfismo I/D (alelo D com caráter co-dominante). Os números abaixo do gráfico representam o número de indivíduos livres de sintomas a cada 10 anos

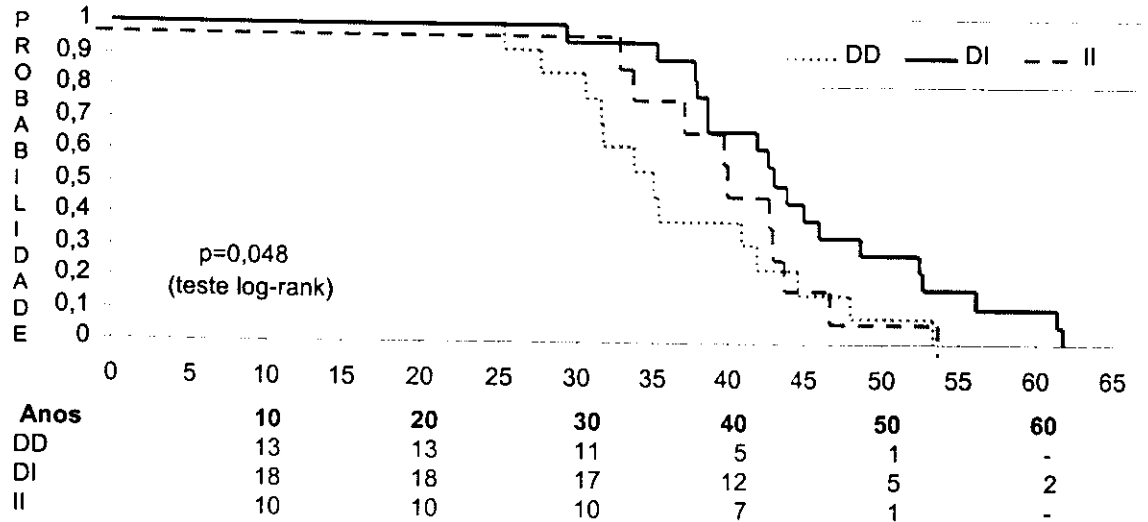
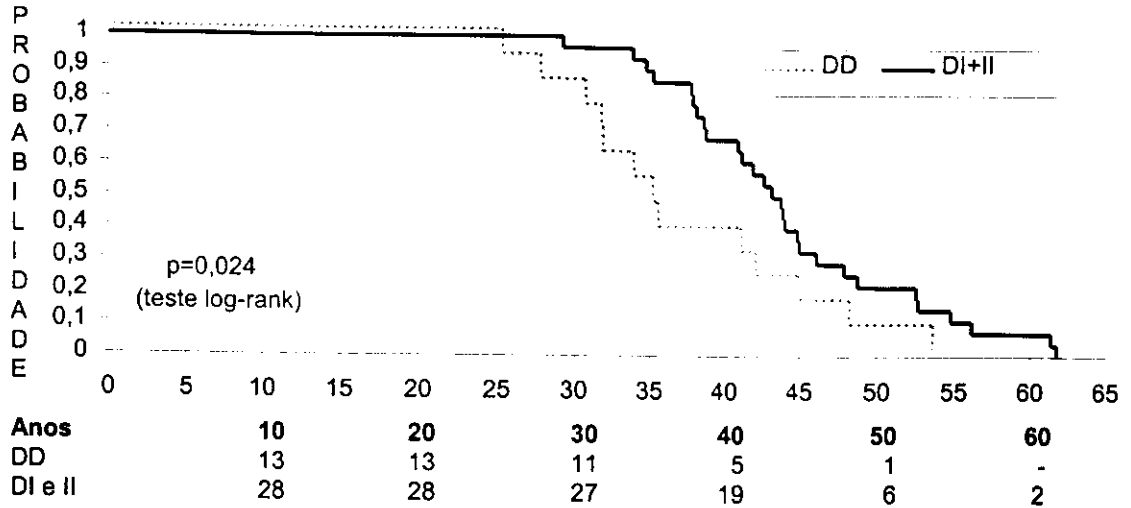


Gráfico 4. Probabilidade de aparecimento dos sintomas em portadores de cardiomiopatia hipertensiva em relação ao polimorfismo I/D (alelo D com caráter recessivo)

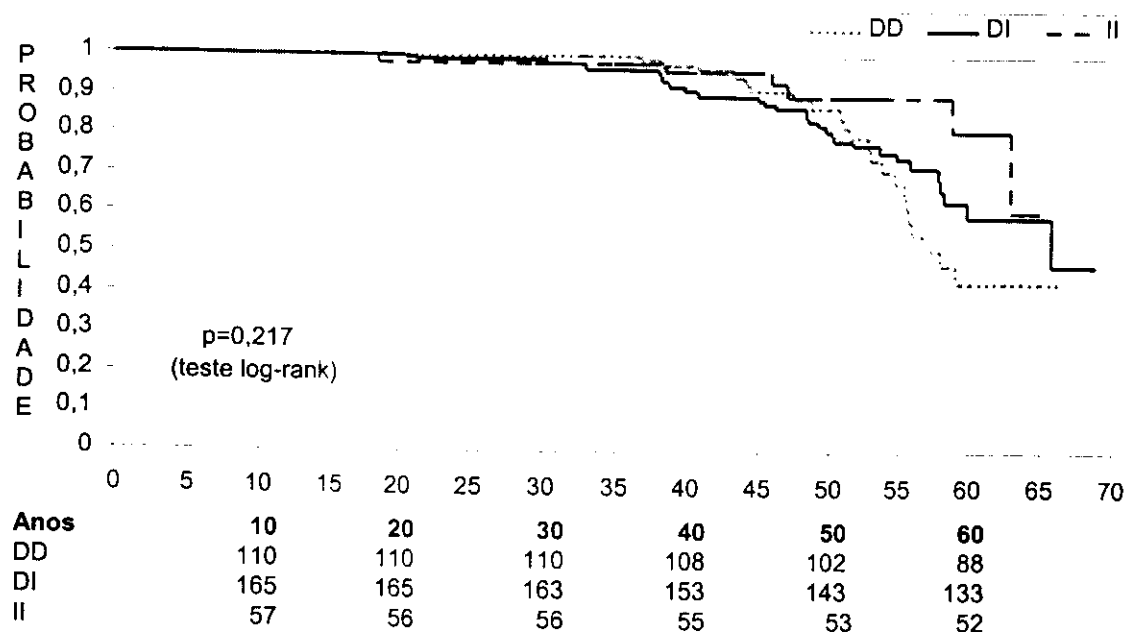


5.10.3. Polimorfismo I/D e o intervalo entre o nascimento e o óbito

No período estudado, 61 pacientes morreram. O tempo decorrido entre o nascimento e o óbito variou de 18,4 a 65,6 ($47,0 \pm 10,1$) anos. Informação a respeito da data do óbito ou da última avaliação foi obtida de 332 pacientes.

No período considerado, 22 (36,1%) portadores do genótipo DD morreram, assim como 33 (54,1%) portadores do genótipo DI e 6 (9,8%) do genótipo II. Não houve diferença estatisticamente significativa na probabilidade de sobrevivência entre os portadores dos três genótipos, considerando-se o caráter co-dominante ($p=0,217$) (gráfico 5), recessivo ($p=0,295$) ou dominante ($p=0,099$) do alelo D.

Gráfico 5. Polimorfismo I/D e a probabilidade de sobrevivência (alelo D com caráter co-dominante)



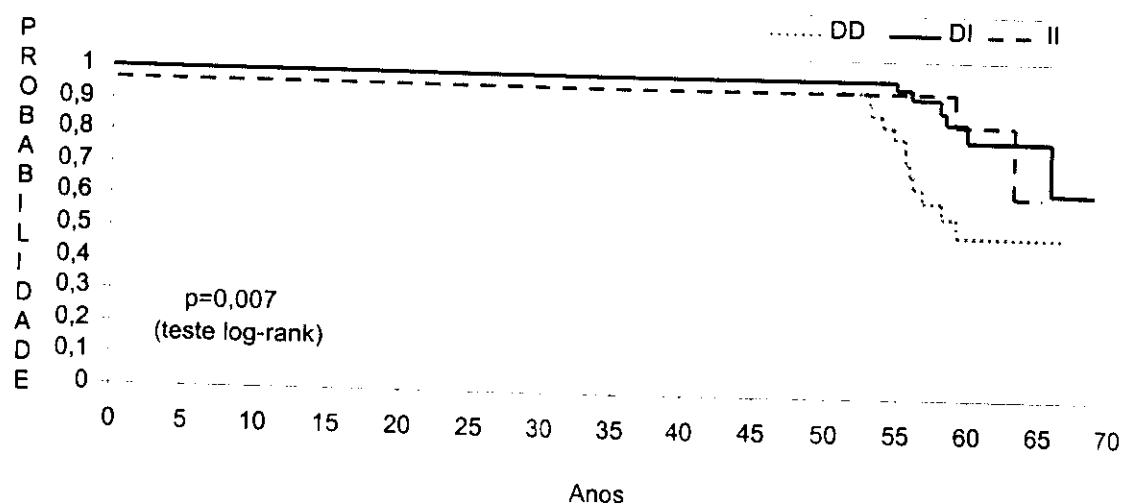
O tempo decorrido entre o nascimento e o óbito foi dividido em três períodos: até 25 anos de idade, entre 25 e 50 anos e após os 50 anos de idade.

No período compreendido até os 25 anos, três pacientes morreram (dois portadores do genótipo DI, um do genótipo II e nenhum portador do genótipo DD).

Em relação ao período compreendido entre 25 e 50 anos, 31 pacientes morreram. Não houve diferença estatisticamente significativa na probabilidade de sobrevivência entre os 25 e 50 anos de idade, entre os portadores dos diferentes genótipos, considerando-se o alelo D com caráter co-dominante ($p=0,204$), recessivo ($p=0,939$) ou dominante ($p=0,094$).

No grupo dos pacientes acima dos 50 anos, 27 morreram no período considerado. Portadores do genótipo DD apresentaram menor probabilidade de sobrevivência em relação aos portadores dos outros genótipos, considerando-se o caráter co-dominante ($p=0,007$) (gráfico 6) ou recessivo ($p=0,002$) do alelo D. Não houve diferença estatisticamente significativa na probabilidade de sobrevivência, considerando-se o caráter dominante do alelo D ($p=0,300$).

Gráfico 6. Probabilidade de sobrevivência em relação ao polimorfismo I/D em pacientes com mais de 50 anos de idade (alelo D com caráter co-dominante)



Análise Multivariada

A partir da observação da diferença estatisticamente significativa com relação aos pacientes com idade superior a 50 anos, procedeu-se à análise multivariada. As variáveis estudadas nessa análise foram as que apresentaram relação estatisticamente significativa com a sobrevivência na análise univariada: a idade ($p<0,001$), os genótipos, considerando-se o alelo D com caráter recessivo ($p=0,002$) ou co-dominante ($p=0,007$), o diabetes melito ($p=0,004$) e as etiologias da doença de Chagas e isquêmica ($p=0,015$). As variáveis independentes relacionadas significativamente com a sobrevivência são apresentadas na tabela 13.

Tabela 13. Resultados da regressão de Cox em relação à sobrevivência

GENÓTIPOS	VARIÁVEIS	PARÂMETROS	ERRO	RISCO RELATIVO	VALORES
	INDEPENDENTES	VARIÁVEIS	PADRÃO	(IC95%)	DE p
DD vs. DI e II	idade	-0,490	0,122	0,613(0,483-0,778)	<0,001
	genótipo DD	1,504	0,510	4,501(1,656-12,235)	0,003
	diabetes melito	1,756	0,596	5,789(1,800-18,623)	0,003
	D. de Chagas	1,721	0,608	5,590(1,698-18,399)	0,005
DD vs. DI vs. II	idade	-0,466	0,120	0,627(0,495-0,794)	<0,001
	D. de Chagas	1,754	0,604	5,780(1,768-18,897)	0,004
	diabetes melito	1,670	0,590	5,311(1,672-16,876)	0,005
	genótipo DD	1,066	0,440	2,904(1,227-6,873)	0,015

5.10.4. Polimorfismo I/D e a probabilidade de sobrevivência entre as diferentes etiologias

O número de mortes entre os portadores de cardiomiopatia alcoólica, cardiomiopatia da doença de Chagas, cardiomiopatia hipertensiva, cardiomiopatia idiopática e cardiomiopatia isquêmica foi, respectivamente, de 3 (4,9%), 18 (29,5%), 3 (4,9%), 18 (29,5%) e 16 (26,2%). No grupo das outras etiologias houve 3 óbitos (4,9%). Não houve diferença estatisticamente significativa na probabilidade de sobrevivência entre os portadores dos três genótipos nas diferentes etiologias (tabela 14).

Tabela 14. Probabilidade de significância na comparação da sobrevivência em relação ao polimorfismo I/D nas diferentes etiologias

ETIOLOGIA	GENÓTIPOS	VALORES DA PROBABILIDADE DE SIGNIFICÂNCIA (p)
Alcoólica	DD vs. DI vs. II	0,789
	DD vs. DI e II	0,561
	DD e DI vs. II	0,617
Doença de Chagas	DD vs. DI vs. II	0,584
	DD vs. DI e II	0,845
	DD e DI vs. II	0,376
Hipertensiva	DD vs. DI vs. II	0,489
	DD vs. DI e II	0,279
	DD e DI vs. II	0,432
Idiopática	DD vs. DI vs. II	0,968
	DD vs. DI e II	0,812
	DD e DI vs. II	0,882
Isquêmica	DD vs. DI vs. II	0,314
	DD vs. DI e II	0,984
	DD e DI vs. II	0,159

5.10.5. Polimorfismo I/D e o intervalo entre o início dos sintomas e o óbito

O tempo decorrido entre o início dos sintomas e o óbito variou de 0,2 a 13,6 ($4,5 \pm 3,1$) anos.

A diferença na probabilidade de sobrevivência entre os portadores dos genótipos DD, DI e II não foi estatisticamente significativa, considerando-se o caráter co-dominante ($p=0,322$), recessivo ($p=0,387$) ou dominante ($p=0,150$) do alelo D.

5.10.6. Polimorfismo I/D e a probabilidade de sobrevivência a partir do início dos sintomas nas diferentes etiologias

Não houve diferença estatisticamente significativa na probabilidade de sobrevivência a partir do início dos sintomas entre os portadores dos três genótipos nas diferentes etiologias (tabela 15).

