



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE MEDICINA**

**Bruna da Cruz Carvalho**

**Polimorfismo de base única dos genes *ECA2* e *TNF-  
alfa* em pacientes com a forma cardíaca e indeterminada da  
doença de Chagas**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Medicina, Universidade Estadual Paulista  
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de  
Botucatu, para obtenção do título de  
Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Profa. Dra. Cilmary Suemi Kurokawa

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Mattos dos Santos

**Botucatu**

**2025**

Bruna da Cruz Carvalho

Polimorfismo de base única dos genes *ECA2* e *TNF- $\alpha$*  em pacientes com a forma cardíaca e indeterminada da doença de Chagas

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Profa. Dra. Cilmary Suemi Kurokawa

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Mattos dos Santos

Botucatu  
2025

C331p

Carvalho, Bruna da Cruz

Polimorfismo de base única dos genes ECA2 e TNF-alfa em  
pacientes com a forma cardíaca e indeterminada da doença de Chagas  
/ Bruna da Cruz Carvalho. -- Botucatu, 2026

56 p. : il., tabs., mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),  
Faculdade de Medicina, Botucatu

Orientadora: Cilmary Suemi Kurokawa

Coorientadora: Dr. Rodrigo Mattos dos Santos

1. doença de Chagas. 2. Trypanosoma cruzi. 3. rs2074192. 4. rs  
1800629. I. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE BRUNA DA CRUZ CARVALHO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS, DA FACULDADE DE MEDICINA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 21 dias do mês de fevereiro do ano de 2025, às 14h, no(a) Sala de reuniões 02 do Prédio da Administração da FMB/Unesp, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de BRUNA DA CRUZ CARVALHO, intitulada **Polimorfismo de base única dos genes ECA2 e TNF-alfa em pacientes com a forma cardíaca e indeterminada da Doença de Chagas**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. CILMERY SUEMI KUROKAWA (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Depto. de Pediatria / FM/Botucatu - Unesp, Profa.Dra. SIMONE BALDINI LUCHEIS (Participação Presencial) do(a) Dep. de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva / FMVZ/Botucatu - Unesp, Prof. Dr. MARCELO D'ALESSANDRE SANCHES (Participação Presencial) do(a) Centro Paula Souza - Etec Jacinto Ferreira de Sá - Ourinhos/SP. Após a exposição pela mestrande e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.



Profa. Dra. CILMERY SUEMI KUROKAWA

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por ter sido a minha fortaleza durante toda esta jornada.

Aos meus pais Maria Sueli e Arnaldo e minha irmã Murieli, que são os que mais amo, que sempre me incentivaram e apoiaram nos meus sonhos.

A minha orientadora Profa. Dra. Cilmary Suemi Kurokawa que esteve comigo nesta etapa importante, tornando possível a conclusão desta dissertação. Obrigada por ter acreditado em mim e em todos os seus ensinamentos.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Rodrigo Mattos dos Santos que se mostrou sempre prestativo dando ideias e sugestões para o enriquecimento do trabalho.

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e a Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), que me proporcionaram realizar esse sonho.

Ao financiamento concedido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

A todos que contribuíram de alguma forma o que sou e onde estou, muito obrigada!

*“Tudo aquilo que é feito com amor verdadeiro gera frutos de alegrias e sucessos”*

*Michelle Meneses*

CARVALHO, B. D. **Polimorfismo de base única dos genes *ECA2* e *TNF-alfa* em pacientes com a forma cardíaca e indeterminada da doença de Chagas**. 2025. 56 p. Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, 2025.

## RESUMO

A Doença de Chagas (DC) é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, endêmico em 21 países da América Latina com relato na América do Norte e continente Europeu. Estima-se que 6 a 7 milhões de pessoas da América Latina estão infectadas. As manifestações clínicas ocorrem em duas fases, aguda e crônica. A cronificação pode ser assintomática ou forma indeterminada e sintomática ou forma cardíaca, digestiva e mista - relacionada aos sinais clínicos. Poucos trabalhos na literatura buscam esclarecer o motivo pelo qual um grupo de pacientes infectados permanece assintomático, enquanto outros apresentam formas mais graves da doença. Assim, o presente estudo teve como objetivo verificar e correlacionar a frequência do polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP) do gene *ECA2* e *TNF-alfa* nas formas crônicas cardíaca e indeterminada da DC e associar com dados clínicos e comorbidades. Foram incluídos pacientes do sexo masculino, com a forma clínica crônica indeterminada (n=51) e cardíaca (n=22) da DC, atendidos no ambulatório do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HC-FMB). Os dados clínicos foram extraídos do prontuário eletrônico e a avaliação do SNP foi realizada em células nucleadas do sangue periférico pelo método de Sanger e RFLP. Os pacientes com DC apresentaram idade média de 68 e 70 de idade para a forma indeterminada e cardíaca, ambos classificados como idosos. A avaliação do SNP para o gene *ECA2* rs2074192 não mostrou diferença nas frequências de guanina (G) e adenina (A). A avaliação do SNP para o gene *TNF-alfa* rs 1800629 não mostrou diferença nas frequências dos genótipos GG, GA e AA. Por fim, no universo amostral avaliado neste estudo, não houve relação entre a presença dos polimorfismos e as formas clínicas da DC.

**Palavras-chave:** doença de Chagas; *Trypanosoma cruzi*, rs2074192, SNP 308G/A

**CARVALHO, B. D. Single nucleotide polymorphism of the ECA2 and TNF-alpha genes in patients with the cardiac and indeterminate forms of Chagas disease.** 2025. 56 p.

Dissertation (Master's in Tropical Diseases) – Faculty of Medicine of Botucatu, São Paulo State University (Unesp), Botucatu, 2025.

**ABSTRACT**

Chagas Disease (CD) is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, which is endemic in 21 Latin American countries and has been reported in North America and continental Europe. It is estimated that 6 to 7 million people in Latin America are infected. Clinical manifestations occur in two phases, acute and chronic. Chronicization can be asymptomatic or indeterminate and symptomatic or cardiac, digestive and mixed - related to clinical signs. Few studies in the literature have sought to clarify why a group of infected patients remain asymptomatic, while others present more severe forms of the disease. The aim of this study was therefore to verify and correlate the frequency of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the ACE2 and TNF-alpha genes in the chronic cardiac and indeterminate forms of CD, and to associate them with clinical data and comorbidities. The study included male patients with the chronic indeterminate (n=51) and cardiac (n=22) forms of CD, seen at the outpatient clinic of the Hospital das Clínicas of the Botucatu Medical School (HC-FMB). Clinical data was extracted from electronic medical records and SNP evaluation was carried out on nucleated peripheral blood cells using the Sanger and RFLP methods. The patients with CD had a mean age of 68 and 70 for the indeterminate and cardiac forms, both classified as elderly. Evaluation of the SNP for the ACE2 gene rs2074192 showed no difference in the frequencies of guanine (G) and adenine (A). Evaluation of the SNP for the TNF-alpha gene rs 1800629 showed no difference in the frequencies of the GG, GA and AA genotypes. Finally, in the sample assessed in this study, there was no relationship between the presence of polymorphisms and the clinical forms of CD.

**Keywords:** Chagas disease; *Trypanosoma cruzi*, rs2074192, SNP 308G/A

## Lista de abreviaturas e siglas

|                 |                                                |
|-----------------|------------------------------------------------|
| ACEH            | <i>Angiotensin Converting Enzyme Homolog</i>   |
| CCC             | Cardiopatia Chagásica Crônica                  |
| DC              | Doença de Chagas                               |
| DCNT            | Doenças Crônicas Não Transmissíveis            |
| DM              | Diabetes mellitus                              |
| DNA             | Ácido desoxirribonucleico                      |
| ECA             | Enzima conversora de angiotensina              |
| ECG             | Eletrocardiograma                              |
| EED             | Estudo Contrastado de Esôfago-Estômago-Duodeno |
| GWAS            | Estudos de Associação do Genoma                |
| HA              | Hipertensão Arterial                           |
| IMC             | Índice de massa corpórea                       |
| IG              | Infecção Gastrointestinal                      |
| IO              | Infecção Oral                                  |
| PA              | Pressão Arterial                               |
| PAD             | Pressão Arterial Diastólica                    |
| PAS             | Pressão Arterial Sistólica                     |
| PCR             | Proteína C reativa                             |
| SMF             | Sistema Mononuclear Fagocitário                |
| SNP             | Polimorfismo de nucleotídeo simples            |
| <i>T. cruzi</i> | <i>Trypanosoma cruzi</i>                       |
| TNF-alfa        | Fator de Necrose Tumoral Alfa                  |
| TNFR            | Receptores de Fatores de Necrose Tumoral       |

