



## Variantes Polimórficas dos Genes eNOS e SOD2 em Pacientes Críticos e o Risco de Disfunção Cardíaca

ROMERO, M. M<sup>1</sup>; Fraga, LR<sup>1</sup>; Dias, FS<sup>2</sup>; Paludo, FJO<sup>1</sup>; Alho, CS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Genética Humana e Molecular – Faculdade de Biociências – PUCRS

<sup>2</sup>Unidade de Terapia Intensiva Geral – Hospital São Lucas - PUCRS

### Introdução

Em um estudo relativamente recente estimou-se que nos Estados Unidos 50.000 pessoas morrem a cada ano decorrente de doenças críticas manifestadas nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI) como, por exemplo a sepse, com custo total anual de até dez bilhões de dólares (Guha e Mackman, 2001).

Uma UTI, constituída por uma população heterogênea de pacientes clínicos e cirúrgicos que apresentam um quadro patológico crítico e complexo decorrente de fragilidades fisiológicas graves, possui altas taxas de infecções bem como de mortalidade (Sands, *et al.*, 1997; Silva, *et al.*, 2004).

O entendimento da regulação fisiológica, bem como dos fatores envolvidos no controle do tônus vascular, tanto genéticos quanto bioquímicos faz-se importante para a compreensão da fisiologia dos pacientes críticos. Para um funcionamento orgânico adequado, entre outras ações, é necessária uma boa irrigação dos tecidos.

Estudos realizados no Laboratório de Genética Humana e Molecular – PUCRS demonstram associação positiva entre a presença do alelo 894T no exon 7 do gene que codifica para a sintase do óxido nítrico endotelial (SNP eNOS 894G>T; Glu298Asp) com índices mais altos de disfunção cardíaca. Outro estudo associou o alelo -9Ala do gene que codifica para a enzima superóxido dismutase dependente de manganês (MnSOD) (SNP SOD2 47C>T; -9Ala/Val) com choque séptico.

O objetivo do presente trabalho é investigar o efeito cumulativo da herança de alelos em dois diferentes *loci*, associados ao risco de disfunção cardíaca em pacientes críticos.

## Metodologia

Para a comparação dos alelos dos dois *loci* foi necessário aumentar o número de indivíduos genotipados para o gene SOD2. A técnica utilizada foi a amplificação por PCR, e a genotipagem foi feita pelo método RFLP utilizando como enzima de restrição HaeIII. Para o acompanhamento da evolução clínica diária, para o sistema cardíaco, dos pacientes incluídos no estudo foi utilizado o instrumento de medida de disfunção orgânica SOFA (o acompanhamento foi realizado até o décimo quinto dia de internação). Para a análise estatística foi utilizado o programa SPSS 11.5 for Windows<sup>®</sup> e o teste aplicado foi o Mann-Whitney.

## Resultados

Foram genotipados para ambos os polimorfismos 540 indivíduos adultos de ambos os sexos internados na unidade de tratamento intensivo (UTI) do Hospital São Lucas (Porto Alegre/RS). Nossos resultados mostraram que no grupo de portadores dos alelos -9Ala (-9Ala/-9Ala + -9Ala/-9Val) e 894T (894T/894T + 894T/894G) a média do SOFA cardíaco estava mais alta quando comparados ao grupo de pacientes sem esses alelos (-9Val/-9Val + 894G/894G) [média (desvio padrão) 1,03(1,6); 0,77(1,4); respectivamente,  $p = 0,001$ ].

## Discussão

O polimorfismo estudado para o gene eNOS altera a atividade da enzima, diminuindo a produção de NO, contribuindo na progressão da placa aterosclerótica. Tal contribuição é tão importante que a queda na síntese de NO decorrente dessa troca de aminoácidos aumenta a predisposição à aterosclerose carótida (Fatini, *et al.*, 2004). Bem como, possui uma grande influência no desenvolvimento de doença isquêmica cardíaca. (Spence, *et al.*, 2004). Após episódios de micro-isquemias com reperfusão, decorrentes das fragilidades fisiológicas, há um aumento na produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) (Bonder, *et al.*, 2004) entre essas o superóxido ( $O_2^-$ ). A MnSOD dismuta o  $O_2^-$  em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Supõe-se que portadores do alelo -9Ala, apresentam uma maior produção de  $H_2O_2$  se comparados aos portadores do alelo -9Val (Hiroi, *et al.*, 1999). O excesso de  $H_2O_2$  causa uma diminuição intracelular de ATP, dano ao DNA e uma queda

na concentração de NAD (Schraufstatter, *et al.*, 1986). Essa baixa de NAD pode gerar uma crise energética na célula que induz à morte celular por necrose (Szabó, *et al.*, 1997).

Considerando que, pelos motivos acima expostos, portadores dos alelos -9Ala e 894T podem ser mais suscetíveis ao dano endotelial, o que desencadeia danos à microcirculação visualizados através dos níveis aumentados do escore SOFA cardíaco. Concluindo, nosso estudo sugere que a herança cumulativa dos alelos SOD2 -9Ala e eNOS 894T pode aumentar o risco de disfunção cardíaca em pacientes em estado crítico de saúde.

## Referências

- Guha M, Mackman N. LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cell Sign.* 2001; (13): 85-94.
- Sands KE, Bates DW, Lanken PN. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. *JAMA.* 1997; 278(3):234-40.
- Silva E, Pedro Mde A, Sogayar AC, et al: Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). *Crit Care* 2004; 8:R251-60.
- Fatini C, Sofi F, Gensini F, *et al.* Influence of eNOS Gene Polymorphisms on Carotid Atherosclerosis, 2004; 27:540-544.
- Spence MS, McGlinchey PG, Patterson CC, *et al.*, Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and ischemic heart disease. *American Heart Journal*, 2004; 148 (5):847-851.
- Bonder CS, Knight D, Hernandez-Saavedra D, et al. Chimeric SOD2/3 inhibits at the endothelial-neutrophil interface to limit vascular dysfunction in ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 287: G676–G684, 2004.
- Hiroi S, Harada H, Nishi H, et al: Polymorphisms in the SOD2 and HLA-DRB1 genes are associated with nonfamilial idiopathic dilated cardiomyopathy in Japanese. **Biochem Biophys Res Commun** 1999; 261: 332-9.
- Schraufstatter IU, Hyslop PA, Hinshaw DB, et al: Hydrogen peroxide-induced injury of cells and its prevention by inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. **Proc Natl Acad Sci U S A** 1986; 83: 4908-12.

Szabó C, Cuzzocrea S, Zingarelli B, et al: Endothelial dysfunction in a rat model of endotoxic shock.

Importance of the activation of poly (ADP-ribose) synthetase by peroxynitrite. **J Clin Invest** 1997; 100: 723-35.