

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Programa de Pós-Graduação em Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia)  
Área de Análises Clínicas

**Associação da metilação de genes e o desenvolvimento de arritmias  
cardíacas em indivíduos sob tratamento com antidepressivos e  
antipsicóticos**

Larissa Vilela Nascimento

Tese para obtenção do título de DOUTOR  
Orientador: Prof. Titular Dr. Mário Hiroyuki Hirata

São Paulo

2022

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Programa de Pós-Graduação em Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia)  
Área de Análises Clínicas

**Associação da metilação de genes e o desenvolvimento de arritmias  
cardíacas em indivíduos sob tratamento com antidepressivos e  
antipsicóticos**

Larissa Vilela Nascimento

Versão Corrigida

Tese para obtenção do título de DOUTOR

Orientador: Prof. Titular Dr. Mário Hiroyuki Hirata

São Paulo

2022

Larissa Vilela Nascimento

Associação da metilação de genes e o desenvolvimento de arritmias cardíacas  
em indivíduos sob tratamento com antidepressivos e antipsicóticos

Comissão Julgadora da Tese

Prof. Dr. Mário Hiroyuki Hirata  
Orientador/Presidente

---

1o. examinador

---

2o. examinador

---

3o. examinador

---

4o. examinador

---

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2022.

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:  
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

|       |   |
|-------|---|
| N244a | Nascimento, Larissa Vilela<br>Associação da metilação de genes e o desenvolvimento de arritmias cardíacas em indivíduos sob tratamento com antidepressivos e antipsicóticos / Larissa Vilela Nascimento. - São Paulo, 2022.<br>110 p.<br><br>Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - Programa de Pós-Graduação em Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia).<br>Orientador: Hirata, Mário Hiroyuki<br><br>1. Arritmias cardíacas. 2. Psicofármacos. 3. Epigenética. 4. Metilação de DNA. I. T. II. Hirata, Mário Hiroyuki, orientador. |
|-------|---|

## EPÍGRAFRE

“De tudo ficaram três coisas:  
A certeza de que estamos começando,  
A certeza de que é preciso continuar,  
A certeza de que podemos  
ser interrompidos antes de terminar.  
Façamos da interrupção um caminho novo.  
Da queda, um passo de dança.  
Do medo, uma escada.  
Do sonho, uma ponte.  
Da procura, um encontro!”

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, pelo amor e incentivo.

A Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

Ao Prof. Dr. Mário Hiroyuki Hirata pela orientação, oportunidade e apoio na elaboração deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Francisco Lotufo Neto pela colaboração neste trabalho e a todo o pessoal do Instituto de Psiquiatria da Universidade de São Paulo (IPq-FMUSP) que colaboraram durante as coletas de pacientes.

Ao Prof. Dr. Dalmo Antônio Ribeiro Moreira, a Dra. Virginia Cerutti e a todo o pessoal do setor Arritmias cardíaca, do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia (IDPC), pela colaboração neste trabalho e pelos ensinamentos em cardiologia clínica.

Ao Prof. Dr. Eric Batista Ferreira, da Universidade Federal de Alfenas, pelas contribuições nas análises estatísticas.

Meus agradecimentos aos amigos do Laboratório de Investigação Molecular em Cardiologia (LIMC), do IDPC, que fizeram parte da minha formação, Helena, Gisele, Jéssica, Elisangela, Lin, Adriana, e demais alunos que passaram pelo laboratório durante o período do meu doutorado.

As agências de fomento FAPESP (projeto n° 2016/12899-6), CNPq (projeto n° 302733/2016-7) e CAPES (bolsa de doutorado do programa) pelo apoio financeiro.

Aos amigos, sejam de Minas Gerais ou de São Paulo que me aguentaram reclamar ou agradecer por tudo que o doutorado me fez passar.

Aos pacientes voluntários que aceitaram participar do estudo, sem os quais não seria possível este estudo.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte de minha caminhada, o meu muito obrigada.

## RESUMO

NASCIMENTO, L. V. **Associação da metilação de genes e o desenvolvimento de arritmias cardíacas em indivíduos sob tratamento com antidepressivos e antipsicóticos.** 2022. 110f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Doenças arritmogênicas, como Síndrome do QT Longo (SQTL) e Taquicardia Ventricular Polimórfica do tipo Torsades de Pointes (TdP), podem ser induzidas pelo uso de antidepressivos e antipsicóticos. Porém, os processos envolvidos no desenvolvimento dessas alterações no ritmo cardíaco em pacientes em tratamento com esses psicofármacos são desconhecidos. O presente estudo propõe avaliar a possibilidade da participação epigenética no mecanismo desencadeador de arritmia cardíaca em pacientes com o uso de psicofármacos, através da comparação do perfil de metilação de genes associados às arritmias (canais iônicos) e morte súbita cardíaca de indivíduos antes e sob tratamento com antidepressivos e antipsicóticos. Para isso foram incluídos 34 pacientes em início de tratamento no Instituto de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. A metodologia para avaliar o perfil de metilação foi realizada por pirosequenciamento após tratamento com bissulfito. As determinações plasmáticas dos respectivos psicofármacos foram realizadas por UHPLC-MS/MS. O acompanhamento cardíaco ocorreu através da realização de exames de Holter. Como resultados, foi observado que a utilização de fluoxetina ou sertralina, durante o período de 30 dias, pode ser relacionado com o aumento de percentagem de metilação de 3 sítios CpG localizados na região promotora do gene *KCNE1* e 4 sítios CpG localizados na região promotora do gene *SCN5A*. Ocorreram alterações eletrocardiográficas em dois horários analisados (às 06h e às 12h) nos laudos de Holter. Com isso, este estudo possibilitou relacionar mudanças no perfil de metilação dos genes *KCNE1* e *SCN5A*, afetando diretamente as suas expressões e o funcionamento dos canais iônicos respectivos, acarretando falhas de condução elétrica cardíaca.

**Palavras-chave:** Arritmias cardíacas, Psicofármacos, Epigenética, Metilação de DNA.



## ABSTRACT

NASCIMENTO, L. V. **Association of gene methylation and the development of cardiac arrhythmias in compliance with antidepressant and antipsychotic treatment.** 2022. 110f. Thesis (PhD) – Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Sao Paulo, Sao Paulo, 2022.

Arrhythmogenic diseases such as Long QT Syndrome (LQTS) and Torsades de Pointes (TdP) Polymorphic Ventricular Tachycardia can be induced by the use of antidepressants and antipsychotics. However, the processes involved in the development of these changes in heart rhythm in patients treated with these psychotropic drugs are unknown. The present study proposes to evaluate the possibility of epigenetic participation in the triggering mechanism of cardiac arrhythmia in patients using psychotropic drugs, by comparing the methylation profile of genes associated with arrhythmias (ionic channels) and sudden cardiac death in individuals before and under treatment with antidepressants and antipsychotics. For this purpose, 34 patients starting treatment at the Institute of Psychiatry of the Faculty of Medicine of the University of São Paulo were included. The methodology to evaluate the methylation profile was performed by pyrosequencing after treatment with bisulfite. Plasma determinations of the respective psychotropic drugs were performed by UHPLC-MS/MS. Cardiac monitoring was performed through Holter exams. As a result, it was observed that the use of fluoxetine or sertraline, during the period of 30 days, may be related to the increase in the percentage of methylation of 3 CpG sites located in the promoter region of the *KCNE1* gene and 4 CpG sites located in the promoter region of the *SCN5A* gene. There were electrocardiographic changes at two analyzed times (6:00 am and 12:00 pm) in the Holter reports. Thus, this study made it possible to relate changes in the methylation profile of the *KCNE1* and *SCN5A* genes, directly affecting their expressions and the functioning of the respective ion channels, causing cardiac electrical conduction failures.

**Keywords:** Cardiac arrhythmias, Psychopharmaceuticals, Epigenetics, DNA methylation.

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> Representação esquemática do traço de ECG normal, em ritmo sinusal.....   | 15 |
| <b>Figura 2.</b> Canais/correntes de íons de cálcio (Ca), sódio (Na) e potássio (K) no nó atrioventricular (AV) e ventrículo que podem ser detectados no eletrocardiograma ECG).....                                 | 16 |
| <b>Figura 3.</b> Potencial de ação das células do miocárdio.....   | 18 |
| <b>Figura 4.</b> Conversão de citosina em 5-metilcitosina pela ação da DNA metiltransferase (DNMT).....  | 26 |
| <b>Figura 5.</b> Ação da metilação de DNA, em sítios CpG na região promotora de gene, afetando a expressão gênica.....   | 27 |
| <b>Figura 6.</b> Representação gráfica da distribuição de pacientes incluídos no estudo e ambulatorios de atendimento do IPq-HCFMUSP.....  | 49 |
| <b>Figura 7.</b> Representação gráfica da variação de percentagem de metilação nos 8 sítios CpG da região promotora do gene <i>KCNE1</i> , comparando antes do início da medicação e após 30 dias de medicação.....  | 54 |
| <b>Figura 8.</b> Representação gráfica do espaço de variáveis da análise dos componentes principais do gene <i>KCNE1</i> .....   | 55 |
| <b>Figura 9.</b> Representação gráfica da variação de percentagem de metilação nos 3 sítios CpG da região promotora do gene <i>KCNH2</i> , comparando antes do início da medicação e após 30 dias de medicação.....  | 56 |
| <b>Figura 10.</b> Representação gráfica do espaço de variáveis da análise dos componentes principais do gene <i>KCNH2</i> .....  | 57 |
| <b>Figura 11.</b> Representação gráfica da variação de percentagem de metilação nos 9 sítios CpG da região promotora do gene <i>SCN5A</i> , comparando antes do início da medicação e após 30 dias de medicação..... | 58 |
| <b>Figura 12.</b> Representação gráfica do espaço de variáveis da análise dos componentes principais do gene <i>SCN5A</i> .....  | 59 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1.</b> Dados dos primers dos genes <i>KCNE1</i> , <i>KCNH2</i> e <i>SCN5A</i> , onde se encontram os sítios CpG para análise por pirosequenciamento.....   | 42 |
| <b>Tabela 2.</b> Dados biodemográficos dos pacientes incluídos no estudo.....  | 45 |
| <b>Tabela 3.</b> Dados clínicos e hábitos dos pacientes incluídos no estudo.....   | 46 |
| <b>Tabela 4.</b> Dados clínicos familiares dos pacientes incluídos no estudo.....  | 48 |
| <b>Tabela 5.</b> Medicamentos prescritos aos pacientes incluídos no estudo.....  | 49 |
| <b>Tabela 6.</b> Resultados das medidas eletrocardiográficas no período das 06h, antes da medicação (Tempo A) e após 30 dias de medicação (Tempo B), dos pacientes incluídos no estudo que receberam fluoxetina ou sertralina..... | 51 |
| <b>Tabela 7.</b> Resultados das medidas eletrocardiográficas no período das 12h, antes da medicação (Tempo A) e após 30 dias de medicação (Tempo B), dos pacientes incluídos no estudo que receberam fluoxetina ou sertralina..... | 51 |
| <b>Tabela 8.</b> Resultados das medidas eletrocardiográficas no período das 18h, antes da medicação (Tempo A) e após 30 dias de medicação (Tempo B), dos pacientes incluídos no estudo que receberam fluoxetina ou sertralina..... | 52 |
| <b>Tabela 9.</b> Resultados das medidas eletrocardiográficas no período das 00h, antes da medicação (Tempo A) e após 30 dias de medicação (Tempo B), dos pacientes incluídos no estudo que receberam fluoxetina ou sertralina..... | 53 |

## LISTA DE QUADROS

|   |    |
|---|----|
| <b>Quadro 1.</b> Relação das síndromes de QT longo e seus efeitos na função dos canais iônicos correspondentes..... | 19 |
| <b>Quadro 2.</b> Antidepressivos e categoria de risco cardíaco.....   | 21 |
| <b>Quadro 3.</b> Antipsicóticos e categoria de risco cardíaco.....  | 24 |
| <b>Quadro 4.</b> Condição final após tratamento com bissulfito.....   | 40 |
| <b>Quadro 5.</b> Valores de referência para cálculo de IMC.....   | 47 |

## Sumário

|   |    |
|---|----|
| <b>1. Introdução</b> .....  | 14 |
| <b>1.1 Arritmia Cardíaca</b> .....  | 14 |
| <b>1.2 Eletrocardiograma e o potencial de ação da célula cardíaca</b> ..... | 14 |
| <b>1.3 Canais iônicos cardíacos e QT longo</b> .....                        | 17 |
| <b>1.4 Psicofármacos</b> .....  | 19 |
| <b>1.4.1 Antidepressivos</b> .....  | 21 |
| <b>1.4.2 Antipsicóticos</b> .....   | 23 |
| <b>1.5 Epigenética</b> .....  | 25 |
| <b>1.5.1 Metilação de DNA</b> .....   | 25 |
| <b>1.5.2 Metilação de DNA e psicofármacos</b> .....                         | 29 |
| <b>2. Justificativa</b> .....   | 32 |
| <b>3. Objetivos</b> .....   | 34 |
| <b>3.1. Objetivo geral</b> .....  | 34 |
| <b>3.2. Objetivos específicos</b> .....                                     | 34 |
| <b>4. Casuística, Materiais e Métodos</b> .....                             | 36 |
| <b>4.1. Casuística</b> .....  | 36 |
| <b>4.2. Considerações Éticas</b> .....                                      | 36 |
| <b>4.3. Primeiro Atendimento</b> .....                                      | 36 |
| <b>4.4. Segundo Atendimento</b> .....                                       | 37 |
| <b>4.5. Critérios de Exclusão (desde o primeiro atendimento)</b> .....      | 37 |
| <b>4.6. Dados biodemográficos</b> .....                                     | 38 |
| <b>4.7. Holter</b> .....  | 38 |
| <b>4.8. Amostras de Sangue periférico</b> .....                             | 39 |
| <b>4.9. Análise de Metilação do DNA por Pirosequenciamento</b> .....        | 39 |
| <b>4.9.1. Extração e Quantificação de DNA</b> .....                         | 39 |
| <b>4.9.2. Tratamento de DNA por Bissulfito</b> .....                        | 40 |
| <b>4.9.3. Amplificação pela PCR</b> .....                                   | 40 |
| <b>4.9.4. Pirosequenciamento</b> .....                                      | 41 |
| <b>4.9.5. Genes Analisados</b> .....  | 41 |
| <b>4.10. Concentração Plasmática de Psicofármacos</b> .....                 | 42 |
| <b>4.11. Análise Estatística</b> .....                                      | 42 |
| <b>5. Resultados</b> .....  | 45 |
| <b>5.1. Dados biodemográficos</b> .....                                     | 45 |
| <b>5.2. Dados Psiquiátricos e Farmacológicos</b> .....                      | 48 |
| <b>5.3. Concentração Plasmática de Psicofármacos</b> .....                  | 50 |
| <b>5.4. Holter</b> .....  | 50 |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>5.5. Metilação de DNA por pirosequenciamento .....</b> | <b>53</b> |
| <b>5.5.1. Gene <i>KCNE1</i>.....</b>                      | <b>53</b> |
| <b>5.5.2. Gene <i>KCNH2</i> .....</b>                     | <b>56</b> |
| <b>5.5.3. Gene <i>SCN5A</i>.....</b>                      | <b>58</b> |
| <b>6. Discussão .....</b>                                 | <b>62</b> |
| <b>7. Conclusão .....</b>                                 | <b>71</b> |
| <b>8. Referências .....</b>                               | <b>73</b> |
| <b>9. Anexo .....</b>                                     | <b>82</b> |

**#INTRODUÇÃO**

## **1. Introdução**

### **1.1 Arritmia Cardíaca**

A contração cardíaca, essencial para que o coração exerça sua função, é dependente da atividade elétrica dos miócitos. Tal atividade é dividida em dois momentos: a despolarização e a repolarização. Despolarização é o influxo de íons de sódio ( $\text{Na}^+$ ) ou de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) na célula cardíaca, passando através da membrana plasmática e de canais próprios, estimulando a contração. Repolarização é o efluxo de íons potássio ( $\text{K}^+$ ), através da membrana plasmática das células do miocárdio, retornando ao estado de repouso, podendo ser estimulada novamente (GYTON; HALL, 2017).

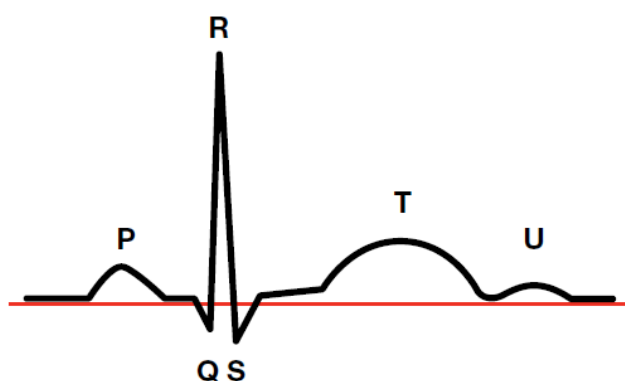
Alterações na atividade elétrica dos miócitos podem provocar modificações no ritmo de suas contrações (ou batidas), as chamadas arritmias cardíacas. As arritmias podem ser classificadas em taquicardia (quando o coração bate a frequências acima de 110 bpm) ou bradicardia (quando as batidas ocorrem a frequências abaixo de 60 bpm); também há casos em que o coração pulsa com irregularidade, ou seja, em descompasso. Muitas vezes, as arritmias não manifestam sintomas. No entanto, podem se associar a dores no peito, falta de ar, tonturas, desmaios, e chegando à consequência fatal: a morte súbita cardíaca (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2015).

### **1.2 Eletrocardiograma e o potencial de ação da célula cardíaca**

O eletrocardiograma registra a atividade elétrica do coração como um todo, desde a despolarização do nódulo sinusal no átrio direito, a ativação elétrica atrial, a passagem do impulso pelo nódulo atrioventricular até atingir os ventrículos e a despolarização ventricular propriamente. O registro gráfico (Figura 1) dessas ondas corresponde à ativação da musculatura das câmaras correspondentes. Após a ativação atrial são inscritas as ondas P; após essa onda segue-se uma linha isoeletrica que corresponde a passagem do impulso pelo nódulo atrioventricular, conhecido como segmento PR. O início da ativação ventricular que ocorre no septo interventricular, dá início a inscrição da onda "Q" ou onda "R" (complexos QRS). Após completada a despolarização



inicia-se o processo de repolarização ventricular que na sua fase inicial se manifesta por uma linha isoelétrica que vai até o início da onda T propriamente, conhecido como segmento ST. A onda T é o registro do restabelecimento das propriedades elétricas musculares que permitirá que um novo ciclo se reinicie (GYTON; HALL, 2017).



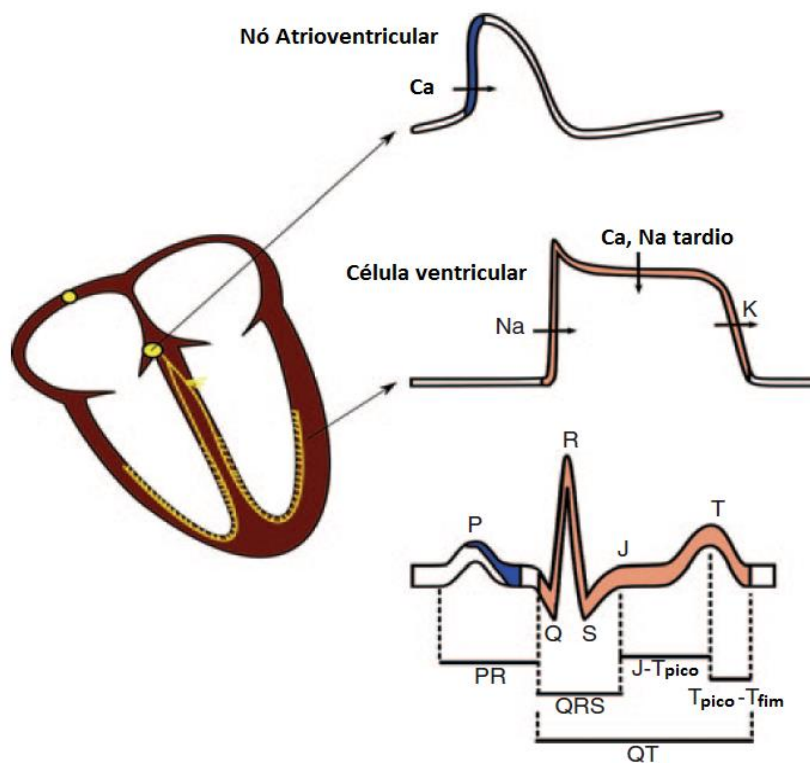
**Figura 1.** Representação esquemática do traço de ECG normal, em ritmo sinusal. As ondas P correspondem a atividade elétrica atrial, os complexos QRS a atividade elétrica ventricular e as ondas T, a repolarização ventricular. O intervalo que separa as ondas P dos complexos QRS é conhecido como segmento PR e corresponde em parte a condução do impulso pelo nóduo atrioventricular até os ventrículos. Ao término do QRS inicia-se outro período conhecido por segmento ST (do final do QRS ao início da onda T). Após a onda T, em algumas condições registra-se a onda U, correspondente a repolarização das fibras de Purkinje ou das células M (mesocárdicas). Fonte: LECEA; BASTERRA (2013).

Os efeitos clínicos desencadeados pelas arritmias podem ser evitados através da análise do intervalo QT em um ECG, principalmente, quando este estiver anormalmente alongado. Um aumento do intervalo QT pode ser devido tanto a agentes externos (adquiridos) quanto a alterações geneticamente determinadas por mutações em canais iônicos cardíacos (congenito) (ALDERS; BIKKER; CHRISTIAANS, 2018). Um simples aumento do intervalo QT ou uma alteração morfológica da onda T tem significância, que podem permanecer assintomática ou levar a *Torsades de Pointes* (TdP), uma taquiarritmia rara que pode trazer risco de morte devido a fibrilação ventricular, chegando até mesmo a morte súbita cardíaca (ISBISTER; PAGE, 2013).

Porém, o prolongamento do intervalo QT, analisado isoladamente, não é um bom indicador do risco de TdP realmente ocorrer. Juntamente com outros indicadores (biomarcadores) para TdP, como a dispersão transmural da onda T ( $T_{\text{pico}}-T_{\text{fim}}$ ) e a instabilidade/variabilidade do intervalo QT, como foram estudados nos últimos anos, podem ser associados a síndrome de QT longo e

à TdP induzida por drogas (JACOBSON et al, 2011; LIU et al, 2006; LU et al, 2006) (Figura 2).

Em 2013, Lu e colaboradores estudaram um novo e não invasivo biomarcador, que possibilitaria prever arritmias cardíacas induzidas por uso de fármacos: o índice de equilíbrio eletrofisiológico cardíaco (iCEB). Esse índice representaria a relação do intervalo QT e do intervalo QRS no ECG ( $iCEB = QT/QRS$ ). Foi proposto que tanto aumento quanto diminuição do intervalo QT ou do intervalo J-T seriam proporcionais a aqueles no período refratário efetivo (ERP), e que mudanças no intervalo QRS seriam semelhantes aos da velocidade de condução (VC). No estudo, foram testados 7 componentes cardio-ativos de referência em coelhos. O iCEB se mostrou eficiente, não somente em determinar prolongamento de intervalo QT e desenvolvimento de TdP induzido por fármacos, mas também na desaceleração da condução induzida por fármaco, encurtamento de intervalo QT e em relação a VT/VF não semelhante a TdP.



**Figura 2.** Canais/correntes de íons de cálcio (Ca), sódio (Na) e potássio (K) no nó atrioventricular (AV) e ventrículo que podem ser detectados no eletrocardiograma (ECG). A condução através do nó AV é impulsionada por Ca, e a condução através dos ventrículos é conduzida por Na. Assim, o prolongamento do QRS é um sinal de bloqueio do canal de Na. O bloqueio de Ca e de Na tardio também podem encurtar a fase inicial de repolarização (J-T<sub>pico</sub>). Fonte: Modificado de JOHANNESSEN et al; 2014.

Em 2016, José Vicente e colaboradores avaliaram 8 variáveis eletrocardiográficas como possíveis biomarcadores na detecção de bloqueio de corrente tardia de sódio resultando em prolongamento de QTc (intervalo QT corrigido pela frequência cardíaca). Nesse ensaio clínico, um bloqueador seletivo de canal de potássio (dofetilide) foi administrado sozinho e, em seguida, em combinação com dois bloqueadores de corrente tardia de sódio (lidocaína e mexiletina). O resultado demonstrou que o bloqueio da corrente tardia de sódio tem maior efeito no intervalo J-T<sub>pico</sub> corrigido pela frequência cardíaca (J-T<sub>picoC</sub>), seguido por prolongamento de QTc e achatamento da onda T.

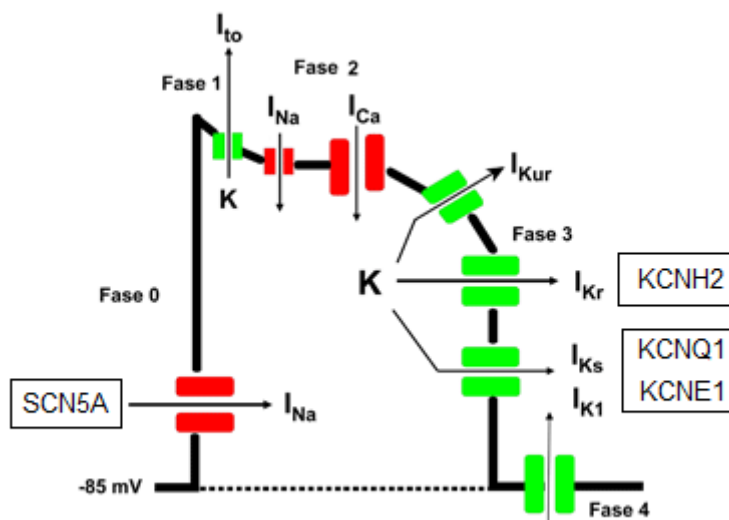
Uma preocupação em relação ao desenvolvimento de arritmias induzidas por fármacos se dá no fato de que nem todos os pacientes, em início de tratamento medicamentoso, recebem monitoramento da atividade cardíaca através de ECG ou outros exames. Se houvesse esse cuidado, melhor definido na prática clínica, possíveis pacientes de risco de arritmias ou morte súbita teriam seu diagnóstico pré-estabelecido e medidas preventivas poderiam ser tomadas.

### **1.3 Canais iônicos cardíacos e QT longo**

Cerca de 80% do prolongamento congênito do intervalo QT ocorre devido a mutações nos genes que codificam subunidades dos canais iônicos ou receptores e/ou proteínas regulatórias, que podem afetar tanto a abertura quanto o fechamento desses canais, sua localização, a ancoragem e a interação destes com outras proteínas do citoesqueleto (Figura 3). Assim, podendo contribuir para o aumento ou para a redução da função desse canal (GARCIA-ELIAS; BENITO, 2018).

Síndrome de QT longo (SQTL) possui 13 tipos de genótipos autossômicos dominantes, sendo que os tipos SQTL1, SQTL2 e SQTL3 representam quase que 85% de todos os casos diagnosticados (CERRONI; PRIORI, 2011). SQTL1 é causado por mutações no gene *KCNQ1* que codifica Kv7.1, subunidade alfa de canal iônico de potássio dependente de voltagem, e representa a maior parte dos casos de SQTL (maior que 40%). SQTL2 é causado por mutações no gene *KCNH2* que codifica Kv11.1 (ou hERG),

subunidade alfa de canal iônico de potássio dependente de voltagem, e representa cerca de 30% dos casos de SQTL. Mutações nesses genes afetam a função dos canais iônicos respectivos, reduzindo as correntes  $I_{Ks}$  e  $I_{Kr}$ , e aumentando o tempo de repolarização (CUBEDDU, 2016).



**Figura 3.** Potencial de ação das células do miocárdio. Fase 0 corresponde a despolarização; fase 1, repolarização inicial; fase 2, platô; fase 3, repolarização final; e fase 4, repouso. Em vermelho, canais iônicos de sódio (Na) e de cálcio (Ca). Em verde, canais iônicos de potássio (K). Fonte: Modificada do site do Projeto ITACA (Investigação de Translacional de Arritmias Cardíacas Secundárias e Canalopatias).