## Sumário

|                                                                                          |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>                                                     | <b>10</b> |
| <b>1.1 Aspectos gerais e epidemiológicos.....</b>                                        | <b>10</b> |
| <b>1.2 Ciclo biológico.....</b>                                                          | <b>12</b> |
| <b>1.3 Aspectos clínicos.....</b>                                                        | <b>13</b> |
| <b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>                                                             | <b>18</b> |
| <b>3. OBJETIVOS.....</b>                                                                 | <b>18</b> |
| <b>2.1 Objetivo geral.....</b>                                                           | <b>18</b> |
| <b>2.2 Objetivos específicos.....</b>                                                    | <b>18</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                                  | <b>19</b> |
| <b>4. MANUSCRITO.....</b>                                                                | <b>23</b> |
| <b>5. BRIEFING COMMUNICATION.....</b>                                                    | <b>43</b> |
| <b>6. CONCLUSÃO.....</b>                                                                 | <b>46</b> |
| <b>ANEXO 1- Aprovação no comitê de Ética em Pesquisa Clínica.....</b>                    | <b>47</b> |
| <b>ANEXO 2- Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). ....</b>                  | <b>48</b> |
| <b>ANEXO 3- Verificação do RS no site db SNP <i>ECA2</i>.....</b>                        | <b>49</b> |
| <b>ANEXO 4 – Região genômica SNP gene <i>ECA-2</i> rs 2074192.....</b>                   | <b>50</b> |
| <b>ANEXO 5- Análise do sequenciamento das amostras posição 53 a 420. ....</b>            | <b>51</b> |
| <b>ANEXO 6- Verificação do rs no site db SNP <i>TNF-alfa</i>.....</b>                    | <b>52</b> |
| <b>ANEXO 7- Região genômica SNP <i>TNF-alfa</i> rs 1800629.....</b>                      | <b>53</b> |
| <b>ANEXO 8 - Informações gerais sobre os pacientes com DC na forma indeterminada....</b> | <b>54</b> |
| <b>ANEXO 9 - Informações gerais sobre os pacientes com DC na forma cardíaca.....</b>     | <b>55</b> |

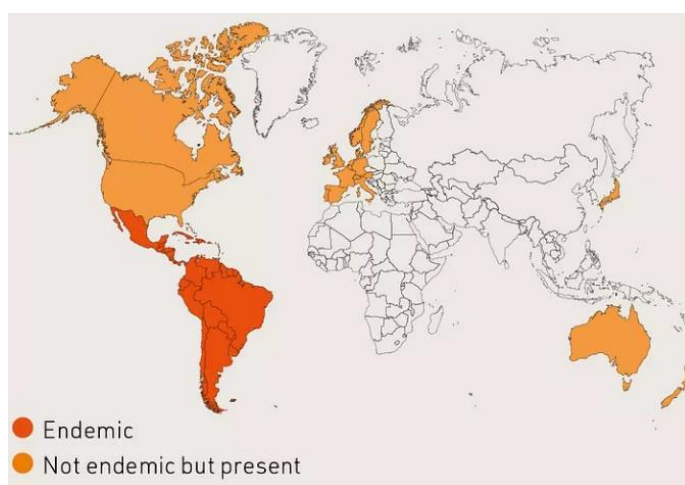
## 1. REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 Aspectos gerais e epidemiológicos

A Doença de Chagas é causada pelo protozoário intracelular *Trypanossoma cruzi*, protozoário endêmico na América Latina. A doença recebeu esse nome em homenagem a Carlos Chagas, médico e pesquisador brasileiro que, em 14 de abril de 1909, descobriu a doença. A DC está presente em 21 países da América Latina, afetando entre 6 e 7 milhões de pessoas, sendo responsável por 12.000 mortes anualmente. Aproximadamente 70 milhões de pessoas vive em áreas favoráveis à exposição, o que aumenta a probabilidade da doença (Figura 1)<sup>1,2</sup>. A doença, tanto na fase aguda quanto na crônica, é de notificação compulsória, por meio da Portaria nº 264 de 17 de fevereiro de 2020, reforçando a importância da identificação desta doença na população<sup>3</sup>.

---

**Figura 1. Distribuição da doença de Chagas no mundo**



Fonte: Adaptado da DNDi's América Latina, 2020<sup>1</sup>

---

A doença se espalhou mundialmente devido ao aumento da mobilidade populacional e migração de indivíduos infectados. Progressivamente tem sido identificada em outros países não endêmicos das Américas, Canadá e Estados Unidos, na Região do Pacífico Ocidental, Austrália e Japão, e na Região Europeia, como Bélgica e França<sup>4</sup>. Relatórios recentes indicam que a doença de Chagas é a principal causa de morte em idosos brasileiros e um dos principais contribuintes para a carga global de doenças cardiovasculares (Figura 1)<sup>5</sup>.

As últimas estimativas da Organização Mundial da Saúde, para o Brasil, apontam que, em 2010, aproximadamente 1.156.821 pessoas foram infectadas pelo *T. cruzi*, o que representa cerca de 0,6% da população. No entanto, a falta de estudos abrangentes dificulta uma avaliação mais precisa da escala da DC no país. Com base nessas proporções, calcula-se que entre 1.365.585 e 3.213.142 brasileiros estivessem infectados pelo *T. cruzi* em 2020. Dentre esses, estima-se que entre 136.559 e 321.314 pessoas apresentassem a forma crônica digestiva, enquanto entre 409.676 e 963.943 pessoas apresentassem a forma crônica cardíaca da doença (Figura 2)<sup>6</sup>.

Figura 2. Projeções do número de pessoas infectadas por *T. cruzi* e do número de casos com doença de Chagas na fase crônica com a forma cardíaca e com a forma digestiva no Brasil, 2020–2055.

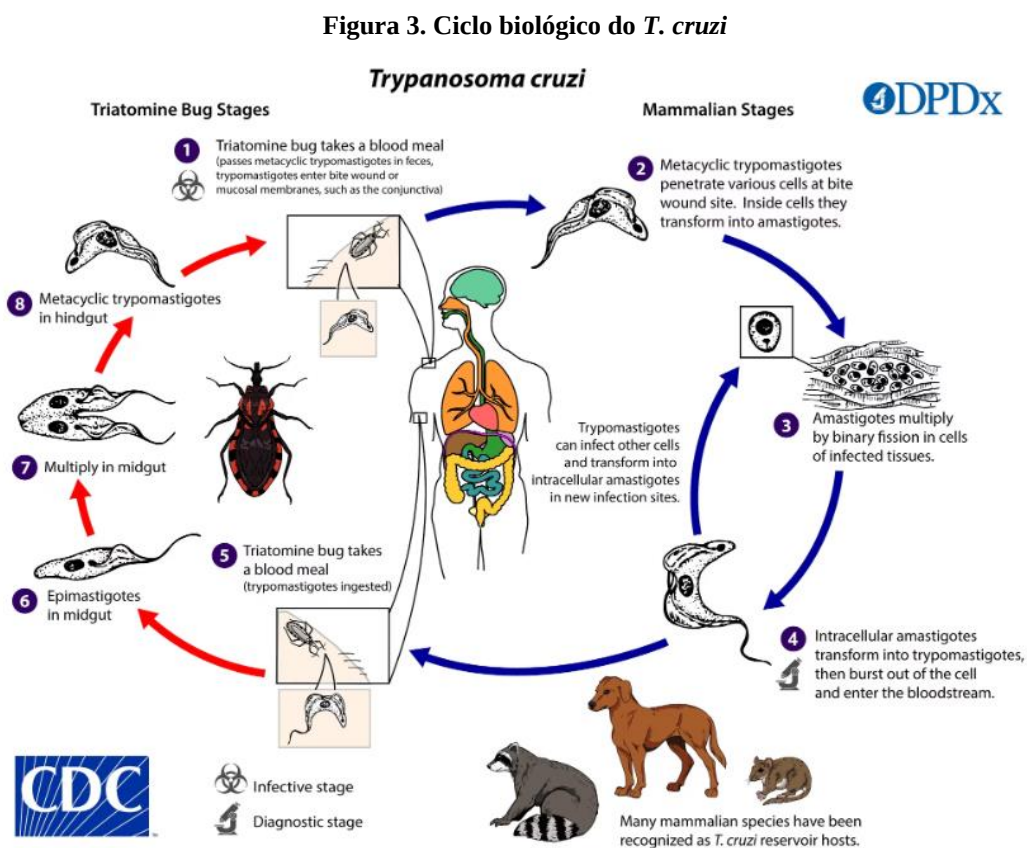
| ANO  | ESTIMATIVA DA POPULAÇÃO BRASILEIRA | FAIXA ETÁRIA DE REFERÊNCIA |             |      | ESTIMATIVA DO NÚMERO DE PESSOAS INFECTADAS |               | ESTIMATIVA DE CASOS COM A FORMA DIGESTIVA |               | ESTIMATIVA DE CASOS COM A FORMA CARDÍACA |               |
|------|------------------------------------|----------------------------|-------------|------|--------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------|---------------|------------------------------------------|---------------|
|      |                                    | FAIXA ETÁRIA               | POPULAÇÃO   | %    | INFECÇÃO 1,02%                             | INFECÇÃO 2,4% | INFECÇÃO 1,02%                            | INFECÇÃO 2,4% | INFECÇÃO 1,02%                           | INFECÇÃO 2,4% |
| 2020 | 212.077.375                        | ≥ 25                       | 133.880.929 | 63,1 | 1.365.585                                  | 3.213.142     | 136.559                                   | 321.314       | 409.676                                  | 963.943       |
| 2025 | 218.330.014                        | ≥ 30                       | 127.334.466 | 58,3 | 1.298.812                                  | 3.056.027     | 129.881                                   | 305.603       | 389.644                                  | 916.808       |
| 2030 | 223.126.917                        | ≥ 35                       | 120.096.221 | 53,8 | 1.224.981                                  | 2.882.309     | 122.498                                   | 288.231       | 367.494                                  | 864.693       |
| 2035 | 226.438.916                        | ≥ 40                       | 112.013.898 | 49,5 | 1.142.542                                  | 2.688.334     | 114.254                                   | 268.833       | 342.763                                  | 806.500       |
| 2040 | 228.153.204                        | ≥ 45                       | 102.983.115 | 45,1 | 1.050.428                                  | 2.471.595     | 105.043                                   | 247.160       | 315.128                                  | 741.479       |
| 2045 | 228.116.279                        | ≥ 50                       | 92.984.144  | 40,8 | 948.438                                    | 2.231.619     | 94.844                                    | 223.162       | 284.531                                  | 669.486       |
| 2050 | 226.347.688                        | ≥ 55                       | 82.097.220  | 36,3 | 837.392                                    | 1.970.333     | 83.739                                    | 197.033       | 251.218                                  | 591.100       |
| 2055 | 222.975.532                        | ≥ 60                       | 70.485.475  | 31,6 | 718.952                                    | 1.691.651     | 71.895                                    | 169.165       | 215.686                                  | 507.495       |