Tabela 15. Probabilidade de significância na comparação da sobrevivência a partir do início dos sintomas em relação ao polimorfismo I/D nas diferentes etiologias

ETIOLOGIA	GENÓTIPOS	VALORES DA PROBABILIDADE DE SIGNIFICÂNCIA (p)
Alcoólico	DD vs. DI vs. II	0,669
	DD vs. DI e II	0,859
	DD e DI vs. II	0,375
Doença de Chagas	DD vs DI vs. II	0,512
	DD vs. DI e II	0,897
	DD e DI vs. II	0,266
Hipertensiva	DD vs. DI vs. II	0,367
	DD vs. DI e II	0,317
	DD e DI vs. II	0,527
Idiopática	DD vs. DI vs. II	0,947
	DD vs. DI e II	0,910
	DD e DI vs. II	0,742
Isquêmica	DD vs. DI vs. II	0,230
	DD vs. DI e II	0,202
	DD e DI vs. II	0,135

5.10.7. Polimorfismo I/D e o intervalo entre o nascimento e o tratamento cirúrgico da insuficiência cardíaca

Dos 333 pacientes estudados, 36 foram submetidos a tratamento cirúrgico durante o período de acompanhamento.

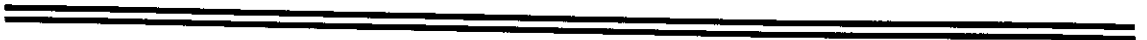
O tempo decorrido entre o nascimento e a data da cirurgia para tratamento da insuficiência cardíaca variou de 14,0 a 64,9 ($43,4 \pm 11,5$) anos.

A diferença na probabilidade de tratamento cirúrgico entre os portadores dos diferentes genótipos não foi estatisticamente significativa, considerando-se o caráter co-dominante ($p=0,380$), recessivo ($p=0,678$) ou dominante ($p=0,256$) do alelo D.

5.10.8. Polimorfismo I/D e o intervalo entre o início dos sintomas e o tratamento cirúrgico da insuficiência cardíaca

A diferença na probabilidade de tratamento cirúrgico a partir do início dos sintomas entre os portadores dos diferentes genótipos DD, DI e II não foi estatisticamente significativa, considerando-se o caráter co-dominante ($p=0,266$), recessivo ($p=0,738$) ou dominante ($p=0,156$) do alelo D.

DISCUSSÃO



6. DISCUSSÃO

As características do presente estudo justificam algumas considerações de ordem metodológica antes da análise dos resultados propriamente ditos.

6.1. Seleção de pacientes

Os pacientes avaliados no presente estudo fazem parte de uma coorte de sobrevivência. Trata-se de um grupo que possui em comum a presença de insuficiência cardíaca e que foi selecionado a partir da avaliação do quadro clínico e dos valores da fração de ejeção obtidos por meio do ecocardiograma e da ventriculografia radioisotópica.

Apesar de o grupo, no todo, ser heterogêneo, dadas as diferentes etiologias existentes, cada uma delas com mecanismos fisiopatológicos distintos, todos os indivíduos apresentavam insuficiência cardíaca, fase final da evolução de uma variedade de processos mórbidos (HO *et al.*, 1993a). Se por um lado a presença de diferentes etiologias implica em heterogeneidade da amostra, por outro permite verificar se os resultados podem ser aplicados de forma mais generalizada.

Os 333 pacientes foram selecionados a partir de um grupo maior de pacientes, que foram avaliados em relação à necessidade de tratamento cirúrgico da insuficiência cardíaca. À época do início do presente estudo,

esse grupo contava com 652 indivíduos. Ao comparar os pacientes que entraram no grupo tendo em vista um provável tratamento cirúrgico com relação aos que saíram por morte ou por terem sido operados, observa-se que a diferença entre a proporção de entradas e saídas de pacientes, de 1991 até o primeiro semestre de 1998, foi estatisticamente significativa (tabela 3). A proporção de entradas apresenta certa uniformidade ao longo de todo o período analisado, à exceção do segundo semestre de 1991 e do segundo semestre de 1993, ao passo que a proporção das saídas apresenta maior uniformidade se for considerado o período entre o primeiro semestre de 1992 até o primeiro semestre de 1996. Nota-se que a porcentagem de saídas é maior no ano de 1991, o que pode ser atribuído à maior gravidade clínica na seleção inicial dos pacientes. Considerando-se a proporção de indivíduos genotipados e não genotipados entre os indivíduos que deixaram o grupo, por morte ou por terem sido operados, e aqueles que permaneceram vivos e não foram submetidos a tratamento cirúrgico, observamos que não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($p=0,868$). Dessa forma, na seleção da casuística, em que pesem algumas diferenças na proporção de saídas, existe certa semelhança na proporção de entradas e saídas de pacientes genotipados e não genotipados.

6.2. Seleção do grupo controle

A escolha do grupo controle implicou na dificuldade de selecionar uma amostra controle geneticamente apropriada para esse tipo de estudo, no qual é feita a pesquisa de uma variável genética em desequilíbrio de ligação com determinado gene. A dificuldade reside no fato de que é impossível saber quais indivíduos pertencentes a esse grupo desenvolverão algum tipo de cardiopatia. O número elevado de indivíduos disponíveis, bem como a maior facilidade operacional na coleta de sangue e a assunção de que tais indivíduos fossem sadios, bem como a análise da casuística utilizada em estudo prévio (LUDWIG *et al.*, 1995), fizeram com que a escolha do grupo controle recaísse sobre doadores voluntários de sangue.

6.3. Reação em cadeia da polimerase

Na avaliação do método da reação em cadeia da polimerase é necessária a análise de determinados aspectos. Inicialmente, pelo fato de a reação em cadeia da polimerase ser capaz de amplificar uma partícula tão pequena quanto uma única molécula, algumas precauções devem ser tomadas a fim de evitar a contaminação das misturas das diversas etapas da reação com quantidades residuais de DNA que podem servir como moldes para a reação. Tais precauções são essenciais quando da presença de seqüências alvo a ser amplificadas presentes em baixa concentração (KWOK; HIGUCHI, 1989).

Outra limitação do presente método é a taxa relativamente alta de não incorporação de nucleotídeos, traduzida por uma frequência de erro na faixa de 0,25% em uma amplificação de trinta ciclos (SAIKI *et al.*, 1988). Um ponto importante a ser enfatizado é que o uso de *primers* que flanqueiam a região polimórfica pode levar à amplificação preferencial do alelo D (SHANMUGAN *et al.*, 1993, LINDPAINTER *et al.*, 1995). A frequência de indivíduos erradamente classificados como portadores do genótipo DD está em torno de 4 a 5% (LINDPAINTER *et al.*, 1995).

Essa amplificação preferencial do alelo D parece estar, na verdade, associada a uma falha ocasional da amplificação do alelo I em heterozigotos. Para evitar esse problema, é adicionado dimetilsufóxido a 5% (DMSO) à solução que faz parte da reação em cadeia da polimerase na qual são utilizados os *primers* que flanqueiam a região do gene onde está localizada a inserção/deleção. O genótipo DD foi posteriormente confirmado por meio de um terceiro *primer* específico para a inserção que somente origina um produto na presença da inserção (SHANMUGAN *et al.*, 1993, LINDPAINTER *et al.*, 1995, FOGARTY *et al.*, 1997, ODAWARA; YAMASHITA, 1997). No presente estudo, o grupo controle apresentou 26 (3,2%) indivíduos que haviam sido inicialmente classificados como DD e que na reação comprobatória, na qual foi utilizado o *primer* específico para inserção, foram reclassificados como DI. No grupo de pacientes, 17 (5,1%) indivíduos haviam sido classificados, inicialmente, como homozigotos para o alelo D. Esses valores estão próximos dos reportados por outros autores, segundo os quais, 4 a 5% das amostras com o genótipo DI podem ser

erradamente classificadas como DD com os *primers* não específicos para a inserção (LINDPAINTER *et al.*, 1995).

A utilização dessa amplificação adicional permite que a tipagem dos genótipos DD e DI seja feita com 100% de precisão (SHANMUGAM *et al.*, 1993).

6.4. Etiologias

A análise da distribuição das diferentes etiologias no grupo de doentes mostra que a maior incidência foi atribuída à cardiomiopatia dilatada idiopática (37,6%). Verificamos, em estudos prévios (CUOCO *et al.*, 1996, FREITAS *et al.*, 1996), ser tal etiologia a que apresentou maior número de indivíduos acometidos. Em verdade, tanto a prevalência quanto a incidência da cardiomiopatia dilatada idiopática parecem estar aumentando, embora isso possa ser atribuído à determinação mais adequada dos casos (Codd *et al.*, 1989). A segunda etiologia com maior número de doentes foi a cardiomiopatia isquêmica (18,9%), seguida pela cardiomiopatia da doença de Chagas (17,4%) e pela cardiomiopatia hipertensiva (12,3%). O fato de a cardiomiopatia isquêmica vir em segundo lugar quanto ao número de indivíduos acometidos provavelmente é um reflexo da prevalência da doença arterial coronária no Brasil (LOTUFO *et al.*, 1995). O mesmo pode ser aplicado ao número de portadores de cardiomiopatia da doença de Chagas, visto que essa infecção ainda apresenta alta prevalência no nosso país (WANDERLEY; CORRÊA, 1995).

Apesar de a história de hipertensão arterial sistêmica estar presente em 40,5% dos pacientes, somente 12% dos pacientes foram classificados como portadores de cardiopatia hipertensiva. A explicação para isso reside em que, nos limites da avaliação clínica, procuramos estabelecer diagnósticos etiológicos de acordo com a expressividade do processo mórbido estudado. Dessa forma, os critérios estabelecidos para definir uma causa atribuível foram utilizados de maneira hierárquica quando da presença de um ou mais possíveis fatores envolvidos na gênese da insuficiência cardíaca, de tal modo que o de maior expressão determinou o diagnóstico etiológico. Em relação aos indivíduos classificados como portadores de cardiomiopatia alcoólica, em que pesem as dificuldades de classificação dessa etiologia, a proporção encontrada (7%) é bem semelhante aos 8% encontrados em outro estudo (GILLUM, 1986).

6.5. Dados relacionados com idade e sexo

O grupo de pacientes apresentou maior média de idade em relação ao grupo controle. Esse fato pode ser explicado pela própria composição do grupo controle, já que o limite máximo para a doação de sangue é 60 anos (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1993). A maior prevalência de homens no grupo de pacientes está de acordo com a maior prevalência de insuficiência cardíaca em homens (CORRELAÇÃO ANATOMOCLÍNICA, 1997).

6.6. Análise dos resultados relacionados ao polimorfismo I/D

6.6.1. Equilíbrio de Hardy-Weinberg

Os grupos controle e de pacientes, bem como os grupos etiológicos, apresentaram freqüências genóticas de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Uma população ou grupo em equilíbrio de Hardy-Weinberg precisa estar de acordo com as seguintes assunções: 1) que os organismos estudados sejam diplóides, 2) que as populações estudadas sejam de grande tamanho, 3) que a população em questão deve ser de reprodução sexuada e panmítica, 4) que a taxa de mutações deve ser insignificante, 5) que o número de migrações deve ser negligenciável e 6) que não deve haver seleção natural, ou seja, os indivíduos devem ter iguais probabilidades de sobrevivência. Dado que a freqüência de um certo alelo A, num dado locus, seja igual a p , tem-se que a freqüência dos indivíduos homocigotos (AA) é dada por p^2 , a freqüência dos indivíduos heterocigotos (Aa) por $2p(1-p)$ e a freqüência dos indivíduos homocigotos (aa) por $(1-p)^2$. O equilíbrio ocorre quando: $p^2 + 2p(1-p) + (1-p)^2 = 1$. A análise do equilíbrio de Hardy-Weinberg foi realizada nos grupos controle e de pacientes. A justificativa para tal procedimento está baseada na afirmação de que, à parte os erros de genotipagem que podem ocorrer, causa possível da ocorrência de diferenças nas freqüências dos genótipos é a mistura de populações com diferentes patrimônios genéticos. A estratificação populacional não controlada é um dos maiores problemas dos estudos de associação, pois que poderá resultar em associações espúrias entre doenças e marcadores genéticos (TIRET;CAMBIEN, 1995). Por essa razão, complementam os

autores, qualquer desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg deve ser examinado e discutido de forma crítica. Em relação aos grupos das diferentes etiologias, a utilização do método de Cannings e Edwards permite a verificação do desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg em grupos de número reduzido de indivíduos (CANNINGS; EDWARDS, 1969).

6.6.2. Distribuição dos genótipos em relação aos grupos controle e de pacientes

O predomínio do genótipo DD no grupo controle em relação ao grupo de pacientes, quando se atribui caráter recessivo ao alelo D, pode ser explicado tanto por ser o grupo controle formado por indivíduos mais jovens quanto pela redução da frequência do genótipo DD com o aumento da idade (MORRIS *et al.*, 1994). Foi sugerido que essa diminuição da frequência estaria relacionada à mortalidade mais precoce associada a esse genótipo (MORRIS *et al.*, 1994, ANDERSSON *et al.*, 1996). Outra explicação poderia ser dada por um viés de seleção que determinou uma perda preferencial de indivíduos com o alelo D no grupo de pacientes. Em relação ao grupo controle, a frequência do genótipo DD (40%) foi maior que a observada em outros estudos: 24% (RAYNOLDS *et al.*, 1993), 27% (CAMBIEN *et al.*, 1992), 31% (LINDPAINTER *et al.*, 1994), 34% (ANDERSSON *et al.*, 1996) e 36% (RIGAT *et al.*, 1990). Observa-se, entretanto, que a frequência do genótipo DD nesses estudos também diferiu entre um grupo e outro, fato indicador de heterogeneidade na seleção dos controles. Dessa forma, a frequência maior do genótipo DD no presente estudo pode ser explicada

tanto pela escolha do grupo controle como pelo patrimônio genético da população brasileira, o qual pode apresentar diferenças em relação a outras populações estudadas.

6.6.3. Polimorfismo I/D em relação à idade e ao sexo

A média de idade mais elevada dos portadores de insuficiência cardíaca pode, de certa forma, explicar a menor frequência de portadores do genótipo DD no grupo de pacientes, ao ser atribuído caráter recessivo ao alelo D, o que confirmaria a observação feita por outros autores (MORRIS *et al.*, 1994, ANDERSSON *et al.*, 1996) de que ocorre diminuição da frequência do genótipo DD em idades mais avançadas. Surpreendentemente, outro estudo demonstrou aumento da frequência do genótipo DD em uma população de centenários (SCHÄCHTER *et al.*, 1994). Esses autores concluíram que essa maior prevalência do alelo D em longevos estaria relacionada com algum desconhecido efeito protetor a longo prazo relacionado com esse alelo. Com relação ao sexo, nenhuma diferença na distribuição dos genótipos foi observada entre homens e mulheres.