SQTL3 é causado por mutações no gene *SCN5A* que codifica Nav1.5, subunidade alfa de canal iônico de sódio dependente de voltagem e mediador da corrente de despolarização  $I_{Na}$ . No caso dessa mutação, presente em 10% dos casos de SQTL, ocorre ganho de função do canal iônico correspondente, prolongando a duração do potencial de ação devido aumento das correntes tardias de despolarização (WILDE; AMIN, 2018).

Os demais tipos de SQT representam menos de 1% dos casos diagnosticados. Contudo, algumas mutações incomuns podem diminuir correntes externas, como o caso do gene *KCNE1* que codifica minK, subunidade beta de canal iônico de potássio dependente de voltagem. Mutações nesse gene interferem no tráfego de Kv7.1 e reduzem a corrente  $I_{Ks}$  (BARRO-SORIA et al, 2014).

Mesmo sendo caracterizadas pela alteração da repolarização ventricular, resultando em prolongamento do intervalo QT, as síndromes de QT

longo se manifestam de forma diferente no traçado do eletrocardiograma (Quadro 1). Juntamente com exames genéticos, o estudo clínico de laudos de ECG e de Holter fornece no diagnóstico definitivo dessas síndromes em alguns pacientes. Com isso, medidas preventivas podem ser tomadas para evitar ocorrência de eventos letais, como a morte súbita cardíaca, que pode ocorrer durante a realização de exercícios físicos, ou até mesmo durante o sono ou repouso (DOMINGO; TORRES; ACKERMAN, 2007; GARCIA-ELIAS; BENITO, 2018).

Quadro 1. Relação das Síndromes de QT longo e seus efeitos na função dos canais iônicos correspondentes.

| Tipo  | Canal | Efeito funcional | ECG   | Ocorrência de evento cardíaco letal  |
|-------|-------|------------------|---|--|
| SQTL1 | K     | Perda            |   | Exercício (68%)<br>Estresse emocional (14%)<br>Dormindo, repouso (9%)<br>Outro (19%) |
| SQTL2 | K     | Perda            |  | Exercício (29%)<br>Estresse emocional (49%)<br>Dormindo, repouso (22%)               |
| SQTL3 | Na    | Ganho            |  | Exercício (4%)<br>Estresse emocional (12%)<br>Dormindo, repouso (64%)<br>Outro (20%) |

Fonte: Modificado de DOMINGO; TORRES; ACKERMAN, 2007.

#### 1.4 Psicofármacos

Várias publicações demonstram que fármacos desenvolvidos para o tratamento dos mais diferentes tipos de doenças tais como antibióticos, antialérgicos e os antipsicóticos, estão associados ao maior risco de morte súbita por arritmias cardíacas, tendo sido inclusive alguns retirados do mercado (ZAREBA, 2007; BEHR; RODEN, 2013; COUNPLAND et al., 2016; MATILLA et

al., 2019). Muitos desses medicamentos causavam interferências no processo de repolarização ventricular, particularmente por bloqueio dos canais de potássio, prolongando o intervalo QT, às custas de sua subdivisão, o intervalo  $T_{\text{pico}}-T_{\text{fim}}$  (VICENTE, 2018).

O aumento do intervalo QT, de forma adquirida, pode ser causado por uso de medicamentos que interagem com os canais iônicos da membrana cardíaca ou por interações fármaco-fármaco (PACHER; KECSKEMETI, 2004; LECEA; BASTERRA, 2013). Para a maioria dos medicamentos, o risco de prolongamento de intervalo QT e indução de TdP é relativo à concentração plasmática. Assim, questões genéticas e outros mecanismos que contribuem para altas concentrações plasmáticas desses fármacos são também fatores de riscos para desenvolvimento de arritmias (BEHR; RODEN, 2013).

Vandael e colaboradores (2014) analisaram a prevalência de interação fármaco-fármaco, que poderiam levar ao prolongamento de QT. Entre os 592 pacientes psiquiátricos avaliados, 60,8% tinham interações fármaco-fármaco. Das 965 interações encontradas, 11,7% apresentavam um risco de prolongamento de QT severo ou muito severo, encontrados em 7,3% dos pacientes do estudo. Estas interações relacionadas ao prolongamento de QT ocorreram principalmente com antidepressivos e antipsicóticos. Os autores recomendam o estabelecimento de protocolos de prescrição desses psicofármacos, acompanhamento dos pacientes e o incentivo do conhecimento destes riscos pelos profissionais de saúde (VANDAEL et al, 2014).

O Centro de Educação e Pesquisa em Terapêutica (CERT) da Universidade do Arizona (CREDIBLEMEDS, 2020) lista mais de 100 medicamentos utilizados em diversas áreas de terapêutica como potenciais agentes arritmogênicos, causando prolongamento do intervalo QT e/ou desenvolvimento de TdP. Entre os medicamentos relacionados com o desenvolvimento de arritmias cardíacas estão os psicofármacos, principalmente, a classe dos antidepressivos e os antipsicóticos. Estes fármacos agem na inibição dos canais iônicos cardíacos e vasculares, alterando a repolarização cardíaca (PACHER; KECSKEMETI, 2004).

### 1.4.1 Antidepressivos

Os antidepressivos são utilizados para casos de depressão de intensidade moderada ou grave, nos quais a apresentação clínica e a história pregressa sugerem a participação de fatores biológicos. Também podem ser utilizados em outros transtornos, como no transtorno do pânico, transtorno obsessivo compulsivo (TOC), transtorno de ansiedade generalizada, transtorno de estresse pós-traumático e transtornos alimentares nervosos (SANTARSIERI; SCHWARTZ, 2015).

A classificação dos antidepressivos ocorre de acordo com sua estrutura química ou de acordo com seu mecanismo de ação, podendo ser: tricíclicos; inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS); inibidores da monoamino-oxidase (IMAO); e uma nova geração, os duplos inibidores (inibidores da recaptação da serotonina e da noradrenalina - IRSN). Seus efeitos afetam os sistemas serotoninérgicos (serotonina - 5HT) ou os sistemas catecolaminérgicos (dopamina ou noradrenalina) do sistema nervoso central, seja por bloqueio da recaptação pré-sináptica, estimulação da sua liberação na fenda, inibição do seu catabolismo (IMAO) ou por efeitos agonistas/antagonistas nos receptores (REID; STEWART, 2001).

Dentre os medicamentos listados no site do Centro de Educação e Pesquisa em Terapêutica (CERT) da Universidade do Arizona (CREDIBLEMEDS, 2020) que causam prolongamento do intervalo QT e/ou desenvolvimento de TdP, cita-se os antidepressivos, divididos por classe e respectivo grau de risco, no quadro a seguir:

**Quadro 2.** Antidepressivos e categoria de risco cardíaco:

| Classe            | Psicofármaco   | Categoria de Risco       |
|-------------------|--|--------------------------|
| <b>Tricíclico</b> | Clomipramina<br>Desipramina<br>Imipramina<br>Nortriptilina<br>Trimipramina | Possível Risco de TdP    |
|                   | Amitriptilina  | Risco Condicional de TdP |

|                     |   |                          |
|---------------------|---|--------------------------|
|                     | Doxepin   |                          |
| <b>Tetracíclico</b> | Mirtazapina   | Possível Risco de TdP    |
| <b>ISRS</b>         | Fluoxetina<br>Fluvoxamina<br>Paroxetina<br>Sertralina | Risco Condicional de TdP |
|                     | Citalopram<br>Escitalopram                            | Risco de TdP             |
| <b>IRSN</b>         | Venlafaxina   | Possível Risco de TdP    |
| <b>Atípico</b>      | Trazodona   | Risco Condicional de TdP |

**Legenda:** Risco de Tdp - Medicamentos que prolongam o intervalo QT e que estão associados com um risco de TdP, mesmo quando usado na dosagem indicada. Possível risco de TdP – Medicamentos que podem causar prolongamento do intervalo QT, mas sem evidências suficientes que estão associados a um risco de TdP, mesmo quando usado na dosagem indicada. Risco condicional de TdP – Medicamentos associados a um risco de TdP, mas apenas sob determinadas condições (por exemplo, dose excessiva, QT longo congênito ou uma interação fármaco-fármaco que resulte em prolongamento do intervalo QT).

Os antidepressivos tricíclicos foram a primeira escolha no tratamento da depressão por muitos anos. Porém, com o surgimento dos inibidores seletivos e dos atípicos, esse cenário foi se modificando. A escolha da medicação mais apropriada deve ocorrer de acordo com os sintomas que o paciente expõe, a dosagem e o tempo de duração do tratamento, entre outros fatores adversos, como a segurança da medicação (MARASINE et al, 2021).

Nas últimas décadas, com o aumento na prescrição e uso de antidepressivos, fez-se necessário mais informações sobre a segurança cardíaca dessa medicação. Num estudo de coorte, Counpland e colaboradores (2016) acompanharam pacientes, de idade entre 20 e 64 anos, durante 5 anos, para avaliar associação entre diferentes tratamentos com antidepressivos e a ocorrência de eventos cardiovasculares em pessoas com depressão. Durante esse período, 772 pacientes tiveram infarto agudo do miocárdio (IAM), 1106 tiveram um acidente vascular cerebral (AVC), e 1452 foram diagnosticados com arritmia. Não foram encontradas associações significativas entre a classe de antidepressivos e a ocorrência de IAM, AVC e arritmias, durante os cinco anos de seguimento. Porém, no primeiro ano, pacientes tratados com inibidores de recaptação de serotonina tiveram um risco significativamente reduzido de IAM em comparação com pacientes que não fizeram uso de antidepressivos; entre fármacos individuais, a fluoxetina foi associada a uma redução significativa de risco de IAM. O risco de arritmias aumentou



significativamente durante os primeiros 28 dias de tratamento com antidepressivos tricíclicos e relacionados. Contudo, fluoxetina foi associada a um risco significativamente reduzido de arritmia ao longo dos cinco anos.

Em 2019, Martinez-Matilla e colaboradores investigaram como eventos arrítmicos e prolongamento de intervalo QT podem ocorrer induzidos pelo uso de psicofármacos. Com uma seleção de 32 pacientes, de três países diferentes, foram feitos rastreios genéticos de condições cardíacas prévias (como canalopatias) e estudo de vias de metabolismo do psicofármaco utilizado (farmacodinâmica e farmacocinética), mostrando a preocupação que se deve ter no início de qualquer tratamento terapêutico. Com isso, o presente estudo vem complementar esse mecanismo multifatorial que é o desenvolvimento de arritmias cardíacas induzidas por fármacos.

#### **1.4.2 Antipsicóticos**

Os antipsicóticos são psicofármacos indicados no tratamento da esquizofrenia, também podendo ser usados para o tratamento de outros transtornos (assim como os antidepressivos). Transtorno bipolar, transtorno de ansiedade, problemas comportamentais graves, agitação, psicose, síndrome de Tourette e ansiedade psicótica não generalizada são alguns distúrbios psiquiátricos tratados com antipsicóticos (CHRISTIAN et al., 2012).

Os antipsicóticos, também chamados de neurolépticos, são classificados em típicos (ou de primeira geração) e atípicos (ou de segunda geração). Esta divisão está relacionada ao seu mecanismo de ação: seja de bloqueio de receptores de dopamina nos típicos, seja de bloqueio de receptores dopaminérgicos e serotoninérgicos nos atípicos. Assim, acarretam um perfil diferente de efeitos colaterais, em geral, melhor tolerados nos antipsicóticos atípicos (KANE; CORRELL, 2010).

No quadro a seguir, temos alguns antipsicóticos, sua classe e seu respectivo grau de risco, listados pelo Centro de Educação e Pesquisa em Terapêutica (CERT) da Universidade do Arizona (CREDIBLEMEDS, 2020):

**Quadro 3.** Antipsicóticos e categoria de risco cardíaco:

| <b>Classe</b>  | <b>Psicofármaco</b>  | <b>Categoria de Risco</b> |
|----------------|--|---------------------------|
| <b>Atípico</b> | Aripiprazola<br>Clozapina<br>Iloperidona<br>Olanzapina<br>Paliperidona<br>Quetiapina<br>Risperidona<br>Sertindola<br>Ziprasidona<br>Zotepina | Possível Risco de TdP     |
|                | Amisulprida  | Risco Condicional de TdP  |
|                | Sulpirida<br>Sultoprida  | Risco de TdP              |
|                | <b>Típico</b>  | Pipamperona               |
|                | Clorpromazina<br>Haloperidol<br>Mesoridazina<br>Tioridazina  | Risco de TdP              |

**Legenda:** Risco de Tdp - Medicamentos que prolongam o intervalo QT e que estão associados com um risco de TdP, mesmo quando usado na dosagem indicada. Possível risco de TdP – Medicamentos que podem causar prolongamento do intervalo QT, mas sem evidências suficientes que estão associados a um risco de TdP, mesmo quando usado na dosagem indicada. Risco condicional de TdP – Medicamentos associados a um risco de TdP, mas apenas sob determinadas condições (por exemplo, dose excessiva, QT longo congênito ou uma interação fármaco-fármaco que resulte em prolongamento do intervalo QT).

Em relação à toxicidade cardíaca, os atípicos mais recentes são considerados mais seguros do que os típicos. Contudo, estudos negam esta hipótese, relatando possível risco de arritmias e de morte súbita cardíaca semelhante entre as duas classes (DESAI et al., 2015). Cubeddu e colaboradores mostraram que a utilização de antipsicóticos aumenta em até 1,53 vezes a ocorrência de arritmias ventriculares e morte súbita cardíaca. Contudo, o simples diagnóstico de esquizofrenia já colabora para esse aumento. Até mesmo casos isolados, de baixas doses de risperidona induzindo prolongamento de QT, fazem com que o entendimento da cardiotoxicidade dos psicofármacos seja cada vez mais questionada, principalmente com mais estudos que investiguem disfunção cardíaca antes do uso de antipsicóticos e

após a introdução do psicofármaco em pacientes com primeiro episódio de doença mental (CUBEDDU, 2016).

## **1.5 Epigenética**

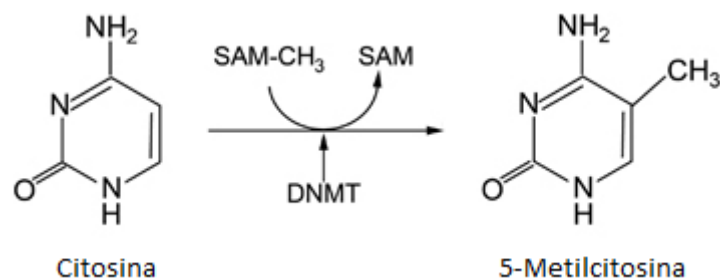
O termo epigenética surgiu em meados da década de 50, com os experimentos do biólogo Conrad Waddington, para caracterizar a interação entre genes e o meio, influenciando diretamente o fenótipo (NICOGLU, 2018). O conceito moderno de epigenética refere-se ao estudo das modificações reversíveis e herdáveis que podem ocorrer nas histonas e no DNA. Compreendem estas modificações: a metilação, a fosforilação e a acetilação, no caso das histonas; apenas a metilação, no caso do DNA; bem como a remodelagem da cromatina (ZHANG; LU; CHANG; 2020).

Estas alterações podem contribuir no controle da transcrição e da tradução gênica e não são causadas por variações na sequência de DNA. Mudanças ambientais geram adaptações na expressão gênica do indivíduo, podendo mudar significativamente a atividade biológica final do produto proteico de um determinado gene (NOBLE, 2015).

### **1.5.1 Metilação de DNA**

Metilação de DNA corresponde à adição de um grupo metil ( $\text{CH}_3$ ), pela ação de enzimas DNA metiltransferases (DNMT), no carbono da posição 5 de uma citosina, sendo essa seguida por uma guanina, o qual se nomeia “dinucleotídeo CpG” (figura 4) (INBAR-FEIGENBERG et al, 2013).

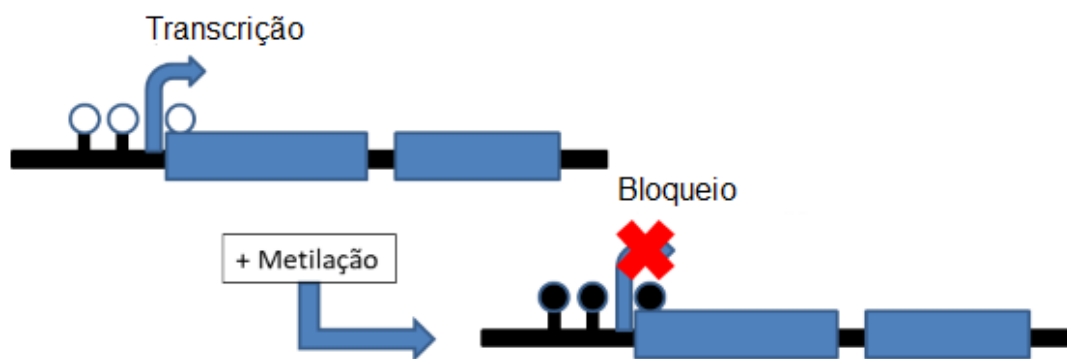
Os doadores de radical metil podem ser obtidos através da dieta, principalmente de metionina (WATERLAND, 2006), mas também de folato, de colina e de vitamina B12. Outros fatores ambientais podem ser incluídos como poluentes, fungicidas, cigarro e medicamentos (SZYF, 2007).



**Figura 4.** Conversão de citosina em 5-metilcitosina pela ação da DNA metiltransferase (DNMT). DNMT catalisa a transferência de um grupo metil (CH<sub>3</sub>) da S-adenosil-L-metionina (SAM) para o carbono da posição 5 da citosina. **Fonte:** modificada de GIBNEY; NOLAN (2010).

Existem cinco isoformas da enzima DNMT – DNMT1, DNMT2, DNMT3A, DNMT3B e DNMT3L – mas, somente as isoformas DNMT1, DNMT3A e DNMT3B atuam na metilação de DNA. Essas três enzimas são divididas em dois grupos: as metiltransferases de manutenção, envolvidas na metilação de fitas hemimetiladas de DNA durante a replicação (DNMT1); e as *denovo* metiltransferases, adicionando o grupo metil em fitas previamente não metiladas (DNMT3a e DNMT3b) (FOULKES, 2012). Ooi e colaboradores, em 2007, mostram que o processo de metilação *denovo* em células que expressam DNMT3L (isoforma inativa e homóloga de DNMT3A e DNMT3B) também podem ocorrer, quando realizado por um complexo formado por duas moléculas de DNMT3A, uma de DNMT3L e um nucleossomo.

Os dinucleotídeos CpG aparecem espalhados no genoma ou juntos em regiões denominadas de ilhas CpG, as quais são frequentes em regiões promotoras e nos primeiros *exons* de alguns genes. Essas ilhas CpG são não metiladas, principalmente, para manter a estrutura da cromatina aberta e em estado ativo de transcrição. Existem cerca de 30.000 ilhas CpG no genoma humano (FERREIRA; ESTELLER, 2018). Quando a metilação de DNA ocorre nessas ilhas, localizadas na região promotora de um gene, resulta no silenciamento desse gene, pois inibe a ligação dos complexos de transcrição à suas regiões reguladoras (figura 5) (USHIJIMA; ASADA, 2010; DEATON; BIRD, 2011).



**Figura 5.** Ação da metilação de DNA, em sítios CpG na região promotora de gene, afetando a expressão gênica. **Fonte:** do Autor, 2021.

A hipermetilação das ilhas CpG na região reguladora do gene é caracterizada por uma estrutura de cromatina mais compactada ou até mesmo fechada, resultando no silenciamento transcricional do gene. Já o oposto, a hipometilação das ilhas CpG, acarreta uma estrutura da cromatina mais aberta, associada a ativação da transcrição do gene. Assim, as alterações da metilação de DNA dentro das regiões promotoras podem resultar na desregulação da expressão do gene, seja silenciamento e/ou ativando o respectivo (FERREIRA; ESTELLER, 2018).

A importante função em vários processos biológicos, como *imprinting* genômico, silenciamento de *transposons*, diferenciação de células-tronco e desenvolvimento embrionário, a metilação do DNA é amplamente estudada. Esses estudos de metilação de DNA podem esclarecer alterações metabólicas que a genômica muitas vezes não explica, principalmente, quando relacionados a doenças humanas (ZHANG; LU; CHANG; 2020).

No câncer, já se sabe que a regulação epigenética pode ser o evento transformante preliminar para o desenvolvimento de alguns tumores malignos (PAN et al, 2018). Zhang et al. (2014) revisam estudos publicados entre 1998 e 2013 que analisaram a hipermetilação do promotor do gene *Dab2*, considerado um gene supressor de tumor. A baixa expressão de *Dab2* é relacionada com o desenvolvimento de diferentes cânceres humanos, como câncer de esôfago, de mama, de ovário e de pulmão. A metilação do DNA poderia influenciar o início e a progressão da doença.

Em relação às doenças cardíacas, Fatima et al. (2012) demonstraram que a expressão das subunidades SUR1 e SUR2 do canal de potássio

dependente de ATP (KATP) é regulada por mecanismo epigenético. A metilação da região promotora silencia a expressão de SUR2, abrindo a possibilidade de alterações na composição do canal KATP, afetando diretamente a capacidade do coração em responder às alterações metabólicas estressores, como a isquemia. Duygu et al. (2013) destacaram mutações genéticas específicas associadas ao aparecimento e progressão da insuficiência cardíaca (IC); além de relacionar mecanismos epigenéticos com a arritmogênese e a IC. Também são encontradas alterações epigenéticas relacionadas com o desenvolvimento da aterosclerose (ZAINA et al., 2014).

Haas e colaboradores (2013) investigaram o padrão global de metilação de DNA no miocárdio de pacientes com cardiomiopatia dilatada idiopática (DCM) e em corações funcionalmente não afetados de pacientes que receberam transplante de coração. Encontrou-se alterações na metilação de DNA em uma série de ilhas CpGs, sugerindo que a metilação de DNA estaria associada à função cardíaca e podendo modular as características fenotípicas da DCM idiopática. O impacto da metilação de DNA na expressão gênica de quatro genes foi analisado através de PCR quantitativo (q-PCR). No caso do gene *LY75*, ocorreu forte redução na sua expressão no tecido miocárdico em pacientes com DCM. Observou-se que a ilha CpG hipermetilada encontrava-se próxima ao local de início da transcrição. Haas e colaboradores levantam a hipótese de que o aumento da metilação do promotor estaria diretamente relacionado com a diminuição da atividade transcricional.

Doenças psiquiátricas, mesmo tendo fortes componentes hereditários, possuem a metilação de DNA como um fator importante (LIU et al, 2018). Guidotti e Grayson (2014) mostraram uma supressão de genes relacionados aos receptores GABA e glutamatérgicos, causada pelo aumento da metilação dos promotores desses genes, induzida pela super expressão de *DNMTs* em pacientes com esquizofrenia e distúrbio bipolar. Genes que mostraram perfil de metilação alterados em células do cérebro, também tiveram diferenças de metilação em tecidos periféricos, como *BDNF* (fator neurotrófico derivado do cérebro) (FERRER et al, 2019) e *DRD2* (receptor dopaminérgico) (YOSHINO et al, 2016) tiveram metilação anormal relatada em amostras de sangue.

Dado o perfil epigenético altamente dependente do tipo celular e tais diferenças de padrões encontradas em tipos celulares diferentes, seriam

possíveis tais anormalidades ocorrendo tanto no cérebro, quanto no sangue. Assim, a análise de metilação utilizando amostras de sangue, um fluido de fácil obtenção, pode formar a base de um programa de rastreio dentro de uma população, sendo os marcadores desenvolvidos sensíveis e específicos suficientes (LAIRD, 2003; HOUSEMANN et al, 2015).

### 1.5.2 Metilação de DNA e psicofármacos

Dentre os agentes ambientais que podem causar mudanças epigenéticas, está a utilização de fármacos comumente prescritos para tratamentos de doenças humanas. Esses fármacos atuam diretamente no mecanismo de metilação de DNA ou na arquitetura da cromatina (CSOKA; SZY, 2009).

Em revisão, Zhou e colaboradores (2021) apresentam 8 estudos que ocorrem mudanças na metilação de DNA após um período de tratamento com psicofármacos, comparando o perfil de metilação de genes antes e após o tratamento. Domschke et al (2014) investigaram a metilação do gene *5-HTT* (transportador de serotonina) mediada pela resposta ao tratamento com antidepressivos em uma amostra caucasiana (n = 94). Estudo mostrou que a ocorrência de hipometilação da região de controle da transcrição do gene *5-HTT* pode prejudicar a resposta ao tratamento com escitalopram em pacientes com depressão, possivelmente pelo aumento da expressão de *5-HTT* e da diminuição da disponibilidade de serotonina. Em trabalho subsequente, Domschke et al (2015) avaliaram a metilação do gene *MAO-A* (codifica a enzima monoamina oxidase A) nos mesmos 94 pacientes do primeiro estudo e observaram hipometilação do gene *MAO-A*, também levantando a hipótese de que essa alteração epigenética afetaria o tratamento com antidepressivo em pacientes com depressão.

Há trabalhos que avaliam a metilação de DNA induzida por psicofármacos em pacientes com doenças cardíacas. Em 2015, Kim et al. investigaram a metilação do gene *BDNF* em pacientes com a síndrome coronariana aguda (SCA), sendo que 39% dos participantes tinham algum tipo de transtorno depressivo. Essa parcela dos pacientes que apresentava

depressão, recebeu um tratamento duplo-cego durante cerca de 6 meses: escitalopram mais tratamento para SCA (n = 127), placebo mais tratamento para SCA (n = 128) ou tratamento para SCA somente (n = 123). No início do estudo, através de análise de sangue periférico, qualquer diagnóstico de depressão estava associado com maior metilação nos sítios CpG1, CpG5, CpG8 e CpG9 da região do promotor do gene *BDNF*. A variação de metilação de DNA do gene *BDNF* foi correlacionada à remissão ao tratamento psiquiátrico. Pacientes no grupo sob medicação com escitalopram tiveram uma remissão mais alta (51,9%) do que no grupo placebo (34,3%) (p = 0,011), porém não houve diferença significativa nas percentagens de metilação do *BDNF*. Contudo, dentro do grupo sob medicação com escitalopram, uma elevação da percentagem de metilação do exon VI de *BDNF* foi associado a taxas mais altas de remissão.

Os estudos publicados até recentemente analisaram o padrão de metilação em doenças cardíacas e doenças psiquiátricas, de forma isolada. Os estudos psiquiátricos descritos analisaram somente fatores epigenéticos em pacientes com determinadas condições psiquiátricas, como esquizofrenia e depressão. Estes estudos não mostram o acompanhamento do paciente com eletrocardiografia, visto que a maioria destes pacientes está sob o uso de medicamentos antidepressivos, antipsicóticos, estabilizadores de humor, ansiolíticos, entre outros, que apresentam risco conhecido de causar arritmias cardíacas graves e podem levar à morte súbita cardíaca.

Apesar destes conhecimentos, até o momento não há estudos analisando o papel da metilação no desenvolvimento de arritmias nos pacientes psiquiátricos que estão em uso destes psicofármacos.



**#JUSTIFICATIVA**

## 2. Justificativa

Apesar da já conhecida associação de padrões de metilação com doenças cardíacas e psiquiátricas de forma isolada, a ciência ainda desconhece o papel destes fatores epigenéticos no desenvolvimento de condições cardíacas em pacientes em tratamento com psicofármacos, conhecidos pelo seu risco para causar arritmias. Com este estudo inédito espera-se determinar qual é o padrão de metilação de genes envolvidos na atividade elétrica cardíaca em pacientes psiquiátricos antes e após o uso de antidepressivos e antipsicóticos. Foram escolhidos genes que codificam subunidades de canais iônicos cardíacos, tanto de canais de sódio quanto de canais de potássio. Já se sabe que mutações pontuais na sequência gênica desses genes afetam o funcionamento dos respectivos canais, caracterizando as Síndromes de QT longo citadas na introdução. O perfil de metilação será analisado através de pirosequenciamento, uma técnica de alta efetividade e confiabilidade. Com base na literatura científica, este é um estudo original que poderá auxiliar na elucidação dos mecanismos epigenéticos envolvidos no desenvolvimento de QT longo ou arritmias após o uso de antidepressivos e antipsicóticos. Este é um trabalho interdisciplinar e que conta com uma ampla equipe de profissionais na busca pela conduta correta do trabalho, análise abrangente dos dados, o conhecimento e suporte de todas essas áreas. Acredita-se que os dados gerados poderão ser valiosos na determinação de biomarcadores relacionados ao prolongamento de QT ou arritmias em pacientes psiquiátricos e na identificação de alternativas terapêuticas moleculares que impeçam o aparecimento de arritmias cardíacas decorrente de psicofármacos, contribuindo assim para a prevenção da morte súbita nestes pacientes.