Fonte: Marin-Neto *et al.*, 2023<sup>6</sup>.

O Ministério da Saúde propôs a formulação de um índice para avaliar a vulnerabilidade à doença crônica, com o intuito de identificar regiões com maior probabilidade de morbimortalidade nesta fase da enfermidade. Esse índice considera aspectos como a dificuldade de acesso aos serviços de saúde, a falta de suspeita e detecção de casos, bem como os impactos na qualidade de vida dos afetados. Para isso, foram criados três subíndices com base nos indicadores mencionados anteriormente. A pontuação do índice pode variar de 0 a 1, sendo que valores mais próximos de 1 indicam maior vulnerabilidade para a DC<sup>7</sup>.

## 1.2 Ciclo biológico

O ciclo de vida do parasita inicia após o triatomíneo ingerir sangue do hospedeiro infectado contendo a forma tripomastigota do parasita. Uma vez no trato digestório anterior do vetor, os tripomastigotas se diferenciam em epimastigotas. Essas formas do parasita conseguem sobreviver no estômago e avançar para o intestino posterior do vetor. Neste local ocorre a diferenciação de epimastigotas em tripomastigotas metacíclicos, que são as formas infectantes para os seres humanos (Figura 3)<sup>8</sup>.



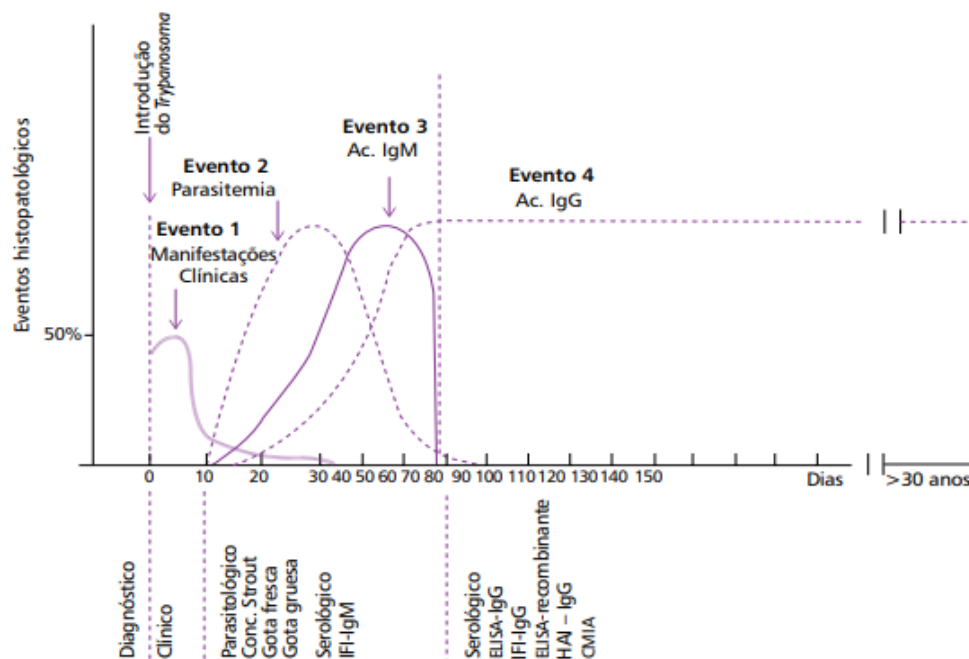
Fonte: WHO, 2024<sup>2</sup>

Durante o repasto sanguíneo, a forma infectante do parasita é eliminada nas fezes e/ou na urina do vetor. É nesse momento que o parasita pode infectar seu hospedeiro, principalmente durante a noite, quando se depara com ferimentos na pele e mucosas. Ao entrar na corrente sanguínea, os parasitas são fagocitados pelas células do sistema mononuclear fagocitário (SMF) e se diferenciam em amastigotas, multiplicando-se no interior destas células. Essas formas amastigotas se alojam nos tecidos, principalmente no fígado, baço e coração<sup>8</sup>. Embora a transmissão vetorial seja a mais conhecida, existem outras formas de transmissão como a oral, vertical, galactogênia, transfusional, acidentes laboratoriais, transplante e via sexual<sup>8</sup>.

### 1.3 Aspectos clínicos

A DC tem duas fases distintas: aguda e crônica. A fase aguda inicia-se entre 8 e 10 dias após a infecção parasitária e é caracterizada por alta parasitemia<sup>9</sup>. Durante a fase aguda da doença de Chagas, embora a maioria dos pacientes não apresente sinais precoces, é possível que ocorram sintomas inespecíficos. Esses sintomas podem incluir febre, mal-estar, dores musculares, aumento do fígado e do baço, falta de apetite, vômitos e diarreia. Além disso, em alguns casos, podem surgir sinais no local da infecção, como o sinal de Romanã, edema prolongado e indolor na pálpebra e o chagoma, lesão cutânea em outra parte do corpo. É importante ressaltar que a manifestação dos sintomas pode variar de pessoa para pessoa, e nem todos os indivíduos apresentam os sintomas mencionados (Figura 4)<sup>10,11</sup>.

**Figura 4. Eventos fisiopatológicos da doença de Chagas.**



Fonte: BRASIL. Ministério da Saúde, 2024 <sup>12</sup>

A parasitemia apresenta-se elevada nessa fase que perdura por aproximadamente 2 meses<sup>13</sup>. Geralmente, a fase aguda da DC é de resolução espontânea, sem intervenção terapêutica. No entanto, é importante destacar que o paciente pode se tornar cronicamente infectado após a resolução da fase aguda<sup>14</sup>.

Após esse estágio, ocorre um intervalo de latência de 10 a 15 anos, denominado como fase crônica assintomática ou forma indeterminada da doença que corresponde à 70% dos casos, sendo caracterizada pela ausência de sintomas ou sinais de comprometimento cardíaco ou do

trato digestório. Além disso, não são observadas alterações no eletrocardiograma ou na radiografia de tórax, apesar da soropositividade para *T. cruzi*, indicando que o indivíduo foi infectado pelo parasita em algum momento de sua vida<sup>14</sup>. Pacientes chagásicos com a forma indeterminada normalmente são pacientes ambulatoriais, pois mesmo sem sintomas específicos, esses indivíduos demandam atenção e cuidados frequentes, já que a cada ano 2-5% evolui para DC sintomática e por fim, 30-40% progridem para complicações cardíacas ou gastrointestinais<sup>15,16</sup>.

Após 10 anos, os indivíduos com a forma crônica indeterminada podem apresentar uma forma clínica ativa com presença de sintomas clínicos no coração e trato digestório, caracterizando a forma cardíaca, digestiva e mista da DC. Essa condição pode levar à diminuição da qualidade e tempo de vida, com concomitante aumento de comorbidades, como hipertensão, hipercolesterolemia, diabetes e obesidade<sup>17</sup>.

A forma crônica cardíaca é a mais frequente entre as formas crônicas com sinais clínicos ativos, acometendo cerca de 30% dos pacientes. Nesta forma clínica, a Cardiomiopatia Chagásica Crônica (CCC) apresenta anormalidades no eletrocardiograma (ECG), devido à infecção. As manifestações da CCC podem variar desde leves até graves e incluir sintomas como insuficiência cardíaca, distúrbios no sistema de condução elétrica do coração (bradiarritmias ou taquiarritmias), assim como o desenvolvimento de aneurismas na região apical do coração e a morte súbita, que pode estar relacionada ao dano do miocárdio<sup>11</sup>.