6.6.4. Polimorfismo I/D e condições associadas

As ações exercidas pela hipertensão arterial sistêmica, o diabetes melito, o tabagismo e o etilismo podem modificar a influência de determinado fator genético. Por esse motivo, foi analisada a possível associação dessas condições com o polimorfismo I/D. No entanto, nenhuma associação com os diferentes genótipos foi encontrada.

6.6.5. Polimorfismo I/D e variáveis ecocardiográficas e da ventriculografia radioisotópica

Utilizou-se o valor-limite para a fração de ejeção até 45% determinada pelo ecocardiograma, levando em consideração que tal valor constitui evidência de disfunção ventricular esquerda (COHN, 1996). Em relação à ventriculografia radioisotópica, o valor-limite da fração de ejeção menor ou igual a 35% já havia sido utilizado em outros estudos (SCHWARZ *et al.*, 1984, SOLVD, 1992). Diferentes estudos utilizaram-se de valores distintos como limite para a estratificação prognóstica em portadores de insuficiência cardíaca de diferentes etiologias. Assim, são encontrados valores da fração de ejeção do ventrículo esquerdo que vão desde 20% (KEOGH *et al.*, 1990) até 45% (COHN *et al.*, 1991). A utilização de dois métodos diferentes de avaliação da função cardíaca não teve por intuito a comparação entre um e outro método, mas sim a complementação de informações fornecidas pelos dois métodos, bem como a obtenção de um maior número possível de informações relacionadas com a quantificação da função cardíaca.

A associação de valor estatisticamente significativo entre o polimorfismo I/D e as variáveis estudadas foi a do genótipo DD com o diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo. Em relação a essa variável como fator prognóstico, a maior taxa de mortalidade anual de portadores de insuficiência cardíaca foi observada quando a relação entre o diâmetro sistólico e a espessura miocárdica, durante a sístole, foi superior a 2,5 (SHAH *et al.*, 1987). Em outro estudo, o aumento da dimensão sistólica do

ventrículo esquerdo e a presença do genótipo DD foram fatores relacionados com a maior mortalidade em portadores de cardiomiopatia dilatada idiopática (ANDERSSON *et al.*, 1996).

É importante ressaltar que a dimensão do diâmetro sistólico determinada pelo ecocardiograma, assim como outras variáveis ecocardiográficas, refletem um momento na evolução desses pacientes, devendo sua real importância ser analisada em relação a outras variáveis e ao tempo de evolução da doença.

6.6.6. Polimorfismo I/D e as diferentes etiologias

Cardiomiopatia dilatada idiopática. Em relação à cardiomiopatia dilatada idiopática, as freqüências dos genótipos DD, DI e II encontradas no presente estudo, respectivamente de 32%, 49,6% e 18,4%, bem como a dos alelos D e I, respectivamente, 58% e 42%, foram semelhantes àquelas encontradas em outros estudos (tabela 16).

Tabela 16. Comparação das freqüências dos genótipos entre dois diferentes grupos controle

	DD n (%)	DI n (%)	II n (%)	D (%)	I (%)	TOTAL
MONTGOMERY <i>et al.</i> , 1995	31 (31)	50 (51)	18 (18)	57	43	99
ANDERSSON <i>et al.</i> , 1996	67 (35)	87 (45)	39 (20)	57	43	193

Em contraste, em outro estudo, foi observado aumento na frequência do genótipo DD em portadores de cardiomiopatia dilatada idiopática, quando comparados ao grupo controle (RAYNOLDS *et al.*, 1993). Nesse estudo, a frequência do genótipo DD no grupo controle foi de 24% e a do grupo com cardiomiopatia foi de 35,7%. Essa observação poderia suscitar a hipótese de que o aumento na frequência do genótipo DD no grupo com cardiomiopatia seria causado, na verdade, por baixa frequência no grupo controle. Ainda sobre o estudo de RAYNOLDS *et al.*, foi observado que somente dados relacionados com a presença do genótipo DD haviam sido documentados (WOODROW, 1994). Nessa análise, o autor concluiu que a pequena mudança na frequência do gene D parecia ser devida a uma frequência mais baixa de heterozigotos no grupo de pacientes, quando comparada com o grupo controle, respectivamente 41,1% e 63,3%. Além disso, as frequências dos genótipos do grupo controle apresentaram desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os números de homozigotos DD e II foram menores do que os esperados.

Em outro estudo foi determinada a distribuição do polimorfismo I/D em 51 pacientes de origem chinesa portadores de cardiomiopatia dilatada idiopática. Não houve diferença estatisticamente significativa na distribuição dos genótipos e alelos entre os grupos de pacientes e controle (SANDERSON *et al.*, 1996). Entretanto, a frequência dos genótipos DD, DI e II, respectivamente 12, 49 e 39%, assim como a dos alelos D e I, respectivamente 36 e 64%, foram bastante diferentes daquelas encontradas no presente estudo, confirmando uma observação previamente feita de que,

nos chineses, a frequência do genótipo DD é menor do que a observada em outras populações (LEE *et al.*, 1994). De acordo com o observado, é provável que o polimorfismo I/D do gene da enzima de conversão da angiotensina I não atue como marcador da cardiomiopatia dilatada idiopática. Entretanto, é importante salientar que, devido à importância do sistema renina-angiotensina no controle da homeostasia cardiocirculatória, qualquer variante gênica desse sistema, e em especial da enzima de conversão, pode ser um importante modificador da morbidade e mortalidade associada a essa condição.

Cardiomiopatia isquêmica. Não houve prevalência de nenhum dos genótipos entre os portadores de cardiomiopatia isquêmica. Os resultados de alguns estudos acerca da existência de associação entre o polimorfismo I/D e a presença de doença arterial coronária mostraram-se conflitantes, pois enquanto alguns desses estudos demonstraram tal associação, (CAMBIEN *et al.*, 1992, RAYNOLDS *et al.*, 1993), outros não o fizeram (BØHN *et al.*, 1993, LINDPAINTER *et al.*, 1995). Em uma metanálise realizada em 1996, foram analisados 15 estudos sobre a associação do alelo de deleção do gene da enzima de conversão da angiotensina I com a doença arterial coronária. Essa metanálise mostrou que, apesar das importantes limitações dos estudos apresentados, como, por exemplo, a escolha do grupo controle ideal, a possibilidade de seleção por morte estar influenciando os resultados e a presença da etnicidade como fator que dificulta a interpretação desses estudos de associação, o alelo D confere

risco aumentado para o infarto do miocárdio (SAMANI *et al.*, 1996). É importante ressaltar que a reunião de resultados, que ocorre em um estudo de metanálise, incorpora os viés de estudos individuais e novas fontes de viés, principalmente pela seleção de estudos e a inevitável heterogeneidade existente entre eles (LELORIER *et al.*, 1997).

Os resultados do presente estudo não estão de acordo com os resultados encontrados em outros estudos que mostraram haver associação entre o alelo com a deleção e a progressiva dilatação do ventrículo esquerdo após o infarto do miocárdio (OHMACHI *et al.*, 1995, PINTO *et al.*, 1995). A diferença entre os resultados pode ser explicada, em parte, pela heterogeneidade dos grupos estudados.

Cardiomiopatia da doença de Chagas. No presente estudo não houve diferença estatisticamente significativa entre os portadores de cardiomiopatia da doença de Chagas e os demais pacientes no que diz respeito à distribuição dos genótipos. Tal ausência no predomínio de determinado genótipo nesse grupo de pacientes pode indicar que o polimorfismo I/D não atue na patogênese da disfunção ventricular causada pela doença de Chagas ou que seu papel foi suplantado por outro processo que atue de forma preponderante, como parece ser o caso da atividade inflamatória no desenvolvimento da insuficiência cardíaca na infecção pelo *Trypanosoma cruzi* (HIGUCHI *et al.*, 1987).

Cardiomiopatia hipertensiva. Não houve diferença na distribuição dos genótipos associados ao polimorfismo I/D do gene da enzima de conversão entre os portadores de cardiomiopatia hipertensiva e os portadores de outras etiologias, o que está de acordo com outros estudos no que diz respeito à falta de associação entre o polimorfismo I/D e a hipertensão arterial sistêmica (HARRAP *et al.*, 1993, LACHURIÉ *et al.*, 1995). Entretanto, outro estudo demonstrou que havia uma diminuição da frequência do genótipo DD em indivíduos hipertensos com mais de 60 anos, o que fez com que seus autores sugerissem que esse genótipo pudesse estar relacionado com risco de morte prematura em hipertensos (MORRIS *et al.*, 1994).

Cardiomiopatia alcoólica. Não houve associação estatisticamente significativa entre o polimorfismo I/D e a cardiomiopatia alcoólica quanto à distribuição dos genótipos. Em relação a essa cardiopatia, algumas observações merecem ser feitas. A primeira é a de que existem dificuldades no estudo da influência do álcool sobre o coração, como, por exemplo, o fato de que os estudos feitos com pacientes são freqüentemente complicados pela diversidade dos hábitos relacionados ao uso de bebidas alcoólicas, bem como o uso concomitante de outras drogas (por exemplo, o uso combinado de álcool e nicotina) (PREEDY *et al.*, 1997). Outra importante questão a ser ressaltada é a definição de quem seja considerado, de fato, consumidor de grandes quantidades de álcool. A distinção entre um consumidor de quantidades moderadas de álcool e outro

que consome grandes quantidades é, de maneira geral, difícil de ser feita, principalmente devido à natureza ubíqua do consumo de etanol e à ampla gama de seus efeitos (PREEDY *et al.*, 1997). Por exemplo, em estudos distintos, o consumo de etanol (apresentado em gramas por dia) considerado para caracterizar um indivíduo consumidor de grande quantidade de etanol (*heavy drinker*) variou de 18g (ARKWRIGHT *et al.*, 1983) a 110g (STRAZZULLO *et al.*, 1990). Além disso, a definição de consumo excessivo pode ser dependente de restrições sociais e culturais dos pesquisadores que realizam o estudo (PREEDY *et al.*, 1997). No presente estudo, foi definido consumidor de grandes quantidades de álcool aquele que tinha história de consumo de 80g de etanol por dia num período mínimo de 10 anos (REGAN, 1990) ou de aproximadamente 140g de etanol por dia num período mínimo de 5 anos (STEVENSON; PERLOFF, 1988). As outras classificações do consumo etílico foram: a) a ausência de consumo alcoólico presente ou passado, b) o consumo leve, definido como sendo um consumo esporádico, geralmente de fim de semana ou de até 8g de etanol por dia (KEMM, 1993) e c) consumo moderado, definido como consumo diário entre 8 e 80g por dia, por um período menor que 5 anos. A principal dificuldade nessa classificação reside naqueles indivíduos que apresentam consumo superior ao classificado como moderado, mas inferior ao considerado como de grandes quantidades e naqueles indivíduos que ocasionalmente apresentam consumo alcoólico excessivo. Nessa situação, o tempo de consumo foi o fator determinante para a classificação. É importante salientar que o indivíduo somente foi classificado como portador

de cardiomiopatia alcoólica quando apresentasse história de consumo etílico de grandes quantidades de álcool e não apresentasse nenhum outro fator de morbidade que pudesse explicar a presença de dilatação cardíaca. Outras importantes limitações do presente estudo são a dificuldade de quantificação do consumo etílico por meio da história reportada pelo paciente e a exclusão de pacientes dos quais não foi possível obter-se os dados do consumo etílico. Para a quantificação aproximada do consumo diário, foram utilizados os seguintes equivalentes de quantidade alcoólica (SHERLOCK, 1989):

uísque	30ml	10g
vinho	100ml	10g
cerveja	250ml	10g

6.6.7. Polimorfismo I/D e aparecimento dos sintomas

Em que pese o fato de o início dos sintomas ser uma observação empírica, sujeita a influências de ordem social, pessoal, profissional e de outras doenças (MONTGOMERY *et al.*, 1995), a média de sobrevivência a partir do início dos sintomas dos pacientes do presente estudo não diferiu muito das médias de 3,21 e 5,39 anos, respectivamente para homens e mulheres que sobreviveram 90 dias ou mais após o início dos sintomas, encontradas em estudo anterior (HO *et al.*, 1993b). Mesmo a diferença encontrada pode estar mais relacionada ao não uso dos inibidores da enzima de conversão da angiotensina I pelos pacientes desse último estudo do que por diferenças relacionadas às informações sobre o início dos sintomas. A análise de possíveis correlações entre determinada variável

genética e o aparecimento dos sintomas propicia certa originalidade ao estudo, além de fornecer informações a respeito da associação de mecanismos genéticos com a patogênese da insuficiência cardíaca. No presente estudo, o tempo de aparecimento dos sintomas foi menor nos portadores do genótipo DD com cardiomiopatia alcoólica e cardiomiopatia hipertensiva. Em relação à cardiomiopatia alcoólica, o único fator de risco para o desenvolvimento dessa condição é a dose total de etanol ingerida durante o tempo de vida (URBANO-MARQUEZ *et al.*, 1989). Até o presente momento não se conhece qualquer fator genético associado ao desenvolvimento da cardiomiopatia alcoólica, apesar de alguns autores associá-la a um antígeno de histocompatibilidade (FISCHEN *et al.*, 1987). O fato de o genótipo DD estar associado a menor tempo de aparecimento dos sintomas pode indicar que ele atue como um marcador de suscetibilidade ou que houve um achado ao acaso devido ao pequeno número de pacientes estudados.

Em relação à cardiomiopatia hipertensiva, os portadores do genótipo DD apresentaram maior precocidade no aparecimento dos sintomas, quando se atribuiu ao alelo D caráter co-dominante ou recessivo. Uma possível explicação para esse achado está na associação do genótipo DD com o aumento da massa e a remodelação ventriculares que ocorrem na hipertensão arterial sistêmica (GHARAVI *et al.*, 1996). A hipertrofia ventricular é um estágio inicial adaptativo nos portadores de hipertensão, a qual antecede a dilatação cardíaca. O aparecimento da hipertrofia está associado também com a diminuição da complacência do ventrículo, com

conseqüente alteração da função diastólica, o que pode levar ao aparecimento de dispnéia numa fase que precede a dilatação das câmaras (DOUGHERTY *et al.*, 1984).