## **#OBJETIVOS**

### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo geral**

- Avaliar o perfil de metilação dos genes *KCNE1*, *KCNH2* e *SCN5A* antes e após tratamento com antidepressivos e antipsicóticos por um período de 30 dias, utilizando o pirosequenciamento.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Avaliar associação do perfil biodemográfico com ocorrência de arritmias,
- Avaliar a associação entre a concentração do antidepressivo ou antipsicótico, e o perfil eletrocardiográfico, nos tempos antes e após tratamento na análise do Holter,
- Avaliar a associação da concentração do antidepressivo ou antipsicótico, e o perfil de metilação dos sítios de CpG dos genes *KCNE1*, *KCNH2* e *SCN5A*,
- Avaliar a correlação entre a ocorrência de arritmias e o número de sítios de metilação afetados dos gene *KCNE1*, *KCNH2* e *SCN5A*.

**#CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS**

## **4. Casuística, Materiais e Métodos**

### **4.1. Casuística**

Foram convidados a participar do estudo os pacientes em atendimento psiquiátrico no Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IPq-HCFMUSP) no período de 2016 a 2019, pacientes adultos (entre 18 a 50 anos), ambos os sexos e de acordo com os critérios de cada atendimento.

### **4.2. Considerações Éticas**

O presente projeto foi submetido à Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Faculdade de Medicina da USP (FMUSP), tendo sido aprovado em 20 de outubro de 2016 sob o parecer nº 1.784.307 (CAAE 60179516.1.0000.0068). Posteriormente, o projeto foi aprovado pelos Comitês de Ética das seguintes instituições co-participantes: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia (IDPC) sob número de protocolo 4714 de 03 de novembro de 2016 (CAAE 60179516.1.3001.5462), e Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP sob número de parecer 2.132.349 de 22 de junho de 2017 (CAAE 60179516.1.3002.0067).

### **4.3. Primeiro Atendimento**

Durante o primeiro atendimento nos ambulatórios do IPq-HCFMUSP, aos pacientes que manifestarem anuência prévia, solicitou-se a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 1) e aplicou-se um questionário clínico contendo informações sobre o histórico médico pessoal e familiar de cada paciente, bem como outras variáveis clínicas relevantes para o estudo. Realizou-se o primeiro Holter de 24 horas.

Foram selecionados os pacientes que cumprirem os seguintes critérios de inclusão:

- Pacientes adultos com até 50 anos de idade e sem alterações cardíacas prévias, avaliados pelos médicos do IPq-HCFMUSP

- Pacientes que iriam iniciar o tratamento com antidepressivos e/ou antipsicóticos.

Obteve-se do paciente incluído no estudo sangue periférico por punção venosa do braço, utilizando o sistema de coleta a vácuo da *Vacutainer™* (Becton Dickinson Company, Plymouth, Reino Unido). Foram coletados 3 tubos de 4 mL com EDTA com anticoagulante (Tubo BD 367861) para extração de DNA e subsequentes análises de metilação, antes do início do tratamento com antidepressivos e/ou antipsicóticos.

#### **4.4. Segundo Atendimento**

Após 30 dias de tratamento com antidepressivos e/ou antipsicóticos, os pacientes foram convidados a retornarem ao IPq-HCFMUSP. Neste segundo atendimento foi novamente colocado o Holter por 24 horas nos pacientes e uma nova coleta de sangue periférico utilizando o sistema de coleta a vácuo em tubos contendo EDTA, da *Vacutainer™* (Becton Dickinson Company, Plymouth, Reino Unido). Coletou-se 4 tubos de 4 mL com anticoagulante EDTA (Tubo BD 367861) sendo 2 tubos para extração de DNA, e posterior análise de metilação e 2 tubos para separação do plasma e dosagem de fármacos.

#### **4.5. Critérios de Exclusão (desde o primeiro atendimento)**

Foram excluídos do estudo os pacientes que não aceitarem participar do estudo, ou aqueles que no primeiro atendimento apresentaram alguma das seguintes ocorrências:

- Pacientes tomando alguma outra medicação, além do prescrito para tratamento psiquiátrico, que poderia provocar qualquer alteração eletrocardiográfica como arritmias ou prolongamento do QT, ou ainda algum medicamento antiarrítmicos,
- Pacientes com doença isquêmica que poderia provocar qualquer alteração eletrocardiográfica como arritmias ou prolongamento do QT.
- Pacientes com alteração eletrocardiográfica prévia ao tratamento, observado no estudo eletrocardiográfico do Holter na primeira coleta.

#### **4.6. Dados biodemográficos**

O questionário (Anexo 2) aplicado durante a anamnese dos pacientes pelo colaborador da pesquisa registrou os seguintes dados:

- Dados de identificação: nome, sexo, data de nascimento, origem geográfica, dados para contato.
- Antecedentes pessoais: insuficiência cardíaca, infarto agudo do miocárdio, marca-passo, implantação de Cardioversor Desfibrilador Implantável (CDI), arritmias, antecedentes cardiológicos, transfusão sanguínea, insuficiência renal, disfunção hepática, hipertensão arterial, obesidade, diabetes, dislipidemias e distúrbios do sono.
- Problemas cardíacos prévios devido ao uso de medicamentos.
- Hábitos e vícios: restrições alimentares, bebida alcoólica, tabagismo, drogas ilícitas, atividade física.
- Sintomas: vômitos, dispneias, angina, palpitações, tonturas, síncope, parada cardiorrespiratória.
- Medicamentos em uso.
- Antecedentes familiares: hipertensão arterial, diabetes, dislipidemia, arritmias cardíacas, QT longo congênito, acidente vascular cerebral, infarto agudo do miocárdio, doença arterial coronariana, miocardiopatias e morte súbita.
- Avaliação física: peso, altura, pressão arterial.

#### **4.7. Holter**

Foi realizado o exame de Holter com duração de 24 horas, antes do medicamento e após 30 dias de uso do medicamento prescrito pelo Médico no primeiro atendimento, utilizando o equipamento gravador CardioLight (Cardio Sistemas Comercial e Indústria LTDA, São Paulo/SP). Os proponentes do projeto foram treinados através de um curso gratuito do fabricante do equipamento. A instalação do gravador, preparação do cartão, gravação, retirada do gravador, aquisição dos dados, transmissão e recebimento dos laudos foram realizadas seguindo as instruções do fabricante. O paciente anotou todos os sintomas que teve durante as 24 horas do exame no Diário de



eventos. Os exames foram enviados via internet à Dra. Virginia Braga Cerutti e ao Dr. Dalmo Antonio Ribeiro Moreira, ambos médicos cardiologistas do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia (IDPC), que realizam a análise dos Holters, a confecção e o envio dos laudos ao IPq-HCFMUSP pela mesma tecnologia.

Analisou-se os perfis eletrocardiográficos obtidos em 4 horários diferentes do dia: 6h da manhã, 12h (meio dia), 6h da tarde e 00h (meia noite). Para cada horário estipulado, realizaram-se as medidas das seguintes variáveis eletrocardiográficas: intervalo QT (distância entre o ponto Q e o fim da onda T), intervalo RR (distância entre dois pontos R subsequentes), intervalo J-T (distância entre o ponto J e o fim da onda T), intervalo J-T<sub>pico</sub> (distância entre o ponto J e o pico da onda T) e intervalo T<sub>pico</sub>T<sub>fim</sub> (distância entre o pico e o fim da onda T). Além do cálculo de QTc (intervalo QT corrigido pela frequência cardíaca) (BAZETT, 1920), da relação intervalo T<sub>pico</sub>T<sub>fim</sub> com o intervalo QT e o iCEB – índice de equilíbrio eletrofisiológico cardíaco – que corresponde a relação intervalo QT com intervalo QRS (LU, YAN, GALLACHER, 2013).

#### **4.8. Amostras de Sangue periférico**

As amostras de sangue periférico coletadas conforme a descrição no primeiro atendimento (antes da medicação) e no segundo atendimento (após 30 dias de medicação) foram processadas de acordo com o protocolo a seguir.

Os tubos de EDTA, para extração de DNA para análise de metilação e dosagem dos fármacos, foram mantidos à temperatura ambiente ou a 4°C e processados dentro de 1 hora. Os tubos de sangue foram centrifugados a 1200 g por 10 min a 4°C e o plasma foi separado em criotubos de 1,5 mL identificados e armazenados a -80°C. O sangue, restante da separação do plasma, foi armazenado a -20°C.

#### **4.9. Análise de Metilação do DNA por Pirosequenciamento**

##### **4.9.1. Extração e Quantificação de DNA**

O DNA das amostras de sangue foi extraído utilizando o *QIAmp DNA Blood Maxi Kit* (QIAGEN, Hiden, Alemanha), de acordo com as recomendações do fabricante. O DNA extraído foi quantificado pelo método fluorimétrico, utilizando o equipamento *Qubit® 2.0 Fluorometer* (Invitrogen, Califórnia, EUA) e os reagentes *Qubit® dsDNA BR Assay Kit* (Invitrogen, Califórnia, EUA). A análise da pureza (relação A260/A280) do DNA extraído foi realizada no espectrofotômetro *Nanodrop ND-1000* (NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, EUA). Foram utilizadas somente as amostras que apresentarem a relação A260/A280 entre 1,8 e 2,0. As amostras foram armazenadas a -20°C até o momento do uso.

#### 4.9.2. Tratamento de DNA por Bissulfito

A tratamento com bissulfito foi realizado em termociclador utilizando o *EpiTect Fast DNA Bisulfite Conversion Kit* (QIAGEN, GmbH, Hiden, Alemanha), seguindo o protocolo do fabricante e utilizando a ciclagem mais apropriada para as condições das amostras. Este kit de conversão é um sistema altamente eficiente que permite a conversão de citosina não metilada para uracila para posterior análise de metilação.

**Quadro 4.** Condição final após conversão de bases citosina para uracila com bissulfito.

|                  | Sequencia original  | Após tratamento com bissulfito |
|------------------|---------------------|--------------------------------|
| DNA não metilado | N-C-G-N-C-G-N-C-G-N | N-U-G-N-U-G-N-U-G-N            |
| DNA metilado     | N-C-G-N-C-G-N-C-G-N | N-C-G-N-C-G-N-C-G-N            |

#### 4.9.3. Amplificação pela PCR

O DNA convertido foi amplificado utilizando os reagentes do *PyroMark PCR Kit* (QIAGEN, Hiden, Alemanha) e os iniciadores de amplificação para cada gene faziam parte dos ensaios *PyroMark CpG Assays* (QIAGEN, Hiden, Alemanha). Cada ensaio incluiu um par de iniciadores para amplificação pela PCR (um deles possui biotina na extremidade 5') e um iniciador para o sequenciamento.

Como controle, utilizou-se o *EpiTect PCR Control DNA Set* (QIAGEN, Hiden, Alemanha), contendo três diferentes tipos de DNA genômico humano: DNA não metilado, DNA metilado e convertido por bissulfito, e DNA não metilado e convertido por bissulfito. Utilizou-se 1µL (10 ng) de cada DNA controle por reação, de acordo com o protocolo do fabricante. Os produtos da PCR foram usados também como controle da etapa seguinte, de pirosequenciamento.

Os produtos da PCR foram purificados utilizando esferas contendo estreptavidina (GE Healthcare Bio-Science AB, Uppsala, Suécia), tampão de lavagem, álcool 70% e solução de desnaturação. O processo de purificação e desnaturação do produto da PCR foi realizado no *PyroMarkVacuum Workstation* (QIAGEN, Hiden, Alemanha).

#### **4.9.4. Pirossenquenciamento**

Para a reação de sequenciamento foi utilizada a plataforma *PyroMark Q24* (QIAGEN, Hiden, Alemanha). Ao produto da PCR purificado e desnaturado, foi adicionado o iniciador de sequenciamento, contido nos ensaios *PyroMark CpG Assays* (QIAGEN, Hiden, Alemanha), e o tampão de hibridização. A ordem de dispensação dos quatro desoxinucleotídeos (dTTP, dATP, dGTP e dCTP) foi inserida no programa *PyroMark Assay Design 2.0* de acordo com a ordem descrita para cada ensaio. Os resultados foram analisados comparando os pirogramas dos pacientes antes de tratamento com os pirogramas dos pacientes após um mês de tratamento com psicofármacos.

#### **4.9.5. Genes Analisados**

Foram analisados sítios CpG presentes na região promotora dos genes *KCNH2* e *KCNE1* (os quais codificam para proteínas relacionadas aos canais iônicos de potássio) e gene *SCN5A* (o qual codifica para proteína relacionada ao canal de sódio) e, portanto, envolvidos na atividade elétrica cardíaca. Foram adquiridos 6 ensaios *PyroMark CpG Assays* (QIAGEN, Hiden, Alemanha), como mostra a tabela a baixo:

**Tabela 1.** Dados dos primers dos genes *KCNE1*, *KCNH2* e *SCN5A*, onde se encontram os sítios CpG para análise por pirosequenciamento:

| GENE         | ENSAIOS | TAMANHO DO AMPLICON | SEQUÊNCIA DE ANÁLISE*                        | NÚMERO DE SÍTIOS CpG |
|--------------|---------|---------------------|--|----------------------|
| <i>KCNE1</i> | 2       | 109                 | TCGAGAAAGCCGACCAACGGA                        | 3                    |
|              |         | 227                 | GCTGGGGTGGGGACGAGGCTAGAAAGAGTCGTGGGAGYGGA    | 5                    |
| <i>KCNH2</i> | 1       | 159                 | GCTGAGTGGGCGRRCGRRGAGGGAGGAGTCGC             | 3                    |
| <i>SCN5A</i> | 3       | 94                  | TCAGAGCGGC GACTAGGC GCGT                     | 4                    |
|              |         | 209                 | GTCTAAACGCGCAGAGATCTCGT                      | 3                    |
|              |         | 126                 | CGTCCGCTGGGGCTGCCTCTCTGTGGGACGAGATCTCTGCGCGT | 5                    |

\*As letras Y e R representam polimorfismos registrados (Y simboliza uma base C ou T, e R simboliza uma base A ou G). Os sítios CpG estão representadas pelas bases C, em vermelho.

#### 4.10. Concentração Plasmática de Psicofármacos

A determinação da concentração plasmática dos fármacos foi realizada em amostras de plasma obtidas a partir do sangue total dos pacientes após um mês de tratamento. Essa etapa foi realizada pelo Laboratório de Neurociências (LIM 27) do IPq-HCFMUSP, sob supervisão da Dra. Leda Leme Talib, utilizando um método analítico baseado em cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao espectrômetro de massas (UHPLC-MS/MS, modelo Nexera XR LC-20AD, Shimadzu, Tóquio, Japão).

#### 4.11. Análise Estatística

Os resultados obtidos foram analisados utilizando o programa estatístico SPSS (Statistical Package for Social Science), versão 22.0 (IBM® Corporation, Somers, EUA), para Windows. Consideramos estatisticamente significantes os resultados cujos níveis descritivos para o valor de  $p$  forem inferiores a 5 % ( $p < 0,05$ ). Para as análises estatísticas das variáveis contínuas paramétrica foi utilizado o teste *Test-t*.

Foram utilizados gráficos de colunas para expressar a variação da metilação, para cada sítio de cada gene estudado. Além disso, para cada gene, foi feita uma Análise de Componentes Principais (ACP) para investigar associação entre a variação da metilação dos sítios, as doses de medicamentos utilizados e as principais variáveis cardiográficas. Foram retidos os quatro primeiros componentes principais para que a maior parte da variação

total fosse explicada. Todas as análises foram feitas no software estatístico R (R Core Team, 2021) por meio dos pacotes ggplot2, SensoMineR e PerformanceAnalytics. Tal análise foi realizada em colaboração com o prof. Dr. Eric Batista Ferreira, da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

**#RESULTADOS**

## 5. Resultados

### 5.1. Dados biodemográficos

Foram convidados 62 pacientes sob cuidado da clínica do Instituto de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da USP (IPq-FMUSP) a participar do estudo. A definição dos critérios para o convite ao estudo foi que o paciente estivesse no primeiro atendimento no IPq-FMUSP, e que não estivesse sob medicação antidepressiva ou antipsicótica. Dentre os selecionados para o estudo, 13 (20,97%) pacientes não retornaram para o segundo atendimento, portanto foram excluídos. Outros não incluídos para análise final foram os pacientes que não foram detectados os psicofármacos receitados no plasma (8; 12,90%), assim como os pacientes em uso de outra medicação psiquiátrica, que não fosse antidepressivo e/ou antipsicótico (3; 4,8%) e voluntários com problemas cardíacos preexistente (4; 6,45%) diagnosticados após análise dos exames de Holter realizados pelo atual projeto. Os dados biodemográficos e clínicos obtidos dos voluntários que preencheram todos os critérios de inclusão estão demonstrados na tabela 2.

**Tabela 2.** Dados biodemográficos dos pacientes incluídos no estudo.

| <b>DADOS BIODEMOGRÁFICOS</b>            | <b>VALORES</b> |
|---|----------------|
| Número de pacientes (entrevistados)     | 62             |
| Número de pacientes (incluídos)         | 34             |
| Mulheres                                | 19 (55,88)*    |
| Homens                                  | 15 (44,12)*    |
| Idade (anos)                            | 33 ± 10,07**   |
| Etnia (auto declarada)                  |                |
| Branco                                  | 22 (64,71)*    |
| Pardo                                   | 8 (23,53)*     |
| Negro                                   | 3 (8,82)*      |
| Asiático                                | 1 (2,94)*      |
| Naturalidade                            |                |
| São Paulo/SP                            | 21 (61,76)*    |
| Outras cidades paulistas <sup>1</sup>   | 9 (26,47)*     |
| Outras cidades brasileiras <sup>2</sup> | 4 (11,76)*     |
| Escolaridade                            |                |
| Ensino Médio Completo                   | 4 (11,76)*     |
| Ensino Superior Incompleto              | 14 (41,18)*    |
| Ensino Superior Completo                | 16 (47,06)*    |

\*N(%), \*\*Média ± DP, <sup>1</sup> Diadema, Guarulhos, Osasco, Oswaldo Cruz, Santos, São Bernardo do Campo, Suzano. <sup>2</sup> Campo Bom/RS, Gama/DF, Ribeirão do Pinhal/PR, Rio Formoso/PE.

Os dados biodemográficos mostram uma distribuição equitativa entre pacientes de ambos os sexos, a uma maioria que se considera branca (64,71%) e com a média de idade de  $33 \pm 10,07$  anos.

Vinte e um pacientes (61,76%) são naturais da cidade de São Paulo e, em relação a escolaridade, 16 pacientes (47,06%) tem ensino superior completo e 14 pacientes (41,18%) estavam cursando o ensino superior na data da entrevista.

**Tabela 3.** Dados clínicos e hábitos dos pacientes incluídos no estudo.

| <b>DADOS CLÍNICOS E HÁBITOS</b> | <b>VALORES</b>        |
|---------------------------------|-----------------------|
| Doenças Cardíacas               |                       |
| Arritmia                        | 1 (2,94)*             |
| Insuficiência Cardíaca          | 2 (5,88)*             |
| Outros                          | 2 (5,88)*             |
| Colesterol Alto                 | 4 (11,76)*            |
| Diabetes                        | 2 (5,88)*             |
| Hipertensão                     | 5 (14,71)*            |
| Hipotireoidismo                 | 2 (5,88)*             |
| Distúrbios de sono              | 12 (35,29)*           |
| IMC                             | $27,90 \pm 6,33^{**}$ |
| Baixo Peso                      | 1 (2,94)*             |
| Normal                          | 16 (47,06)*           |
| Sobrepeso                       | 9 (26,47)*            |
| Obeso                           | 8 (23,53)*            |
| Sintomas                        |                       |
| Angina                          | 9 (26,47)*            |
| Dispneia                        | 9 (26,47)*            |
| Palpitações                     | 12 (35,29)*           |
| Síncopes                        | 4 (11,76)*            |
| Tonturas                        | 8 (23,53)*            |
| Vômitos                         | 5 (14,71)*            |



|                              |             |
|------------------------------|-------------|
| Bebida Alcoólica             | 15 (44,12)* |
| Tabagismo                    | 2 (5,88)*   |
| Drogas Ilícitas <sup>1</sup> | 5 (14,71)*  |
| Atividade Física             | 14 (41,18)* |

\*N (%), \*\*Média ± DP, 1Maconha

Em relação a cardiopatias prévias, 5 (14,70%) pacientes relataram pelo menos um episódio que lhes gerou preocupação em relação a função cardíaca. Entretanto, na análise do exame de Holter e na consulta médica não foram observadas alterações relatadas pelos pacientes, e foram mantidos no estudo.

Os dados clínicos e hábitos de ingerir bebidas alcoólicas e atividades físicas dos pacientes estão demonstrados na tabela 3, e indicaram que a média do Índice de Massa Corpórea (IMC) foi de 27,90 kg/m<sup>2</sup> (desvio padrão = 6,33) sendo que 16 (47,06%) pacientes foram incluídos na categoria de IMC normal (para cálculo do IMC foram usados os valores de referência citados no quadro 5). Esses valores foram obtidos na primeira consulta médica e mantidos os mesmos valores durante todo o estudo.

#### Quadro 5. Valores de referência para cálculo de IMC

| Condição                   | IMC Mulheres | IMC Homens  |
|----------------------------|--------------|-------------|
| <b>Abaixo do peso</b>      | < 19,1       | < 20,7      |
| <b>No peso normal</b>      | 19,1 - 25,8  | 20,7 - 26,4 |
| <b>Acima do peso ideal</b> | 25,8 - 32,3  | 26,4 – 31,1 |
| <b>Obeso</b>               | > 32,3       | > 31,1      |

**Fonte:** site do NHANES II Survey (National Health and Nutrition Examination Survey).

Distúrbios do sono foram mencionados por 12 (35,29%) pacientes, e dentre os sintomas questionados, que podem ser relacionados a arritmias, foram mais citados: palpitações, angina, dispneia e tonturas. Em relação a hábitos de ingestão de bebida alcoólica e atividade física, 15 (44,12%) pacientes ingeriam bebida alcoólica e 14 (41,18%) pacientes praticavam algum tipo de atividade física regularmente.

Além dos dados clínicos pessoais, os pacientes eram questionados sobre dados clínicos de seus familiares mais próximos (avôs, pais, tios, irmãos e/ou filhos), considerando questões cardíacas e metabólicas.

**Tabela 4.** Dados clínicos familiares dos pacientes incluídos no estudo.

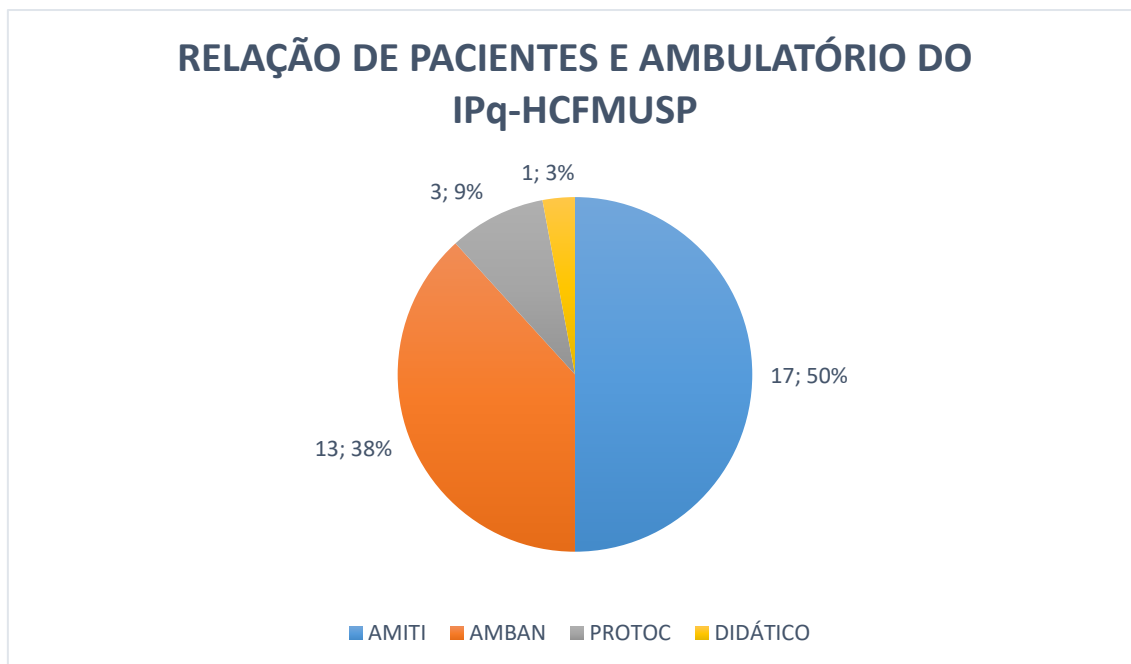
| <b>DADOS CLÍNICOS FAMILIARES</b> | <b>VALORES</b> |
|----------------------------------|----------------|
| Arritmias Cardíacas              | 14 (41,17)*    |
| AVC                              | 14 (41,17)*    |
| IAM                              | 15 (44,11)*    |
| DAC                              |                |
| Sem intervenção cirúrgica        | 5 (14,70)*     |
| Com intervenção cirúrgica        | 4 (11,76)*     |
| Diabetes                         | 23 (67,640)*   |
| Dislipidemia                     | 20 (58,82)*    |
| Hipertensão                      | 29 (85,29)*    |
| Morte súbita                     | 10 (29,41)*    |

AVC = acidente vascular cerebral; IAM = infarto agudo do miocárdio; DAC = doença arterial coronariana. \*N (%)

Como mostra à tabela acima, uma grande parcela dos pacientes incluídos no estudo possuía um histórico familiar de cardiopatias (arritmias, AVC, IAM e DAC), questões metabólicas (diabetes e dislipidemia) e hipertensão.

## **5.2. Dados Psiquiátricos e Farmacológicos**

Foram recrutados pacientes nos seguintes ambulatórios do IPq-HCFMUSP: Ambulatório Integrado dos Transtornos do Impulso (AMITI), Projeto de Transtorno Obsessivo Compulsivo (PROTOC), Ambulatório Didático e Ambulatório de Ansiedade (AMBAN), através do Prof. Dr. Francisco Lotufo Neto, nosso colaborador direto no Instituto.



**Figura 6.** Representação gráfica da distribuição de pacientes incluídos no estudo e ambulatórios de atendimento do IPq-HCFMUSP.

Legenda: AMITI - Ambulatório Integrado dos Transtornos do Impulso; PROTOC - Projeto de Transtorno Obsessivo Compulsivo; Didático - Ambulatório Didático; AMBAN - Ambulatório de Ansiedade.

A maior parte dos pacientes (28; 82,35%) fez uso de apenas um dos medicamentos psiquiátrico, sendo eles: citalopram, fluoxetina, sertralina ou venlafaxina (antidepressivos). O restante dos pacientes (6; 17,65%) fez uso de dois ou mais medicamentos psiquiátricos, sendo antidepressivo (cloridrato de trazodona) antipsicótico (risperidona), ou ansiolíticos – hipnóticos (clonazepam, cloridrato de buspirona ou zolpidem) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Medicamentos prescritos aos pacientes incluídos no estudo.

| MEDICAMENTOS                        | VALORES     |
|-------------------------------------|-------------|
| Antidepressivos                     |             |
| Citalopram                          | 1 (2,94)*   |
| Cloridrato de Trazodona             | 1 (2,94)*   |
| Fluoxetina                          | 19 (55,88)* |
| Sertralina                          | 13 (38,24)* |
| Venlafaxina                         | 1 (2,94)*   |
| Antipsicóticos                      |             |
| Risperidona                         | 1 (2,94)*   |
| Sedativos-hipnóticos e Ansiolíticos |             |
| Clonazepam                          | 1 (2,94)*   |

|                         |            |
|-------------------------|------------|
| Cloridrato de Buspirona | 1 (2,94)*  |
| Zolpidem                | 6 (17,65)* |

\*N (%)

Independente do histórico clínico, a principal classe de fármaco prescrita aos pacientes no IPq-HCFMUSP é a de antidepressivos. Dos antidepressivos prescritos, 13 (38,24%) pacientes utilizavam sertralina e 19 (50%) pacientes utilizavam fluoxetina. Outra classe altamente prescrita foi a dos sedativos-hipnóticos e ansiolíticos. Como vimos anteriormente, 12 (35,29%) pacientes relataram problemas com o sono. Mas somente 8 (23,52%) pacientes receberam prescrição dos sedativos-hipnóticos e ansiolíticos.