O fato da persistência e instalação da infecção crônica causada pelo parasita, indica que o próprio parasita possui muitos mecanismos para evadir o sistema imunológico. Esse desequilíbrio homeostático faz com que as células de defesa do hospedeiro utilizem mecanismos para combater os agentes infecciosos e recrutar diferentes tipos celulares e mediadores do sistema imunológico<sup>13,18</sup>. As respostas imunes inata e adaptativa desempenham essa função, eliminando o parasita e consequentemente liberando antígenos exógenos e endógenos durante a replicação intracelular, desencadeando a cascata inflamatória<sup>19</sup>.

Portadores da DC, que apresentam idade superior a 60 anos, têm predisposição para outras doenças crônicas<sup>14</sup>. A hipertensão arterial (HA) se destaca como a principal comorbidade na DC<sup>20</sup>. A frequência de pacientes chagásicos com HA pode variar, entre 26,1% e 33,3%<sup>21</sup>. Estudos que explicam a relação entre as duas patologias são relativamente escassos, mas pode-se considerar que a hipertensão arterial é um fator de risco para o desenvolvimento de complicações cardiovasculares em pacientes que apresentam pressão arterial elevada e que vivem em áreas de risco para a DC<sup>22,23,24</sup>. A fisiopatologia da hipertensão e da miocardiopatia

chagásica apresenta alguns pontos em comum, ambas resultando em um quadro clínico de inflamação sistêmica, danos extensos nos tecidos e destruição das fibras musculares cardíacas, o que leva à dilatação do ventrículo e do coração <sup>25, 26</sup>. OJO *et al* acreditam que a hipertensão seria uma seqüela da DC<sup>27</sup>. Acredita-se que tal aumento de hipertensão em pacientes com DC seja resultado de um desequilíbrio em pacientes com DC crônica entre os sistemas simpático e parassimpático que o predispõem ao desenvolvimento de hipertensão (Tabela 1) <sup>28</sup>.

Para compreender melhor a relação entre a hipertensão arterial e a DC, foi elaborado um resumo dos estudos mais relevantes, enfatizando o ano de publicação, a quantidade de participantes e a natureza do estudo. As pesquisas englobam estudos originais que analisaram diversas manifestações clínicas da doença, além de revisões e atualizações acerca do assunto. Esta avaliação possibilita reconhecer padrões na abordagem científica da DC e sua associação com aspectos genéticos e clínicos. Segue a tabela com os estudos analisados.

Tabela 1. Relação de artigos científicos que abordam a hipertensão arterial e doença de Chagas.

| Autor/Ano                              | Formas clínicas e nº de pacientes                                                    | Tipo de estudo      |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <u>Guariento et al.</u> , 1993         | Estudo com a forma cardíaca - Nº participantes: 644                                  | Original            |
| <u>Guariento et al.</u> , 1998         | Estudo com a forma indeterminada, cardíaca, digestiva, mista - Nº participantes: 878 | Original            |
| Gurgel <i>et al.</i> , 2003            | Estudo com a forma cardíaca - Nº participantes: 225                                  | Original            |
| <u>Yagil &amp; Yagil et al.</u> , 2003 | -                                                                                    | Revisão             |
| <u>Francischetti et al.</u> , 2005     | -                                                                                    | Atualização         |
| Gurgel <i>et al.</i> , 2007            | Estudo com a forma cardíaca - Nº participantes: 138                                  | Original            |
| <u>Zaidel et al.</u> , 2020            | -                                                                                    | Revisão             |
| Santana <i>et al.</i> , 2021           | -                                                                                    | Revisão             |
| Silva & Alvares, <i>et al.</i> , 2021  | -                                                                                    | Revisão             |
| Zhou <i>et al.</i> , 2021              | -                                                                                    | Revisão             |
| Medeiros <i>et al.</i> , 2022          | -                                                                                    | Revisão             |
| <u>Ojo et al.</u> , 2022               | -                                                                                    | Revisão sistemática |
| Guzik <i>et al.</i> , 2024             | -                                                                                    | Revisão             |

Fonte: Elaborada pelo autor

As citocinas são essenciais na regulação da resposta imune contra *T. cruzi* e podem ser influenciadas por polimorfismos genéticos, que resulta na gravidade da doença<sup>29</sup>. Um modo de mensurar um polimorfismo genético da resposta imune é por meio da avaliação dos SNPs ou polimorfismos de base individual ou única. Isso se dá devido ao fato de serem marcadores de escolha para análise genética e responsáveis por quase 90% das variações genéticas do genoma humano<sup>30</sup>.

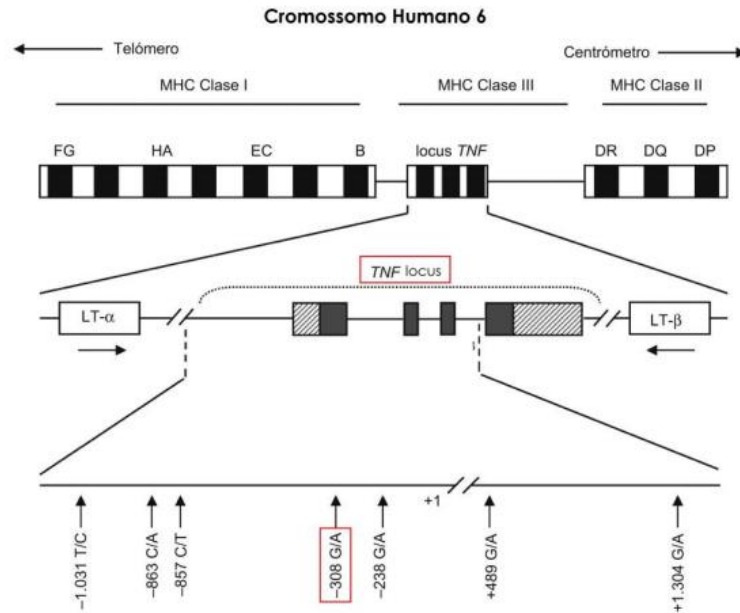
Nesse sentido, correlacionar estudos sobre os SNPs e as comorbidades mais prevalentes nos pacientes chagásicos podem contribuir para a compreensão da fisiopatologia da DC. Alguns aspectos podem ser elucidados por meio de polimorfismos em genes como o *ECA2*, que corresponde à enzima conversora de angiotensina que é associado a hipertensão devido a uma predisposição genética ligada ao cromossomo X<sup>31</sup>. Com base em observações experimentais, foi possível confirmar a hipótese de que o gene *ECA2* pode estar envolvido na regulação sistêmica de parâmetros relacionados à pressão arterial e à contração cardíaca<sup>32,33</sup>. Portanto, a enzima conversora de angiotensina 2 desempenha um papel na função cardíaca e no desenvolvimento de outras doenças, como hipertensão e esses fatores de risco são observados regularmente em pessoas com cardiomiopatia chagásica crônica<sup>34</sup>.

Outro marcador importante na fisiopatologia da resposta inflamatória que está implicada na hipertensão é o *TNF-alfa*. Sua ação hipertensiva está associada à sua capacidade de provocar disfunção endotelial, o que resulta em um efeito de vasoconstrição aumentado, resistência vascular periférica e, portanto, aumento da pressão arterial. Essa inflamação crônica mediada pelo *TNF-alfa* provoca ainda mais a superprodução de outras citocinas inflamatórias, como IL-6 e IL-1 $\beta$  ocasionando um ciclo que perpetua a disfunção endotelial e agrava a hipertensão. Além disso, a presença de citocina no ambiente cardiovascular pode agravar ainda mais a lesão tecidual e induzir fibrose que eventualmente acompanha a rigidez vascular. O *TNF-alfa* em concentrações elevadas causa enrijecimento das artérias, o que aumenta a carga hemodinâmica no coração e, progressão da insuficiência cardíaca<sup>35</sup>.

O gene *TNF-alfa* está localizado no cromossomo 6p21.3<sup>36,37</sup> (Figura 5) sendo identificado 11 polimorfismos da região -1031 a +70; um exemplo é o polimorfismo G-308A no sítio promotor do gene *TNF-alfa*, causado por uma substituição da adenina, alelo raro pelo nucleotídeo guanina, alelo comum<sup>38,39</sup>. Um achado relevante foi a associação do polimorfismo *TNF-alfa* G-308A na suscetibilidade à hipertensão essencial<sup>40</sup>, e com maior risco de desenvolvimento de hipertensão refratária na população idosa<sup>41</sup>. Outro estudo com o mesmo polimorfismo foi realizado em pacientes colombianos com doença de Chagas crônica, sendo

observado que os alelos -1031C e G-308A do gene *TNF-alfa* foram declarados como causadores de suscetibilidade ao desenvolvimento de cardiomiopatia chagásica <sup>42</sup>.

**Figura 5. Estrutura e localização de SNPs no gene *TNF-alfa*.**



Fonte: REGO-PEREZ *et al*, 2009.<sup>36</sup>

## 2. JUSTIFICATIVA

Embora haja estudos que abordem a patogênese da DC, ainda há necessidade de compreender melhor os mecanismos que influenciam o desenvolvimento de formas clínicas sintomáticas e graves. O motivo de alguns indivíduos permanecerem com a forma assintomática, por grandes períodos, ainda é desconhecido.