6.6.8. Polimorfismo I/D e mortalidade

O polimorfismo I/D não apresentou relação com a probabilidade de sobrevivência total, considerando-se as três possíveis modalidades de herança genética, nem no grupo de pacientes como um todo, nem nos grupos menores das diferentes etiologias. Entretanto, se considerarmos os indivíduos acima de 50 anos, o genótipo DD significativamente relacionou-se com a mortalidade. Estudo prévio já mostrara a relação do genótipo DD com a maior mortalidade em portadores de cardiomiopatia dilatada idiopática, com idade média de 58 ± 11 anos (ANDERSSON *et al.*, 1996). Na análise desse achado, alguns pontos merecem consideração. Inicialmente, o fato de o polimorfismo ser um marcador de determinada variante genética, até o presente momento não identificada, e que controla os níveis plasmáticos da enzima de conversão. Em segundo lugar, as ações do sistema renina-angiotensina sobre o coração, influenciando sua arquitetura, crescimento e função, bem como a diminuição da mortalidade dos portadores de insuficiência cardíaca com o uso dos inibidores da enzima de conversão. Por fim, considerando-se a associação do genótipo DD com níveis plasmáticos e teciduais mais elevados da enzima de conversão, inclusive no coração (DANSER *et al.*, 1995), o achado de maior mortalidade entre os portadores do genótipo DD pode ser justificado. De fato, o genótipo DD foi associado à

maior mortalidade (MORRIS *et al.*, 1994) entre os portadores de hipertensão arterial sistêmica com idade igual ou superior a 60 anos. Naturalmente, pelo fato de serem aqueles pacientes de origens diferentes, com etiologias igualmente diferentes, as semelhanças entre o presente estudo e o estudo de MORRIS *et al.* devem ser analisadas com cautela. Como foi demonstrado no presente estudo, outras variáveis apresentaram relação com a mortalidade: a idade, a história de diabetes melito e a etiologia da doença de Chagas. Em relação à idade, a correlação inversa com a mortalidade (pacientes mais jovens morreram antes), apesar de à primeira vista parecer paradoxal, pode ser explicada pela própria gravidade do quadro clínico desses pacientes. No que diz respeito ao diabetes melito, evidências indicam a existência de uma cardiomiopatia diabética distinta (GALDERISI *et al.*, 1991). As alterações estruturais causadas pelo diabetes melito podem, em conjunto com as alterações da cardiopatia de origem, estar associadas com pior prognóstico desses pacientes. Por fim, a presença da doença de Chagas como fator associados à mortalidade está de acordo com o resultado de um estudo anterior (FREITAS *et al.*, 1994).

Um fator que poderia estar enfraquecendo possível influência do genótipo DD na mortalidade dos pacientes com idades inferiores a 50 anos é o uso amplamente difundido dos inibidores da ECA. Dos pacientes avaliados em relação ao uso desta medicação, 96,4% estavam em uso de inibidores da ECA. Se os níveis da ECA são maiores nos homozigotos para o alelo D, a ação dos inibidores da ECA pode ser mais acentuada nesses indivíduos. Corroborando a idéia, foi demonstrado que indivíduos hipertensos,

portadores do genótipo DD, tratados com enalapril, apresentaram maior regressão da hipertrofia do ventrículo esquerdo, bem como melhora mais acentuada do enchimento diastólico do ventrículo esquerdo quando comparados com hipertensos portadores dos genótipos DI e II, igualmente tratados com enalapril (SASAKI *et al.*, 1996). Quando analisamos a sobrevivência a partir da época do início dos sintomas, verificamos não ter havido relação do genótipo DD com a mortalidade. Uma possível explicação para esse achado é a ação de outros fatores com maior influência no prognóstico dos pacientes. A ativação dos sistemas neuroendócrinos ocorre numa fase assintomática da disfunção ventricular. À medida que os portadores de insuficiência cardíaca evoluem para um estágio sintomático, a ativação neuroendócrina torna-se mais acentuada (FRANCIS *et al.*, 1990), transformando-se num importante fator prognóstico para os indivíduos com insuficiência cardíaca (FRANCIS *et al.*, 1993). A redução do tempo de sobrevivência dos pacientes do presente estudo pode estar, dessa forma, relacionado à maior atividade neuroendócrina na época do início dos sintomas. Um estudo prévio analisou pacientes com dilatação ventricular após infarto anterior do miocárdio, demonstrando que os portadores do genótipo DD apresentavam maior ativação neurohormonal, evidenciada por aumento mais acentuado dos níveis plasmáticos de noradrenalina e de enzima de conversão, comparativamente aos portadores dos genótipos DI e II e que tal ativação era reduzida nos pacientes em uso de inibidores da ECA (PINTO *et al.*, 1995). Assim sendo, podemos sugerir que, no presente estudo, a influência do genótipo DD sobre a mortalidade a partir do

aparecimento dos sintomas esteja camuflada pelo uso dos inibidores da ECA. Por fim, fatores que influenciam a evolução natural desses pacientes podem suplantar a influência ou a suscetibilidade conferida ao alelo D. Entre tais fatores poderia estar incluída a etiologia (FREITAS *et al.*, 1993) ou outras condições que atuem na dilatação cardíaca progressiva desses pacientes, apanágio da evolução natural de tais indivíduos (BOCCHI, 1994, MADY *et al.*, 1994).

6.6.9. Polimorfismo I/D e tratamento cirúrgico

Não houve relação entre o polimorfismo I/D e o tratamento cirúrgico da insuficiência cardíaca, considerando-se os intervalos entre o nascimento até a intervenção cirúrgica e entre o aparecimento dos sintomas até a intervenção cirúrgica. O reduzido número de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico no período analisado pode explicar esse achado. Por outro lado, a indicação do tratamento cirúrgico é feita para aqueles pacientes em condições de beneficiar-se em grau máximo desse tipo de tratamento (COSTANZO *et al.*, 1995). Tal observação pressupõe que os pacientes submetidos a tratamento cirúrgico possam ser menos graves, comparativamente com os pacientes que são contra-indicados para esse tratamento e, dessa forma, podem estar sofrendo menor influência de outros fatores, como, por exemplo, a presença de determinado genótipo. Outro ponto a ser considerado é que a intervenção cirúrgica é um fator modificador da evolução natural desses pacientes (BOCCHI, 1994), a qual pode, dessa

forma, estar modificando uma possível influência do polimorfismo I/D na evolução desses pacientes.

6.6.10. Análise dos padrões de herança genética

Nas associações estatisticamente significativas encontradas entre o polimorfismo I/D e algumas variáveis estudadas, os padrões de herança genética encontrados foram os relacionados à co-dominância e à recessividade. Dessa forma, o alelo D com caráter co-dominante esteve relacionado com menor tempo de aparecimento dos sintomas em portadores de cardiomiopatia hipertensiva e com maior mortalidade acima dos 50 anos, ao passo que o alelo D com caráter recessivo esteve associado com menor frequência do genótipo DD no grupo de pacientes, maior diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo no ecocardiograma, menor tempo de aparecimento dos sintomas em portadores de cardiomiopatia alcoólica ou hipertensiva e com maior mortalidade acima dos 50 anos de idade. Dessa maneira, o alelo D parece estar associado com maior morbidade e mortalidade predominantemente de forma recessiva, como já demonstrado em estudos anteriores (PINTO *et al.*, 1995, ANDERSSON *et al.*, 1996).

Finalmente, cabe examinar potenciais limitações de nosso estudo.

1) O presente estudo foi definido como um estudo de coorte de sobreviventes, também chamado de coorte de pacientes disponíveis. Nesse tipo de estudo, os pacientes são incluídos porque têm uma doença e por estarem disponíveis em um determinado momento (FLETCHER *et al.*, 1996). Apesar de os estudos de coortes de sobreviventes descreverem a história

dos casos prevalentes e não os esperados com o seguimento ao longo do tempo (FLETCHER *et al.*, 1996), permitem que um grande número de indivíduos seja analisado (HO *et al.*, 1993b). A escolha desse método, à época do início do presente estudo, deveu-se a problemas de ordem operacional, os quais nem sempre viabilizam o sorteio de indivíduos que farão parte da amostra.

2) No presente estudo não foi analisada a distribuição étnica do grupo de pacientes com disfunção ventricular. A justificativa para a não inclusão da distribuição étnica desse grupo foi a dificuldade na classificação dos indivíduos de acordo com a raça, dada a grande miscigenação encontrada na população brasileira (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 1997). Por outro lado, visto que alguns estudos mostraram haver relação entre etnia e o polimorfismo I/D (BLOEM *et al.*, 1993, BARLEY *et al.*, 1994, JOHANNING *et al.*, 1995, SAGNELLA *et al.*, 1995), a análise da distribuição por raça foi feita no grupo controle (PEREIRA *et al.*, 1998), não sendo encontradas diferenças estatisticamente significativas na distribuição do polimorfismo I/D em indivíduos de etnias distintas (caucasianos, negros e pardos).

3) Em vista da alta taxa de mortalidade anual dos pacientes com insuficiência cardíaca, os períodos analisados, antes dos 25 anos, entre 25 e 50 anos e acima dos 50 anos podem ser considerados excessivamente longos. Entretanto, o número de óbitos no período não permitiu uma avaliação em períodos mais curtos. Mesmo com os intervalos considerados,

a análise antes dos 25 anos ficou prejudicada pelo reduzido número de óbitos nesse período.

Em conclusão, a possível associação do genótipo DD com a maior morbidade e mortalidade de portadores de insuficiência cardíaca pode tornar a determinação do polimorfismo I/D um instrumento útil na identificação de pacientes com prognóstico mais reservado, contribuindo para o melhor entendimento dessa condição clínica, para estudos adicionais sobre o tema e, potencialmente, para o melhor tratamento dos pacientes.

CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

1. A menor frequência do genótipo DD nos portadores de insuficiência cardíaca pode estar associada com a diminuição da frequência desse genótipo com o aumento da idade.
2. O genótipo DD está associado com disfunção mais acentuada do ventrículo esquerdo em portadores de insuficiência cardíaca.
3. A maior precocidade de aparecimento dos sintomas em portadores do genótipo DD e cardiomiopatia alcoólica pode indicar a influência desse genótipo na patogênese dessa condição.
4. A maior precocidade de aparecimento dos sintomas em portadores do genótipo DD e cardiomiopatia hipertensiva pode indicar a influência desse genótipo na patogênese dessa condição.
5. O genótipo DD pode estar associado com a maior mortalidade em portadores de insuficiência cardíaca com mais de 50 anos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALDERMAN, M.H.; MADHAVAN, S.; OOI, W.L.; COHEN, H.; SEALEY, J.E.; LARAGH, J.H. Association of the renin-sodium profile with the risk of myocardial infarction in patients with hypertension. **N. Engl. J. Med.**, v.324, n.16, p.1098-104, 1991.
2. ALHENC-GELAS, F.; RICHARD, J.; COURBON, D.; WARNET, J.M.; CORVOL, P. Distribution of plasma angiotensin I-converting enzyme levels in healthy men: relationship to environmental and hormonal parameters. **J. Lab. Clin. Med.**, v.117, n.1, p.33-9, 1991.
3. ANDERSSON, B.; SYLVÉN, C. The DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with increased mortality in idiopathic heart failure. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v.28, n.1, p.162-7, 1996.
4. ARKWRIGHT, P.D.; BEILIN, L.J.; ROUSE, I.L.; VANDONGEN, R. Alcohol, personality and predisposition to essential hypertension. **J. Hypertens.**, v.1, n.4, p.365-71, 1983.

5. BARLEY, J.; BLACKWOOD, A.; CARTER, N. D.; CREWS, D.E.; CRUICKSHANK, J.K.; JEFFERY, S.; OGUNLESI, A.O.; SAGNELLA, G.A. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism: association with ethnic origin. **J. Hypertens.**, v.12, n.8, p.955-7, 1994.
6. BLOEM, L.J.; MANATUNGA, A.K.; BOATRIGT, E.; PRATT, J.H. Relation of race and a polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene to enzyme levels. **Hypertension**, v.22, n.3, p.407, 1993.
7. BOCCHI, E.A. Situação atual das indicações e resultados do tratamento cirúrgico da insuficiência cardíaca. **Arq. Bras. Cardiol.**, v.63, n.6, p.523-30, 1994.
8. BØHN, M.; BERGE, K.E.; BAKKEN, A.; ERIKSEN, J.; BERG, K. Insertion/deletion (I/D) polymorphism at the locus for angiotensin I-converting enzyme and myocardial infarction. **Clin. Genet.**, v.44, p.292-7, 1993.
9. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 1.376 de 19 de novembro de 1993. Aprova alterações na Portaria n. 721/GM, de 09 de agosto de 1989. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2 dez. 1993. Seção I, p.18405.

10. BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Departamento de Informática do SUS. Datasus. [CD-Rom]. **Movimento de autorização de internação hospitalar: arquivos reduzidos**. Brasília, 1996.
11. CAMBIEN, F.; ALHENC-GELAS, F.; HERBETH, B.; ANDRE, J.L.; RAKOTOVAO, R.; GONZALES, M.F.; ALLEGRINI, J.; BLOCH, C. Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: the Nancy study. **Am. J. Hum. Genet.**, v.43, p.774-80, 1988.
12. CAMBIEN, F.; POIRIER, O.; LECERF, L.; EVANS, A.; CAMBOU, J.P.; ARVEILER, D.; LUC, G.; BARD, J.M.; BARA, L.; RICARD, S.; TIRET, L.; AMOUYEL, P.; ALHENC-GELAS, F. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. **Nature**, v.359, n.6396, p.641-4, 1992.
13. CANNINGS, C.; EDWARDS, A.W.F. Expected genotypic frequencies in a small sample: deviation from Hardy-Weinberg equilibrium. **Am. J. Hum. Genet.**, v.21, p.245-7, 1969.
14. CAULFIELD, M.; LAVENDER, P.; FARRALL, M.; MUNROE, P.; LAWSON, M.; TURNER, P.; CLARK, A.J.L. Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension. **N. Engl. J. Med.**, v.330, n.23, p.1629-33, 1994.