Alguns pacientes (8; 23,53%) já faziam uso contínuo de medicamentos não psiquiátricos, principalmente para tratamento de hipertensão (enalapril, hidroclorotiazida e losartana) e de hipotireoidismo (levotiroxina sódica). Pacientes que utilizavam medicação para problemas cardíacos ou utilizavam medicação que mascarava arritmias e diminuía os possíveis prolongamentos de QT foram excluídos do estudo.

### 5.3. Concentração Plasmática de Psicofármacos

Realizou-se a dosagem dos seguintes psicofármacos de interesse para o estudo: antidepressivos - citalopram, fluoxetina, sertralina e venlafaxina. As dosagens prescritas aos pacientes foram: citalopram, 20 mg/dia; fluoxetina, 20-60 mg/dia; sertralina, 50 mg/dia; venlafaxina, 75 mg/dia.

Das amostras analisadas, somente 8 (23,52%) pacientes não apresentaram concentração plasmática detectável do respectivo psicofármaco prescrito, sendo excluídos no estudo. Os demais pacientes tiveram concentração dentro da faixa terapêutica recomendada (Anexo 3).

### 5.4. Holter

O exame de Holter foi realizado, por pelo menos 18 horas de duração, em todos os pacientes convidados a participar do estudo, tanto antes da medicação (tempo A) e quanto após um mês de tratamento com antidepressivo

(tempo B). Analisou-se os resultados obtidos em 4 horários diferentes do dia: 6h da manhã, 12h (meio dia), 6h da tarde e 00h (meia noite), de acordo com a orientação do cardiologista Prof. Dr. Dalmo Antonio Ribeiro Moreira. Os pacientes foram divididos em dois grupos, de acordo com a medicação recebida: pacientes que receberam fluoxetina e pacientes que receberam sertralina.

**Tabela 6.** Resultados das medidas eletrocardiográficas no período das 06h, antes da medicação (Tempo A) e após 30 dias de medicação (Tempo B), dos pacientes incluídos no estudo que receberam fluoxetina ou sertralina:

| Variáveis*          | Holter - 06h       |               |       |                   |               |       |
|---------------------|--------------------|---------------|-------|-------------------|---------------|-------|
|                     | Fluoxetina (n= 19) |               |       | Sertralina (n=13) |               |       |
|                     | Tempo A**          | Tempo B**     | p***  | Tempo A**         | Tempo B**     | p***  |
| <b>QT</b>           | 391,8 ± 34,9       | 392,1 ± 32    | 0,982 | 401,3 ± 30,7      | 400,5 ± 29,65 | 0,924 |
| <b>QTc</b>          | 424 ± 30,9         | 422 ± 20,9    | 0,738 | 416,5 ± 32,4      | 411,7 ± 26,4  | 0,590 |
| <b>J – T</b>        | 308,6 ± 34,2       | 312,2 ± 33,1  | 0,723 | 307,6 ± 29,9      | 314,8 ± 37,8  | 0,386 |
| <b>J – Tpico</b>    | 229,2 ± 29         | 234,2 ± 33,1  | 0,598 | 237 ± 23,8        | 232,6 ± 32,4  | 0,464 |
| <b>Tpico – Tfim</b> | 78,7 ± 14,6        | 77,9 ± 17     | 0,877 | 70,6 ± 16,5       | 82,2 ± 16,5   | 0,022 |
| <b>TpTf/QT</b>      | 0,200 ± 0,031      | 0,199 ± 0,041 | 0,916 | 0,174 ± 0,034     | 0,204 ± 0,033 | 0,006 |
| <b>iCEB</b>         | 4,913 ± 0,240      | 4,995 ± 0,184 | 0,728 | 4,450 ± 0,260     | 4,832 ± 0,289 | 0,195 |

Tempo A = antes da medicação; Tempo B = após 30 dias de uso da medicação; \*Unidade de medida = ms (milissegundos), exceto para  $T_{pTf}/QT$  (relação intervalo  $T_{pico}T_{fim}$  com o intervalo QT) e iCEB (índice de equilíbrio eletrofisiológico cardíaco). \*\*Média ± DP. \*\*\*Teste-t, com p significativo inferior a 5%.

Na tabela 6, os pacientes sob medicação com fluoxetina não apresentaram diferença significativa em nenhuma variável eletrocardiográfica analisada, comparando os tempos A e B. Nos pacientes medicados com sertralina, houve aumento significativo do intervalo  $T_{pico}-T_{fim}$  ( $p = 0,022$ ) e da relação intervalo  $T_{pico}-T_{fim}$  com intervalo QT ( $p = 0,006$ ) no tempo B em relação ao tempo A.

**Tabela 7.** Resultados das medidas eletrocardiográficas no período das 12h, antes da medicação (Tempo A) e após 30 dias de medicação (Tempo B), dos pacientes incluídos no estudo que receberam fluoxetina ou sertralina:

| Variáveis* | Holter - 12h       |              |       |                   |              |       |
|------------|--------------------|--------------|-------|-------------------|--------------|-------|
|            | Fluoxetina (n= 19) |              |       | Sertralina (n=13) |              |       |
|            | Tempo A**          | Tempo B**    | p***  | Tempo A**         | Tempo B**    | p***  |
| <b>QT</b>  | 306,3 ± 116,6      | 344,2 ± 92,3 | 0,325 | 352,1 ± 43,5      | 379,5 ± 30,8 | 0,028 |
| <b>QTc</b> | 421,6 ± 34,8       | 424,2 ± 31,5 | 0,818 | 421,6 ± 36,2      | 421,7 ± 31,8 | 0,989 |

|                     |               |               |       |               |               |       |
|---------------------|---------------|---------------|-------|---------------|---------------|-------|
| <b>J – T</b>        | 254,2 ± 38,6  | 283,3 ± 36,6  | 0,029 | 266,8 ± 41,8  | 292,4 ± 36,8  | 0,031 |
| <b>J – Tpico</b>    | 191,9 ± 31,8  | 205,9 ± 41    | 0,206 | 199,9 ± 27,7  | 214,2 ± 29,2  | 0,054 |
| <b>Tpico – Tfim</b> | 55 ± 27,7     | 75,3 ± 15,6   | 0,013 | 66,9 ± 19,6   | 78,2 ± 13,8   | 0,075 |
| <b>TpTf/QT</b>      | 0,162 ± 0,071 | 0,185 ± 0,076 | 0,337 | 0,187 ± 0,038 | 0,205 ± 0,025 | 0,181 |
| <b>iCEB</b>         | 3,960 ± 0,177 | 4,627 ± 0,248 | 0,014 | 4,315 ± 0,299 | 4,595 ± 0,347 | 0,352 |

Tempo A = antes da medicação; Tempo B = após 30 dias de uso da medicação; \*Unidade de medida = ms (milissegundos), exceto para  $T_pT_f/QT$  (relação intervalo  $T_{pico}T_{fim}$  com o intervalo QT) e iCEB (índice de equilíbrio eletrofisiológico cardíaco). \*\*Média ± DP. \*\*\**Teste-t*, com  $p$  significativo inferior a 5%.

Nos pacientes sob medicação com fluoxetina, houve aumento significativo nos intervalos J-T ( $p = 0,029$ ) e  $T_{pico}-T_{fim}$  ( $p = 0,013$ ) após medicação de 30 dias (tempo B) comparando com o resultado antes da medicação (tempo A), além do aumento no iCEB ( $p = 0,014$ ). Nos pacientes que receberam sertralina, houve aumento significativo nos intervalos QT ( $p = 0,028$ ) e J-T ( $p = 0,031$ ). Nesse período de meio dia (12h), o intervalo J-T teve aumento nos dois grupos, ou seja, independente da medicação recebida.

**Tabela 8.** Resultados das medidas eletrocardiográficas no período das 18h, antes da medicação (Tempo A) e após 30 dias de medicação (Tempo B), dos pacientes incluídos no estudo que receberam fluoxetina ou sertralina:

| Variáveis*          | Holter – 18h      |               |       |                   |               |       |
|---------------------|-------------------|---------------|-------|-------------------|---------------|-------|
|                     | Fluoxetina (n=19) |               |       | Sertralina (n=13) |               |       |
|                     | Tempo A**         | Tempo B**     | p***  | Tempo A**         | Tempo B**     | p***  |
| <b>QT</b>           | 335,7 ± 83,8      | 349,3 ± 28,1  | 0,563 | 351,9 ± 40,9      | 354,4 ± 41,7  | 0,775 |
| <b>QTc</b>          | 423 ± 31,6        | 419,1 ± 25    | 0,411 | 413,3 ± 42,5      | 415,2 ± 32,6  | 0,892 |
| <b>J – T</b>        | 270,5 ± 26,4      | 266,1 ± 30    | 0,554 | 264,4 ± 47,5      | 270,2 ± 45,6  | 0,654 |
| <b>J – Tpico</b>    | 201,9 ± 20,8      | 195 ± 24,7    | 0,250 | 193,5 ± 31,6      | 200,9 ± 44,5  | 0,491 |
| <b>Tpico – Tfim</b> | 68,6 ± 20,3       | 71,1 ± 19,3   | 0,543 | 70,8 ± 24,6       | 69,3 ± 17,9   | 0,847 |
| <b>TpTf/QT</b>      | 0,182 ± 0,071     | 0,202 ± 0,052 | 0,157 | 0,198 ± 0,056     | 0,195 ± 0,045 | 0,886 |
| <b>iCEB</b>         | 4,405 ± 0,222     | 4,533 ± 0,240 | 0,621 | 4,160 ± 0,287     | 4,652 ± 0,564 | 0,478 |

Tempo A = antes da medicação; Tempo B = após 30 dias de uso da medicação; \*Unidade de medida = ms (milissegundos), exceto para  $T_pT_f/QT$  (relação intervalo  $T_{pico}T_{fim}$  com o intervalo QT) e iCEB (índice de equilíbrio eletrofisiológico cardíaco). \*\*Média ± DP. \*\*\**Teste-t*, com  $p$  significativo inferior a 5%.

No período das 18h, não houve mudança significativa nas medidas eletrocardiográficas analisadas, independente da medicação recebida pelo paciente incluído no estudo.

**Tabela 9.** Resultados das medidas eletrocardiográficas no período das 00h, antes da medicação (Tempo A) e após 30 dias de medicação (Tempo B), dos pacientes incluídos no estudo que receberam fluoxetina ou sertralina:

| Variáveis*          | Holter – 00h       |               |       |                   |               |       |
|---------------------|--------------------|---------------|-------|-------------------|---------------|-------|
|                     | Fluoxetina (n= 19) |               |       | Sertralina (n=13) |               |       |
|                     | Tempo A**          | Tempo B**     | p***  | Tempo A**         | Tempo B**     | p***  |
| <b>QT</b>           | 372,4 ± 96,3       | 392,9 ± 34,8  | 0,423 | 391,9 ± 37,3      | 399,1 ± 28,9  | 0,356 |
| <b>QTc</b>          | 429,6 ± 27,9       | 426,1 ± 22,8  | 0,597 | 420,9 ± 31,9      | 417,4 ± 21,7  | 0,578 |
| <b>J – T</b>        | 311,7 ± 38,2       | 304,9 ± 34,7  | 0,475 | 303,5 ± 46,9      | 311,1 ± 31,8  | 0,397 |
| <b>J – Tpico</b>    | 227,1 ± 34,6       | 224,8 ± 30,4  | 0,783 | 225,1 ± 36,6      | 228,9 ± 30    | 0,655 |
| <b>Tpico – Tfim</b> | 84,6 ± 18,4        | 80,1 ± 19,3   | 0,332 | 78,4 ± 24,2       | 82,2 ± 16,4   | 0,473 |
| <b>TpTf/QT</b>      | 0,203 ± 0,064      | 0,204 ± 0,047 | 0,966 | 0,198 ± 0,052     | 0,205 ± 0,036 | 0,617 |
| <b>iCEB</b>         | 5,031 ± 0,274      | 4,801 ± 0,337 | 0,503 | 4,700 ± 0,342     | 4,639 ± 0,244 | 0,809 |

Tempo A = antes da medicação; Tempo B = após 30 dias de uso da medicação; \*Unidade de medida = ms (milissegundos), exceto para  $T_pT_f/QT$  (relação intervalo  $T_{pico}T_{fim}$  com o intervalo QT) e iCEB (índice de equilíbrio eletrofisiológico cardíaco). \*\*Média ± DP. \*\*\**Teste-t*, com *p* significativo inferior a 5%.

As 00h, não houve mudança significativa nas medidas eletrocardiográficas analisadas, independente da medicação recebida pelo paciente incluído no estudo.

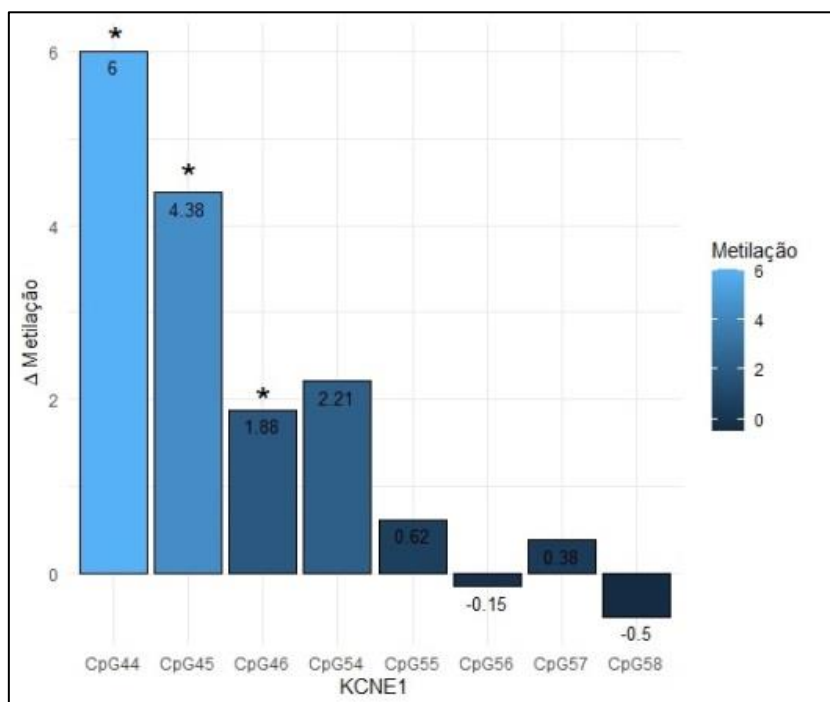
## 5.5. Metilação de DNA por pirosequenciamento

Foram obtidos os perfis de metilação por pirosequenciamento dos 34 pacientes incluídos no projeto, tanto antes da medicação (tempo A) e quanto após um mês sob tratamento (tempo B). Após o pirosequenciamento, os dados obtidos foram analisados no PyroMark Q24 Software e as percentagens de metilação foram tabeladas de acordo com a percentagem média de cada sítio analisado de cada gene escolhido (anexo 4). Para comparação estatística, avaliou-se por *Teste-t*, com nível de significância de *p* inferior a 5% ( $p < 0,05$ ).

### 5.5.1. Gene *KCNE1*

Segundo UCSC Genome Browser, da Universidade da Califórnia, Santa Cruz, o gene *KCNE1* está localizado no cromossomo 21, possui uma ilha CpG, com 668 pares de bases e 57 sítios CpG, localizada na região promotora do gene (Ensemble Browser, 2021). Nos ensaios comerciais adquiridos, analisou-se 8 sítios CpG (anexo 5).

Na figura 7, tem-se a variação de percentagem de metilação em cada um dos 8 sítios CpG da região promotora do gene *KCNE1* dos 34 pacientes incluídos no projeto. Essa variação corresponde à diferença entre a percentagem de metilação após 30 dias de medicação (tempo B) e a percentagem de metilação antes da medicação (tempo A).



**Figura 7.** Representação gráfica da variação de percentagem de metilação nos 8 sítios CpG da região promotora do gene *KCNE1*, comparando antes do início da medicação e após 30 dias de medicação. Sítios CpG analisados: CpG44, CpG45, CpG46, CpG54, CpG55, CpG56, CpG57, CpG58. (\* $p > 0,05$ )

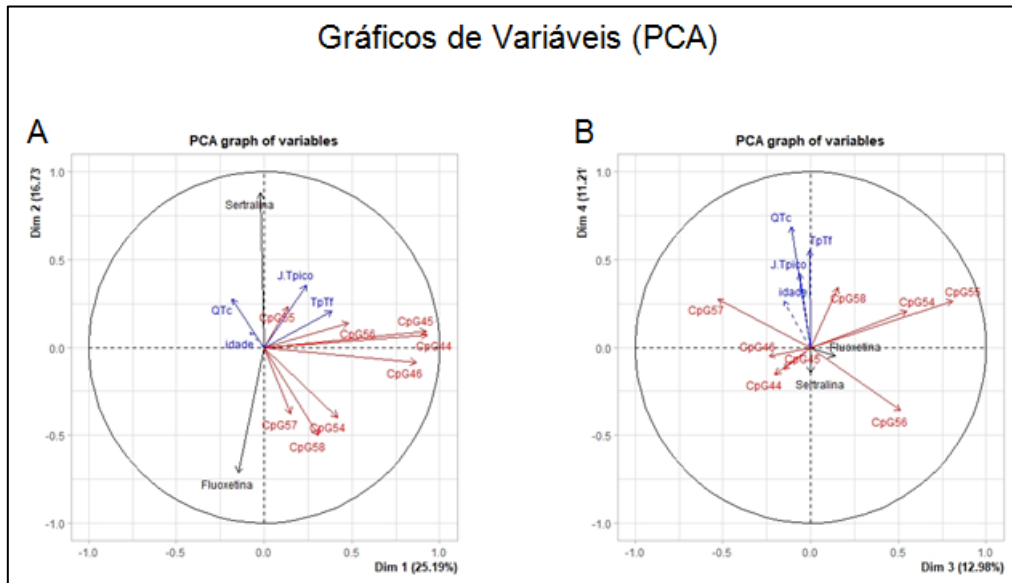
Observa-se a diferença significativa em três sítios analisados: CpG44 ( $t = -3,680$ ,  $p = 0,001$ ), CpG45 ( $t = -2,870$ ,  $p = 0,007$ ) e CpG46 ( $t = -2,233$ ,  $p = 0,032$ ), comparando antes do início da medicação (tempo A) e após 30 dias de medicação (tempo B). Esses três sítios apresentaram aumento de percentagem de metilação, após 30 dias de tratamento com antidepressivos (citalopram, fluoxetina, sertralina ou venlafaxina).

Os sítios CpG54, CpG55 e CpG57 também tiveram aumento de percentagem de metilação, enquanto os sítios CpG56 e CpG58 tiveram uma redução na percentagem de metilação, ambas diferenças não significativas.

Avaliou-se a correlação entre a variação de percentagem de metilação de DNA nos 8 sítios CpG da região promotora do gene *KCNE1* com a variação



de 3 medidas eletrocardiográficas obtidas no Holter ( $QT_c$ , intervalo  $J-T_{pico}$  e intervalo  $T_{pico}-T_{fim}$ ), dos pacientes sob medicação fluoxetina ( $n = 19$ ) e sertralina ( $n = 13$ ). Essa variação da medida eletrocardiográfica corresponde a diferente entre a média dos 4 horários (6h, 12h, 18h e 00h) após 30 dias de medicação (tempo B) e a média dos 4 horários (6h, 12h, 18h e 00h) antes da medicação (tempo A).



**Figura 8.** Representação gráfica do espaço de variáveis da análise dos componentes principais do gene *KCNE1*. (A) Representação gráfica do espaço de variáveis considerando as dimensões 1 e 2. (B) Representação gráfica do espaço de variáveis considerando as dimensões 3 e 4.

Medicação: fluoxetina ou sertralina. Dim 1 = dimensão 1; Dim 2 = dimensão 2; Dim 3 = dimensão 3; Dim 4 = dimensão 4; CpG44, CpG45, CpG46, CpG54, CpG55, CpG56, CpG57, CpG58 = sítios CpG da região promotora do gene *KCNE1*; variáveis eletrocardiográficas =  $QT_c$  – intervalo QT corrigido pela frequência;  $JT_{pico}$  – intervalo  $J-T_{pico}$ ;  $T_pT_f$  – intervalo  $T_{pico}-T_{fim}$ .

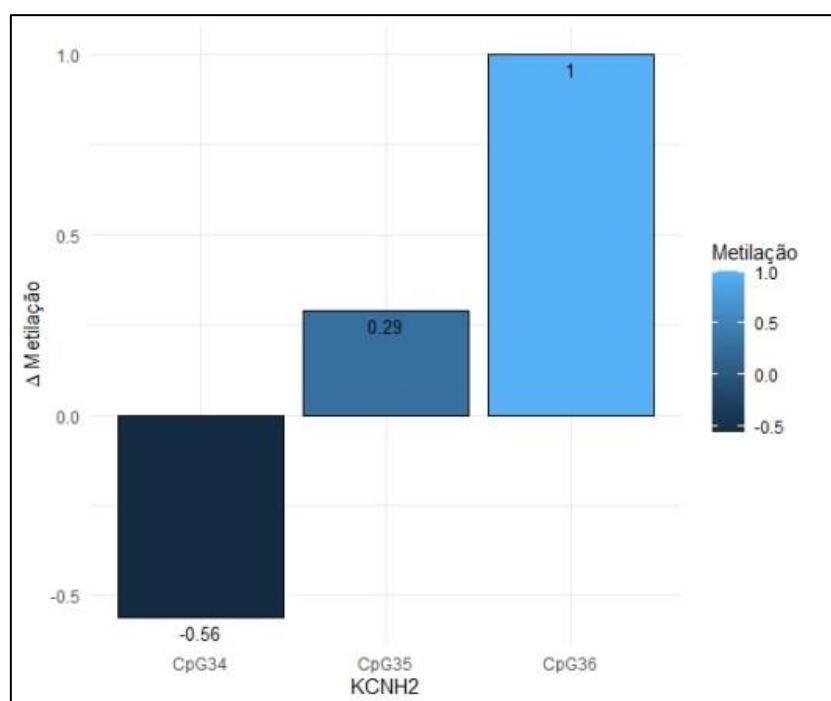
Na figura 8A, observa-se uma correlação positiva entre a variação de percentagem de metilação no sítio CpG55 e a variação do intervalo  $J-T_{pico}$ . Na mesma figura, observa-se uma correlação negativa entre a variação de percentagem de metilação nos sítios CpG54, CpG57 e CpG58, e a variação da relação  $QT_c$  e a idade dos participantes do projeto.

Também há correlação positiva entre a idade dos participantes do projeto e a variação da relação  $QT_c$ , resultado esperado segunda a literatura. Os vetores que se encontram distantes e formam entre si ângulo de 90 graus, são variáveis independentes, sem correlação.

### 5.5.2. Gene *KCNH2*

Segundo UCSC Genome Browser, da Universidade da Califórnia, Santa Cruz, o gene está localizado no cromossomo 7, e possui 9 ilhas CpG. A ilha que será analisada possui 407 pares de bases e 37 sítios CpG. Encontra-se na região promotora do gene (Ensembl Browser, 2021). No ensaio comercial adquirido, somente 3 sítios dessa ilha foram analisados (anexo 5).

Na figura 9, tem-se a variação de percentagem de metilação em cada um dos 3 sítios CpG da região promotora do gene *KCNH2* dos 34 pacientes incluídos no projeto. Essa variação corresponde à diferença entre a percentagem de metilação após 30 dias de medicação (tempo B) e a percentagem de metilação antes da medicação (tempo A).



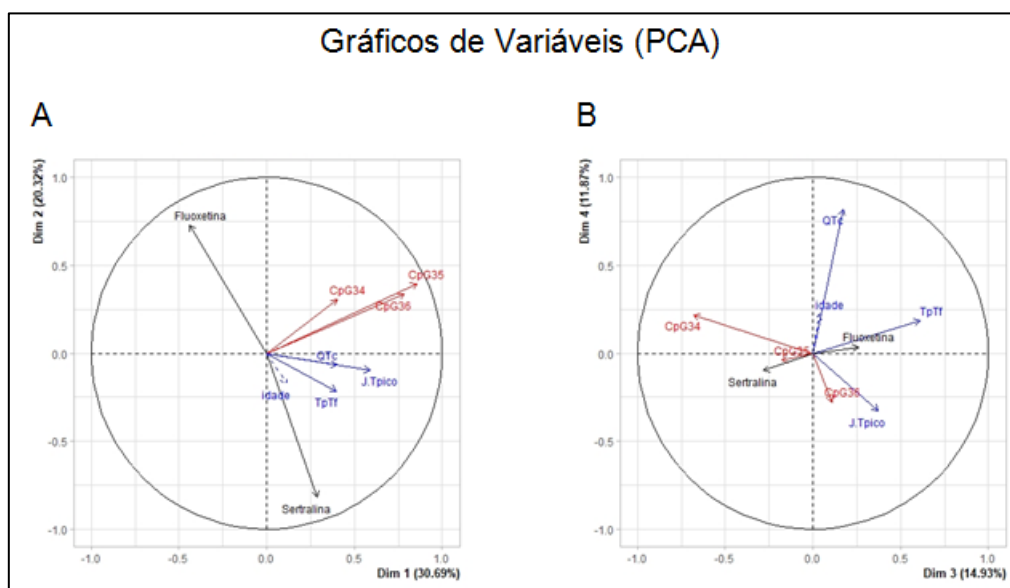
**Figura 9.** Representação gráfica da variação de percentagem de metilação nos 3 sítios CpG da região promotora do gene *KCNH2*, comparando antes do início da medicação e após 30 dias de medicação.

Sítios CpG analisados: CpG34, CpG35, CpG36. (\* $p > 0,05$ )

A variação de percentagem de metilação dos sítios analisados não foi significativa em nenhum sítio, porém o sítio CpG34 teve uma variação negativa,

enquanto os sítios CpG35 e CpG36 tiveram uma variação positiva na percentagem de metilação.

Avaliou-se a correlação entre a variação de percentagem de metilação de DNA nos 3 sítios CpG da região promotora do gene *KCNH2* com a variação de 3 medidas eletrocardiográficas obtidas no Holter ( $QT_c$ , intervalo  $J-T_{pico}$  e intervalo  $T_{pico}-T_{fim}$ ), dos pacientes sob medicação fluoxetina ( $n = 19$ ) e sertralina ( $n = 13$ ). Essa variação da medida eletrocardiográfica corresponde a diferente entre a média dos 4 horários (6h, 12h, 18h e 00h) após 30 dias de medicação (tempo B) e a média dos 4 horários (6h, 12h, 18h e 00h) antes da medicação (tempo A).



**Figura 10.** Representação gráfica do espaço de variáveis da análise dos componentes principais do gene *KCNH2*. (A) Representação gráfica do espaço de variáveis considerando as dimensões 1 e 2. (B) Representação gráfica do espaço de variáveis considerando as dimensões 3 e 4.

Medicação: fluoxetina ou sertralina. Dim 1 = dimensão 1; Dim 2 = dimensão 2; Dim 3 = dimensão 3; Dim 4 = dimensão 4; CpG34, CpG35 e CpG36 = sítios CpG da região promotora do gene *KCNH2*; variáveis eletrocardiográficas =  $QT_c$  – intervalo QT corrigido pela frequência,  $J-T_{pico}$  – intervalo  $J-T_{pico}$ ,  $T_{pico}-T_{fim}$  – intervalo  $T_{pico}-T_{fim}$ .