Assim, estudos sobre os mecanismos imunológicos, responsáveis, pela eliminação do parasita, resposta inflamatória, alterações genômica dos hospedeiros e associação de comorbidades, como a hipertensão, que possui envolvimento da resposta inflamatória em sua fisiopatologia, podem ter participação neste fenômeno.

Genes relacionados à inflamação e regulação da pressão arterial, como *ECA2* rs2074192 e *TNF-alfa* rs1800629, ainda são pouco compreendidos. E ao associar esses polimorfismos com dados clínicos e comorbidades, podemos tentar compreender a fisiopatologia grave da DC.

## 3. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Verificar e associar a frequência do polimorfismo de nucleotídeo simples do gene *ECA2* e *TNF-alfa* nas formas crônicas cardíaca e indeterminada da doença de Chagas.

### 2.2 Objetivos específicos

- I. Verificar e associar os SNPs do gene *ECA2* com dados clínicos e comorbidades como hipertensão, hipercolesterolemia e diabetes;
- II. Verificar e associar os SNPs do gene *TNF-alfa* com dados clínicos e comorbidades como hipertensão, hipercolesterolemia e diabetes;
- III. Verificar a frequência de hipertensão, hipercolesterolemia, obesidade e diabetes nas formas clínicas estudadas.

## REFERÊNCIAS

1. DNDI'S- Drugs for Neglected Diseases Initiative. Chagas disease. Acesso em: 27 de agosto de 2024. Disponível em: <https://dndial.org/doencas/doenca-de-chagas/>.
2. WHO - World Health Organization. Chagas disease (also known as American trypanosomiasis). Acesso em: 27 de agosto de 2024. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).
3. Nascimento LPGR, Nogueira LMV, Rodrigues ILA, André SR, Graça VV, Monteiro NJ. Prevalência da doença de Chagas associada ao modo de infecção. *Cogitare Enferm.* 2021;26:e73951.
4. WHO. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. First WHO report on neglected tropical diseases.
5. Rocha F, Maranhão MI, Frota TA, Araújo MMC, Silva TKAV, Sousa WWS, et al. Mortalidade por doenças tropicais negligenciadas no Brasil no século XXI: análise de tendências espaciais e temporais e fatores associados. *Revista Panamericana de Salud Pública.*2023; 47(1):1-10.
6. Marin-Neto JA, Rassi Jr A, Oliveira GMM, Correia LCL, Ramos Júnior AN, Luquetti AO, et al. Diretriz da SBC sobre Diagnóstico e Tratamento de Pacientes com Cardiomiopatia da Doença de Chagas – 2023. *Arq Bras Cardiol.* 2023;120(6):e20230269.
7. Ministério da Saúde. Territorialização e vulnerabilidade para doença de Chagas crônica. 2022.
8. Dias JCP, Ramos AN, Gontijo ED, Luquetti A, Shikanai-Yasuda MA, Coura JR, et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. *Epidemiologia e Serviços de Saúde.*2015; 25(21):1–10.
9. Higgs HN, Peterson KJ. Phylogenetic Analysis of the Formin Homology 2 Domain. *Molecular Biology of the Cell.*2005; 16(1):1–13.
10. Rassi A, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *The Lancet.*2010; 375(9723):1388–1402.
11. Simões MV, Romano MMD, Schmidt A, Martins KSM, Marin-Neto JA. Chagas Disease Cardiomyopathy. *Int J Cardiovasc Sci.* 2018;31(2):173–89.
12. Brasil. Ministério da Saúde. Guia de vigilância em saúde: volume 2, 6. ed. rev. – Brasília: Ministério da Saúde, 2024. 3 v. : il. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_saude\\_v2\\_6edrev.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_v2_6edrev.pdf) ISBN 978-65-5993-505-5
13. Cristovão-Silva AC, Brelaz-de-Castro MCA, Hernandez MZ, Pereira VRA. Chagas disease: Immunology of the disease at a glance. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2021; 62:15-22.

14. Santos E, Menezes Falcão L. Chagas cardiomyopathy and heart failure: From epidemiology to treatment. *Revista Portuguesa de Cardiologia*.2020; 39(5):279–8.
15. Ayo CM, Dalalio MM, Visentainer JE, Reis PG, Sippert EÂ, Jarduli LR,et al. Genetic susceptibility to Chagas disease: an overview about the infection and about the association between disease and the immune response genes. *Biomed Res Int*. 2013; 2013:284729.
16. Biolo A, Ribeiro AL, Clausell N. Chagas Cardiomyopathy—Where Do We Stand After a Hundred Years? *Progress in Cardiovascular Diseases*.2010; 52(4):300–16.
17. Navarro EC, Abreu MM, Tavares FC, Corrente JE, Arruda CM, Pereira PCM. Indeterminate Form of Chagas’ Disease and Metabolic Syndrome: A Dangerous Combination. *Am J Medicine Medical Sci*.2013; 3(4):68–73.
18. Machado FS, Dutra WO, Esper L, Gollob KJ, Teixeira MM, Factor SM, et al. Current understanding of immunity to *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas disease. *Semin Immunopathol*. 2012;34(6):753-0.
19. Pereira NS, Queiroga TBD, Nunes DF, Andrade CM, Nascimento MSL, Do-Valle-Matta MA, et al. Innate immune receptors over expression correlate with chronic chagasic cardiomyopathy and digestive damage in patients. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018; 12(7):e0006589.
20. Zhou B, Perel P, Mensah GA, Ezzati M. Global epidemiology, health burden and effective interventions for elevated blood pressure and hypertension. *Nat Rev Cardiol*. 2021;18(11):785-802.
21. Gurgel CBFM, Almeida EA. Frequência da hipertensão arterial em chagásicos crônicos e sua repercussão no coração: estudo clínico e anatomopatológico. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*.2007; 89(3).
22. Guariento ME, Orosz JEB, Gontijo JAR. Interação clínica entre moléstia de Chagas e hipertensão arterial primária em um serviço de referência ambulatorial. *Arq Bras Cardiol*.1998; 70 (6):431–434.
23. Brito, J. Doença de Chagas: aspectos fisiopatológicos e históricos. *Revista Atenas Higeia*.2019; 1(2):54–60.
24. Finocchi C, Sassos D. Headache and arterial hypertension. *Neurological Sciences*.2017; 38(S1):67–2.
25. Hankey GJ. Stroke. *The Lancet*.2017; 389(10069): 641–5.
26. Medeiros C de A, Silva MB de A, Oliveira ALS de, Alves SMM, Barros M das ND da S, Cavalcanti M da GA de M, et al. Mapping the morbidity and mortality of Chagas disease in an endemic area in Brazil. *Rev Inst Med trop S Paulo*. 2022;64:e5.
27. Ojo R, Alare K, Adekanye I, Odedel T, Oladokun O, Akindele Z. Doenças cardiovasculares: uma revisão sistemática das manifestações cardiovasculares da esquistossomose, tripanossomíase africana e doença de Chagas. *J Clin Exp Cardiol*.2022; 13:721.

28. Gurgel CBFM, Miguel Junior A, Mendes CR, Zerbini CO, Carcioni TM. Frequency of hypertension in chronic Chagas' disease: retrospective clinical study. *Arq Bras Cardiol.* 2003;81(6):545–8.
29. Alvarado-Arnez LE, Batista AM, Alves SM, Melo G, Lorena, VMB, Cardoso CC, et al. Single nucleotide polymorphisms of cytokine-related genes and association with clinical outcome in a Chagas disease case-control study from Brazil. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz.* 2018; 113(6): e170489.
30. Turchetto-Zolet AC, Zanella CM, Turchetto C, Passaia G. Marcadores Moleculares na Era genômica: Metodologias e Aplicações. *Sociedade Brasileira de Genética.* 2017.
31. Yagil, Y.; Yagil, C. Hypothesis. *Hypertension.* 2003; 41(4):871–3.
32. Francischetti EA, Francischetti A, Abreu VG. A emergência de um novo modulador cardiovascular - a 2a enzima de conversão da angiotensina 2 (ECA2). *Rev. SOCERJ.* 2005; 18(1):36–40.
33. Silva JKF, Alvares LE. O gene ACE2 e suas múltiplas funções na Covid-19. *Genética na Escola.* 2021; 16(2):324–1.
34. Zaidel EJ, Forsyth CJ, Novick G, Marcus R, Ribeiro ALP, Pinazo MJ. COVID-19: Implications for People with Chagas Disease. *Glob Heart.* 2020; 15(1):69.
35. Guzik TJ, Nosalski R, Maffia P, Drummond GR. Immune and inflammatory mechanisms in hypertension. *Nat Rev Cardiol.* 2024;21(6):396-41.
36. Rego-Pérez I, Fernández-Moreno M, Carreira-García V, Blanco FJ. Polimorfismos genéticos y farmacogenética en la artritis reumatoide. *Reumatol Clin.* 2009; 5(6):268-79.
37. Jongeneel CV, Briant L, Udalova IA, Sevin A, Nedospasov SA, Cambon-Thomsen A. Extensive genetic polymorphism in the human tumor necrosis factor region and relation to extended HLA haplotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(21):9717-2.
38. Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AI, Duff GW. Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum Mol Genet.* 1992;1(5):353.
39. Waterer GW, Quasney MW, Cantor RM, Wunderink RG. Septic shock and respiratory failure in community-acquired pneumonia have different TNF polymorphism associations. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163(7):1599-604.
40. Li YY. Tumor necrosis factor-alpha g308a gene polymorphism and essential hypertension: a meta-analysis involving 2244 participants. *PLoS One.* 2012;7(4):e35408.
41. Santana V, Costa MVG, Lima LR, Silva ICR, Funghetto SS, Stival MM. Análise do polimorfismo genético do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) em idosos com hipertensão arterial. *Estudos Interdisciplinares Sobre O Envelhecimento.* 2021; 26(1).