- 15.COHN, J.N.; JOHNSON, G.; ZIESCHE, S.; COBB, F.; FRANCIS, G.; TRISTANI, F.; SMITH, R.; DUNKMAN, W.B; LOEB, H.; WONG, M.; BHAT, G.; GOLDMAN, S.; FLETCHER, R.D.; DOHERTY, J.; HUGHES, V.; CARSON, P.; CINTRON, G.; SHABETAI, R.; HAAKENSON, C. A comparison of enalapril with hydralazine-isosorbide dinitrate in the treatment of chronic congestive heart failure. **N. Engl. J. Med.**, v.325, n.5, p.303-10, 1991.
- 16.COHN, J.N. The management of chronic heart failure. **N. Engl. J. Med.**, v.335, n.7, p.490-8, 1996.
- 17.CORRELAÇÃO ANATOMOCLÍNICA (Caso 4/97 - Instituto do Coração do Hospital das Clínicas - FMUSP). **Arq. Bras. Cardiol.**, v.69, n.1, p.61-8, 1997.
- 18.COSTANZO, M.R.; AUGUSTINE, S.; BOURGE, R.; BRISTOW, M.; O'CONNELL, J.B.; DRISCOLL, D.; ROSE, E. Selection and treatment of candidates for heart transplantation. **Circulation**, v.92, n.12, p.3593-611, 1995.
- 19.COSTEROUSSE, O.; ALLEGRINI, J.; LOPEZ, M.; ALHENC-GELAS, F. Angiotensin I-converting enzyme in human circulating mononuclear cells: genetic polymorphism of expression in T-lymphocytes. **Biochem. J.**, v.290, p.33-40, 1993.

20. CUOCO, M.A.R.; FREITAS, H.F.G.; MANSUR, A.J.; BOCCHI, E.A.; CHIZOLA, P.R.; DAL BÓ, C.M.R.; BELLOTTI, G.M.; PILEGGI, F.J.C. Sobrevida em portadores de insuficiência cardíaca congestiva e fração de ejeção $\leq 35\%$ na ventriculografia radioisotópica em relação à presença de fibrilação atrial. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, v.6, n.3, p.21. 1996. Suplemento B.
21. DANSER, A.H.J.; SCHALEKAMP, M.A.D.H.; BAX, W.A; BRINK, A.M.; SAXENA, P.R.; RIEGER, G.A.J.; SCHUNKERT, H. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. **Circulation**, v.92, n.6, p.1387-8, 1995.
22. DEC, G.W.; FUSTER, V. Idiopathic dilated cardiomyopathy. **N. Engl. J. Med.**, v.331, n.23, p.1564-75, 1994.
23. DOUGHERTY, A.H.; NACCARELLI, G.V.; GRAY, E.L.; HICKS, C.H.; GOLDSTEIN, R.A. Congestive heart failure with normal systolic function. **Am. J. Cardiol.**, v.54, n.7, p.778-82, 1984.
24. ERIKSSON, H.; SVÄRDSUDD, K.; LARSSON, B.; OHLSON, L.O.; TIBBLIN, G.; WELIN, L.; WILHELMSEN, L. Risk factors for heart failure in the general population: the study of men born in 1913. **Eur. Heart J.**, v.10, n.7, p.647-56, 1989.

- 25.FERREIRA, A.W.; ÁVILA, S.L.M. Laboratory diagnosis of Chagas' heart disease. **São Paulo Med. J.**, v.113, n.2, p.767-71, 1995.
- 26.FISCHBEIN, L.; SACHS, R.N.; GEAY, D.; BAUDELLOT, J.; COSTE, T.; LANFRANCHI, J. Études des antigènes A et B du système HLA dans les myocardiopathies dilatées liées à l'alcool. **Arch. Mal. Coeur**, v.80, n.7, p.1171-5, 1987.
- 27.FLETCHER, R.H.; FLETCHER, S.W.; WAGNER, E.H. **Epidemiologia clínica: aspectos essenciais**. Porto Alegre, Artes Médicas, 1996, p.121-44.
- 28.FOGARTY, D.G.; MAXWELL, A.P.; DOHERTY, C.C.; HUGHES, A.E.; NEVIN, N.C. ACE gene typing. **Lancet**, v.343, n.10, p.851, 1994.
- 29.FOWLER, N.O.; HOLMES, J.C. Coronary and myocardial actions of angiotensin. **Circ. Res.**, v.14, n.3, p.191-201, 1964.
- 30.FRANCIS, G.S.; Neurohumoral mechanisms involved in congestive heart failure. **Am. J. Cardiol.**, v.55, n.2, p.15A-21A, 1985.

- 31.FRANCIS, G.S.; BENEDICT, C.; JOHNSTONE, D.E.; KIRLIN, P. C.; NICKLAS, J.; LIANG, C.; KUBO, S.H.; RUDIN-TORETSKY, E.; YUSUF, S.; for the SOLVD Investigators. Comparison of the neuroendocrine activation in patients with left ventricular dysfunction with and without congestive heart failure. A substudy of the studies of left ventricular dysfunction (SOLVD). **Circulation**, v.82, n.5, p.1724-9, 1990.
- 32.FRANCIS, G.S.; COHN, J.N.; JOHNSON, G.; RECTOR, T.S.; GOLDMAN, S. and SIMON, A for the V-HeFT VA cooperative studies group. Plasma norepinephrine, plasma renin activity, and congestive heart failure. Relations to survival and the effects of therapy in V-HeFT II. **Circulation**, v.87, p.VI-40-VI-48, 1993. Supplement VI.
- 33.FREITAS, H.F.G.; MANSUR, A.J.; CUOCO, M.A.R.; DAL BO, C.M.R.; BOCCHI, E.A. Chagas' disease as an etiology of severe heart failure with a worse prognosis. **Circulation**. v.94, n.8, p.138, 1996. Supplement.
- 34.GHARAVI, A.G.; LIPKOWITZ, M.S.; DIAMOND, J.A.; JHANG, J.S.; PHILLIPS, R.A. Deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is independently associated with left ventricular mass and geometric remodeling in systemic hypertension. **Am. J. Cardiol.**, v.77, n.15, p.1315-9, 1996.

35. GILLUM, R.F. Idiopathic cardiomyopathy in the United States, 1970-1982. **Am. Heart J.**, v.111, n.4, p.752-5, 1986.
36. HARDY, G.H. Mendelian proportion in a mixed population. **Science**, v.28, n.706, p.49-50, 1908.
37. HARRAP, S.B.; DAVIDSON, H.R.; CONNOR, J.M.; SOUBRIER, F.; CORVOL, P.; FRASER, R.; FOY, C.J.W.; WATT, G.C.M. The angiotensin I converting-enzyme gene and predisposition to high blood pressure. **Hypertension**, v.21, n.4, p.455-60, 1993.
38. HIGUCHI, M.L.; MORAIS, C.F.; PEREIRA-BARRETTO, A.C.; LOPES, E.A.; STOLF, N.; BELLOTTI, G.; PILEGGI, F. The role of active myocarditis in the development of heart failure in chronic Chagas' disease: a study based on endomyocardial biopsies. **Clin. Cardiol.**, v.10, n.11, p.665-70, 1987.
39. HIRSCH, A.T., TALSNESS, C.E.; SCHUNKERT, H.; PAUL, M.; DZAU, V. Tissue-specific activation of cardiac angiotensin converting enzyme in experimental heart failure. **Circ. Res.**, v.69, n.2, p.475-82, 1991.
40. HO, K.K.L.; PINSKY, J.L.; KANNEL, W.B.; LEVY, D. The epidemiology of heart failure: The Framingham study. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v.22, n.4, p.6-13, 1993. Supplement A.

LIBRARY
UNIVERSITY OF TORONTO

- 41.HO, K.K.L.; ANDERSON, K.M.; KANNEL, W.B.; GROSSMAN, W.; Levy, D. Survival after the onset of congestive heart failure in Framingham heart study subjects. **Circulation**, v.88, n.1, p.107-15, 1993.
- 42.HOUSMAN, D. Molecular medicine. Human DNA polymorphism. **N. Engl. J. Med.**, v.332, n.5, p.318-20, 1995.
- 43.INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Sistema IBGE de Recuperação Automática-SIDRA 97. População residente (Habitação).** Available from: <http://www.sidra.ibge.gov.br/cgi-bin/prtabl/pcbr>.
- 44.JOHANNING, G.L.; JOHNSTON, K.E.; TAMURA, T. and GOLDENBERG, R.L. Ethnic differences in angiotensin converting enzyme gene polymorphism. **J. Hypertens.**, v.13, n.6, p.710-1, 1995.
- 45.KANNEL, W.B. Epidemiological aspects of heart failure. **Cardiol. Clin.**, v.7, n.1, p.1-9, 1989.
- 46.KEMM, J. Alcohol and heart disease: the implications of the U-shaped curve. **Brit. Med. J.**, v.307, p.1373-4, 1993.

- 47.KEOGH, A.M.; BARON, D.W.; HICKIE, J.B. Prognostic guides in patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy assessed for cardiac transplantation. **Am. J. Cardiol.**, v.65, n.13, p.903-8, 1990.
- 48.KWOK, S.; HIGUCHI, R. Avoiding false positives with PCR. **Nature**, v.339, p.237-8, 1989.
- 49.LACHURIÉ, M.L., AZIZI, M.; GUYENE, T.T.; ALHENC-GELAS, F.; MÉNARD, J. Angiotensin-converting enzyme gene has no influence on the circulating renin-angiotensin-aldosterone system or blood pressure in normotensive subjects. **Circulation**, v.91, n.12, p.2933-42, 1995.
- 50.LEE, E.J.D. Population genetics of the angiotensin-converting enzyme in chinese. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, v.77, p.212-4, 1994.
- 51.LEE, E.T. **Statistical methods for survival data analysis**. Belmont, Lifetime Learning publications, 1980. 557p.
- 52.LELORIER, J.; GRÉGOIRE, G.; BENHADDAD, A.; LAPIERRE, J.; DERDERIAN, F. Discrepancies between meta-analyses and subsequent large randomized, controlled trials. **N. Engl. J. Med.**, n.337, n.8, p.536-42, 1997.

- 53.LINDPAINTER, K.; GANTEN, D. The cardiac renin-angiotensin system: a synopsis of current experimental and clinical data. **Acta Cardiol.**, v.46, n.3, p.385-97, 1991.
- 54.LINDPAINTER, K.; PFEFFER, M.A.; KREUTZ, R.; STAMPFER, M.J.; GRODSTEIN, F.; LAMOTTE, F.; BURING, J.; HENNEKENS, C.H. A prospective evaluation of an angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. **N. Engl. J. Med.**, v.332, n.11, p.706-11, 1995.
- 55.LOTUFO, P.A.; LOLIO, C.E. Tendências de evolução da mortalidade por doenças cardiovasculares: o caso do estado de São Paulo. In MONTEIRO, C.A. **Velhos e novos males da saúde no Brasil: a evolução do país e de suas doenças**. São Paulo, Hucitec/Nupens/USP, 1995, p.279-88.
- 56.LUDWIG, E.; CORNELI, P.S.; ANDERSON, J.L.; MARSHALL, H.W.; LALOUEL, J.M.; WARD, R.H. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism is associated with myocardial infarction but not with development of coronary stenosis. **Circulation**, v.91, n.8, p.2120-4, 1995.

57. MANOLIO, T.A.; BAUGHMAN, K.L.; RODEHEFFER, R.; PEARSON, T.A.; BRISTOW, J.D.; MICHELS, V.V.; ABELMANN, W.H.; HARLAN, W.R. Prevalence and etiology of idiopathic dilated cardiomyopathy (summary of a national heart, lung, and blood institute workshop). **Am. J. Cardiol.**, v.69, p.1458-66, 1992.
58. McKEE, P.A.; CASTELLI, W.P.; McNAMARA, P.M.; KANNEL, W.B. The natural history of congestive heart failure: the Framingham study. **N. Engl. J. Med.**, v.285, n.26, p.1441-6, 1971.
59. MILLER, S.A.; DYKES, D.D.; POLESKY, H.F. A single salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Res.**, v.16, n.3, p.1215, 1988.
60. MONTGOMERY, H.E.; KEELING, P.J.; GOLDMAN, J.H.; HUMPHRIES, S.E.; TALMUD, P.J.; McKENNA, W.J. Lack of association between the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and idiopathic dilated cardiomyopathy. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v.25, n.7, p.1627-31, 1995.
- MORAVEC, C.S.; SCHLUCHTER, M.D.; PARANANDI, L.; CZERSKA, B.; STEWART, R.W.; ROSENKRANZ, E.; BOND, M. Inotropic effects of angiotensin II on human cardiac muscle in vitro. **Circulation**, v.82, n.6, p.1973-84, 1990.

- 62.MORGAN, H.E.; BAKER, K.M. Cardiac hypertrophy. Mechanical, neural, and endocrine dependence. **Circulation**, v.83, n.1, p.13-25, 1991.
- 63.MORRIS, B.J.; ZEE, R.Y.L.; SCHRADER, A.P. Different frequencies of angiotensin-converting enzyme genotypes in older hypertensive individuals. **J. Clin. Invest.**, v.94, n.3, p.1085-9, 1994.
- 64.MURPHY, P.B.; PORT. S.C. Radionuclide evaluation of left ventricular function. In: SANDLER, M.P.; COLEMAN, R.E.; WACKERS, F.J.T.; PATTON, J.A.; GOTTSCHALK, A.; HOFFER, P.B. **Diagnostic nuclear medicine**. Baltimore, Williams & Wilkins, 1996. p.403-42.
- 65.ODAWARA, M.; YAMASHITA, K. Reliability of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in testing. **Ann. Intern. Med.**, v.126, n.10, p.828, 1997.
- 66.OHMICHI, N.; IWAI, N.; NAKAMURA, Y.; KINOSHITA, M. The genotype of the angiotensin-converting enzyme gene and global left ventricular dysfunction after myocardial infarction. **Am. J. Cardiol.**, v.76, n.5, p.326-9, 1995.
- 67.OKAMURA, T.; MIYAZAKI, M.; INAGAMI, T.; TODA, N. Vascular renin-angiotensin system in two-kidney, one clip hypertensive rats. **Hypertension**, v.8, n.7, p.560-65, 1986.

68. PEREIRA, A.C.; MOTA, G.F.A; BENSENOR, I.M.; LOTUFO, P.A.; MOTOYAMA, A.; YOKOMIZO, I.A.; KRIEGER, J.E. ACE gene polymorphism allele frequencies in a highly mixed population: distribution among three different Brazilian ethnic groups. [no prelo].
69. PINTO, Y.M.; VAN GILST, W.H.; KINGMA, J.H.; SCHUNKERT, H. Deletion-type allele of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with progressive ventricular dilation after anterior myocardial infarction. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v.25, n.7, p.1622-6, 1995.
70. POMBO, J.F.; TROY, B.L.; RUSSELL, R.O. Left ventricular volumes and ejection fraction by echocardiography. **Circulation**, v.43, n.4, p.480-90, 1971.
71. PREEDY, V.R.; RICHARDSON, P.J. Alcohol and the heart. In: ELLIOT, H.R. **Currents issues in cardiovascular therapy**. London, Martin Dussitz, 1997, p.83-95.
72. RAYNOLDS, M.V.; BRISTOW, M.R.; BUSH, E.W.; ABRAHAM, W.T.; LOWES, B.D.; ZISMAN, L.S.; TAFT, C.S.; PERRYMAN, M.B. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. **Lancet**, v.342, n.8879, p.1073-5, 1993.