Na figura 10A, observa-se uma tendência de correlação entre a variação do intervalo  $T_{pico}-T_{fim}$  de forma positiva com a dosagem de sertralina e de forma negativa com a dosagem de fluoxetina. Em relação à idade, há correlação positiva com o aumento da variação do intervalo  $T_{pico}-T_{fim}$ .

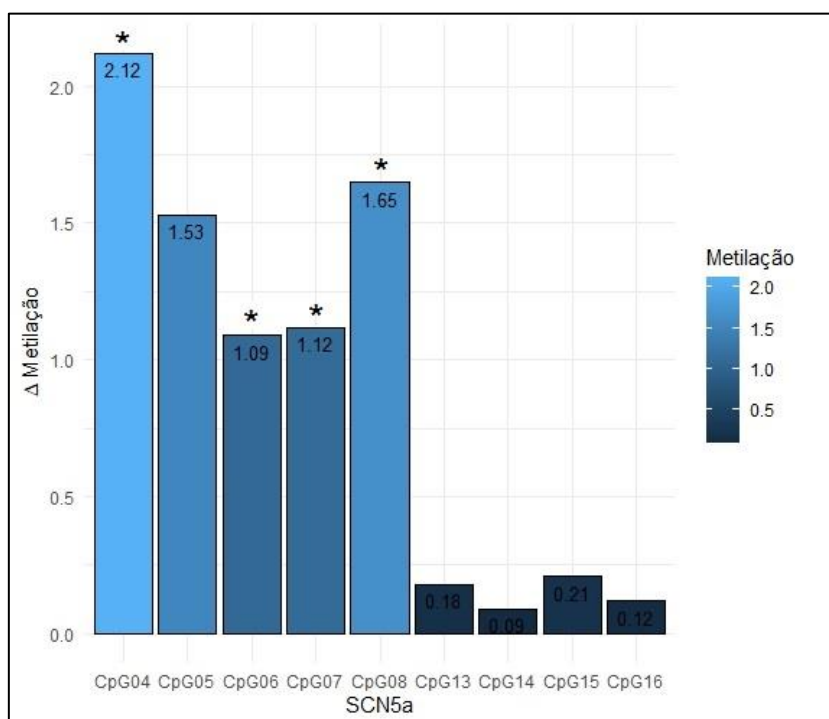
Não há correlação entre as variações de percentagem de metilação nos sítios CpG e as variáveis eletrocardiográficas analisadas para o gene *KCNH2*.

Os vetores que se encontram distantes e formam entre si ângulo de 90 graus, são variáveis independentes, sem correlação.

### 5.5.3. Gene *SCN5A*

Segundo UCSC Genome Browser, da Universidade da Califórnia, Santa Cruz, o gene *SCN5A* está localizado no cromossomo 3, e possui só uma ilha CpG, com 1104 pares de bases e 108 sítios CpG. Encontra-se na região promotora do gene (Ensembl Browser, 2021). Nos ensaios comerciais adquiridos, analisou-se 9 sítios dessa ilha (anexo 5).

Na figura 11, tem-se a variação de percentagem de metilação de cada um dos 9 sítios CpG da região promotora do gene *SCN5A* dos 34 pacientes incluídos no projeto. Essa variação corresponde à diferença entre a percentagem de metilação após 30 dias de medicação (tempo B) e a percentagem de metilação antes da medicação (tempo A).

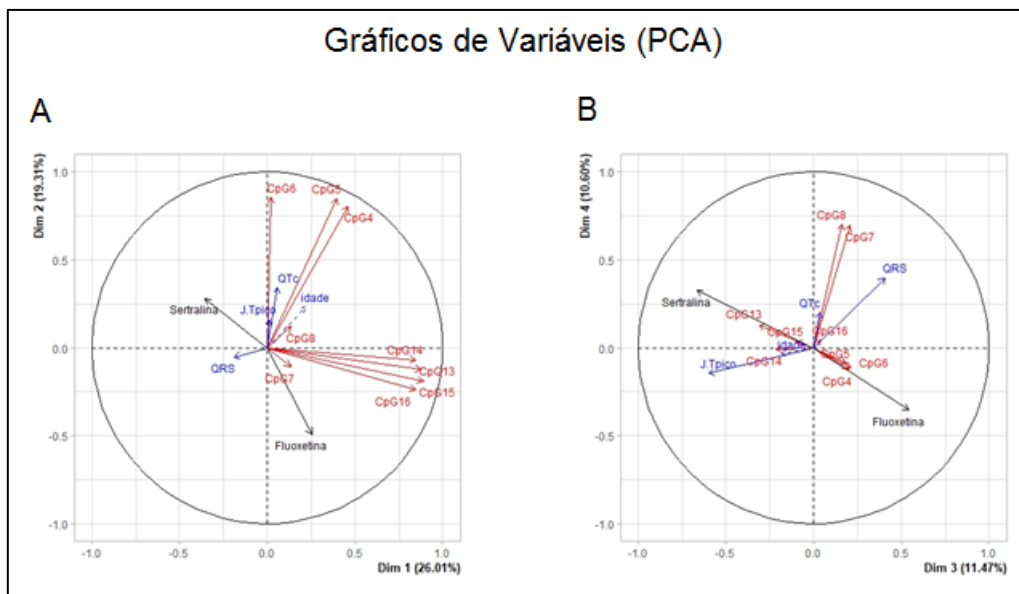


**Figura 11.** Representação gráfica da variação de percentagem de metilação dos 9 sítios CpG da região promotora do gene *SCN5A*, comparando antes do início da medicação e após 30 dias de medicação.

Sítios CpG analisados: CpG04, CpG05, CpG06, CpG07, CpG08, CpG13, CpG14, CpG15, CpG16. (\* $p > 0,05$ )

Observou-se diferença significativa em quatro sítios analisados: CpG04 ( $t = -4,961$ ,  $p = 0,000$ ), CpG06 ( $t = -2,787$ ,  $p = 0,007$ ), CpG07 ( $t = -2,128$ ,  $p = 0,041$ ) e CpG08 ( $t = -2,161$ ,  $p = 0,038$ ). Os quatro sítios CpG do gene *SCN5A* apresentaram aumento de percentagem de metilação, após 30 dias de tratamento com antidepressivo. Os demais sítios analisados (CpG05, CpG13, CpG14, CpG15 e CpG16) também apresentaram aumento de percentagem de metilação, após 30 dias de tratamento com antidepressivo, mas essa diferença não foi significativa.

Avaliou-se a correlação entre a variação de percentagem de metilação de DNA dos 9 sítios CpG da região promotora do gene *SCN5A* com a variação de 3 medidas eletrocardiográficas obtidas no Holter (QT<sub>c</sub>, intervalo J-T<sub>pico</sub> e intervalo QRS), dos pacientes sob medicação fluoxetina ( $n = 19$ ) e sertralina ( $n = 13$ ). Essa variação da medida eletrocardiográfica corresponde a diferente entre a média dos 4 horários (6h, 12h, 18h e 00h) após 30 dias de medicação (tempo B) e a média dos 4 horários (6h, 12h, 18h e 00h) antes da medicação (tempo A).



**Figura 12.** Representação gráfica do espaço de variáveis da análise dos componentes principais do gene *SCN5A*. (A) Representação gráfica do espaço de variáveis considerando as dimensões 1 e 2. (B) Representação gráfica do espaço de variáveis considerando as dimensões 3 e 4.

Medicação: fluoxetina ou sertralina. Dim 1 = dimensão 1; Dim 2 = dimensão 2; Dim 3 = dimensão 3; Dim 4 = dimensão 4; CpG4, CpG5, CpG6, CpG7, CpG8, CpG13, CpG14, CpG15 e

CpG16 = sítios CpG da região promotora do gene *SCN5A*; variáveis eletrocardiográficas = QT<sub>c</sub> – intervalo QT corrigido pela frequência, JT<sub>pico</sub> – intervalo J-T<sub>pico</sub>, QRS – segmento QRS.

Na figura 12A, observa-se correlação positiva entre a variação de percentagem de metilação no sítio CpG06 com a variação da relação QT<sub>c</sub> e com a variação do intervalo J-T<sub>pico</sub>; a variação do segmento QRS se correlaciona negativamente com a variação de percentagem de metilação no sítio CpG08.

Em relação à dosagem do antidepressivo utilizado, a variação de percentagem de metilação no sítio CpG07 se correlaciona de forma negativa com a dose de sertralina. Também se correlaciona a idade dos participantes, positivamente com a variação de percentagem de metilação no sítio CpG08, e negativamente com a variação do segmento QRS.

Os vetores que se encontram distantes e formam entre si ângulo de 90 graus, são variáveis independentes, sem correlação.

**#DISCUSSÃO**

## 6. Discussão

Um importante fator para desenvolvimento de intervalo QT prolongado é o uso de certos medicamentos. Pacientes psiquiátricos podem ser considerados uma população de risco, pois muitos antipsicóticos e antidepressivos são considerados drogas indutoras de prolongamento de intervalo QT (CUBEDDU, 2016). No presente estudo, verificou-se se o uso de antidepressivos e antipsicóticos pelos pacientes sob a atenção da saúde mental na clínica médica psiquiátrica no Instituto de Psiquiatria (IPq-HCFMUSP) podem induzir arritmias cardíacas.

Através do questionário clínico, observa-se que a principal classe de fármaco prescrita aos pacientes é a de antidepressivos, se destacando a fluoxetina e a sertralina. Os medicamentos prescritos pelo IPq-HCFMUSP são oferecidos de forma gratuita na farmácia popular que se encontra no mesmo local. Assim, o receituário acaba sendo retido a essa lista de medicações distribuídas pelo SUS, levando em conta, também, a disponibilidade do fármaco na farmácia do IPq-HCFMUSP. Com isso, o projeto apresentou uma baixa diversidade de fármacos em análise.

De acordo com a lista do Centro de Educação e Pesquisa em Terapêutica (CERT) da Universidade do Arizona, fluoxetina e sertralina são medicamentos que se enquadram no “Risco Condicional de TdP” – medicamentos associados a um risco de TdP (*Torsades de Pointes*), mas apenas sob determinadas condições (por exemplo, dose excessiva, QT longo congênito ou uma interação fármaco-fármaco que resulte em prolongamento do intervalo QT) (CREDIBLEMEDS, 2020).

A maioria dos estudos clínicos com inibidores seletivos de receptação da serotonina (ISRS), classe à qual pertence os dois antidepressivos citados acima, mostra baixo efeitos colaterais no seu uso, inclusive cardiovasculares. No entanto, deve-se ter cuidado: os ISRS têm efeitos clínicos cardíacos, como a observação de bradicardia leve em pacientes crônicos de fluoxetina, fluvoxamina e paroxetina. A idade do paciente também influencia nesses efeitos colaterais. Num grupo de pacientes jovens foi demonstrado uma redução da amplitude da onda T; enquanto num outro estudo, com pacientes idosos, um aumento nos números de casos de disritmias e desmaios



associados ao uso de fluoxetina e qualquer outro ISRS em altas dosagens (PASHER, KECSKEMETI, 2008).

Para avaliação clínica do desenvolvimento de arritmias cardíacas, fez-se uso do exame de Holter, antes e após 30 dias de tratamento com psicofármaco. Essa etapa do estudo ocorreu em colaboração com a Dra. Virginia Braga Cerutti (elaboração dos laudos dos exames de Holter) e com o Prof. Dr. Dalmo Antonio Ribeiro Moreira (seleção e medição das variantes eletrocardiográficas escolhidas para o estudo). Como base para as análises dos laudos de Holter, utilizou-se os estudos do grupo do pesquisador David G. Strauss (JOHANNESSEN, 2014; VICENTE, 2016), onde além do prolongamento do intervalo QT, outros intervalos eletrocardiográficos foram considerados como biomarcadores de bloqueio de canais iônicos induzidos por fármacos.

Segundo Johannesen e colaboradores (2014), prolongamento de intervalo  $T_{\text{pico}}-T_{\text{fim}}$  estaria relacionado a bloqueio do canal de potássio hERG, sendo analisado em conjunto com o prolongamento do intervalo QT ( $p = 0,014$ ). No estudo, os pacientes sob medicação sertralina tiveram aumentos no intervalo  $T_{\text{pico}}-T_{\text{fim}}$  e no intervalo QT ao longo do dia, podendo supor que a medicação tenha induzido ação de bloqueio de canal de potássio hERG, principalmente nas primeiras 12h do dia. Os pacientes sob medicação fluoxetina tiveram aumento no intervalo  $T_{\text{pico}}-T_{\text{fim}}$  somente no horário das 12h, juntamente com aumento no intervalo J-T e na relação iCEB. Lu e colaboradores (2013) sugerem que a relação entre intervalo QT e intervalo QRS (iCEB =  $QT/QRS$ ) poderia ser usada como biomarcador para indução de arritmias cardíacas por fármacos. Aumento de iCEB, juntamente com aumento de intervalo J-T, pode ocorrer devido bloqueio de IKr (corrente de potássio) e induzir o fenômeno de Pós-Despolarização Precoce (PDP), relacionado a arritmia cardíaca.

Analisando os efeitos cardíacos dos ISRS, numa visão eletrofisiológica, a fluoxetina tem alto potencial inibitório do canal de potássio hERG. Essa inibição farmacológica, seja na expressão de hERG ou na atuação no tráfego da corrente IKr, correlaciona-se ao prolongamento do potencial de ação ventricular, e assim, no prolongamento do intervalo QT no ECG (PASHER, KECSKEMETI, 2008; CUBEDDU, 2016). No caso da sertralina, num estudo com linhagens celulares, também apresentou efeito inibitório em canais iônicos

de potássio (hERG, IKs e IK1), de sódio (INa) e de cálcio (ICa), sendo essa inibição dose-dependente (LEE et al, 2012). Na literatura, os efeitos cardíacos desencadeados pela fluoxetina e pela sertralina podem ser equiparados (FUNK, BOSTWICK, 2013).

Com os dados obtidos nos laudos de Holter, não se pode afirmar se houve ou não desenvolvimento de arritmias nos pacientes incluídos no estudo induzido pelo tratamento com fluoxetina ou sertralina, mas sim alterações no intervalo QT e anormalidades na onda T, ao longo do dia, podendo ser indicadores para tal evento. A realização de Holter de 24h mostrou-se um diferencial do estudo, uma vez que na prática clínica, nem todos os pacientes recebem monitoramento cardíaco, que identifiquem pacientes de risco, antes do início de qualquer novo tratamento.

Considerando as características básicas de metabolização da fluoxetina e da sertralina, tem-se que a fluoxetina leva de 6-8 horas para atingir sua concentração máxima no plasma, e tempo de meia vida de 4-6 dias; enquanto isso, a sertralina leva de 4-8 horas, e tempo de meia vida de 26-36 horas (GRUNDMANN, KACIROVA, URINOVSKA, 2015). Os pacientes eram orientados pelo médico psiquiatra a fazer uso da medicação todos os dias, por 30 dias, sempre no período da manhã. Dentro do estudo, realizou-se a detecção da concentração plasmática do respectivo psicofármaco em uso no plasma, como parte dos critérios de inclusão do paciente. As coletas foram realizadas no período da manhã. Os pacientes incluídos no estudo apresentaram concentração de fármaco no plasma dentro dos limites terapêuticos. Assim, descartamos possíveis alterações cardíacas causadas por doses excessivas de psicofármaco no plasma.

Contudo, observa-se no laudo de Holter, que no horário de 12h (meio dia), três medidas eletrocardiográficas (intervalos QT, J-T e  $T_{pico-T_{fim}}$ ) e uma relação entre elas (iCEB) apresentaram aumento significativo, comparando antes do início da medicação (tempo A) e após 30 dias de tratamento com fluoxetina ou sertralina (tempo B). Se for considerado que o paciente ingeriu a medicação por volta das 7h da manhã, o horário de 12h estaria próximo ao período de concentração máxima do psicofármaco no plasma. Pode-se relacionar esse aumento dos intervalos eletrocardiográficos ao fato de ter maior

concentração de fluoxetina e sertralina circulantes no momento, como mostra a literatura (BEHR, RODEN, 2013; CREDIBLEMEDS, 2020).

Para melhor compreensão das funções da metilação de DNA, devemos considerar a distribuição da metilação no genoma. Pode-se avaliar a metilação de DNA em diferentes contextos: em locais de início da transcrição, dentro do corpo do gene, em elementos regulatórios e em sequências de repetição. A metilação do DNA é frequentemente descrita como uma marca epigenética de "silenciamento" (JONES, 2012).

Em células saudáveis, ilhas CpG localizadas em região promotora são geralmente hipometiladas. A metilação atua interferindo na expressão gênica, bloqueando o acesso dos fatores de transcrição à região promotora e assim causando silenciamento do gene (FEINBERG, 2007; DEATON, 2011; DUYGU, 2013). Há evidências de que ilhas CpG metiladas em locais de início da transcrição estão associadas a alguns genes silenciados. Contudo o *timing* da metilação *denovo* em relação ao silenciamento de genes está no início de ser elucidado. A expressão do gene é controlada por fatores de transcrição. A ideia de que a metilação de DNA silencia diretamente os genes *denovo*, conforme proposto por Riggs (1975) e Holliday e Pugh (1975), provavelmente não é a via predominante para o silenciamento de genes.

Atualmente, sabe-se que alterações na metilação do DNA cooperam com eventos genéticos e estão envolvidas na carcinogênese humana (BAYLIN, JONES, 2011; PAN et al, 2018). A literatura traz estudos mostrando tanto a hipometilação em promotores específicos que desencadeiam a ativação aberrante da expressão de oncogenes (induzindo a perda de *imprinting* em alguns loci) quanto a hipermetilação em ilhas CpG causando a inativação da transcrição de genes envolvidos nas principais vias celulares (reparação de DNA, controle de ciclo celular, apoptose, etc) (PORTELA, ESTELLER, 2010). Portanto, compreender os papéis da metilação do DNA é essencial para compreender os processos das doenças humanas.

A metilação de DNA também é um importante fator relacionado às doenças cardiovasculares (CAO, 2014; SCHIANO, 2015). Kao e colaboradores, em 2013, estudaram o efeito da insuficiência cardíaca na fibrilação atrial, através de modificações epigenéticas na expressão do gene *Pitx2c*, que modula a expressão de subunidades de canal de sódio e de potássio. A

insuficiência cardíaca induz a hipermetilação do promotor do gene *Pitx2c* devido aumento da expressão de DNMT1, reduzindo sua expressão nas células dos miócitos atriais. A angiotensina II também tem seu papel na contribuição para a hipermetilação, resultando em baixa expressão de *Pitx2c* e *Kir2.1* (subunidade de canal de potássio).

Neste estudo, escolheu-se avaliar a variação de percentagem de metilação de sítios CpG situados na região promotora dos genes *KCNE1*, *KCNH2* e *SCN5A* que estão envolvidos na atividade elétrica cardíaca, com a hipótese que o uso de medicação psiquiátrica afetaria a metilação desses sítios e assim, contribuiria para alterações no seu correto funcionamento. Utilizou-se a técnica de pirosequenciamento para estabelecer esses perfis de metilação, tanto antes da medicação (tempo A) e quanto após um mês sob tratamento com antidepressivo (tempo B).

De acordo com a literatura, existem diversas estratégias de estudo de metilação de DNA, em diferentes escalas genômicas. Porém, o sequenciamento direto do DNA tratado com bissulfito é o método de referência (KURDYUKOV, BULLOCK, 2016). Devido a homogênea distribuição de metilação de DNA dentro da região genômica e a presunção de que CpG não metilados estão localizados em ilhas CpG, a análise de conjunto de sítios CpG como indicadores de mudança de estado de metilação de DNA da região de interesse pode ser uma estratégia interessante e alguns estudos epigenéticos comprovam essa hipótese (MEDVEDEVA et al, 2013).

Observou-se, neste estudo, alterações significativas no percentual de metilação em alguns sítios CpG dos três genes analisados, independente da medicação em uso. Pacientes incluídos no estudo apresentaram aumento de percentual de metilação em 3 sítios CpG da região promotora do gene *KCNE1* e em 4 sítios CpG da região promotora do gene *SCN5A*, quando comparamos o tempo antes da medicação (tempo A) e o tempo após um mês sob tratamento com antidepressivo (tempo B). Considerando os conceitos expostos na introdução, de que uma hipermetilação das ilhas CpG localizadas na região reguladora do gene é caracterizada por uma estrutura de cromatina mais compactada ou até mesmo fechada, resultando no silenciamento transcricional do gene (FERREIRA; ESTELLER, 2018), levanta-se a hipótese de que essa alteração da percentagem de metilação estudada nos genes *KCNE1* e *SCN5A*

acarrete menor expressão dos respectivos genes. Como não foi realizado um experimento para confirmar tal suposição, trabalhou-se no resultado final de tal alteração na transcrição: o funcionamento dos canais, monitorados por Holter.

Há poucos trabalhos envolvendo metilação dos genes estudados nesse projeto. Em 2013, Bethge e colaboradores identificaram genes supermetilados em 11 linhagens celulares num estudo de linfoma. Dentre esses genes, o promotor do gene *KCNH2* se encontrava metilado em 22% das 36 amostras de tumores, sendo que nenhuma das amostras controles apresentava metilação nessa região. Juntamente com outros 3 genes, o *KCNH2* foi inserido num painel de biomarcadores para linfomas, segundo os autores. Em 2015, num estudo de revisão, aparecem outros dois trabalhos envolvendo a metilação do gene *KCNH2* e desenvolvimento de câncer (câncer de ovário e melanoma) (OUADID-AHIDOUCH et al, 2015). Num estudo mais recente, militares americanos que passaram por exposição a explosões intensas tiveram alterações epigenéticas em alguns genes, incluindo o *KCNE1*, que apresentou aumento de metilação da região promotora e queda da expressão do mesmo. Porém, o único sintoma observado nesse grupo foi redução na audição ou um zumbido frequente (WANG et al, 2020). No gene *SCN5A*, um trabalho interessante mostrou a modulação da sua expressão em portadores do polimorfismo H558R, que possuem Síndrome de Brugada. A presença desse polimorfismo previne contra a ocorrência de fibrilação ventricular, diminuindo a metilação do promotor do gene *SCN5A*, aumentando a expressão do mesmo no tecido cardíaco (MATSUMURA et al, 2017).

Contudo, temos como exemplo o gene *KCNQ1*, num estudo com camundongos, que é expresso apenas no alelo materno ou paterno. No cromossomo materno, devido a presença na região promotora de uma ilha CpG metilada, a transcrição é impedida. Já na região promotora do cromossomo paterno, essa ilha CpG não é metilada, permitindo a expressão do transcrito regulatório durante a embriogênese tardia. A impressão variável do gene *KCNQ1* fornece uma possível explicação para a existência da síndrome do QT longo (LQTS) na ausência de uma mutação da sequência de codificação em *KCNQ1* (MANCINI-DINARDO et al, 2003).

Consideram as amostras e as variáveis em seu conjunto geradas no nosso estudo, houve a necessidade da utilização de método estatístico

multivariado, permitindo extrair informações complementares que uma análise univariada não conseguiria evidenciar. Dentre as técnicas de análise multivariada mais conhecidas escolheu-se a análise de componentes principais (PCA). A PCA é um método exploratório que auxilia na elaboração de hipóteses gerais a partir dos dados coletados, sendo também capaz de separar a informação importante da redundante e aleatória.

Realizou-se uma análise de componentes principais para cada gene estudado. Escolheu-se três variáveis eletrocardiográficas dentre as coletadas que segundo a literatura estariam mais relacionadas a cada gene/canal iônico específico (JOHANNESSEN et al; 2014). Também se incluiu a concentração de fármaco utilizado no tratamento (no caso, fluoxetina e sertralina) e a variável idade dos pacientes. Com essa metodologia, conseguiu-se correlacionar algumas variáveis, seja positiva, seja negativamente.

Através da análise de componentes principais, em relação ao gene *KCNE1*, pode-se supor que a variação de percentagem de metilação de alguns sítios afetaria o intervalo J-T<sub>pico</sub> e a relação QT<sub>c</sub>, observado nos exames de holter dos participantes do projeto. Sabemos que as propriedades funcionais de canais de potássio, compostos da subunidade alfa, expressa pelo gene *KCNQ1*, são altamente dependentes da associação com a subunidade beta, expressa pelo gene *KCNE1* (BARRO-SORIA et al, 2014). Mutações nas sequências de DNA dos genes *KCNQ1* ou *KCNE1* podem causar canalopatias congênitas, assim como arritmias cardíacas, epilepsia e surdez. Tais mutações interrompem a interação interna das subunidades alfa/beta. Dvir e colaboradores, em 2014, estudaram o efeito que mutações, tanto na subunidade alfa (gene *KCNQ1*) quanto na subunidade beta (gene *KCNE1*), isoladamente, afetariam no funcionamento do canal IKs. Tomados em conjunto, os dados encontrados revelam que a interface intracelular entre as subunidades alfa e beta é crucial para o funcionamento adequado do canal IKs.

Na análise de componentes principais, em relação ao gene *SCN5A*, levanta-se a hipótese que o aumento significativo de percentagem de metilação dos sítios CpG estudados afetaram as variáveis eletrocardiográficas QT<sub>c</sub>, QRS e J-T<sub>pico</sub>. Mutações genéticas na sequência de DNA do gene *SCN5A*, caracterizando uma das SQTl descritas na introdução, podem causar uma tendência para bradicardia (dependendo da idade), prolongamento do intervalo

QT e QTc (acima de  $478 \pm 52$  ms), prolongamento de segmento ST, início tardio da onda T e onda U proeminente (PEREZ-RIERA et al, 2018). Essas alterações eletrocardiográficas aumentam o risco de eventos cardíacos. Esses eventos podem resultar em palpitações, síncope, convulsões, morte súbita cardíaca (em repouso ou durante o sono, sem questões emocionais envolvidas) (PEREZ-RIERA et al, 2018). Eventos como palpitações e síncope foram declarados por pacientes participantes do estudo.

Utilizando-se da literatura relacionada ao câncer e a outras questões cardíacas apresentadas, pode-se associar o uso de antidepressivos com os aumentos de percentual de metilação encontrados em sítios CpG na região promotora, e assim, possíveis diminuições na expressão dos genes *KCNE1*, *KCNH2* e *SCN5A*. Em sequência, essa hipermetilação dos sítios CpG pode explicar a alteração do funcionamento dos canais iônicos cardíacos respectivos de cada gene, através dos exames de Holter realizados, e das alterações eletrocardiográficas observadas após 30 dias de tratamento com antidepressivos.

Até o presente momento, não há estudos envolvendo epigenética e o desenvolvimento de arritmias em pacientes psiquiátricos, utilizando a mesma metodologia, sendo assim, uma dificuldade para comparação de resultados. Mas por outro lado, faz-se inédito os dados obtidos no nosso estudo.

**#CONCLUSÃO**



## 7. Conclusão

A utilização de fluoxetina e sertralina, durante o período de 30 dias, pode ser responsável pelo aumento de percentagem de metilação de sítios CpG localizados na região promotora dos genes *KCNE1* e *SCN5A*, afetando as suas expressões e conseqüentemente o funcionamento dos canais cardíacos respectivos, e induzindo alterações eletrocardiográficas observadas em exame de Holter.

Com os resultados desse estudo, espera-se contribuir com dados de metilação que possivelmente os psicofármacos podem estar influenciando no controle epigenético da expressão dos genes avaliados, e conseqüentemente, sobre o desenvolvimento de arritmias e morte súbita associada ao tratamento. E que esse conhecimento possa colaborar e ser utilizado na prática clínica conjunta entre cardiologia, psiquiatria e medicina forense.

## **#REFERÊNCIAS**

## 8. Referências

ALDERS, M.; BIKKER, H.; CHRISTIAANS, I.; Long QT Syndrome. In: ADAM, M. P.; ARDINGER, H. H.; PAGON, R. A.; ET AL.; GeneReviews [internet]. Seattle (WA): Universidade de Washington, Seattle; 2018.

BAYLIN, S. B.; JONES, P. A.; A decade of exploring the cancer epigenome — biological and translational implications. **Nature Review Cancer**, v. 11, p. 726–734, 2011.