42. Criado L, Flórez O, Martín J, González CI. Genetic polymorphisms in TNFA/TNFR2 genes and Chagas disease in a Colombian endemic population. *Cytokine*. 2012;57(3):398-401.

## 4. MANUSCRITO

---

### ARTIGO ORIGINAL

#### **Polimorfismo de base única dos genes *ECA2* e *TNF-alfa* em pacientes com a forma cardíaca e indeterminada da doença de Chagas**

Bruna da Cruz Carvalho <sup>a</sup>, Cilmary Suemi Kurokawa <sup>a</sup>, Rodrigo Mattos dos Santos <sup>a</sup>, Daniela Filadelfo Sanches <sup>a</sup>, Erika Alessandra Pellison Nunes da Costa <sup>a</sup>.

<sup>a</sup> *Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, Botucatu, SP, Brasil*

Periódico a ser submetido: *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*

Fator de Impacto: 3

### RESUMO

**Introdução:** A doença de Chagas (DC) é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, endêmico em 21 países da América Latina. Estima-se que 6 a 7 milhões de pessoas da América Latina estão infectadas. A cronicidade pode ser assintomática ou forma indeterminada e sintomática ou forma cardíaca, digestiva e mista - relacionada aos sinais clínicos. Poucos trabalhos na literatura buscam esclarecer o motivo pelo qual um grupo de pacientes infectados permanece assintomático, enquanto outros apresentam formas mais graves da doença. Assim, o presente estudo teve como objetivo verificar a frequência do polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP) do gene *ECA2* e *TNF-alfa* nas formas crônicas cardíaca e indeterminada da Doença de Chagas e associar com dados clínicos e comorbidades.

**Métodos:** Foram incluídos pacientes do sexo masculino, com a forma clínica crônica indeterminada (n=51) e cardíaca (n=22) da DC, atendidos no ambulatório do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HC-FMB).

**Resultados:** A avaliação do SNP para o gene *ECA2* rs2074192 não mostrou diferenças nas frequências de guanina (G) e adenina (A). A avaliação do SNP para o gene *TNF-alfa* rs1800629 não mostrou diferença nas frequências dos genótipos GG, GA e AA.

**Conclusão:** O estudo não apresentou relação entre a presença dos polimorfismos e as formas clínicas da DC.

**Palavras-chave:** doença de Chagas; *Trypanosoma cruzi*, rs2074192, SNP 308G/A

## Introdução

A Doença de Chagas (DC) é causada pelo protozoário intracelular *Trypanossoma cruzi* sendo presente em 21 países da América Latina, afetando entre 6 a 7 milhões de pessoas e sendo responsável por cerca de 12.000 mortes anualmente. Estima-se que aproximadamente 70 milhões de pessoas vivam em áreas favoráveis à exposição, o que aumenta a probabilidade da doença.<sup>1,2</sup>

Após a inoculação do parasita, inicia-se a fase aguda da DC, apresentando ou não sintomas.<sup>3</sup> A seguir os pacientes entram na fase crônica da doença, na qual cerca de 70% são assintomáticos, ou seja, desenvolvem a forma indeterminada da doença. Alguns pacientes desenvolvem forma sintomática, com comprometimento cardíaco ou do trato digestivo.<sup>4</sup> A forma cardíaca é a mais frequente, acometendo cerca de 30% dos infectados.<sup>5,6</sup>

Embora haja estudos que abordem a patogênese da DC, ainda há necessidade de compreender melhor os mecanismos genéticos que influenciam o desenvolvimento de formas clínicas graves da doença. Não se sabe o real motivo de alguns indivíduos permanecerem com a forma assintomática, enquanto outros progridem para a forma mais grave. Por essa razão, a progressão da DC pode estar relacionada aos mecanismos imunológicos ou inflamatória, responsáveis pela eliminação do parasita, alterações genômica dos hospedeiros e comorbidades, principalmente a hipertensão, que possui envolvimento da resposta inflamatória em sua fisiopatologia.

Os genes relacionados à inflamação e regulação da pressão arterial, como *ECA2* rs2074192 e *TNF-alfa* rs1800629, ainda são pouco compreendidos na DC. E ao associar esses polimorfismos com dados clínicos e comorbidades, podemos tentar compreender a fisiopatologia grave da DC. Compreender as alterações genômicas do hospedeiro e sua correlação com forma da doença são de grande importância na identificação de subgrupos de pacientes para posterior acompanhamento clínico.

Portanto, o objetivo deste estudo foi verificar e associar a frequência dos polimorfismos de nucleotídeo simples (SNPs) do gene *ECA2* e *TNF-alfa* nas formas crônicas cardíaca e indeterminada da DC e associar com comorbidades.

## **Materiais e Métodos**

### *Sujeitos*

Estudo observacional retrospectivo no qual foram avaliados 73 pacientes do sexo masculino positivos para DC, atendidos no Ambulatório de Moléstias Infecciosas Geral, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. Destes 73 indivíduos, 22 apresentaram a forma cardíaca e 51 a forma indeterminada da DC. Os indivíduos com as formas clínicas crônicas indeterminada e cardíaca foram divididos em dois grupos para serem avaliados e comparados.

### *Considerações éticas*

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP (Parecer nº 6.333.295). O consentimento para participação no trabalho foi obtido após informação e esclarecimento sobre os objetivos do estudo prévio, com posterior assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### *Limitações do estudo*

A Impossibilidade de coleta em dois momentos devido a distância entre local de atendimento e residência do paciente limitou a ampliação de casos. Algumas amostras eram insuficientes para avaliação dos SNPs. No estudo, houve impossibilidade na confecção da reação da PCR devido a contaminantes nas amostras sanguíneas devido ao uso de medicamentos que impossibilitaram a amplificação.

### *Crítérios de inclusão*

Foram incluídos no estudo, pacientes adultos do sexo masculino na fase crônica da DC portadores da forma clínica cardíaca e indeterminada, atendidos Ambulatório de Moléstias Infecciosas Geral, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, os quais assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Os pacientes deste estudo, concederam a utilização das amostras biológicas para estudos posteriores. (Luiz)

### *Grupos de estudos*

Foram constituídos dois grupos de estudos: indeterminado e cardíaca.

Os portadores classificados com a forma indeterminada, foram os pacientes que apresentaram sorologia positiva em pelo menos dois métodos (Quimioluminescência, Hemaglutinação ou Imunofluorescência Indireta) e com eletrocardiograma (ECG), enema opaco e esôfagos-estômago-duodeno (EED) normais e ausência de sintomas clínicos.

Já os portadores da forma cardíaca foram os indivíduos que, além de sorologia positiva, apresentaram alterações no ECG, radiografia de tórax e sintomas clínicos como palpitações, arritmias, incluindo extrassístole ventricular, taquicardia e diferentes graus de bloqueios cardíacos.

#### *Crítérios de exclusão*

Foram excluídos pacientes do sexo feminino que, devido à localização do gene *ECA2* no cromossomo X, a detecção do polimorfismo teria que ser feita nos dois cromossomos XX de procedência materna e paterna, em uso de medicações contraceptivas utilizadas com frequência no sexo referido. Foram excluídos também indivíduos os quais se recusaram a participar, com materiais biológicos inadequados e indivíduos falecidos.

#### *Variáveis do estudo/*

Dentre os dados clínicos retirados do prontuário médico, estavam: idade (anos); peso (kg), altura (m), Índice de massa corporal (IMC), drogas para hipertensão, dislipidemia e hiperglicemia de uso do paciente, pressão arterial, valores de colesterol e frações, e valores de glicemia.

O IMC foi obtido pela divisão do peso em quilogramas pela altura em metros elevada ao quadrado ( $\text{kg/m}^2$ ). Para adultos de 20 a 59 anos, a classificação é baseada nos valores:  $< 18,5$  abaixo do peso;  $\geq 18,5$  a  $< 25$  eutrófico;  $\geq 25$  a  $< 30$  acima do peso;  $\geq 30$  obesidade. Para idosos ( $> 60$  anos), a classificação é baseada nos valores:  $\leq 22$  abaixo do peso;  $> 22$  e  $< 27$  eutrófico;  $\geq 27$  acima do peso.<sup>7</sup>

Para a classificação da gravidade das comorbidades: diabetes, colesterol total; Lipoproteína de Alta Densidade (HDL) e triglicerídeos, foram considerados os seguintes valores nos exames bioquímicos: Glicemia  $> 126$  mg/dL; Colesterol total  $> 239$  mg/dL, HDL normal entre 40 mg/dL e 60 mg/dL, Triglicerídeos  $> 200$  mg/dL<sup>8,9</sup>, além da avaliação dos medicamentos de uso contínuo para o controle dessas comorbidades.