73. REGAN, T.J. Alcohol and the cardiovascular system. **JAMA**, v.264, n.3, p.377-81, 1990.
74. REPORT OF THE JOINT NATIONAL COMMITTEE ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD PRESSURE. **Arch. Intern. Med.**, v.148, p.1023-38, 1988.
75. REPORT OF THE WHO/ISFC TASK FORCE ON THE DEFINITION AND CLASSIFICATION OF CARDIOMYOPATHIES. **Br. Heart J.**, v.44, p.672-3, 1980.
76. RICHARDSON, P.; MCKENNA, W.; BRISTOW, M.; MAISCH, B.; MAUTNER, B.; O'CONNEL, J.; OLSEN, E.; THIENE, G.; GOODWIN, J.; GYARFAS, I.; MARTIN, I.; NORDET, P. Report of the 1995 World Health Organization Society and Federation of Cardiology task force on the definition and classification of cardiomyopathies. **Circulation**, v.93, n.5, p.841-2, 1996.
77. RIGAT, B.; HUBERT, C.; ALHENC-GELAS, F.; CAMBIEN, F.; CORVOL, P.; SOUBRIER, F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. **J. Clin. Invest.**, v.86, n.4, p.1343-6, 1990.

- 78.RIGAT, B.; HUBERT, C.; CORVOL, P.; SOUBRIER, F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin-converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidylcarboxypeptidase 1). **Nucleic Acids Res.**, v.20, n.6, p.1433, 1992.
- 79.ROBERTS, R.; TOWBIN, J. Principles and techniques of molecular biology. In: ROBERTS, R. **Molecular basis of cardiology**. Boston, Blackwell, 1993. p. 15-111.
- 80.ROSNER, B. **Fundamentals of Biostatistics**. Boston, Duxbury Press, 1986. 584p.
- 81.SAGNELLA, G.A.; BARLEY, J.; BLACKWOOD, A.; MILLER, M.; MARKANDU, N.D.; CARTER, N.; JEFFRIES, S., CAPPUCIO, F.P.; MACGREGOR, G.A. Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism, blood pressure and the renin-angiotensin system in caucasians and afro-caribbeans. **J. Hum. Hypertens.**, v.9, p.701, 1995. [Resumo].
- 82.SAHN, D.J.; DE MARIA, A.; KISSLO, J.; WEYMAN, A. The committee on M-mode standardization of the American Society of Echocardiography. **Circulation**, v.58, n.6, p.1072-83, 1978.

- 83.SAIKI, R.; GELFAND, D.H.; STOFFEL, S.; SCHARF, S.J.; HIGUCHI, R.; HORN, G.T.; MULLIS, K.B.; ERLICH, H.A. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Nature**. v.239, p.487-91, 1988.
- 84.SAMANI, N.J.; THOMPSON, J.R.; O'TOOLE, L.; CHANNER, K.; WOODS, K.L. A meta-analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. **Circulation**, v.94, n.4, p.708-12, 1996.
- 85.SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning. A laboratory manual**. Cold Spring Harbor Laboratory Press. U.S.A.. 1989. p. E5.
- 86.SANDERSON, J.E.; YOUNG, R.P.; YU, C.M.; CHAN, S.; CRITCHLEY, J.A.J.H.; WOO, K.S. Lack of association between insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and end-stage heart failure due to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy in the chinese. **Am. J. Cardiol.**, v.77, n.11, p.1008-10, 1996.
- 87.SAS Institute Inc, **SAS/STAT® User's Guide**, version 6, v.2, Cary, North Caroline: SAS Institute Inc., 1989.

- 88.SASAKI, M.; OKI, T.; IUCHI, A.; TABATA, T.; YAMADA, H.; MANABE, K.; FUKUDA, K.; ABE, M.; ITO, S. Relationship between the angiotensin converting enzyme gene polymorphism and the effects of enalapril on left ventricular hypertrophy and impaired diastolic filling in essential hypertension: M-mode and pulsed Doppler echocardiographic studies. **J. Hypertens.**, v.14, n.12, p.1403-8, 1996.
- 89.SCHÄCHTER, F.; DELANEF, L.F.; GUÉNOT, F.; ROUGER, H.; FROGUEL, P.; GINOT, L.L.; COHEN, D. Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci. **Nature Genet.**, v.6, p.29-32, 1994.
- 90.SCHUNKERT, H.; JACKSON, B.; TANG, S.S.; SCHOEN, F.J.; SMITS, J.F.M.; APSTEIN, C.S.; LORELL, B.H. Distribution and functional significance of cardiac angiotensin converting enzyme in hypertrophied rat hearts. **Circulation**, v.87, n.4, p.1328-39, 1993.
- 91.SCHWARZ, F.; MALL, G.; ZEBE, H.; SCHMITZER, E.; MANTHEY, J.; SCHEURLLEN, H.; KÜBLER, W. Determinants of survival in patients with congestive cardiomyopathy: quantitative morphologic findings and left ventricular hemodynamics. **Circulation**, v.70, n.6, p.923-8, 1984.

- 92.SHAH, P.M.; ARCHIBALD, D.; LOPEZ, B.; COHN, J.N. Prognostic value of echocardiographic parameters in chronic congestive heart failure: the VHEFT study. [resumo]. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 9, n.2, p.202A, 1987.
- 93.SHANMUGAM, V.; SELL, K.W.; SAHA, B.K. Mistyping ACE heterozygotes. **PCR Methods Appl.**, v.3, p.120-1, 1993.
- 94.SHERLOCK, S. **Diseases of the liver and biliary sistem**. Oxford, Blackwell, 1989. p.425-448.
- 95.STEVENSON, L.W.; PERLOFF, J.K. The dilated cardiomyopathies: clinical aspects. **Cardiol. Clin.**, v.6, n.2, p.187-218, 1988.
- 96.STRAZZULLO, P.; CAPPuccio, F.P.; IACOVIELLO, L.; CIPOLLARO, M.; VARRIALE, V.; GIORGIONE, N.; FARINARO, E.; MANCINI, M. Erythrocyte volume and blood pressure in a cross-sectional population-based study. **J. Hypertens.**, v.8, n.2, p.179-83, 1990.
- 97.The CONSENSUS Trial Study Group. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). **N. Engl. J. Med.**, v.316, n.23, p.1429-35, 1987.

- 98.The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. **N Engl. J. Med.**, v.325, n.5, p.293-302, 1991.
- 99.The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. **N. Engl. J. Med.**, v.327, n.10, p.685-91, 1992.
- 100.TIRET, L.; RIGAT, B.; VISVIKIS, S.; BREDA, C.; CORVOL, P.; CAMBIEN, F.; SOUBRIER, F. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. **Am. J. Hum. Genet.**, v.51, p.197-205, 1992.
- 101.TIRET, L.; CAMBIEN, F. Departure from Hardy-Weinberg equilibrium should be systematically tested in studies of association between genetic markers and disease. **Circulation**, v.92, n.11, p.3364-5, 1995.
- 102.URBANO-MARQUEZ, A.; ESTRUCH, R.; NAVARRO-LOPEZ, F.; GRAU, J.M.; MONT, L.; RUBIN, E. The effects of alcoholism on skeletal and cardiac muscle. **N. Engl. J. Med.**, v.320, n.7, p.409-15, 1989.

- 103.VELTMAR, A.; GOHLKE, P.; UNGER, T. From tissue angiotensin converting enzyme inhibition to antihypertensive effect. **Am. J. Hypertens.**, v.4, n.2, p.263-9, 1991. Supplement.
- 104.WANDERLEY, D.M.V.; CORRÊA, F.M.A. Epidemiology of Chagas' heart disease. **São Paulo Med. J.**, v.113, n.2, p.742-9, 1995.
- 105.WEBER, K.T.; BRILLA, C.G. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. **Circulation**, v.83, n.6, p.1849-65, 1991.
- 106.WHELAN, R.F.; SCROOP, G.C.; WALSH, J.A. Cardiovascular actions of angiotensin in man. **Am. Heart J.**, v.77, n.4, p.546-65, 1969.
- 107.WOODROW, J.C. Circulating ACE concentrations and progression of heart disease. **Lancet**, v.343, n.8893, p.354, 1994.

SUMMARY



SUMMARY

Insertion/deletion (I/D) polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene was studied in a cohort of survivors of 333 patients with heart failure of different etiologies and in a control group of 807 volunteer blood donors. The age of the patients ranged from 13 to 68 ($43,3 \pm 10,5$) years, 262 (78,7%) were men and 71 (21,3%) women. The age of the control group ranged from 18 to 60 ($31,5 \pm 9,3$) years, 557 (69%) were men and 250 (31%) women. Idiopathic dilated cardiomyopathy was diagnosed in 125 (37,6%), ischemic cardiomyopathy in 63 (18,9%), Chagas' disease cardiomyopathy in 58 (17,4%), hypertensive cardiomyopathy in 41 (12,3%), alcoholic cardiomyopathy in 24 (7,2%), valvular cardiomyopathy in 11 (3,3%) and peripartum cardiomyopathy in 11 (3,3%). The genotypes associated with the I/D polymorphism were determined by polymerase chain reaction. The distribution of the genotypes was determined in the control and patient groups as well the possible associations of the I/D polymorphism with clinical variables and the evolution. The chi-square test, the t-Student test, the analysis of variance (ANOVA), the Kaplan-Meier method, the log-rank test and Cox regression were used in the statistical analysis.

The DD genotype was less frequent in patients, assuming a recessive effect of the D allele ($p=0,034$). The left ventricular end-systolic diameter by echocardiography was higher in patients with the DD genotype,

assuming a recessive effect of the D allele ($p=0,031$). The time elapsed until the onset of symptoms was shorter in patients with alcoholic cardiomyopathy and the DD genotype, assuming a recessive effect of the D allele ($p=0,033$). The time elapsed until the onset of symptoms was shorter in patients with hypertensive cardiomyopathy and the DD genotype, assuming a codominant ($p=0,048$) or recessive ($p=0,024$) effect of the D allele. Patients older than 50 years with the DD genotype showed increased mortality, assuming a codominant ($p=0,007$) or recessive ($p=0,002$) effect of the D allele. The independent variables associated with increased mortality in patients older than 50 years were: age ($p<0,001$), the DD genotype ($p=0,003$), diabetes mellitus ($p=0,003$) and Chagas'disease ($p=0,005$), assuming a recessive effect of the D allele. Assuming a codominant effect of the D allele, the independent variables associated with increased mortality in patients older than 50 years were: age ($p<0,001$), Chagas'disease ($p=0,004$), diabetes mellitus ($p=0,005$) and the DD genotype ($p=0,015$).

These results suggest that the DD genotype may be associated with higher morbidity and mortality in some groups of patients with heart failure.

APÊNDICE



Apêndice

Registro	Idade	Sexo	Etiologia	Genótipo	Tratamento Cirúrgico	Óbito	Data de Nascimento	Data do Início dos Sintomas	Data do Tratamento Cirúrgico	Data do Óbito	Data da Última Avaliação
2763192E	30	F	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	01/10/61	15/01/87			21/08/96
2515497K	37	F	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	15/08/54	29/06/85			25/02/97
51092011	52	M	ALCOÓLICA	2	NÃO	NÃO	05/04/39	15/10/87			09/09/96
5083204F	35	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	20/05/56	30/03/85			10/04/97
5130475C	49	M	D.CHAGAS	3	SIM	NÃO	20/08/41	15/05/82	31/01/92		
5130663K	57	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	18/06/33	23/09/90			21/03/97
5097361E	58	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	12/07/32	03/04/69			25/08/97
2324955G	31	F	OUTRA	2	NÃO	NÃO	10/03/60	17/03/90			03/09/96
5060936E	45	M	ISQUEMICA	2	NÃO	SIM	24/03/46			21/07/96	
5128130I	26	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	23/10/64	21/07/90			06/01/97
5113125E	56	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	29/12/33	22/10/83			05/02/97
5124028F	49	M	ALCOÓLICA	2	NÃO	NÃO	30/06/42	17/04/90			27/11/95
5135112K	28	M	HIPERTENSIVA	1	NÃO	NÃO	28/06/63	07/03/91			25/04/97
5085613K	37	F	OUTRA	2	NÃO	NÃO	07/05/54	02/05/88			14/09/95
5136740H	53	F	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	07/03/50	12/12/90			22/08/97
5136844K	48	F	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	08/06/43	16/01/91			08/10/96
5139795F	48	M	ALCOÓLICA	2	NÃO	NÃO	02/05/43	23/09/81			08/09/97
5120740K	27	M	ALCOÓLICA	1	NÃO	NÃO	08/09/64	27/07/90			13/03/97
5163947A	30	M	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	18/07/62	26/10/91			21/11/97
5141276J	46	M	IDIOPÁTICA	2	SIM	NÃO	11/04/45	11/10/88	12/12/91		
5072311B	30	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	11/04/61	31/08/86			06/02/97
5142034E	28	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	09/10/63	28/06/91			08/01/96
5143149J	46	F	HIPERTENSIVA	3	NÃO	NÃO	19/02/45	21/11/89			29/08/97
2423802E	35	F	OUTRA	1	NÃO	NÃO	05/03/56	10/12/85			09/03/98
5140372D	34	M	ALCOÓLICA	1	NÃO	NÃO	21/05/57	27/06/91			30/09/96
5136802C	59	M	IDIOPÁTICA	3	SIM	NÃO	04/08/32	09/07/90	30/09/92		
5133250G	25	F	D.CHAGAS	3	NÃO	NÃO	18/10/66	01/08/90			20/11/96
5013226G	55	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	01/02/37	27/02/82			06/06/97
5145609C	53	M	HIPERTENSIVA	1	NÃO	NÃO	02/10/38	17/01/92			03/02/97
5148193I	53	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	05/10/38	01/06/90			04/08/95
5132133H	45	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	25/07/47	16/11/90			19/08/97