BARRO-SORIA, R.; REBOLLEDO, S.; LIIN, S. I.; PEREZ, M. E.; SAMPSON, K. J.; KASS, R. S.; LARSSON, H. P.; KCNE1 divides the voltage sensor movement in KCNQ1/KCNE1 channel into two steps. **Nature Communications**, v. 5, p. 3750, 2014.

BAZETT, H. C.; The time relations of the blood-pressure changes after excision of the adrenal glands, with some observations on blood volume changes. **Journal of Physiology**, v. 53, n. 5, p. 320–339, 1920.

BEHR, E. R.; RODEN, D.; Drug-induced arrhythmia: pharmacogenomic prescribing? **European Heart Journal**, v. 34, p. 89–95, 2013.

BETHGE, N.; HONNE, H.; HILDEN, V.; TROEN, G.; ELNAES, M.; LIESTOL, K.; HOLTE, H.; DELABIE, J.; SMELAND, E. B.; LIND, G.; Identification of highly methylation genes across various types of B-cell non-Hodgkin Lymphoma. *Plos One*, v. 8, n. 11, e79602, 2013.

CAO, Y.; LU, L.; LIU, M.; LI, X. C.; SUN, R. R.; ZHENG, Y.; ZHANG, P. Y.; Impact of epigenetics in the management of cardiovascular disease: a review. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**; v. 18, p. 3097-3104, 2014.

Centro de Educação e Pesquisa em Terapêutica (CERT) da Universidade do Arizona, disponível em: <http://crediblemeds.org/>. Acesso em: 20 dez. 2020.

CERRONE, M.; PRIORI, S. G.; Genetics of sudden death: focus on inherited Channelopathies. **European Heart Journal**, v. 32, 2109–2120, 2011.

CHRISTIAN, R.; SAAVEDRA, L.; GAYNES, B. N.; SHEITMAN, B.; WINES, R. C. M.; JONAS, D. E.; VISWANATHAN, M.; ELLIS, A. R.; WOODSELL, C.; CAREY, T. S.; Future Research Needs for First and Second Generation Antipsychotics for Children and Young Adults. Future Research Needs Paper No. 13. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality; 2012.

COUNPLAND C.; HILL, T.; MORRIS, R.; MOORE, M.; ARTHUR, A.; HIPPISEY-COX, J.; Antidepressant use and risk of cardiovascular outcomes in people aged 20 to 64: cohort study using primary care database. **The British Medical Journal**, 352:i135, 2016.

CSOKA, A. B.; SZYF, M.; Epigenetic side-effects of common pharmaceuticals: a potential new field in medicine and pharmacology. **Medical Hypotheses**, v. 73, p. 770-780, 2009

CUBEDDU, L. X.; Drug-induced inhibition and trafficking disruption of ion channels pathogenesis of QT abnormalities and drug-induced fatal arrhythmias. **Current Cardiology Reviews**, v. 12, p. 141-154, 2016.

DEATON, A. M.; BIRD, A.; CpG islands and the regulation of transcription. **Genes and Development**, v. 25, p. 1010–1022, 2011.

DESAI, N.; VENKATESH, C. R.; KUMAR, S. S.; QT prolongation and torsades de pointes with psychotropic agents. **Indian Journal of Psychiatry**, v. 57, n. 3, p. 305–308, 2015.

DOMINGO, A. M.; TORRES, P. I.; ACKERMAN, M. J.; Clinical and Genetic characteristics of long QT syndrome. **Revista Espanhola de Cardiologia**, v. 60, n. 7, p. 739-752, 2007.

DOMSCHKE, K.; TIDOW, N.; SCHWARTE, K.; DECKERT, J.; LESCH, K. P.; AROLT, V.; ZWANZGER, P.; BAUNE, B. T.; Serotonin transporter gene hypomethylation predicts impaired antidepressant treatment response. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 17, p. 1167-1176, 2014.

DOMSCHKE, K.; TIDOW, N.; SCHWARTE, K.; ZIEGLER, C.; LESCH, K. P.; DECKERT, J.; AROLT, V.; ZWANZGER, P.; BAUNE, B. T.; Pharmacoeugenetics of depression: no major influence of MAO-A DNA methylation on treatment response. **Jornal Neural Transmission**, v. 122, p. 99-108, 2015.

DUYGU, B; POELS, E. M.; MARTINS, P. A. C.; Genetics and epigenetics of arrhythmia and heart failure. **Frontiers in Genetics**, v. 4, e219, p. 1-15, 2013.

DVIR, M.; STRULOVICH, R.; SACHYANI, D.; COHEN, I. B. T.; HAITIN, Y.; DESSAUER, C.; PONGS, O.; KASS, R.; HIRSCH, J. A.; ATTALI, B.; Long QT mutations at the interface between KCNQ1 helix C and KCNE1 disrupt  $I_{KS}$  regulation by PKA and PIP<sub>2</sub>. *Journal of Cell Science*, v. 127, p. 3943-3955, 2014.

FATIMA, N.; SCHOOLEY JR, J. F.; CLAYCOMB, W. C.; FLAGG, T. P.; Promoter DNA methylation regulates murine SUR1 (Abcc8) and SUR2 (Abcc9) expression in HL-1 cardiomyocytes, **Plos One**, v. 7, n. 7, e41533, p. 1-10, 2012.

FEINBERG, A. P.; Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease. **Nature**, v. 447, n. 7143, p. 433–40, 2007.

FERREIRA, H. J.; ESTELLER, M. CpG Islands in Cancer: Heads, Tails, and Sides. **Methods in Molecular Biology**, v. 1766, p. 49–80, 2018.

FERRER, A.; LABAD, J.; SALVAT-PUJOL, N.; BARRACHINA, M.; COSTAS, J.; URRETAVIZCAYA, M.; ARRIBA-ARNAU, A.; CRESPO, J. M.; SORIANO-MAS, C.; CARRACEDO, A.; MENCHÓN, J. M.; SORIA, V.; BDNF genetic variants and methylation: effects on cognition in major depressive disorder. **Translational Psychiatry**, v. 9, p. 265, 2019.

FOULKS, J. M.; PARNELL, K. M.; NIX, R. N.; CHAU, S.; SWIERCZEK, K.; SAUNDERS, M.; WRIGHT, K.; HENDRICKSON, T. F.; HO, K. K.; MCCULLAR, M. V.; KANNER, S. B.; Epigenetic drug discovery: targeting DNA methyltransferases. **Journal of Biomolecular Screening**, v. 17, n. 1, p. 2-17, 2012.

FUNK, K. A.; BOSTWICK, J. R.; A comparison of the risk of QT prolongation among SSRIs. **The Annals of Pharmacotherapy**, v. 47, n. 10, p.1330-1341, 2013.

GARCIA-ELIAS, A.; BENITO, B.; Ion channel disorders and sudden cardiac death. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 692, 2018

GIBNEY, E. R.; NOLAN, C. M.; Epigenetics and gene expression. **Heredity**, v. 105, n. 1, p. 4-13, 2010.

GRUNDMANN, M.; KACIROVA, I.; URINOVSKA, R.; Therapeutic monitoring of psychoactive drugs - antidepressants: a review. **Biomedical Papers of The Medical Faculty of The University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia** v. 159, n. 1, p.35-43, 2015.

GUIDOTTI, A.; GRAYSON, D. R.; DNA methylation and demethylation as targets for antipsychotic therapy. **Dialogues Clinical Neuroscience**, v. 16, p. 419-429, 2014.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E.; Tratado de fisiología médica. 13<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

HAAS, J.; FRESE, K. S.; PARK, Y. J.; KELLER, A.; VOGEL, B.; LINDROTH, A. M.; WEICHENHAN, D.; FRANKE, J.; FISCHER, S.; BAUER, A.; MARQUART, S.; SEDAGHAT-HAMEDANI, F.; KAYVANPOUR, E.; KÖHLER, D.; WOLF, N. M.; HASSEL, S.; NIETSCH, R.; WIELAND, T.; EHLERMANN, P.; SCHULTZ, J. H.; DÖSCH, A.; MERELLES, D.; HARDT, S.; BACKS, J.; HOHEISEL, J. D.; PLASS, C.; KATUS, H. A.; MEDER, B.; Alterations in cardiac DNA methylation in human dilated cardiomyopathy. **EMBO Molecular Medicine**, v. 3, p. 413-429, 2013.

HOLLIDAY, R.; PUGH, J. E.; DNA modification mechanisms and gene activity during development. **Science**, v. 187, p. 226–232, 1975.

HOUSEMAN, E. A.; KIM, S.; KELSEY, K. T.; WIENCKE, J. K.; DNA Methylation in Whole Blood: Uses and Challenges. **Current Environmental Health Reports**, v. 2, n. 2, p. 145-154, 2015.

ISBISTER, G. K.; PAGE, C. B.; Drug induced QT prolongation: the measurement and assessment of the QT interval in clinical practice. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 76, n. 1, p. 48–57, 2013.

INBAR-FEIGENBERG, M.; CHOUFANI, S.; BUTCHER, D.T.; ROIFMAN, M.; WEKSBURG, R.; Basic concepts of epigenetics. **Fertility and Sterility**, v. 99, p. 607–615, 2013.

JACOBSON, I.; CARLSSON, L.; DUKE, G.; Beat by Beat QT interval variability, but not QT prolongation per se, predicts drug-induced torsades de pointes in the anaesthetized methoxamine-sensitized rabbit. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 63, p. 40–46, 2011.

JOHANNESSEN, L.; VICENTE, J.; GRAY, R. A.; GALEOTTI, L.; LORING, Z.; GARNETT, C. E.; FLORIAN, J.; UGANDER, M.; STOCKBRIDGE, N.; STRAUSS, D. G.; Improving the Assessment of Heart Toxicity for All New Drugs Through Translational Regulatory Science. *Clinical pharmacology & Therapeutics*, v. 95, n. 5, 2014.

JONES, P. A.; Functions of DNA methylation: islands, starts sites, gene bodies and beyond. **Nature**, v. 13, p. 484-492, 2012.

KAO, Y. H.; CHEN, Y. C.; CHUNG, C. C.; LIEN, G. S.; CHEN, S. A.; KUO, C. C.; CHEN, Y. J.; Heart failure and angiotensin II modulate atrial Pitx2c promoter methylation. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 40, p. 379–384, 2013.

KANE, J. M.; CORRELL, C. U.; Past and present progress in the pharmacologic treatment of schizophrenia. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 71, p. 1115–1124, 2010.

KIM, J.M.; STEWART, R.; KANG, H.J.; BAE, K.Y.; KIM, S.W.; SHIN, I.S.; HONG, Y.J.; AHN, Y.; JEONG, M.H.; YOON, J.S. BDNF methylation and depressive disorder in acute coronary syndrome: The K-DEPACS and EsDEPACS studies. **Psychoneuroendocrinology**, v. 62, p. 159–165, 2015.

KURDYUKOV, S., BULLOCK, M.; DNA Methylation analysis: choosing the right method. **Biology**, v. 5, n. 3, 2016

LAIRD, P. W.; The power and the promise of DNA methylation markers. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, n.4, p. 253-266, 2003.

LEE, H. A.; KIM, K. S.; HYUN, S. A.; PARK, S. G.; KIM, S. J.; Wide spectrum of inhibitory effects of sertraline on cardiac ion channels. **Korean Journal Physiology Pharmacology**, v. 16, n. 5, p. 327-332, 2012.

LECEA, M. C. C.; BASTERRA, J. M.; Boletín de Información Farmacoterapéutica de Navarra. Servicio Navarro de Salud, v. 21, n. 1, 2013.

LIU, T. G.; BROWN, B. S.; WU, Y.; ANTZELEVITCH, C.; KOWEY, P. R.; YAN, G. X.; Blinded validation of the isolated arterially perfused rabbit ventricular wedge in preclinical assessment of drug-induced proarrhythmias. **Heart Rhythm**, v. 3, p. 948–956, 2006.

LIU, C.; JIAO, C.; WANG, K.; YUAN, N.; DNA methylation and psychiatric disorders. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v. 157, p. 175-232, 2018.

LU, H. R.; VLAMINCKX, E.; VAN DE WATER, A.; GALLACHER, D. J.; Calmodulin antagonist W-7 prevents sparfloxacin-induced early afterdepolarizations (EADs) in isolated rabbit Purkinje fibers: Importance of beat-to-beat instability of the repolarization. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 17, p. 415–422, 2006.

LU, H. R.; GAN-XIN, Y.; GALLACHER, D. J.; A new biomarker – index of Cardiac Electrophysiological Balance (iCEB) – plays an important role in drug-induced cardiac arrhythmias: beyond QT-prolongation and Torsades de Pointes (TdPs). **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 68, p. 250–259, 2013.

MANCINI-DINARDO, D., STEELE, S. J., INGRAM, R. S., TILGHMAN, S. M.; A differentially methylated region within the gene *Kcnq1* functions as an imprinted promoter and silencer. **Human Molecular Genetics**, v. 12, p. 283–294, 2003.

MARASINE, N. R.; SANKHI, S.; LAMICHHANE, R.; MARASINI, N. R.; DANGI, N. B.; Use of antidepressants among patients diagnosed with depression: a scoping review. **BioMed Research Internacional**, ID6699028, 2021.

MATSUMURA, H.; NAKANO, Y.; OCHI, H.; ONOHARA, Y.; SAIRAKU, A.; TOKUYAMA, T.; TOMOMORI, S.; MOTODA, C.; AMIOKA, M.; HIRONOBE, N.; TOSHISHIGE, M.; TAKAHASHI, S.; IMAI, K.; SUEDA, T.; CHAYAMA, K.; KIHARA, Y.; H558R, a common *SCN5A* polymorphism, modifies the clinical phenotype of Brugada syndrome by modulating DNA methylation of *SCN5A* promoters. **Journal of Biomedical Science**, v. 24, n. 1, p. 91, 2017.

MATILLA, M. M.; VERA, A. B.; SANTORI, M.; BERMEJO, A.; LUIS, E. R.; GIL, R.; BERMEJO, A. M.; NETO, F. L.; HIRATA, M. H.; BRISIGHELLI, F.; PARAMO, M.; Genetic susceptibility in pharmacodynamics and pharmacokinetic pathways underlying drug-induced arrhythmia and sudden unexplained deaths. **Forensics Science International: Genetics**, v. 42, p. 203-212, 2019.

MEDVEDEVA, Y. A.; KHAMIS, A. M.; KULAKOVSKIY, I. V.; BA-ALAWI, W.; BHUYAN, M. S. I.; KAWAJI, H.; LASSMANN, T.; HABERS, M.; FORREST, A. R. R.; BAJIC, V. B.; The FANTOM consortium; Effects of cytosine methylation on transcription factor binding sites. **BMC Genomics**, v. 15, p. 119, 2013.

National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES II), disponível em: <https://www.cdc.gov/nchs/nhanes/index.htm>, acessado dia 04 de abril de 2019, às 13:34 h.

NICOGLUO, A.; Waddington's epigenetics or the pictorial meetings of development and genetics. **History and Philosophy of the Life Sciences**, v. 40, n. 4, p. 61, 2018.

NOBLE D. Conrad Waddington and the origin of epigenetics. **The Journal of Experimental Biology**, v. 218, p. 816-818, 2015.

OOI, S. K.; QIU, C.; BERNSTEIN, E.; LI, K.; JIA, D.; YANG, Z.; ERDJUMENT-BROMAGE, H.; TEMPST P, LIN SP, ALLIS CD, CHENG X, BESTOR TH. DNMT3L connects unmethylated lysine 4 of histone H3 to de novo methylation of DNA. **Nature**, v. 448, n. 7154, p. 714-717, 2007.

OUIDAH-AHIDOUCH, H.; RODAT-DESPOIX, L.; MATIFAT, F.; MORIN, G.; AHIDOUCH, A.; DNA methylation of channel-related genes in cancers. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1848, n. 10, p. 2621-2628, 2015.

PACHER, P.; KECSKEMETI, V.; Cardiovascular Side Effects of New Antidepressants and Antipsychotics: New Drugs, old Concerns? **Current Pharmaceutical Design**, v. 10, n. 20, p. 2463–2475, 2004.

PAN, Y.; LIU, G.; ZHOU, F.; SU, B.; LI, Y.; DNA methylation profiles in cancer diagnosis and therapeutics. **Clinical and Experimental Medicine**, v. 18, n. 1, p.1-14, 2018.

PÉREZ-RIERA, A.R.; BARBOSA-BARROS, R.; RAIMUNDO, R. D.; BARBOSA, M. P. C. R.; SORPRESO, I. C. E.; DE ABREU, L. C.; The congenital long QT syndrome Type 3: An update. **Indian Pacing and Electrophysiol Journal**, v. 18, p. 25-35, 2018.

PORTELA, A.; ESTELLER, M.; Epigenetic modifications and human disease, **Nature Biotechnology**, v. 28, n. 10, p. 1057-1068, 2010.

Projeto “Investigação de Translacional de Arritmias Cardíacas Secundárias e Canalopatias” (ITACA), disponível em: <https://www.itaca.edu.es/canales-potasio.htm>, acessado dia 02 de abril de 2019, às 10:34 h.

REID, I. C; STEWART, C. A.; How antidepressants work: new perspectives on the pathophysiology of depressive disorder. **British Journal of Psychiatry**, v. 178, p. 299-303, 2001.

RIGGS, A. D.; X inactivation, differentiation, and DNA methylation. **Cytogenetics and Cell Genetics**, v. 14, p. 9–25, 1975.

SABINO, F.; **O encontro marcado**. Rio de Janeiro: Record, 1956.



SANTARSIERI, D.; SCHWARTZ, T. L.; Antidepressant efficacy and side-effect burden: a quick guide for clinicians. **Drugs in Context**, v. 4, n. 212290, 2015.

SCHIANO, C.; VIETRI, M. T.; GRIMALDI, V.; PICASCIA, A.; PASCALE, M. R.; NAPOLI, C.; Epigenetic-related therapeutic challenges in cardiovascular disease. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 36, n. 4, p. 226-235, 2015.

Sociedade Brasileira de Cardiologia, disponível em: <http://www.sobrac.org/publico-geral/>, acessado dia 15 de outubro de 2015, às 10:51 h.

SZYF, M.; The dynamic epigenome and its implications in toxicology. **Toxicological Science**, v. 100, n. 1, p. 7-23, 2007.

USHIJIMA, T.; ASADA, K.; Aberrant DNA methylation in contrast with mutations. **Cancer Science**, v. 101, n. 2, p. 300-305, 2010.

VANDAEL E, MARYNISSEN T, REYNTENS J, SPRIET I, VANDENBERGHE J, WILLEMS R, FOULON V. Frequency of use of QT-interval prolonging drugs in psychiatry in Belgium. **International Journal of Clinical Pharmacy**. V. 36, n. 4, p. 757-765, 2014.

VICENTE, J.; JOHANNSEN, L.; HOSSEINI, M.; MASON, J. W.; SAGER, P. T.; PUEYO, E.; STRAUSS, D. G.; Electrocardiographic Biomarkers for Detection of Drug-Induced Late Sodium Current Block. **PLoS ONE**, v. 11, n. 12, 2016.

VICENTE, J.; ZUSTERZEEL, R.; JOHANNSEN, L.; MASON, J.; SAGER, P.; PATEL, V.; MATTA, M. K.; LI, Z.; LIU, J.; GARNETT, C.; STOCKBRIDGE, N.; ZINEH, I.; STRAUSS, D. G.; Mechanistic Model-Informed Proarrhythmic Risk Assessment of Drugs: Review of the "CiPA" Initiative and Design of a Prospective Clinical Validation Study. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 103, n. 1, p. 54-66, 2018.

WALTON, E.; LIU, J.; HASS, J.; WHITE, T.; SCHOLZ, M.; ROESSNER, V.; GOLLUB, R.; CALHOUN, V. D.; EHRLICH, S.; MB-COMT promoter DNA methylation is associated with working-memory processing in schizophrenia patients and healthy controls. **Epigenetics**, v. 9, p. 1101–1107, 2014.

WANG, Z.; WILSON, C. M.; MENDELEV, N.; GE, Y.; GALFALVY, H.; ELDER, G.; AHLERS, S.; YARNELL, A. M.; LOPRESTI, M. L.; KAMIMORI, G. H.; CARR, W.; HAGHIGHI, F.; Acute and Chronic Molecular Signatures and Associated Symptoms of Blast Exposure in Military Breachers. **Journal of Neurotrauma**, v. 37, p. 1221-1232, 2020.

WATERLAND, R. A. Assessing the effects of high methionine intake on DNA methylation. **Nutrition**, v. 136, p. 1706-1710, 2006.

WILDE, A. A. M.; AMIN, A. S.; Clinical spectrum of SCN5A mutations. Long QT Syndrome, Brugada Syndrome and Cardiomyopathy. **JACC: Clinical Electrophysiology**, v. 4, n. 5, p. 569-579, 2018.

YOSHINO, Y.; KAWABE, K.; MORI, T.; MORI, Y.; YAMAZAKI, K.; NUMATA, S.; NAKATA, S.; YOSHIDA, T.; IGA, J.; OHMORI, T.; UENO, S.; Low methylation rates of dopamine receptor D2 gene promoter sites in Japanese schizophrenia subjects. **World Journal Biology Psychiatry**, v. 17, n.6, p. 449-56, 2016.

ZAINA, S.; HEYN, H.; CARMONA, F. J.; VAROL, N.; SAYOLS, S.; CONDOM, E.; RAMIREZ-RUZ, J.; GOMEZ, A.; GONÇALVES, I.; MORAN, S.; ESTELLER, M.; DNA methylation map of human atherosclerosis. **Circulation Cardiovascular Genetics**, v. 7, n. 5, p. 692-700, 2014.

ZAREBA, W.; Drug induced QT prolongation. **Cardiology Journal**, v. 14, n. 6, p. 523-533, 2007

ZHANG, Z.; CHEN, Y.; TANG, J; XIE, X.; Frequent loss expression of dab2 and promotor hypermethylation in human cancers: a meta-analysis and systematic review. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, v. 30, n. 2, p. 432-7, 2014.

ZHANG, L.; LU, Q.; CHANG, C.; Epigenetics in Health and Disease. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 1253, p3-55, 2020.

ZHOU, J.; LI, M.; WANG, X.; HE, Y.; XIA, Y.; SWEENEY, J. A.; KOPP, R. F.; LIU, C.; CHEN, C.; Drug Response-Related DNA Methylation Changes in Schizophrenia, Bipolar Disorder, and Major Depressive Disorder. **Frontiers in neuroscience**, v. 15, e674273, 2021.

**#ANEXOS**

## 9. Anexo

### Anexo 1 – Termo de Consentimento livre e esclarecido (TCLE)

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE  
SÃO PAULO-HCFMUSP**

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

##### DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA

1. NOME: .....

SEXO: M  F

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

##### DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Farmacoepigenética no desenvolvimento de arritmias em pacientes em uso de antipsicóticos e antidepressivos

PESQUISADOR: Francisco Lotufo Neto

CARGO/FUNÇÃO: Docente FMUSP

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 36108

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto de Psiquiatria

2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO  RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO  RISCO MAIOR

3. DURAÇÃO DA PESQUISA: 12 meses

Rubrica do participante da pesquisa \_\_\_\_\_

Rubrica do pesquisador \_\_\_\_\_

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE  
SÃO PAULO-HCFMUSP**

1 – Convite para participação voluntária e objetivos: Você é atendido no Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da FMUSP e toma medicamentos antidepressivos ou antipsicóticos. Você já está participando da pesquisa "Predisposição genética de arritmias e morte súbita em pacientes em uso de antipsicóticos e antidepressivos" onde serão realizados questionários, eletrocardiograma (exame que analisa os batimentos do coração) e coleta de sangue para a realização de exames genéticos.

Algumas vezes esses medicamentos podem dar pequenas alterações no eletrocardiograma (exame que analisa os batimentos do coração). Às vezes estas alterações podem estar relacionadas a arritmias no coração (modificações no ritmo do batimento do coração) e morte súbita (morte instantânea, inesperada, repentina e não acidental, na maioria das vezes de origem cardíaca). Esta pesquisa tem o objetivo de estudar se o desenvolvimento destas alterações cardíacas pode ser causado pelo uso dos medicamentos antidepressivos ou antipsicóticos que podem modificar fatores epigenéticos (teste genético que irá verificar se fatores ambientais como os medicamentos podem afetar o DNA e o RNA). Os resultados deste estudo podem auxiliar a melhorar a qualidade de vida dos pacientes: poderemos identificar os pacientes que possuem esta tendência genética e que, quando tratados com estas medicações, podem desenvolver eventos cardíacos sérios. Futuramente, os resultados desta pesquisa poderão ajudar no diagnóstico e prevenção dos eventos cardíacos e também no desenvolvimento de tratamentos mais adequados a estes pacientes. Você já está participando do projeto "Predisposição genética de arritmias e morte súbita em pacientes em uso de antipsicóticos e antidepressivos", onde já são feitos exames de eletrocardiograma e uma coleta de sangue para exames genéticos. Na pesquisa atual realizaremos, além dos exames anteriores, um exame de Holter de 24 horas (exame que analisa os batimentos do coração durante 24 horas). Também, será feita uma colheita adicional de sangue de 12 mL que será utilizado nas análises genéticas e na dosagem de fármacos. Se você não quiser participar desta pesquisa nada será modificado em seu tratamento.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros: Se você aceitar participar da pesquisa, serão realizados os testes genéticos para verificar se os medicamentos podem afetar o DNA e o RNA. Serão analisados genes envolvidos na atividade elétrica cardíaca (KCNQ1, KCNH2, KCNJ2, KCNE1 e SCN5A) e outros genes que participam do metabolismo dos medicamentos. Além disso, serão analisados pequenos RNAs humanos mais abundantes

Rubrica do participante da pesquisa\_\_\_\_\_

Rubrica do pesquisador\_\_\_\_\_

e mais expressos. Estes exames genéticos serão realizados no Laboratório de Investigação Molecular em Cardiologia do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia e no Laboratório de Biologia Molecular Aplicada ao Diagnóstico da Universidade de São Paulo, ambos coordenados pelo Prof. Dr. Mário Hiroyuki Hirata e localizados na cidade de São Paulo.

### 3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados:

Na pesquisa que você já está participando são previstos questionário, eletrocardiogramas e coleta de sangue. Na pesquisa que você está sendo convidado a participar, serão realizados adicionalmente exames de Holter antes e após do início da sua medicação e uma colheita adicional de 16 mL sangue. O sangue será colhido na veia de um dos seus braços, como são feitos os exames de sangue de rotina, por enfermeiras do próprio Instituto de Psiquiatria. Ao total serão colhidos 28 mL de sangue para ambas as pesquisas que serão utilizadas para os testes genéticos e para a dosagem dos medicamentos.

### HOLTER

### DOSAGEM DE FÁRMACOS

### ANÁLISES EPIGENÉTICAS

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3: Os possíveis desconfortos e riscos esperados se referem principalmente à colheita de sangue. Podem ocorrer sintomas como a formação de hematomas, flebite, breve dor, que são raros e sem maiores complicações clínicas. Algumas pessoas têm vertigens quando coletam sangue, mas os sintomas desaparecem quando a pessoa se deita. No exame de Holter podem ocorrer pequenas irritações na pele devido ao micropore que faz a fixação do equipamento ao paciente. Este sintoma desaparece no final do exame quando o Holter é retirado.

### 5 – Benefícios para o participante da pesquisa:

No momento da pesquisa, o eletrocardiograma nos permitirá saber se você tem risco de desenvolver uma arritmia cardíaca. Futuramente, os resultados do estudo poderão auxiliar na melhoria da qualidade de vida dos pacientes, detectando a predisposição a riscos de eventos cardíacos graves de forma precoce em pacientes psiquiátricos. Os resultados desta pesquisa poderão ajudar no diagnóstico e prevenção dos eventos cardíacos e também no desenvolvimento de tratamentos mais adequados a estes pacientes.

6 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. **Francisco Lotufo Neto**, que pode ser encontrado no endereço Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da FMUSP, sala 4 primeiro andar, ala sul, espaço do Departamento de Psiquiatria, telefone 2661-6988. Se você tiver

Rubrica do participante da pesquisa\_\_\_\_\_

Rubrica do pesquisador\_\_\_\_\_

alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 – e-mail: marcia.carvalho@hc.fm.usp.br.