A hipertensão sistólica isolada foi definida como pressão arterial sistólica  $\geq 130$  mmHg e pressão arterial diastólica  $< 80$  mmHg, e a hipertensão diastólica isolada foi definida como

pressão arterial sistólica <130mmHg e pressão arterial diastólica  $\geq$ 80mmHg, em uso de medicamentos para hipertensão.<sup>10</sup>

#### *Coleta do sangue periférico*

O ácido desoxirribonucleico (DNA) foi extraído de células brancas do sangue periférico. A coleta de 5 mL de sangue periférico dos participantes do estudo foi realizada por meio de punção venosa na fossa antecubital, utilizando agulhas e tubos de vácuo estéril e descartável. Adicionou-se 1mL de tampão de lise de células vermelhas (pH: 7,6 1X: 10mM de Tris; 5mM de MgCl<sub>2</sub> e 10mM de NaCl) à papa leucocitária do sangue e foi feita a centrifugação a 15000 rpm (rotação por minuto) durante 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o pellet armazenado em temperatura -20°C.

#### *Extração de DNA genômico*

A extração de DNA foi realizada usando o Kit PureLink® Genomic DNA Mini Kits K182001 (Invitrogen, Carlsbad, USA), seguindo as orientações do fabricante. A determinação da quantidade de DNA foi feita no espectrofotômetro NanoVue Plu (GE Healthcare, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK).

#### *Análises moleculares*

Todas as amostras foram analisadas por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) convencional, os primers utilizados para avaliação do polimorfismo G-308A do gene *TNF-alfa* foram o *primer* (Forward) GAGGCAATAGGTTTTGAGGGCCAT e *primer* (Reverse) GGGACACACAAGCATCAAG. A reação de PCR e as condições de ciclagem desta primeira reação seguiram os passos de Asghar et al<sup>11</sup>. Um produto foi gerado e digerido com enzima de restrição NcoI.

Na segunda reação para avaliação do gene *ECA2*, os primers utilizados para avaliação do polimorfismo foram o *primer* (Forward) GTAAGCCATTTCCCATCCC e *primer* (Reverse) ATTGTGCCACTGCCCTCTA. A reação de PCR e as condições de ciclagem desta segunda reação foram realizadas conforme descritos por Fan et al<sup>10</sup>. Um produto de aproximadamente 500 bp foi gerado e sequenciado posteriormente pelo sequenciamento de Sanger.

Todos os produtos da PCR foram monitorados por eletroforese em gel de agarose 2%, corado com 1 µL de brometo de etídeo, visualizados e foto-documentados em transluminador ultravioleta (UVP, Upaland, CA, USA) para confirmação da amplificação de uma banda única.

#### *Digestão com enzima de restrição (RFLP)*

Para a avaliação do SNP na região G-308A do gene *TNF-alfa* rs1800629, foram usados 10 µL do produto da PCR amplificado e 0,5 µL da enzima de restrição *Nocardia corallina* (NcoI) (New England BioLabs, Boston, MA, USA - R0193L). A digestão foi realizada a 37°C em um termociclador por 2 horas, seguida de 65°C por 10 minutos. As amostras digeridas foram examinadas em gel de agarose a 3% e observadas em um transiluminador ultravioleta. Os genótipos foram diferenciados pelo tamanho de seus fragmentos: GG – 126 e 21 pb, GA – 147, 126 e 21 pb e AA – 147 pb.

#### *Análise estatística*

Os dados qualitativos foram analisados com uso do teste de Qui-quadrado ou Teste Exato de Fischer, dependendo dos valores dos dados nas Tabelas de contingência.

Para os dados quantitativos foram utilizadas análises paramétricas, teste-t de Student para variáveis com distribuição normal; e as variáveis com distribuição assimétrica foram analisadas com uso do teste Mann-Whitney. Foi adotado o valor de significância de 0,05 para o valor de p.

## **Resultados**

#### *Dados clínicos e demográficos*

O estudo incluiu 73 pacientes. Desse total, 51 participantes apresentavam a forma indeterminada e 22 apresentavam a forma cardíaca.

Os 73 pacientes chagásicos, foram provenientes, do interior do Estado de São Paulo, Brasil. Os pacientes foram agrupados por microrregiões do Estado, com destaque para sub-região de Avaré (47) e Botucatu (18) (Figura 1).

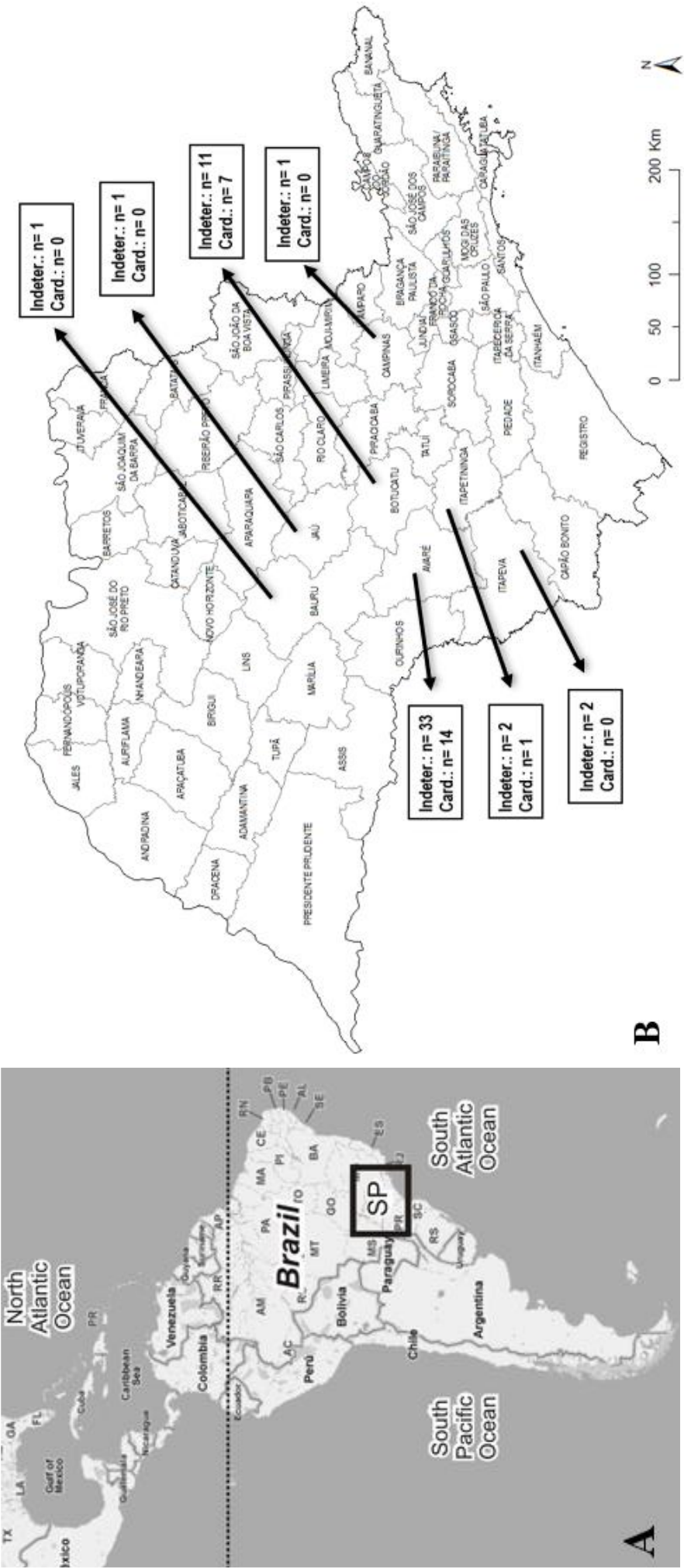


Figura 1. (A) Mapa da América do Sul com destaque para o Estado de São Paulo; (B) Mapa da procedência dos pacientes com doença de Chagas no Estado de São Paulo.

Indeter, Forma indeterminada; Card, Forma cardíaca; n, Número de pacientes pertencentes a cada sub-região.

No estudo, a microrregião em que os pacientes mais residiam foram em cidades da sub-região de Avaré, representando, 64,4% (n=47) do total dos 73 pacientes, e 35,6% compreenderam pacientes procedentes das outras regiões. Os pacientes chagásicos que apresentavam a forma indeterminada na sub-região de Avaré, representavam, 64,7% (n=33) do total de 51 pacientes e com a forma cardíaca, o percentual foi de 63,6% (n=14) do total de 22 pacientes. A cidade de Itaipava foi a que mais havia pacientes com a forma indeterminada, sendo 13,7% (n=7), seguida de Itaporanga com 11,7% (n=6), os dois municípios fazem parte da sub-região de Avaré. Já com a forma cardíaca, os municípios de Bofete (sub-região de Botucatu) e Taquarituba (sub-região de Avaré), apresentaram o mesmo percentual de 13,6% (n=3).