5086772G	51	F	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	09/06/40	12/06/86	14/04/97
5121104E	36	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	01/04/56	28/04/91	17/07/97
2765864G	52	M	ALCOÓLICA	2	NÃO	NÃO	14/02/40	14/01/91	30/04/97
5146686J	59	M	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	14/03/33	09/02/90	19/06/95
5151584B	50	F	IDIOPÁTICA	2	SIM	NÃO	26/01/42	29/05/90	15/09/92
5150088A	39	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	03/06/53	06/01/92	02/02/98
5151260B	55	M	HIPERTENSIVA	3	NÃO	NÃO	25/04/37	29/12/91	12/05/97
5126222E	39	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	SIM	25/01/51	21/07/90	17/02/96
5155699C	25	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	14/08/67	01/12/91	09/02/98
5155836E	33	M	D.CHAGAS	1	NÃO	NÃO	30/01/58	24/08/90	27/02/98
5152062C	39	M	ALCOÓLICA	1	NÃO	NÃO	11/04/53	22/06/90	27/12/96
5111449D	46	M	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	21/10/43	04/12/89	28/11/94
2852342E	61	M	IDIOPÁTICA	1	SIM	NÃO	28/08/31	04/06/88	10/03/98
5153047J	41	M	HIPERTENSIVA	1	NÃO	SIM	08/12/51	06/07/82	18/01/96
5155462E	13	M	D.CHAGAS	1	SIM	NÃO	25/12/78	08/10/87	15/12/92
5070844B	46	M	ISQUEMICA	3	NÃO	NÃO	17/02/46	09/10/89	19/04/96
5158563G	35	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	21/03/57	19/10/90	09/02/96
5137938A	62	F	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	06/11/28	07/08/90	01/11/96
5158578J	48	M	HIPERTENSIVA	3	SIM	NÃO	26/01/44	23/10/84	03/08/95
5159759B	54	M	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	21/10/38	16/11/89	09/02/98
5148661K	35	M	IDIOPÁTICA	?	SIM	NÃO	19/04/57	02/04/91	06/11/95
5111591D	46	F	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	20/04/46	25/11/88	01/08/97
5112863E	34	F	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	28/09/58	05/11/89	05/09/96
5159513F	46	M	IDIOPÁTICA	?	SIM	NÃO	18/10/46	28/10/89	07/10/94
5134853H	32	M	D.CHAGAS	1	SIM	NÃO	28/05/60	08/02/90	07/04/93
2840906E	55	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	18/07/37	23/06/87	23/04/97
5157864J	44	F	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	06/05/48	07/10/89	13/01/98
5163290J	27	F	OUTRA	2	NÃO	NÃO	31/07/65	15/02/89	28/07/97
5148804G	53	M	ISQUEMICA	1	NÃO	SIM	26/07/40	02/12/90	23/11/95
2544631C	41	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	03/11/51	01/08/85	30/07/96
5163581K	31	M	HIPERTENSIVA	1	NÃO	NÃO	07/12/61	01/07/93	29/08/94
5165123K	34	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	SIM	27/01/58	12/03/91	27/11/96
5040269K	46	F	D.CHAGAS	2	NÃO	SIM	30/10/46	10/05/85	25/01/96
5041513D	46	M	ISQUEMICA	1	NÃO	SIM	03/03/47	22/08/93	10/11/95
5159624I	45	F	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	28/08/47	15/04/85	15/07/97

5161284H	19	F	OUTRA	2	NÃO	NÃO	25/04/73	18/11/92	06/01/98
5157079A	34	F	HIPERTENSIVA	1	NÃO	NÃO	05/03/59	12/11/90	03/09/96
5167121C	29	M	D.CHAGAS	2	NÃO	SIM	06/09/63	17/12/91	06/09/96
5155008K	35	F	HIPERTENSIVA	1	NÃO	NÃO	08/11/58	20/07/92	10/05/97
5129967K	44	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	09/05/49	17/01/88	25/11/96
5168528H	39	M	OUTRA	1	NÃO	NÃO	19/03/54	01/07/85	17/02/98
5177135J	43	F	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	23/05/50	05/07/85	06/06/97
5143210B	44	M	ISQUEMICA	3	NÃO	NÃO	19/03/49	22/10/91	29/07/97
5177487B	28	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	19/01/65	16/04/93	01/07/97
5158607F	25	F	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	11/05/68	01/01/92	25/08/97
5077615E	54	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	18/07/38	16/07/88	13/02/98
5073241C	51	M	IDIOPÁTICA	2	SIM	NÃO	12/07/42	07/05/92	27/05/94
5172170H	59	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	14/04/34	01/01/93	16/06/95
5170077D	50	M	HIPERTENSIVA	1	NÃO	NÃO	18/10/42	04/06/87	11/10/96
5160596G	46	F	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	24/11/48	25/11/91	21/08/97
5166202I	46	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	16/01/47	23/10/92	23/10/97
5174614C	45	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	15/08/48	13/09/79	07/12/95
5120883C	48	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	07/10/45	13/09/90	28/01/98
5175757A	31	M	ALCOÓLICA	1	NÃO	NÃO	29/01/62	30/06/93	23/02/96
5175802F	31	M	D.CHAGAS	2	SIM	NÃO	10/10/62	01/07/93	05/08/94
5051269K	38	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	21/02/55	02/04/85	08/11/96
5148518A	51	M	D.CHAGAS	1	NÃO	NÃO	01/12/42	20/03/91	20/01/96
5169978E	39	M	HIPERTENSIVA	1	SIM	NÃO	28/03/54	19/07/89	14/08/95
5176982F	56	F	IDIOPÁTICA	2	NÃO	SIM	17/09/37	25/10/88	10/06/97
5139783K	41	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	11/06/52	10/03/91	12/09/97
5147159I	63	F	HIPERTENSIVA	2	NÃO	SIM	12/09/30	18/12/91	06/04/96
5108028I	49	M	ISQUEMICA	2	NÃO	SIM	29/07/44	21/09/88	22/01/98
5165888D	50	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	28/08/43	20/04/89	19/09/95
2906761I	32	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	27/05/61	24/03/93	31/07/97
5094252D	56	M	ISQUEMICA	3	NÃO	NÃO	08/12/35	07/09/88	08/03/98
5146718C	36	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	SIM	30/12/58	31/12/91	27/03/97
2810993J	48	F	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	30/03/45	08/10/91	13/01/98
5119885F	44	M	ISQUEMICA	3	NÃO	NÃO	06/12/49	09/07/90	12/04/96
2924154I	53	M	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	07/09/40	17/02/93	03/10/97
5176837I	57	M	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	24/03/36	18/04/92	03/09/97

5153133B	55	M	ISQUEMICA	2	NÃO	SIM	09/04/38	08/06/92	19/01/96	
51827011	38	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	07/09/55	25/02/93		04/08/97
5109993G	47	M	HIPERTENSIVA	1	NÃO	NÃO	16/01/46	31/10/87		31/07/97
5163737A	63	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	01/10/30	12/03/92		05/09/97
5184986F	33	F	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	13/06/60	15/04/86		17/11/95
5170913A	33	M	IDIOPÁTICA	2	SIM	SIM	04/02/61	29/01/93	12/06/97	12/06/97
2959123I	41	M	D.CHAGAS	3	NÃO	NÃO	25/12/52	07/12/93		22/10/96
5113054A	58	M	D.CHAGAS	1	NÃO	NÃO	20/01/36	23/01/85		26/08/97
5174783A	56	M	ALCOÓLICA	3	NÃO	SIM	23/07/37	14/09/93	15/03/96	
5104560E	30	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	14/05/63	05/07/86		03/03/98
5165286C	48	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	SIM	22/06/45	30/03/92	30/10/96	
5184765J	53	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	16/05/41	11/04/93		22/04/96
5091879D	38	F	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	14/07/56	13/06/88		05/06/97
5086448K	52	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	SIM	05/07/42	01/01/88	23/03/97	
5181056K	38	M	D.CHAGAS	2	SIM	NÃO	15/08/55	26/12/93	23/11/94	
5150960A	55	M	ISQUEMICA	3	NÃO	NÃO	18/07/39	19/05/92		06/08/97
5187645E	42	M	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	10/08/52	10/06/90		04/10/96
5182948D	16	F	IDIOPÁTICA	3	NÃO	SIM	18/08/77	08/03/92	15/01/96	
5171451F	45	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	26/04/52	01/01/85		02/02/98
5190085B	46	M	ALCOÓLICA	1	NÃO	NÃO	27/06/48	28/07/79		03/12/96
5082653C	52	M	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	15/11/42	28/10/87		27/11/96
5147381K	44	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	10/05/50	20/07/91		29/08/97
5133686I	54	F	OUTRA	2	NÃO	NÃO	04/11/40	14/04/91		15/08/97
5182299E	33	M	OUTRA	1	NÃO	NÃO	01/02/61	16/02/90		19/05/97
5192117G	49	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	12/06/45	08/09/92		24/09/97
5160319C	54	M	D.CHAGAS	1	NÃO	NÃO	07/04/38	13/11/90		05/05/95
2820564F	44	M	HIPERTENSIVA	3	NÃO	NÃO	22/08/50	20/04/94		03/10/97
5181457E	38	M	ALCOÓLICA	1	NÃO	NÃO	06/05/56	28/01/93		13/05/97
5182066C	55	M	ISQUEMICA	1	NÃO	SIM	10/06/39	08/08/93	24/04/97	
5124034G	45	F	ISQUEMICA	2	NÃO	SIM	29/08/49	16/09/90	28/02/98	
2290971A	56	M	ISQUEMICA	3	SIM	SIM	02/05/38	23/12/93	30/11/96	
5192476K	30	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	05/10/64	15/03/93		09/05/97
2221188E	51	F	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	01/05/43	16/12/91		23/05/97
5160917C	42	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	29/03/53	23/03/92		23/10/95
5187041K	50	M	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	10/09/46	27/05/92		19/05/97

5182867C	44	M	D.CHAGAS	2	NÃO	SIM	27/04/51	14/02/94		06/09/96	
5195036B	48	F	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	17/02/46	03/11/91			15/05/97
5195469G	28	M	ALCOÓLICA	2	NÃO	SIM	29/11/65	14/07/94		25/02/96	
5019922H	61	M	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	18/05/33	04/03/83			17/02/98
5196312F	48	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	15/08/45	06/02/94			24/06/96
5196147K	34	F	D.CHAGAS	1	NÃO	NÃO	05/01/61	30/07/94			25/08/95
5083398D	50	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	29/08/44	12/04/87			11/07/95
5128690D	50	M	D.CHAGAS	1	SIM	NÃO	14/10/44	29/01/89	21/06/95		
2172315D	36	M	D.CHAGAS	2	NÃO	SIM	02/08/58	22/08/94		26/06/96	
5195940B	46	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	SIM	07/01/48	24/11/87		06/06/95	
5136812K	54	M	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	24/08/41	01/06/94			19/05/97
5196938C	29	F	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	30/09/64	09/12/94			22/09/97
5196143D	53	F	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	04/09/41	24/05/94			15/09/96
5197295K	34	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	01/04/60	26/08/94			20/07/97
5197473K	35	M	ISQUEMICA	3	NÃO	NÃO	04/04/59	30/12/94			16/01/98
5184430C	47	F	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	04/08/47	04/04/93			05/05/97
5198457H	37	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	13/08/57	23/01/90			05/08/96
2921231G	26	F	OUTRA	1	NÃO	NÃO	18/05/67	01/03/94			15/12/97
5200279G	56	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	24/02/39	24/02/94			24/04/95
5198829J	47	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	15/08/48	30/01/85			22/01/96
5198646D	57	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	16/10/38	27/01/83			19/09/97
5112632A	47	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	21/08/47	21/12/89			12/03/98
5049705A	46	M	OUTRA	2	NÃO	NÃO	12/11/50	01/01/90			04/08/95
5181460I	42	M	HIPERTENSIVA	3	NÃO	NÃO	28/12/54	28/01/93			02/03/98
5196864H	49	F	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	21/03/46	15/08/94			26/01/96
2979410B	36	M	ISQUEMICA	2	NÃO	SIM	18/01/58	02/03/93		13/04/96	
5200403D	23	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	12/03/72	23/02/93			11/02/98
5177887K	42	M	D.CHAGAS	1	NÃO	NÃO	20/07/54				
5200259B	40	M	ISQUEMICA	2	NÃO	SIM	06/10/55	19/05/93		01/07/96	
5189705C	52	M	D.CHAGAS	1	NÃO	SIM	26/02/43	19/07/92		11/11/96	
5092749A	21	M	OUTRA	2	NÃO	SIM	18/02/75	01/09/93		11/07/95	
5120606J	21	F	OUTRA	2	SIM	SIM	14/11/73	21/09/93	08/02/96	19/01/97	
5002168H	61	M	IDIOPÁTICA	2	SIM	NÃO	30/12/33	18/08/80	24/10/96		
5118843C	45	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	02/07/49	20/03/90			05/03/98
5162981K	55	F	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	26/06/39	08/02/92			30/01/98