7 – Será garantida a retirada de consentimento de guarda dos dados genéticos humanos a qualquer momento e desistência da participação no estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição. A retirada do consentimento, a qualquer tempo, deve ser formalizada em manifestação por escrito e assinada pelo participante da pesquisa, com validade a partir da data da comunicação da decisão.

8 – Será garantido o direito de confidencialidade: As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros participantes da pesquisa, não sendo divulgada a identificação de nenhum participante da pesquisa.

9 – Será garantido o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

10 – Não há compensação financeira relacionada à sua participação. Também, não há despesas pessoais para o participante da pesquisa em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Quando forem necessárias despesas devido a atividades extras da pesquisa, estas serão ressarcidas pela própria pesquisa.

11 – O participante da pesquisa terá assistência imediata gratuita em situações em que dela necessite e assistência integral para atender complicações e danos decorrentes, direta ou indiretamente, da pesquisa.

12 – O pesquisador tem o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa. Caso o material coletado seja requerido para utilização em uma nova pesquisa, você será contatado para a análise e acordo de um novo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

13 – O tempo de armazenamento do material será autorizado pela Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas (CAPPesq): O material coletado será armazenado por cinco anos, após o término da pesquisa.

14 – O estudo poderá ser interrompido mediante aprovação prévia do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) quanto à interrupção ou quando for necessário, para que seja salvaguardado o participante da pesquisa. Neste caso, o CEP será comunicado posteriormente na primeira oportunidade.

Rubrica do participante da pesquisa\_\_\_\_\_

Rubrica do pesquisador\_\_\_\_\_

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE  
SÃO PAULO-HCFMUSP**

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Farmacoepigênica no desenvolvimento de arritmias em pacientes em uso de antipsicóticos e antidepressivos".

Eu discuti com o Dr. Francisco Lotufo Neto sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste serviço.

Se você aceitar participar da pesquisa, este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será assinado em duas vias, sendo uma via retida pelo pesquisador responsável e outra com o participante da pesquisa.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante da pesquisa

Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

*(Somente para o responsável do projeto)*

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante da pesquisa ou representante legal para a participação neste estudo.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável pelo estudo

Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Rubrica do participante da pesquisa \_\_\_\_\_

Rubrica do pesquisador \_\_\_\_\_



## Anexo 2 – Questionário clínico aplicado aos pacientes do estudo



INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA  
 Laboratório de Investigação Molecular em Cardiologia  
 INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA DE SANTIAGO DE COMPOSTELA  
 INSTITUTO DE PSIQUIATRIA – HCFMUSP



**Projeto de Pesquisa:** “Predisposição genética ao desenvolvimento de arritmias e morte súbita em pacientes em tratamento com antipsicóticos e antidepressivos”

### Questionário clínico

Data da entrevista: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Diagnóstico cardiológico: \_\_\_\_\_

Diagnóstico psiquiátrico: \_\_\_\_\_

Hospital/Centro: \_\_\_\_\_ Registro no IPq: \_\_\_\_\_ Número no projeto: \_\_\_\_\_

Responsável coleta: \_\_\_\_\_

#### 1. Identificação do Paciente

1.1 Nome completo: \_\_\_\_\_

1.2 Sexo: masculino ( ) feminino ( )

1.3 Data de Nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

1.4 Origem geográfica (cidade onde nasceu e reside): \_\_\_\_\_

1.5 Raça: Branca ( ) Parda ( ) Negra ( ) Asiática ( ) Outro ( ) \_\_\_\_\_

1.5 Endereço Residencial: \_\_\_\_\_

1.6 Telefones: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

1.7 Escolaridade: Ensino fundamental ( ) Ensino médio ( ) Ensino superior ( )

Completo ( ) Incompleto ( )

#### 2. Antecedentes Pessoais

##### 2.1 Antecedentes Relevantes

| Critérios de exclusão gerais   |                 |                   |                  |
|--|-----------------|-------------------|------------------|
| Insuficiência cardíaca   | não ( ) sim ( ) |                   |                  |
| IAM prévio   | não ( ) sim ( ) | Data: ___/___/___ |                  |
| Incluir pacientes com resposta positiva somente se posterior a medicação |                 |                   |                  |
| Usa marca-passo?   | não ( ) sim ( ) | Data: ___/___/___ | Motivo:          |
| CDI  | não ( ) sim ( ) | Data: ___/___/___ | Motivo:          |
| Arritmias  | não ( ) sim ( ) | Data: ___/___/___ | Motivo:          |
| Antecedentes pessoais gerais   |                 |                   |                  |
| Outros antecedentes cardiológicos  | não ( ) sim ( ) | Data: ___/___/___ | Qual:<br>Motivo: |
| Transfusão sanguínea prévia  | não ( ) sim ( ) |                   |                  |
| Insuficiência renal  | não ( ) sim ( ) |                   |                  |
| Disfunção hepática   | não ( ) sim ( ) | Data: ___/___/___ | Qual:            |
| Hipertensão arterial   | não ( ) sim ( ) |                   |                  |
| Obesidade  | não ( ) sim ( ) |                   |                  |
| Diabetes   | não ( ) sim ( ) |                   | Tipo:            |
| Dislipidemia   | não ( ) sim ( ) |                   | Qual:            |
| Distúrbios do Sono   | não ( ) sim ( ) |                   | Qual:            |

Questionário: “Predisposição genética ao desenvolvimento de arritmias e morte súbita em pacientes em tratamento com antipsicóticos e antidepressivos”



**2.2 Problemas cardíacos devidos a tratamentos prévios: não ( ) sim ( )**

Se sim:

Medicamento: \_\_\_\_\_ Efeito adverso: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_  
 Medicamento: \_\_\_\_\_ Efeito adverso: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_  
 Medicamento: \_\_\_\_\_ Efeito adverso: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

**2.3 Hábitos e Vícios**

- Restrições alimentares:

- Bebida Alcoólica: não ( ) sim ( ) Se SIM: Quantidade? \_\_\_\_\_

- Tabagismo: não ( ) sim ( ) Se SIM: Quantidade? \_\_\_\_\_

- Drogas ilícitas: não ( ) sim ( ) Se SIM: Tipo de droga \_\_\_\_\_

- Atividade Física: não ( ) sim ( ) Se SIM: Periodicidade: \_\_\_\_\_ x semana.

Tipo de atividade Física: \_\_\_\_\_

**2.4 Sintomas:**

- Vômitos: não ( ) sim ( ) Se SIM: Frequência: \_\_\_\_\_

- Dispnéia: não ( ) sim ( ) Se SIM: Frequência: \_\_\_\_\_

- Angina: não ( ) sim ( ) Se SIM: Frequência: \_\_\_\_\_

- Palpitações: não ( ) sim ( ) Se SIM: Frequência: \_\_\_\_\_

- Tonturas: não ( ) sim ( ) Se SIM: Frequência: \_\_\_\_\_

- Síncopes: não ( ) sim ( ) Se SIM: Frequência: \_\_\_\_\_

- PCR: não ( ) sim ( ) Se SIM: Frequência: \_\_\_\_\_

- Outros: \_\_\_\_\_

**3 – Medicamentos em Uso (incluir todos os tipos de medicamentos, incluindo uso de hormônios)**

**ATENÇÃO:** No 1º atendimento o paciente não estará fazendo uso de medicação mesmo assim, anotar as informações se estiver em uso de medicação. Devemos coletar estas informações no 2º atendimento.

Paciente sabe referir os medicamentos que usa? não ( ) sim ( )

| MEDICAMENTO | DOSE | mg | mc | HORA OU FREQUÊNCIA DE USO | TEMPO DE USO |
|-------------|------|----|----|---------------------------|--------------|
|             |      |    |    |                           |              |
|             |      |    |    |                           |              |
|             |      |    |    |                           |              |
|             |      |    |    |                           |              |
|             |      |    |    |                           |              |
|             |      |    |    |                           |              |
|             |      |    |    |                           |              |
|             |      |    |    |                           |              |
|             |      |    |    |                           |              |
|             |      |    |    |                           |              |



**4 – Antecedentes Familiares**

- Hipertensão arterial: não ( ) sim ( ) Parentesco: \_\_\_\_\_
- Diabetes: não ( ) sim ( ) Parentesco: \_\_\_\_\_
- Dislipidemia: não ( ) sim ( ) Parentesco: \_\_\_\_\_
- Arritmias cardíacas não ( ) sim ( ) Parentesco: \_\_\_\_\_
- QT longo congênito não ( ) sim ( ) Parentesco: \_\_\_\_\_
- AVC: não ( ) sim ( ) Parentesco: \_\_\_\_\_
- IAM: não ( ) sim ( ) Parentesco: \_\_\_\_\_
- DAC: não ( ) sim ( ) Parentesco: \_\_\_\_\_
- Cardiomiopatias:
  - Displasia arritmogênica de ventrículo direito: não ( ) sim ( )
  - Miocardiomatia hipertrófica: não ( ) sim ( )
  - Outras: não ( ) sim ( )
  - Se SIM:
    - Qual \_\_\_\_\_ Grau de parentesco: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_
    - Qual \_\_\_\_\_ Grau de parentesco: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_
    - Qual \_\_\_\_\_ Grau de parentesco: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_
- Morte súbita (Incluir: recém nascidos ou no berço e durante o sono ou esforço físico): não ( ) sim ( )
  - Se SIM:
    - Grau de parentesco: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_
    - Grau de parentesco: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_
    - Grau de parentesco: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

**5 – Avaliação física:**

Peso: \_\_\_\_\_ Kg Altura: \_\_\_\_\_ m Pressão Arterial: \_\_\_\_\_ mmHg

**6 – Observações:**

---

---

---

---

---

---



A preencher pelo médico ou com prontuário:

7 – Exames diagnósticos:

**ANTES DA MEDICAÇÃO:**

Holter A: Data do exame: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

|   |                                |
|---|--------------------------------|
| <b>Totais:</b>                                    | <b>Frequência Cardíaca:</b>    |
| Duração (h):                                      | Min:        bpm às             |
| Nº Total de QRS's:                                | Média:     bpm                 |
| Ectópicos Ventriculares:                          | Máx:       bpm às              |
| Ectópicos Supraventriculares:                     | F.C >= 120 bpm durante       h |
| Artefatos (%):                                    | F.C. <= 50 bpm                 |
| <b>Arritmias Ventriculares:</b>                   | <b>Pausas</b>                  |
| Isoladas, das quais em 0 episódios de Bigeminismo | Pausas (>= 2,0 s.)             |
| Episódios em Pares                                |                                |
| Taquicardias                                      |                                |
| <b>Arritmias Supraventriculares:</b>              | <b>Depressão do ST</b>         |
| Isoladas  | C1:        episódios           |
| Pareadas  | C2:        episódios           |
| Taquicardias                                      | C3:        episódios           |
|   | <b>Elevação do ST</b>          |
|   | C1:        episódios           |
|   | C2:        episódios           |
|   | C3:        episódios           |

- Ritmo durante holter: Ritmo sinusal ( ) Fibrilação atrial ( ) Flutter atrial ( )
- Ritmo atrial ectópico: ( ) Ritmo juncional ( ) outro ( ) Qual? \_\_\_\_\_
- Extrassístoles supraventriculares: ausentes ( ) presentes ( )  
Quantas isoladas? \_\_\_\_\_ Quantas pareadas? \_\_\_\_\_
- Bigeminismo Supraventricular: ausente ( ) presente ( )
- Taquicardia supraventricular: ausente ( ) presente ( ) Qual tipo? \_\_\_\_\_
- Fibrilação atrial paroxística: ausente ( ) presente ( )
- Flutter atrial paroxística: ausente ( ) presente ( )
- Extrassístoles ventriculares: ausentes ( ) presentes ( )  
Quantas isoladas? \_\_\_\_\_ Quantas pareadas? \_\_\_\_\_
- Bigeminismo Ventricular: ausente ( ) presente ( )
- Taquicardia ventricular: ausente ( ) presente ( ) Qual tipo? \_\_\_\_\_  
Quantas? \_\_\_\_\_
- Menor QTc durante o holter: \_\_\_\_\_
- Maior QTc durante o holter: \_\_\_\_\_



**INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA**  
**Laboratório de Investigação Molecular em Cardiologia**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA DE SANTIAGO DE COMPOSTELA**  
**INSTITUTO DE PSIQUIATRIA – HCFMUSP**



**ECG A:** Data do exame: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Diagnósticos:

FC: \_\_\_\_\_ bpm

P: \_\_\_\_\_ s

iPR: \_\_\_\_\_ s

QRS: \_\_\_\_\_ s

QT: \_\_\_\_\_ s

QTc: \_\_\_\_\_ s

RR: \_\_\_\_\_ s

SAP: \_\_\_\_\_ graus

SAQRS: \_\_\_\_\_ graus

SAT: \_\_\_\_\_ s

T pico - T fim: \_\_\_\_\_

T pico - T fim/QT: \_\_\_\_\_

Intervalo QT alterado: não ( ) sim ( )

Dispersão do QT: \_\_\_\_\_

Medicação no momento do ECG:

1. \_\_\_\_\_ / Posologia: \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_ / Posologia: \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_ / Posologia: \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_ / Posologia: \_\_\_\_\_
5. \_\_\_\_\_ / Posologia: \_\_\_\_\_
6. \_\_\_\_\_ / Posologia: \_\_\_\_\_

**Teste Ergométrico:** Data do exame: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Diagnóstico:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Ecocardiograma:** Data do exame: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Diagnóstico:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



**30 DIAS APÓS O INÍCIO DA MEDICAÇÃO:**

Holter B: Data do exame: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

| Totais:                       | Frequência Cardíaca:           |
|-------------------------------|--------------------------------|
| Duração (h):                  | Min:        bpm às             |
| Nº Total de QRS's:            | Média:     bpm                 |
| Ectópicos Ventriculares:      | Máx:       bpm às              |
| Ectópicos Supraventriculares: | F.C >= 120 bpm durante       h |
| Artefatos (%):                | F.C. <= 50 bpm                 |

| Arritmias Ventriculares:                          | Pausas             |
|---|--------------------|
| Isoladas, das quais em 0 episódios de Bigeminismo | Pausas (>= 2,0 s.) |
| Episódios em Pares                                |                    |
| Taquicardias                                      |                    |

| Arritmias Supraventriculares: | Depressão do ST      |
|-------------------------------|----------------------|
| Isoladas                      | C1:        episódios |
| Pareadas                      | C2:        episódios |
| Taquicardias                  | C3:        episódios |

|  | Elevação do ST       |
|--|----------------------|
|  | C1:        episódios |
|  | C2:        episódios |
|  | C3:        episódios |

- Ritmo durante holter: Ritmo sinusal ( ) Fibrilação atrial ( ) Flutter atrial ( )
- Ritmo atrial ectópico: ( ) Ritmo juncional ( ) outro ( ) Qual? \_\_\_\_\_
- Extrasístoles supraventriculares: ausentes ( ) presentes ( )  
Quantas isoladas? \_\_\_\_\_ Quantas pareadas? \_\_\_\_\_
- Bigeminismo Supraventricular: ausente ( ) presente ( )
- Taquicardia supraventricular: ausente ( ) presente ( ) Qual tipo? \_\_\_\_\_
- Fibrilação atrial paroxística: ausente ( ) presente ( )
- Flutter atrial paroxística: ausente ( ) presente ( )
- Extrasístoles ventriculares: ausentes ( ) presentes ( )  
Quantas isoladas? \_\_\_\_\_ Quantas pareadas? \_\_\_\_\_
- Bigeminismo Ventricular: ausente ( ) presente ( )
- Taquicardia ventricular: ausente ( ) presente ( ) Qual tipo? \_\_\_\_\_  
Quantas? \_\_\_\_\_
- Menor QTc durante o holter: \_\_\_\_\_
- Maior QTc durante o holter: \_\_\_\_\_



**INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA**  
**Laboratório de Investigação Molecular em Cardiologia**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA DE SANTIAGO DE COMPOSTELA**  
**INSTITUTO DE PSIQUIATRIA – HCFMUSP**



**ECG B:** Data do exame: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Diagnósticos:

FC: \_\_\_\_\_ bpm

P: \_\_\_\_\_ s

iPR: \_\_\_\_\_ s

QRS: \_\_\_\_\_ s

QT: \_\_\_\_\_ s

QTc: \_\_\_\_\_ s

RR: \_\_\_\_\_ s

SAP: \_\_\_\_\_ graus

SAQRS: \_\_\_\_\_ graus

SAT: \_\_\_\_\_ s

T pico - T fim: \_\_\_\_\_

T pico - T fim/QT: \_\_\_\_\_

Intervalo QT alterado: não ( ) sim ( )

Dispersão do QT: \_\_\_\_\_

Medicação no momento do ECG:

1. \_\_\_\_\_ / Posologia: \_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_ / Posologia: \_\_\_\_\_

3. \_\_\_\_\_ / Posologia: \_\_\_\_\_

4. \_\_\_\_\_ / Posologia: \_\_\_\_\_

5. \_\_\_\_\_ / Posologia: \_\_\_\_\_

6. \_\_\_\_\_ / Posologia: \_\_\_\_\_

**Teste Ergométrico:** Data do exame: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Diagnóstico:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Ecocardiograma:** Data do exame: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Diagnóstico:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Análise bioquímica:**

Parâmetro alterado:

Valor alterado:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Questionário: "Predisposição genética ao desenvolvimento de arritmias e morte súbita em pacientes em tratamento com antipsicóticos e antidepressivos"



**INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA**  
**Laboratório de Investigação Molecular em Cardiologia**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA DE SANTIAGO DE COMPOSTELA**  
**INSTITUTO DE PSIQUIATRIA – HCFMUSP**



**Outros Exames:**

Tipo: \_\_\_\_\_ Data do exame: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Resultado: \_\_\_\_\_

Tipo: \_\_\_\_\_ Data do exame: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Resultado: \_\_\_\_\_

**8 - Observações:**

---

---

---

---

---

---

---



### Anexo 3 – Dosagem dos fármacos e doses consideradas terapêuticas

Quadro 1 – Psicofármacos utilizados pelos pacientes incluídos no estudo e seus respectivos níveis terapêuticos e tóxicos:

| Medicamento               | Nível Terapêutico | Nível Tóxico      |
|---------------------------|-------------------|-------------------|
| Cloridrato de Buspirona   | 1 a 4 ng/mL       | 8 ng/mL           |
| Citalopram                | 50 a 110 ng/mL    | 220 ng/mL         |
| Clonazepam                | 4 a 80 ng/mL      | 100 ng/mL         |
| Fluoxetina                | 100 a 450 ng/mL   | 1500 a 2000 ng/mL |
| Haloperidol               | 5 a 15 ng/mL      | 50 a 500 ng/mL    |
| Metilfenidato             | 13 a 22 ng/mL     | 44 ng/mL          |
| Nortriptilina             | 120 a 250 ng/mL   | 500 ng/mL         |
| Quetiapina                | 75 a 500 ng/mL    | ND                |
| Risperidona               | 3 a 30 ng/mL      | 80 ng/mL          |
| Sertralina                | 10 a 150 ng/mL    | 300 ng/mL         |
| Cloridrato de Trazodona   | 700 a 1000 ng/mL  | 1200 ng/mL        |
| Topiramato                | 2 a 8 µg/mL       | 16 µg/mL          |
| Venlafaxina               | 100 a 400 ng/mL   | 800 ng/mL         |
| Ziprazidona               | 50 a 200 ng/mL    | 400 ng/mL         |
| Hemitartarato de Zolpidem | 80 a 150 ng/mL    | 300 ng/mL         |

Legenda: ND = não determinado

Quadro 2 - Dosagem dos psicofármacos utilizados pelos pacientes incluídos no estudo:

| Número APS | Iniciais | Medicamento  | Dosagem                                       |
|------------|----------|--|---|
| APS 004    | GAF      | Sertralina   | 21,14 ng/mL                                   |
| APS 005    | RPL      | Fluoxetina   | < LDD   |
| APS 006    | GGR      | Fluoxetina   | 53,83 ng/mL                                   |
| APS 007    | WLOP     | Zolpidem<br>Quetiapina   | 27,80 ng/mL<br>47,24 ng/mL                    |
| APS 008    | MOP      | Fluoxetina   | 42,24 ng/mL                                   |
| APS 009    | NSM      | Sertralina<br>Clonazepam   | < LDD<br>< LDD                                |
| APS 010    | AOB      | Topiramato<br>Sertralina   | < LDD<br>< LDD                                |
| APS 011    | RACM     | Topiramato   | 1,06 µg/mL                                    |
| APS 012    | MFLG     | Fluoxetina   | 55,27 ng/mL                                   |
| APS 013    | JLB      | Sertralina   | 20,22 ng/mL                                   |
| APS 014    | FAS      | Sertralina   | 23,07 ng/mL                                   |
| APS 015    | LSC      | Zolpidem   | 19,09 ng/mL                                   |
| APS 017    | ES       | Ritalina   | 1,99 ng/mL                                    |
| APS 019    | AER      | Fluoxetina   | 44,52 ng/mL                                   |
| APS 020    | JYG      | Fluoxetina<br>Zolpidem<br>Cloridrato de trazodona<br>Cloridrato de buspirona | 42,31 ng/mL<br>< LDD<br>740,27 ng/mL<br>< LDD |
| APS 021    | AACC     | Sertralina   | 7,85 ng/mL                                    |
| APS 022    | PHLM     | Fluoxetina<br>Zolpidem   | 48,39 ng/mL<br>< LDD                          |
| APS 023    | TFC      | Sertralina   | 51,26 ng/mL                                   |
| APS 024    | VFPM     | Fluoxetina   | 50,76 ng/mL                                   |
| APS 025    | CAC      | Citalopram<br>Zolpidem   | 105,42 ng/mL<br>17,24 ng/mL                   |
| APS 026    | ATC      | Venlafaxina<br>Clonazepam  | 70,76 ng/mL<br>8,83 ng/mL                     |
| APS 027    | RCSC     | Fluoxetina<br>Zolpidem   | 40,54 ng/mL<br>< LDD                          |
| APS 028    | DASQ     | Sertralina   | 26,73 ng/mL                                   |
| APS 029    | DC       | Sertralina   | 10,60 ng/mL                                   |
| APS 030    | FCO      | Topiramato   | 0,41 µg/mL                                    |
| APS 031    | GFAC     | Fluoxetina   | 51,84 ng/mL                                   |
| APS 032    | ASS      | Nortriptilina<br>Ziprazidona   | < LDD<br>34,74 ng/mL                          |
| APS 033    | MRS      | Fluoxetina   | 40,17 ng/mL                                   |
| APS 034    | ELMB     | Sertralina<br>Risperidona<br>Zolpidem  | 28,66 ng/mL<br>24,41 ng/mL<br>47,76 ng/mL     |
| APS 035    | VHPR     | Sertralina   | 15,62 ng/mL                                   |
| APS 036    | LLI      | Fluoxetina   | 43,74 ng/mL                                   |
| APS 037    | MCP      | Fluoxetina   | 50,60 ng/mL                                   |
| APS 038    | LCBR     | Sertralina   | 14,19 ng/mL                                   |
| APS 040    | MDLD     | Fluoxetina   | 64,19 ng/mL                                   |
| APS 041    | ACP      | Sertralina   | 13,66 ng/mL                                   |
| APS 042    | TFBF     | Fluoxetina<br>Zolpidem   | < LDD<br>< LDD                                |
| APS 045    | LZPL     | Sertralina   | 15,44 ng/mL                                   |
| APS 046    | TGS      | Sertralina   | 14,54 ng/mL                                   |
| APS 047    | FLS      | Sertralina   | 19,69 ng/mL                                   |
| APS 051    | GMM      | Sertralina   | 10,56 ng/mL                                   |
| APS 053    | WBA      | Fluoxetina   | 55,76 ng/mL                                   |
| APS 054    | DOV      | Fluoxetina   | 47,22 ng/mL                                   |
| APS 057    | MAMT     | Fluoxetina   | 60,50 ng/mL                                   |

Legenda: <LDD – menor que limite de detecção

Quadro 3 – Dosagem dos psicofármacos utilizados pelos pacientes incluídos no estudo:

| Número APS | Iniciais | Medicamento                 | Dosagem                   |
|------------|----------|-----------------------------|---------------------------|
| APS 15     | LSC      | Sertralina                  | < LDD                     |
| APS 58     | SCF      | Fluoxetina<br>Norfluoxetina | 77,4ng/mL<br>401,9 ng/mL  |
| APS 59     | NTSS     | Sertralina                  | < LDD                     |
| APS 60     | SHP      | Sertralina                  | < LDD                     |
| APS 61     | FJHS     | Fluoxetina<br>Norfluoxetina | 121,1ng/mL<br>140,4 ng/mL |
| APS 62     | TCSL     | Fluoxetina<br>Norfluoxetina | 175,0ng/mL<br>160,5ng/mL  |

Legenda: < LDD – Menor que o Limite de detecção

**Anexo 4 – Dados tabelados dos percentis de metilação dos sítios CpG analisados**

**Tabela 1.** Percentual médio de metilação dos sítios CpG dos genes escolhidos para análise, tanto antes da medicação (tempo A) e quanto após um mês sob tratamento (tempo B), dos pacientes incluídos no estudo:

| Gene         | Pacientes incluídos no estudo<br>N = 34 |             |            |       |
|--------------|---|-------------|------------|-------|
|              | Tempo A (%)                             | Tempo B (%) | <i>p</i> * |       |
| <b>KCNE1</b> | CpG44                                   | 35,3        | 41,3       | 0,001 |
|              | CpG45                                   | 41,9        | 46,3       | 0,007 |
|              | CpG46                                   | 43,9        | 45,8       | 0,032 |
|              | CpG54                                   | 66,4        | 68,6       | 0,101 |
|              | CpG55                                   | 95,6        | 96,2       | 0,260 |
|              | CpG56                                   | 96          | 95,9       | 0,716 |
|              | CpG57                                   | 87,9        | 88,3       | 0,390 |
|              | CpG58                                   | 87,6        | 87,1       | 0,765 |
| <b>KCNH2</b> | CpG34                                   | 31,6        | 31         | 0,337 |
|              | CpG35                                   | 16,6        | 16,9       | 0,467 |
|              | CpG36                                   | 9,3         | 10,3       | 0,140 |
| <b>SCN5A</b> | CpG4                                    | 9,85        | 11,7       | 0,000 |
|              | CpG5                                    | 17,05       | 16,9       | 0,908 |
|              | CpG6                                    | 13,4        | 14,6       | 0,007 |
|              | CpG7                                    | 15,5        | 16,6       | 0,041 |
|              | CpG8                                    | 9,2         | 10,8       | 0,038 |
|              | CpG13                                   | 5,6         | 5,9        | 0,560 |
|              | CpG14                                   | 9,3         | 9,4        | 0,791 |
|              | CpG15                                   | 6,3         | 6,5        | 0,494 |
|              | CpG16                                   | 9,3         | 9,5        | 0,630 |

Tempo A: antes do início da medicação; Tempo B: após 30 dias de medicação;  
\**p* significativo inferior a 5%.