5162021J	63	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	22/05/31	09/05/93		25/07/97
5184089F	38	M	ALCOÓLICA	2	NÃO	NÃO	15/12/56	24/03/93		14/10/96
5196006F	35	M	D.CHAGAS	2	NÃO	SIM	10/05/59	01/09/94	05/12/97	
5197598G	51	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	08/01/44	30/10/94		21/03/96
5183324K	62	M	ISQUEMICA	3	SIM	SIM	06/11/32	01/01/94	11/09/97	
5110303I	42	F	IDIOPÁTICA	2	SIM	NÃO	26/04/53	10/11/86	15/10/96	
5185244J	27	M	IDIOPÁTICA	2	SIM	SIM	17/03/68	20/04/93	13/03/97	
5202495I	44	M	D.CHAGAS	3	NÃO	SIM	30/07/50	07/08/94	13/07/96	
5113467A	56	M	ALCOÓLICA	2	NÃO	NÃO	17/12/38	07/02/88		
5200390F	37	F	IDIOPÁTICA	3	NÃO	SIM	04/09/57	02/03/90	03/03/96	
5149521K	54	F	IDIOPÁTICA	2	SIM	NÃO	19/11/40	02/04/92	10/04/97	
5164462D	41	M	OUTRA	2	NÃO	NÃO	15/01/54	11/03/93		
5196281A	34	M	HIPERTENSIVA	3	NÃO	NÃO	24/11/60	10/09/94		05/09/97
5050874E	38	M	D.CHAGAS	1	NÃO	NÃO	03/12/56	20/02/86		24/10/95
5196029H	34	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	26/03/61	28/07/94		07/02/97
5198395B	50	M	ISQUEMICA	2	NÃO	SIM	11/03/45	20/01/88	21/11/96	08/06/97
5186633D	39	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	16/04/55	20/05/91		27/01/98
5187832C	44	M	ISQUEMICA	2	NÃO	SIM	25/07/50	14/10/93	24/10/96	
5207521E	35	M	OUTRA	2	NÃO	NÃO	04/10/59	01/09/94		10/02/98
5200764F	36	M	HIPERTENSIVA	1	NÃO	NÃO	25/03/60	09/02/95		23/01/98
2317181C	44	M	HIPERTENSIVA	3	NÃO	NÃO	20/12/50	01/12/94		23/04/97
2734877B	49	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	06/01/46	16/05/77		26/02/98
5046254K	52	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	SIM	30/01/43	04/11/85	06/01/96	
5204165I	62	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	15/08/33	01/01/92		02/01/96
5208211D	41	F	D.CHAGAS	1	NÃO	NÃO	02/12/53	04/08/90		04/08/96
5196425G	49	M	D.CHAGAS	1	NÃO	NÃO	24/09/45	04/12/90		21/08/97
5167336I	29	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	31/10/65	04/03/93		24/07/97
5201785E	40	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	28/08/56	30/03/94		21/07/97
5110637F	48	M	ISQUEMICA	2	NÃO	SIM	20/06/38	08/05/89	04/05/96	
5191767F	47	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	SIM	27/01/48	31/08/92	05/11/97	
5193577A	58	M	D.CHAGAS	1	NÃO	SIM	07/06/37	05/10/93	06/06/96	
5194140F	38	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	21/11/56	18/10/91		26/01/98
5200619I	29	M	ALCOÓLICA	1	NÃO	NÃO	31/01/66	07/11/94		03/11/95
9064403J	38	M	HIPERTENSIVA	3	NÃO	NÃO	25/12/58	08/08/93		19/01/96
5209211J	53	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	08/12/41	24/03/85		26/11/96

5209394A	43	M	IDIOPÁTICA	3	SIM	SIM	11/03/52	28/08/90	19/06/96	01/07/96	
5116334B	40	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	06/10/54	23/04/89			02/06/97
5202080K	38	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	25/06/58	04/04/94			17/02/98
5209413K	51	M	IDIOPÁTICA	1	SIM	SIM	22/08/44	28/08/92	09/08/96	13/11/96	
5209499C	39	M	ALCOÓLICA	1	NÃO	NÃO	11/12/55	29/12/94			02/03/98
5118297H	31	F	HIPERTENSIVA	1	NÃO	NÃO	25/03/64	06/06/89			02/02/98
5209813F	40	M	IDIOPÁTICA	1	SIM	SIM	22/04/55	01/02/95	09/06/97	16/06/97	
5209026J	56	M	D.CHAGAS	2	NÃO	SIM	15/10/38	08/06/95		17/12/96	
2518795H	49	F	HIPERTENSIVA	3	NÃO	NÃO	15/08/46	02/06/94			03/03/98
5186945I	40	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	SIM	28/02/55	26/05/91		05/01/96	
5210540G	17	F	OUTRA	3	NÃO	NÃO	11/05/78	18/01/94			20/09/96
5209006E	30	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	01/03/65	18/09/93			17/02/98
5139376E	45	M	OUTRA	2	NÃO	NÃO	21/01/50	13/11/93			23/02/96
5114000D	57	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	16/07/38	10/02/90			26/01/98
5211270E	44	F	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	01/10/50	02/10/93			02/03/98
2470445B	35	M	IDIOPÁTICA	3	SIM	SIM	09/02/60	02/02/82	05/06/96	28/06/96	
5210458K	45	M	IDIOPÁTICA	1	SIM	SIM	22/06/50	15/09/94	14/01/97	16/01/97	
5211897A	29	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	03/10/66	13/01/95			27/02/96
5196995J	38	M	ALCOÓLICA	3	NÃO	NÃO	05/02/57	28/12/89			16/10/95
5205291I	58	M	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	06/06/37	01/01/95	09/11/95		22/04/97
5210537C	43	M	IDIOPÁTICA	1	SIM	NÃO	27/05/52	01/08/94			
5211123J	23	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	27/02/72	27/10/91			20/01/98
5164741J	52	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	25/11/43	30/06/95			26/05/97
5213002K	51	M	ISQUEMICA	1	NÃO	SIM	18/02/45	15/09/95		19/01/96	
5110188J	45	M	ISQUEMICA	3	NÃO	NÃO	18/04/51	04/08/94			03/02/98
5151719J	47	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	01/07/47	02/12/91			09/09/96
5157146I	56	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	18/03/40	18/08/92			19/12/96
5215073A	34	M	D.CHAGAS	2	SIM	NÃO	27/03/62	01/10/95	25/05/96		
3096342I	39	M	D.CHAGAS	2	NÃO	SIM	14/03/56	01/05/95		23/01/96	
5211881J	20	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	SIM	25/06/75	01/06/95		08/09/96	
5213980I	44	M	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	07/06/52	01/08/95			08/01/96
5208533F	51	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	03/07/35	10/08/90			03/03/98
5157612B	44	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	04/05/52	30/03/92			23/01/98
5209192K	32	M	IDIOPÁTICA	1	SIM	SIM	19/02/63	23/02/95	16/05/96		
3084577C	44	F	IDIOPÁTICA	3	SIM	NÃO	21/02/51	05/01/94	06/03/97	24/05/96	

52056551	46	F	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	NÃO	13/09/49	20/06/92			12/03/96
5209896A	47	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	SIM	SIM	13/06/48	05/09/89	24/10/96		
5035636J	39	F	D.CHAGAS	1	NÃO	SIM	SIM	21/03/46	23/03/84	20/07/97		
5173380C	58	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	NÃO	18/11/37	18/02/92			18/02/98
2883980C	47	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	NÃO	10/02/48	01/01/92			09/01/96
3048417G	19	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	NÃO	01/04/76	03/12/94			19/08/97
5210370F	28	F	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	NÃO	24/04/67	14/09/91			27/05/97
2925288I	45	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	SIM	SIM	10/04/50	19/04/93	10/04/97		
5202910G	53	F	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	NÃO	22/08/42	25/04/93			05/01/98
5216839C	39	M	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	NÃO	15/04/56	26/01/94			05/08/97
5217442G	42	M	HIPERTENSIVA	1	NÃO	NÃO	NÃO	17/04/53	06/02/94			02/04/96
5051378E	46	F	D.CHAGAS	3	SIM	SIM	SIM	10/01/50	04/04/81	07/11/96		
5209957H	26	F	OUTRA	1	NÃO	NÃO	NÃO	05/08/69	06/01/95		17/07/96	19/02/98
5204709J	42	M	ALCOÓLICA	1	NÃO	SIM	SIM	12/02/54	26/11/94	07/05/97		
5214709D	52	M	D.CHAGAS	1	NÃO	SIM	SIM	20/08/44	01/01/90	26/05/97		
5213095C	42	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	NÃO	03/02/54	30/10/92			16/05/97
5214884C	54	M	ISQUEMICA	1	NÃO	SIM	SIM	03/01/42	06/10/95	08/08/96		
5218216D	32	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	NÃO	23/11/63	23/01/96			17/01/97
5154910G	41	F	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	NÃO	11/05/54	16/07/92			18/02/98
2802827E	28	F	OUTRA	1	NÃO	NÃO	NÃO	26/04/67	19/10/93			16/06/97
5218561D	43	M	D.CHAGAS	1	NÃO	SIM	SIM	08/03/52	01/06/96	24/07/96		
2974104E	58	M	D.CHAGAS	3	NÃO	NÃO	NÃO	12/10/37	25/12/93			28/07/97
5211344F	42	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	NÃO	22/01/54	03/10/94			30/01/98
5219018E	25	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	NÃO	25/08/70	12/12/95			12/03/96
5190529G	46	M	HIPERTENSIVA	2	NÃO	SIM	SIM	05/04/49	02/02/93	15/08/97		
5211053E	36	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	SIM	SIM	29/09/60	27/09/94	29/12/97		
5217919K	36	F	OUTRA	2	NÃO	SIM	SIM	01/01/60	01/03/95	19/02/98		
5220412A	30	F	OUTRA	2	NÃO	NÃO	NÃO	26/02/66	12/11/94			23/08/97
5216432D	33	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	NÃO	10/04/62				28/12/97
5218703A	40	M	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	NÃO	05/05/55	09/02/96			29/12/97
5160690I	46	F	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	NÃO	04/10/46	28/11/90			18/02/98
5214174A	49	F	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	NÃO	10/11/46	21/06/95			24/07/97
5218989G	32	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	SIM	SIM	14/09/63	12/12/95	08/08/96		
5195789K	53	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	NÃO	08/01/43	22/11/92			17/12/97
5215817E	33	F	OUTRA	2	NÃO	NÃO	NÃO	07/04/63	02/01/95			03/10/97

5202951E	57	F	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	29/09/39	19/04/95		26/04/96
5184764K	31	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	16/07/65	11/04/93		25/07/97
5216087K	35	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	14/03/61	10/09/95		17/02/98
5208171A	18	F	IDIOPÁTICA	1	SIM	SIM	08/02/78	30/05/95	20/06/97	
5219672B	49	M	D.CHAGAS	2	NÃO	SIM	04/03/47	27/09/94	10/04/97	
5216450K	62	M	ISQUEMICA	3	NÃO	SIM	15/01/34	01/05/95	05/11/96	
5209959F	53	M	ISQUEMICA	3	NÃO	NÃO	23/11/43	01/01/93		25/10/96
5220449G	54	M	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	06/06/42	12/04/84		25/07/97
5178104F	54	M	D.CHAGAS	1	NÃO	SIM	14/04/42	10/11/92	26/02/98	
5220421J	42	M	ALCOÓLICA	2	NÃO	NÃO	02/04/54	09/04/92		14/04/97
5215401H	52	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	28/02/44	01/12/95		13/08/97
2424295E	39	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	05/06/57	03/04/93		14/07/97
5193359B	54	M	ISQUEMICA	1	NÃO	SIM	15/05/42	26/05/94	04/10/97	
5213575K	59	F	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	21/10/37	11/09/95		01/08/97
5218054G	48	F	HIPERTENSIVA	3	NÃO	NÃO	20/02/48	16/02/89		17/06/96
5217986D	53	M	ALCOÓLICA	2	NÃO	NÃO	14/01/43	15/02/86		03/09/97
5216107I	36	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	SIM	05/05/60	01/11/95	02/02/97	
5223856I	42	M	ISQUEMICA	2	SIM	SIM	01/05/54	13/09/90	22/09/97	23/09/97
5212118C	37	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	21/12/59	16/04/95		20/10/97
5051431I	60	M	ISQUEMICA	2	NÃO	NÃO	05/01/36	09/02/95		30/10/96
5222629F	55	M	D.CHAGAS	1	NÃO	SIM	24/11/41	01/12/91	01/07/97	
5074837D	50	M	ISQUEMICA	3	NÃO	NÃO	04/07/46	13/11/87		18/07/97
5225598H	29	M	ALCOÓLICA	2	NÃO	NÃO	30/06/67	05/08/86		17/02/98
5044815H	39	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	12/02/57	24/08/85		03/03/98
5210330G	57	M	HIPERTENSIVA	1	NÃO	NÃO	30/09/39	13/09/87		29/09/97
5156883J	39	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	08/12/57	15/03/92		18/12/97
4061501E	55	M	OUTRA	1	NÃO	SIM	18/02/41	01/09/92	29/09/97	
5213303I	68	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	01/01/28	01/01/93		19/09/96
5100754E	50	M	ALCOÓLICA	2	NÃO	NÃO	12/11/46	27/08/96		25/08/97
5216895K	45	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	14/06/51	22/02/95		17/07/97
4063996B	46	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	19/06/50	23/02/95		08/09/97
3157701G	38	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	25/09/58	01/03/96		13/08/97
5212238D	36	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	06/02/60	01/08/89		03/12/97
5229350E	27	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	06/10/69	18/10/95		01/12/97
5205660K	42	M	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	05/11/54	20/06/93		17/02/98

5229517B	55	F	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	30/08/41	25/04/96		07/10/97
5219662E	50	M	D.CHAGAS	1	NÃO	SIM	04/07/46	01/05/94	10/04/97	
5228909C	49	M	ISQUEMICA	3	NÃO	NÃO	26/03/47	10/10/94		23/04/97
7007793E	28	F	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	29/05/68	11/11/94		22/09/97
5230511C	65	M	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	10/07/31	22/11/95		19/05/97
5067202K	40	M	ISQUEMICA	3	NÃO	NÃO	30/09/56	06/05/92		18/11/97
2831125K	46	M	D.CHAGAS	1	NÃO	NÃO	12/07/50	21/11/91		21/07/97
5219344J	39	M	HIPERTENSIVA	2	NÃO	NÃO	29/06/57	15/01/96		26/12/97
5079120F	62	M	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	28/05/34	11/01/88		21/11/97
5228754A	40	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	31/03/56	01/02/96		14/04/97
5225235H	54	F	D.CHAGAS	2	NÃO	SIM	02/04/42	20/07/96	22/12/97	
5232590C	18	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	16/11/78	15/02/96		08/08/97
5232667A	46	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	11/02/50	23/12/96		24/02/97
5228120E	30	M	ALCOOLICA	3	NÃO	NÃO	06/06/66	23/09/93		20/02/98
2767863I	64	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	27/09/32	14/02/93		14/02/97
5225059F	47	M	IDIOPÁTICA	1	NÃO	NÃO	19/08/49	01/09/87		03/07/97
5231937C	42	M	IDIOPÁTICA	3	NÃO	NÃO	30/01/54	10/05/96		16/12/97
5225617G	54	M	IDIOPÁTICA	2	NÃO	NÃO	19/02/42	01/10/84		05/09/97
2366004C	42	M	ISQUEMICA	1	SIM	SIM	04/08/54	01/07/95	29/06/97	
5235215H	43	M	ISQUEMICA	1	NÃO	NÃO	13/01/54	20/08/96	04/08/97	29/07/97
52349311A	36	M	ALCOOLICA	1	NÃO	NÃO	01/09/60	15/03/93		13/10/97
5187816E	34	M	D.CHAGAS	2	NÃO	NÃO	12/03/62	14/04/94		26/03/97

1. Genótipo DD

2. Genótipo DI

3. Genótipo II