**Tabela 2.** Percentual médio de metilação dos sítios CpG dos genes escolhidos para análise, tanto antes da medicação (tempo A) e quanto após um mês sob tratamento (tempo B), dos pacientes incluídos no estudo, de acordo com a medicação recebida:

| Gene         | Fluoxetina<br>N = 19 |                |            | Sertralina<br>N = 13 |                |            |       |
|--------------|----------------------|----------------|------------|----------------------|----------------|------------|-------|
|              | Tempo A<br>(%)       | Tempo B<br>(%) | <i>p</i> * | Tempo A<br>(%)       | Tempo B<br>(%) | <i>p</i> * |       |
| <b>KCNE1</b> | CpG44                | 35,8           | 41,1       | 0,008                | 34,0           | 42,0       | 0,034 |
|              | CpG45                | 42,1           | 45,3       | 0,053                | 41,0           | 47,6       | 0,067 |
|              | CpG46                | 44,1           | 45,3       | 0,119                | 42,7           | 45,8       | 0,135 |
|              | CpG54                | 66,8           | 68,5       | 0,212                | 65,0           | 68,3       | 0,274 |
|              | CpG55                | 96,7           | 97,0       | 0,578                | 93,8           | 95,2       | 0,246 |
|              | CpG56                | 96,5           | 96,3       | 0,695                | 95,2           | 95,1       | 0,915 |
|              | CpG57                | 88,3           | 88,8       | 0,354                | 87,2           | 87,7       | 0,399 |
|              | CpG58                | 88,0           | 88,9       | 0,232                | 86,7           | 84,6       | 0,629 |
| <b>KCNH2</b> | CpG34                | 32,1           | 31,4       | 0,459                | 30,4           | 30,5       | 0,844 |
|              | CpG35                | 17,1           | 17,3       | 0,638                | 15,8           | 16,5       | 0,225 |
|              | CpG36                | 9,8            | 10,6       | 0,441                | 8,4            | 10,3       | 0,036 |
| <b>SCN5A</b> | CpG4                 | 9,5            | 11,5       | 0,000                | 9,85           | 11,6       | 0,007 |
|              | CpG5                 | 18,1           | 16,7       | 0,612                | 15,25          | 16,7       | 0,015 |
|              | CpG6                 | 13,1           | 14,2       | 0,052                | 13,35          | 14,8       | 0,035 |
|              | CpG7                 | 16,6           | 18,2       | 0,055                | 17,6           | 18,4       | 0,316 |
|              | CpG8                 | 7,4            | 9,1        | 0,015                | 7,6            | 8,7        | 0,095 |
|              | CpG13                | 5,5            | 5,7        | 0,600                | 5,7            | 6          | 0,502 |
|              | CpG14                | 9,4            | 8,9        | 0,324                | 9,3            | 9,4        | 0,819 |
|              | CpG15                | 6,3            | 6,2        | 0,818                | 6,2            | 6,8        | 0,205 |
| CpG16        | 9,1                  | 9,1            | 1,000      | 9,6                  | 9,6            | 0,844      |       |

Tempo A: antes do início da medicação; Tempo B: após 30 dias de medicação;  
\**p* significativo inferior a 5%.

## Anexo 5 – Sequência de pares de bases das ilhas CpG analisadas

1. Sequência de pares de bases da ilha CpG, na região promotora do gene KCNE1. Em destaque, região analisada pelos ensaios comerciais adquiridos. Posição: chr21:34459400-34460067. Número de CpG: 57.

CGGCGCTTCCAGCCTGAAGCGCGCCCGCTGCGCGTCCGGAGACGCAGGTTCCAGGAGC  
CCCCGGGGTTGCCGACTAGGCCACTTGCGCCCGGAAGAGGGCCGCGGAGGTGGGA  
GACCCTAATTACCCGGGTCTGAGATGCCGAGAGAGCCGGGTGTGGAGCTGAGTGC GCG  
CTGCCGAGCGCTGAGGCCACAGACAGCCCCGCCCGGGGCGGCACCTTCTAAGGGCCT  
GAGCGCTGCACAGGGATGGGGGCGGGCGGGGCTCCAGAGCCGCCAGGCGTCCCGCC  
CCACTCCGCCACACGCACGGCCAGCCAGGGTTCCCCGGGACCACCCAGACCAGCC  
CCGGCCCCCGGGTCTCCACTCTGCACCCAGACCAACACCAACGCGCGTAGGGA  
AGCGTTTTAGATCCTGTGCGAGAGGCTCAAGGCCGGCAGAAGGTTTGCATTAGGATCGAG  
AAAGCCGACCAACCGGACAGATCTACCTACCTTCTGCGGGAGTTTGAGGTTGCCAGGGG  
GAAGCCACTGCAGCCAGGAGAAAGGCCGTCTGGGAACCCACCCTCGGACGTGCGG  
GCCTTCAAATATCTCTGAACATAATCTCAAAGACCGCTCAACCTCCGCTCCCGACT  
CTTTCTAGCCTCGTCCCG

2. Sequência de pares de bases da ilha CpG, na região promotora do gene KCNH2. Em destaque, região analisada pelos ensaios comerciais adquiridos. Posição: chr7:150979091-150979497. Número de CpG: 37.

CGCGAGTTCCAACCAGGGGATCCCCGGGTGCGAGCGGCCCGCCCTCCCCGGCAGCC  
CGGGGCCAGCCTTGCACGCCAATCGGCGGGCTCGGGGCCCTGCGGCGGCGGCCACGG  
CCCAGCCCCTCGGAAAGCCCTGGCCTAGCCGAGGCCCTCCCCCGGCCAGCTGGCTC  
GCTCCAGCTGCGGCTCCCTTATTTAGGCAAGGAGGCCTAGGGATGCTCAAGGGCAGGCG  
GGGTGTCTGCCCGCCGCTGCTCATCGCCTGCTTGCCTGAGTGAGGGTCTCCGGC  
GCGGTGTCTCGGACTTAGCAGTCAGGCAGGGCCCCGGGAAGGCCAGGGCGGGGAGGC  
GAGTGTGACA GCTGAGTGGGCGGGCGGGGAGGGAGGAGTCCGAGCTGAACAGCCG

3. Sequência de pares de bases da ilha CpG, na região promotora do gene SCN5A. Em destaque, região analisada pelos ensaios comerciais adquiridos. Posição: chr3:38648919-38650022. Número de CpG: 108.

CGGCCCTTTAGGGCGTCAAAGGGCACCGAGATCTCTACATGTCTAAAC  
GCGCAGAGATCTCGTCCCACAGAGAGGACAGCCCCAGCGGACGGTTCCCCCTGGGCCA  
GAGAAAGGGGGTGCCTGCTTCTCCCCATATCCAGCCCTGCTCGGTCAGCCCCGCA  
AACCCGCTCTCTGGAACCACATTCATGGCGCGCCTAGTCGCGCTCTGACCTTGGGGTC  
TCCGGCTCCGGTATCCGGGTCCAATCCAGACCCTCCCCGAGCCTGCGCCAGGGATG  
GCCGGGAAGCTGGGGCCGACGCTCCCCCTCCCCGGCCCTCGACAGCGCACCGGGAAA  
CCCGGAAGGAAAGGGAAGGGGAGGGGGCGCACGGTGTTTAGAGACGTCTCCCCGGG  
GATACCTCCAGCCGGGCGGATCTGCGCCCCTTCTCCCCCTCCGGCTCTCTGGGGCACT  
GATCGGGGAGGGAGCGGCTGGGCGGACCCGGGGCAGGGAGGAGCACGCAGGGACTGG  
AGGCTTCGGCCCTCGGGGAGGAAAGTTGGGCGGCGGCAGGCGGAGGGGGCTCCGGCCC  
GGCCAGGGCTGCCGGGCGCGGGGGCACTCGCTCACCTGCTGGTCCCCCGGCCGGGCC  
CGGGGTGGGCGGCTGCTGCTTGGCGCGGACTCGGCTCGGCGCGGGGCTCGGGCACTG  
GGCGCAGGCTCAGCGGCCCGGGGAGCGATCCCTGCATCCTACGGGCGCCGCCCGCCG  
TCTCGGCTCCGCGGCTCTGTTCCGGGCTCCCGGGCTGGGCAGGCGGCGCGGGCTCGGGC  
TGGGGCGGGGTCGGGGGCGGGGTCGGGGCGGGCCCCGCTGGGTTCCGGCTGGGGC  
TTGGGGCCCCGGGCTGGCTCCGCCCCAGAGCGACGCGCCAGGGCTCCGCACGTGGTG  
CTCCGCCCGCTCGGAGGGGGGACACACCAGCGCCCGCCGGGGCGCACACTCCCACACT  
GACCCGGGGGCTCACAGCCACAGACAGCCGCACACGCGGCCGCGGACAGACAGACATA  
GGCGGGGGTACACACACGGCGACCCGGCGACGTTACCACAGATGGCCACCCACGCG  
GACGCG

## I – Currículo Lattes



### Larissa Vilela Nascimento

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/9605463176384794>

ID Lattes: **9605463176384794**

Última atualização do currículo em 24/11/2021

Possui graduação em Biotecnologia pela Universidade Federal de Alfenas (2008-2011), Curso de Aprimoramento Profissional em Biotecnologia em Saúde (2012-2013) pelo Instituto Butantan, e Mestrado em Biotecnologia (2013-2015) pela USP. Tem experiência na área de Engenharia Genética, com ênfase em Genética Molecular e de Microorganismos, atuando principalmente nos seguintes temas: biotecnologia molecular e micobactérias recombinante. **(Texto informado pelo autor)**

### Identificação

|  |   |
|--|---|
| <b>Nome</b>                            | Larissa Vilela Nascimento   |
| <b>Nome em citações bibliográficas</b> | NASCIMENTO, L. V.;NASCIMENTO, LARISSA V   |
| <b>Lattes ID</b>                       | <a href="http://lattes.cnpq.br/9605463176384794">http://lattes.cnpq.br/9605463176384794</a> |

### Endereço

|                              |   |
|------------------------------|---|
| <b>Endereço Profissional</b> | Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, Laboratório de Investigação Molecular em Cardiologia - LIMC.<br>Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia<br>Vila Marliana<br>04012909 - São Paulo, SP - Brasil<br>Telefone: (11) 50856000<br>URL da Homepage: <a href="http://www.idpc.org.br/?Fuseaction=Home">http://www.idpc.org.br/?Fuseaction=Home</a> |
|------------------------------|---|

### Formação acadêmica/titulação

|                    |  |
|--------------------|--|
| <b>2016</b>        | Doutorado em andamento em Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia) (Conceito CAPES 7).<br>Universidade de São Paulo, USP, Brasil.<br>Título: Associação da metilação de genes e o desenvolvimento de arritmias cardíacas em indivíduos sob tratamento com antidepressivo e antipsicóticos,<br>Orientador:  Mário Hiroyuki Hirata.<br>Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.<br>Palavras-chave: Epigenética; Metilação de DNA; Arritmias Cardíacas; Psicofármacos.<br>Grande área: Ciências Biológicas<br>Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Genética / Subárea: Genética Humana e Médica.<br>Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Farmacologia.<br>Setores de atividade: Atividades de atenção à saúde humana. |
| <b>2013 - 2015</b> | Mestrado em Biotecnologia (Conceito CAPES 5).<br>Universidade de São Paulo, USP, Brasil.<br>Título: Estudo comparativo de promotores de micobactérias utilizando GFP como gene repórter para o desenvolvimento de vacinas de BCG recombinante, Ano de Obtenção: 2015.<br>Orientador:  Luciana Cezar de Cerqueira Leite.<br>Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.<br>Palavras-chave: Biotecnologia molecular; BCG recombinante.<br>Grande área: Ciências Biológicas  |
| <b>2008 - 2011</b> | Graduação em Biotecnologia.<br>Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL/MG, Brasil.<br>Título: Caracterização de diferentes promotores de micobactérias utilizando GFP como gene reporter.<br>Orientador: Ivan Pereira Nascimento.  |

## Formação Complementar

**2012 - 2013** Curso de Aprimoramento Profissional.  
Instituto Butantan, IBU, Brasil.

## Atuação Profissional

Superintendência da Polícia Técnico-Científica, SPTC, Brasil.

### Vínculo institucional

**2018 - Atual** Vínculo: Servidor Público, Enquadramento Funcional: Perito Criminal, Carga horária: 40, Regime: Dedicção exclusiva.

Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, IDPC, Brasil.

### Vínculo institucional

**2015 - 2016** Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Apoio Técnico, Carga horária: 20

### Atividades

**09/2015 - 03/2016** Pesquisa e desenvolvimento, Laboratório de Investigação Molecular em Cardiologia - LIMC. Linhas de pesquisa  
Validação da Reserva de Fluxo Fracionada em diabéticos portadores de doença coronária multiarterial submetidos à revascularização percutânea com implante de stents farmacológicos: aplicação prática da técnica e resultados clínicos em 3 centros brasileiros

Personal Vestibulares, PV, Brasil.

### Vínculo institucional

**2015 - 2017** Vínculo: Professor Visitante, Enquadramento Funcional: Professor, Carga horária: 20

### Atividades

**05/2015 - 12/2017** Ensino,  
Disciplinas ministradas  
Biologia  
Química

Instituto Butantan, IBU, Brasil.

### Vínculo institucional

**2011 - 2011** Vínculo: Colaborador, Enquadramento Funcional: Estagiário, Carga horária: 30, Regime: Dedicção exclusiva.

### Atividades

**7/2011 - 11/2011** Estágios , Centro de Biotecnologia.  
Estágio realizado  
Projeto Caracterização de Promotores de Micobacterias.

Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL/MG, Brasil.

### Vínculo institucional

**2008 - 2011** Vínculo: Graduando, Enquadramento Funcional: Discente, Regime: Dedicção exclusiva.

### Atividades

**10/2010 - 10/2011** Conselhos, Comissões e Consultoria, Conselho de Ensino, Pesquisa e Extensão.  
Cargo ou função  
Coordenadoria de Cultura e Eventos do DCE-LF.

**03/2011 - 07/2011** Extensão universitária , Conselho de Ensino, Pesquisa e Extensão.  
Atividade de extensão realizada

**03/2010 - 06/2010** Monitoria em Química Analítica e Instrumental.  
Extensão universitária , Conselho de Ensino, Pesquisa e Extensão.  
Atividade de extensão realizada

**02/2009 - 02/2010** Monitoria de Química Geral.  
Conselhos, Comissões e Consultoria, Conselho de Ensino, Pesquisa e Extensão.  
Cargo ou função

**08/2009 - 11/2009** Diretoria de Esportes do DARF (Diretório Acadêmico Rosalind Franklin).  
Extensão universitária , Conselho de Ensino, Pesquisa e Extensão.  
Atividade de extensão realizada

**08/2008 - 11/2008** Projeto de Extensão Capoeira Universitária.  
Extensão universitária , Conselho de Ensino, Pesquisa e Extensão.  
Atividade de extensão realizada  
Projeto de Extensão Dança no campus.



## Linhas de pesquisa

1. Validação da Reserva de Fluxo Fracionada em diabéticos portadores de doença coronária multiarterial submetidos à revascularização percutânea com implante de stents farmacológicos: aplicação prática da técnica e resultados clínicos em 3 centros brasileiros

## Projetos de extensão

2010 - 2011

Caracterização dos Resíduos Sólidos Urbanos do Município de Alfenas: Importância Ambiental e Sócio Cultural  
Descrição: Os resíduos sólidos serão caracterizados a partir de sua constituição e volume. A constituição dos resíduos varia de acordo com a sua constituição sendo elas: matérias orgânicas, metais, plásticos, papéis, eletro eletrônicos e vidros. O projeto de extensão tem o objetivo de elaborar um relatório técnico e o estudo sobre a viabilidade de implantação de um programa de coleta seletiva, além de disseminar informações estratégicas para a preservação do meio ambiente na educação fundamental e média. O conhecimento dos alunos além da comunidade de Alfenas será realizado a partir de questionários com assuntos de grande relevância ambiental. Esse tipo de informação é importante para a segunda parte do projeto que visa à elaboração de um plano de ação para a implantação da coleta seletiva no município de Alfenas. A importância da coleta seletiva é clara, pois diminui a poluição urbana, diminui o nível de doenças relacionadas aos resíduos sólidos urbanos a poluição, aumenta a vida útil de aterros sanitários, diminui a dispersão de resíduos sólidos não biodegradáveis pelas ruas, gera empregos e criações de cooperativas, além de fortalecer o movimento sindical dos trabalhadores.  
Situação: Concluído; Natureza: Extensão.  
Alunos envolvidos: Graduação: (12) .

Integrantes: Larissa Vilela Nascimento - Integrante / Camila Cristine Nassar Pereira - Integrante / Lucas Emanuel Servidone - Integrante / Luciano Tavares da Costa - Coordenador / Carolina Gonsalves de Souza - Integrante / Flávio Henrique Veneroso - Integrante / Fabiano Magalhães - Integrante / Aline Galvão Tavares Menezes - Integrante / Wesley Wilker - Integrante / André de Oliveira - Integrante / Franciele Luize Mariano - Integrante / Thayná Cais - Integrante / Camilla Batista - Integrante / Karina Rojas - Integrante.

## Áreas de atuação

1. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Bioquímica / Subárea: Biologia Molecular.
2. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Genética / Subárea: Genética Molecular e de Microorganismos.
3. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Biotecnologia / Subárea: Biotecnologia em Saúde Humana e Animal/Especialidade: Vacinas e Kits para Diagnósticos.
4. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Genética / Subárea: Genética Humana e Médica.

## Idiomas

**Espanhol** Compreende Bem, Fala Razoavelmente, Lê Bem, Escreve Razoavelmente.  
**Inglês** Compreende Razoavelmente, Fala Razoavelmente, Lê Razoavelmente, Escreve Razoavelmente.  
**Português** Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

## Produções

Produção bibliográfica

### Artigos completos publicados em periódicos

Ordenar por

Ordem Cronológica

1. **NASCIMENTO, LARISSA V**; SANTOS, CARINA C ; LEITE, LUCIANA CC ; NASCIMENTO, IVAN P . Characterisation of alternative expression vectors for recombinant Bacillus Calmette-Guérin as live bacterial delivery systems. Memórias do

Citações: **WEB OF SCIENCE**™ 3

2. **COSTA, L. T.**; MAGALHAES, F.; CARMO, D. F.; Pereira, C. C. N.; SOUZA, C. G.; MENEZES, A. G. T.; WILKER, W.; OLIVEIRA, A.; MARIANO, F. L.; **NASCIMENTO, L. V.**; VENEROSO, F. H.; CAIS, T.; SERVIDONE, L. E.; BATISTA, C.; ROJAS, K. . CARACTERIZAÇÃO E PERCEPÇÃO AMBIENTAL DOS RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS NAS DIFERENTES CLASSES SOCIAIS NO MUNICÍPIO DE ALFENAS ? MG. Rama : Revista em Agronegócio e Meio Ambiente, v. 5, p. 25-49, 2012.

## Apresentações de Trabalho

1. **COSTA, L. T.**; MAGALHAES, F.; CARMO, D. F.; Pereira, C. C. N.; SOUZA, C. G.; **NASCIMENTO, L. V.**; MENEZES, A. G. T.; OLIVEIRA, A.; BATISTA, C.; MARIANO, F. L.; VENEROSO, F. H.; ROJAS, K.; SERVIDONE, L. E.; CAIS, T.; WILKER, W. . Caracterização dos Resíduos Sólidos Urbanos do Município de Alfenas: Importância Ambiental e Sócio Cultural. 2011. (Apresentação de Trabalho/Seminário).

## Eventos

### Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. Simpósio Internacional de Cardiologia da BP. 2021. (Simpósio).
2. Palestra aos estudantes de farmácia do 10º semestre.Perícia Criminal: por dentro do Núcleo de Exames de Entorpecentes. 2019. (Seminário).
3. V Symposium on Epigenetics and Medical Epigenomics. 2017. (Simpósio).
4. Curso BIOSSEGURANÇA: Atividades com OGM em contenção. 2016. (Oficina).
5. 1º Workshop de Pós-graduação Interunidades em Biotecnologia.Establishing flow cytometry for monitoring the traffic of mycobacterium bovis BCG expressing green fluorescent protein. 2015. (Outra).
6. X Curso Avançado de Patogênese do HIV. 2015. (Outra).
7. ASTS ? Agilent Science and Technology Symposium. 2014. (Simpósio).
8. XVI Reunião Científica Anual do Instituto Butantan.Establishing Flow Cytometry for Monitoring the Traffic of M. bovis BCG Expressing Green Fluorescent Protein. 2014. (Outra).
9. 10th International Symposium on Bordetella in Trinity Biomedical Sciences Institute.Characterization of a Bivalent Recombinant Strain of BCG Overexpressing the Subunit 1 of Pertussis Toxin. 2013. (Simpósio).
10. XV Reunião Científica Anual do Instituto Butantan.Comparative study of mycobacterial promoters using GFP as a reporter of gene expression for the development of recombinant BCG vaccines. 2013. (Outra).
11. IV Curso de Políticas de Saúde e o SUS - Parte 1. 2012. (Outra).
12. IV Curso de Políticas de Saúde e o SUS - Parte 2. 2012. (Outra).
13. VI Curso Introdutório ao Programa de Aprimoramento Profissional. 2012. (Outra).
14. XIV Reunião Científica Anual do Instituto Butantan.Characterization of bivalent recombinant strains of BCG overexpressing the Subunit 1 of Pertussis toxin. 2012. (Outra).
15. Gincana Impacto Zero SWU.Utilização de termoplásticos para captação de energia eólica. 2011. (Outra).
16. II Seminário Meio Ambiente FORPROEX Sudeste. 2011. (Seminário).
17. I Mostra Extensão Unifel.Caracterização dos Resíduos Sólidos Urbanos do Município de Alfenas: Importância Ambiental e Sócio Cultural. 2011. (Outra).
18. XVII Congresso Brasileiro de Toxicologia. 2011. (Congresso).
19. Fórum Global da Sustentabilidade - SWU. 2010. (Outra).
20. II Jobitu. 2010. (Outra).
21. Seminário "Biorremediação e bioprospecção". 2010. (Seminário).
22. 4 Biotec. 2009. (Simpósio).
23. Aplicações da Revolução Genômica. 2009. (Outra).
24. II Ciclo de Palestras em Biotecnologia. 2009. (Outra).
25. I Jobitu. 2008. (Outra).
26. Seminários do PET Farmácia. 2008. (Seminário).
27. 4º Simpósio de Atualização Profissional Rotaract. 2007. (Simpósio).

### Organização de eventos, congressos, exposições e feiras

1. **NASCIMENTO, L. V.**. IV Curso de Inverno em Fisiopatologia e Análises Clínicas. 2017. (Outro).

## Educação e Popularização de C & T

### Artigos

### Artigos completos publicados em periódicos

1. ★ COSTA, L. T. ; MAGALHAES, F. ; CARMO, D. F. ; Pereira, C. C. N. ; SOUZA, C. G. ; MENEZES, A. G. T. ; WILKER, W. ; OLIVEIRA, A. ; MARIANO, F. L. ; **NASCIMENTO, L. V.** ; VENEROSO, F. H. ; CAIS, T. ; SERVIDONE, L. E. ; BATISTA, C. ; ROJAS, K. . CARACTERIZAÇÃO E PERCEÇÃO AMBIENTAL DOS RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS NAS DIFERENTES CLASSES SOCIAIS NO MUNICÍPIO DE ALFENAS ? MG. Rama : Revista em Agronegócio e Meio Ambiente, v. 5, p. 25-49, 2012.

Organização de eventos, congressos, exposições e feiras

1. ★ **NASCIMENTO, L. V.**. IV Curso de Inverno em Fisiopatologia e Análises Clínicas. 2017. (Outro).

Página gerada pelo Sistema Currículo Lattes em 25/11/2021 às 15:52:52

## II – Ficha do aluno

15/03/2022 11:16

**Janus** - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



Universidade de São Paulo  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
FICHA DO ALUNO

9136 - 8132047/1 - Larissa Vilela Nascimento

**Email:** lari.nascimento@usp.br  
**Data de Nascimento:** 14/06/1989  
**Cédula de Identidade:** RG - MG-14.576.374 - MG  
**Local de Nascimento:** Estado de Minas Gerais  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Graduação:** Bacharel em Biotecnologia - Universidade Federal de Alfenas - Minas Gerais - Brasil - 2011  
**Mestrado:** Mestra em Ciências - Área: Biotecnologia - Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil - 2015

**Curso:** Doutorado  
**Programa:** Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia)  
**Área:** Análises Clínicas  
**Data de Matrícula:** 08/04/2016  
**Início da Contagem de Prazo:** 08/04/2016  
**Data Limite para o Depósito:** 29/11/2021  
**Orientador:** Prof(a). Dr(a). Mario Hiroyuki Hirata - 08/04/2016 até 24/02/2022. Email: mhirata@usp.br  
**Proficiência em Línguas:** Inglês, 08/04/2016  
**Trancamento(s):** 180 dias  
Período de 21/09/2018 até 19/03/2019  
**Licença(s) Maternidade:** 180 dias  
Período de 21/02/2018 até 19/08/2018  
**Prorrogação(ões):** 120 dias  
Período de 01/08/2021 até 29/11/2021  
**Data de Aprovação no Exame de Qualificação:** Aprovado em 21/05/2019  
**Data do Depósito do Trabalho:** 26/11/2021  
**Título do Trabalho:** "Associação da metilação de genes e o desenvolvimento de arritmias cardíacas em indivíduos sob tratamento com antidepressivos e antipsicóticos."  
**Data Máxima para Aprovação da Banca:** 10/01/2022  
**Data de Aprovação da Banca:** 08/12/2021  
**Data Máxima para Defesa:** 23/03/2022  
**Data da Defesa:** 24/02/2022  
**Resultado da Defesa:** Aprovado

**Acesso à dissertação/tese:** 'Banco de Teses da USP'

**A titulação é:** Somente USP

**Histórico de Ocorrências:** Primeira Matrícula em 08/04/2016  
Licença Maternidade em 21/02/2018  
Trancado em 21/09/2018  
Prorrogação em 28/07/2021  
Titulado em 24/02/2022

1/4

15/03/2022 11:16

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor de 20/04/2013 até 28/03/2018).

**Última ocorrência:** Titulado em 24/02/2022

**Impresso em:** 15/03/2022 11:14:00



**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**  
**FICHA DO ALUNO**

9136 - 8132047/1 - Larissa Vilela Nascimento

| Sigla       | Nome da Disciplina  | Início     | Término    | Carga Horária | Cred. | Freq. | Conc. | Exc. | Situação  |
|-------------|---|------------|------------|---------------|-------|-------|-------|------|-----------|
| FBC5741-6/4 | Análise Toxicológica de Fármacos e Drogas que Causam Dependência  | 02/05/2016 | 05/06/2016 | 60            | 4     | 100   | A     | N    | Concluída |
| BTC5734-6/1 | Organização e Fluxo da Informação Genética em Sistemas Complexos (Curso Interunidades: Biotecnologia - Universidade de São Paulo) | 09/05/2016 | 12/06/2016 | 75            | 5     | 90    | A     | N    | Concluída |
| TIC5007-3/3 | Emergências Cardiovasculares (Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia - Universidade de São Paulo)                               | 31/05/2016 | 20/06/2016 | 90            | 6     | 84    | A     | N    | Concluída |
| FBC5766-4/3 | Tópicos em Análises Clínicas IV   | 02/08/2016 | 14/11/2016 | 15            | 1     | 100   | A     | N    | Concluída |
| FBC5709-6/1 | Biologia Molecular em Análises Clínicas   | 03/10/2016 | 30/10/2016 | 60            | 4     | 90    | A     | N    | Concluída |
| FBC5792-4/1 | Tópicos em Fisiopatologia e Toxicologia III   | 07/03/2017 | 19/06/2017 | 15            | 1     | 100   | A     | N    | Concluída |
| FBA5728-4/5 | Aprimoramento Pedagógico  | 12/09/2017 | 10/10/2017 | 60            | 4     | 100   | A     | N    | Concluída |

|                     | Créditos mínimos exigidos  |                       | Créditos obtidos |
|---------------------|----------------------------|-----------------------|------------------|
|                     | Para exame de qualificação | Para depósito de tese |                  |
| <b>Disciplinas:</b> | 0                          | 20                    | 25               |
| <b>Estágios:</b>    |                            |                       |                  |
| <b>Total:</b>       | 0                          | 20                    | 25               |

Créditos Atribuídos à Tese: 167

**Conceito a partir de 02/01/1997:**

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Titulado em 24/02/2022

Impresso em: 15/03/2022 11:14:01

15/03/2022 11:16

**Janus** - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**  
**FICHA DO ALUNO**

---

**9136 - 8132047/1 - Larissa Vilela Nascimento**

| Comissão julgadora da tese de doutorado: |                               |             |            |
|--|-------------------------------|-------------|------------|
| NUSP                                     | Nome                          | Vínculo     | Função     |
| 72297                                    | Mario Hiroyuki Hirata         | FCF - USP   | Presidente |
| 504836                                   | Dalmo Antonio Ribeiro Moreira | IDPC(IDPCa) |            |
| 747448                                   | Francisco Lotufo Neto         | FM - USP    |            |
| 10141897                                 | Helena Strelow Thrown         | Externo     |            |

---

**Última ocorrência:** Titulado em 24/02/2022

**Impresso em:** 15/03/2022 11:14:01