Os valores do IMC não foram divergentes entre os dois grupos. Isto pode ser devido ao seguimento ambulatorial propiciado no Ambulatório de Moléstias Infecciosas Geral, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu. As comorbidades são diagnosticadas e tratadas no decorrer do acompanhamento do paciente chagásico (Tabela 1).

**Tabela 1**

Características clínicas e atividade profissional rural dos pacientes.

| <b>Variáveis</b>                   | <b>Forma indeterminada (n=51)</b> | <b>Forma cardíaca (n=22)</b> | <b>Valor de p</b>    |
|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|----------------------|
| Idade (anos)                       | 68 ±7,92                          | 70 ±10,20                    | 0,12 <sup>a, b</sup> |
| Peso (kg)                          | 76,13 ±11,69                      | 72,9 ±13,5                   | 0,15 <sup>a, b</sup> |
| Altura (m)                         | 1,69± 0,07                        | 1,68 ±0,06                   | 0,45 <sup>a, b</sup> |
| IMC (kg/m <sup>2</sup> )           | 26,99 ±3,82                       | 25,68 ±3,92                  | 0,09 <sup>a, b</sup> |
| Branco n (%)                       | 41 (80,4%)                        | 17 (77,3%)                   | 0,33 <sup>c, d</sup> |
| Trabalhador ou morador rural n (%) | 21 (41,1%)                        | 7 (31,8%)                    | 0,66 <sup>d</sup>    |

kg, quilograma; m, metros; IMC, Índice de Massa Corporal, razão entre o peso do indivíduo e o quadrado da sua altura.

<sup>a</sup> Teste T de Student.

<sup>b</sup> Média e Desvio padrão.

<sup>c</sup> Branco x Não branco.

<sup>d</sup> Test Qui-quadrado.

A média de idade entre indivíduos com a forma indeterminada e cardíaca foi de 68 e 70 anos, sem diferença estatística entre os grupos e a idade correspondia a indivíduos classificados como idosos.

Das comorbidades avaliadas, a hipercolesterolemia apresentou significância, as demais comorbidades não apresentaram diferenças (Tabela 2).

**Tabela 2**

Comorbidades nas formas clínicas.

| <b>Variáveis</b>    | <b>Forma indeterminada (n=51)</b> | <b>Forma Cardíaca (n= 22)</b> | <b>Valor de p</b>  |
|---------------------|-----------------------------------|-------------------------------|--------------------|
| Hipertensão         | 21 (41,2%)                        | 15 (68,2%)                    | 0,063 <sup>a</sup> |
| Hipercolesterolemia | 15 (29,4%)                        | 13 (59,1%)                    | 0,05 <sup>a</sup>  |
| Diabetes            | 12 (23,5%)                        | 7 (31,8%)                     | 0,65 <sup>a</sup>  |
| Obesidade           | 8 (15,7%)                         | 4 (18,2%)                     | 1,0 <sup>b</sup>   |

<sup>a</sup> Test Qui-quadrado.

<sup>b</sup> Test Exato de fisher.

Pacientes obesos foram considerados com IMC >30, dos 51 pacientes assintomáticos, 8 (15,7%) eram obesos e dos 22 pacientes com a forma sintomática, quatro (18,2%) também eram considerados obesos. Não houve diferença estatística entre os grupos ( $p > 0,05$ ). Os demais pacientes foram considerados não obesos com IMC <30. Um paciente na forma indeterminada apresentou baixo peso (1,9%) e dois pacientes (9,1%) com baixo peso estavam com a forma cardíaca. Os eutróficos representavam cerca de 18 (35,3%) para a forma indeterminada e dez (45,4%) para a forma cardíaca. Os indivíduos classificados com sobrepeso foram 24 (47,1%) para indivíduos com a forma indeterminada e 7 (31,8%) para a forma cardíaca.

A hipertensão foi a comorbidade mais frequente em ambos os grupos. Entre os pacientes com forma indeterminada, 20 apresentavam hipertensão, enquanto, no grupo com forma cardíaca, 15 pacientes eram hipertensos. A hipercolesterolemia foi a segunda comorbidade mais comum, sendo observada em 16 pacientes com forma indeterminada e em 13 pacientes com forma cardíaca. Já o diabetes foi a comorbidade menos frequente, com 13 casos de forma indeterminada e 7 casos de forma cardíaca (Figura 2).

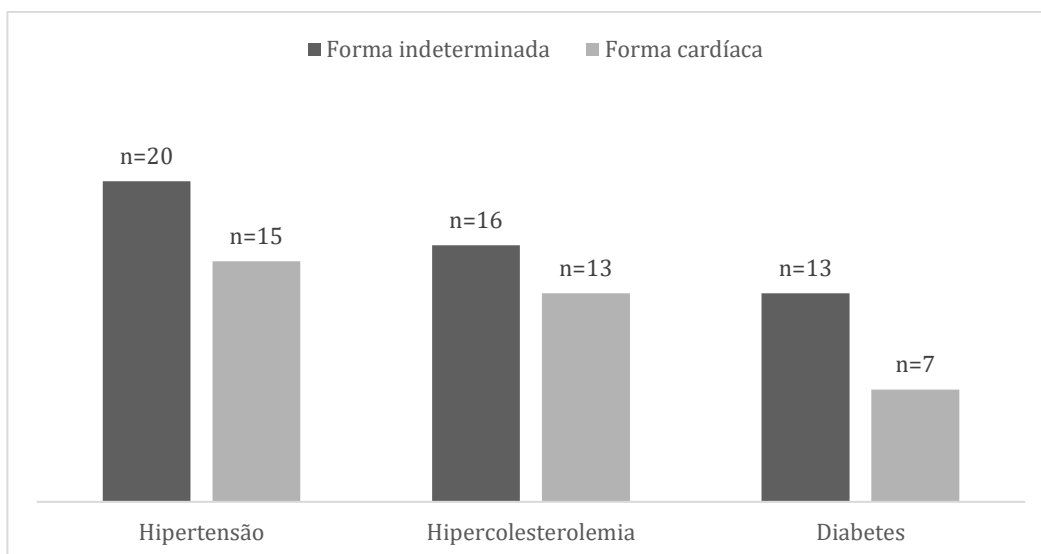


Figura 2. Gráfico de frequência de comorbidades.

Entre os pacientes com forma indeterminada, a maioria (20 pacientes) não apresentou nenhuma comorbidade. Além disso, 15 pacientes possuem uma comorbidade, 14 possuem duas, e apenas 2 pacientes apresentam três comorbidades. Por outro lado, na forma cardíaca, apenas 2 pacientes não possuem comorbidades, enquanto 9 apresentam uma, 7 possuem duas, e 4 pacientes possuem três comorbidades (Figura 3).

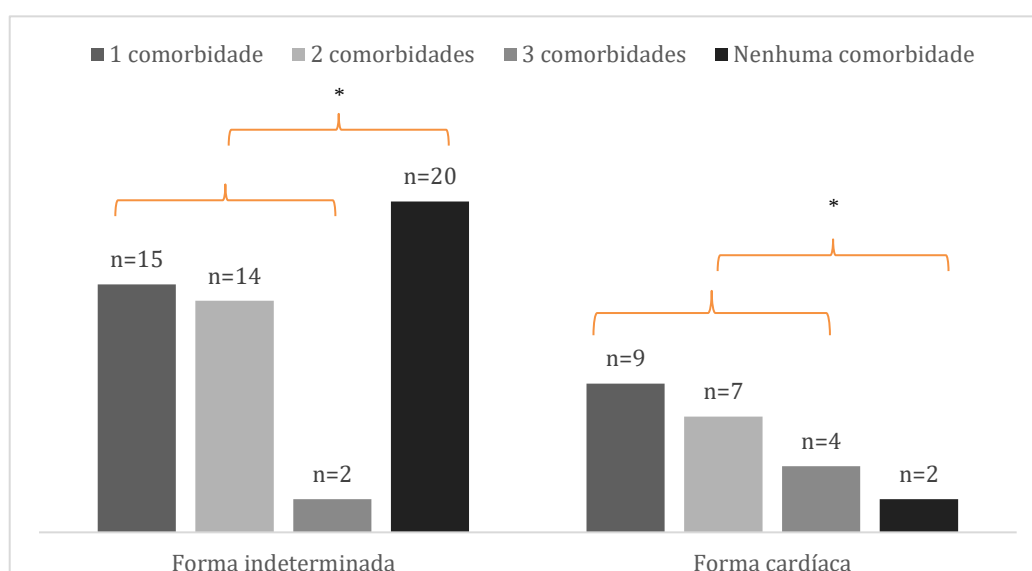


Figura 3. Gráfico de frequência de até três comorbidades nas formas clínicas.

\* Teste Exato de Fisher;  $p=0,01$ .

Os medicamentos de uso contínuo para o tratamento da hipertensão arterial (HA), hipercolesterolemia, diabetes/hiperglicemia estão descritos na Tabela 3. Estes medicamentos

estavam nos prontuários eletrônicos e auxiliaram na identificação das comorbidades de cada paciente.

**Tabela 3**

Classe de medicamentos.

| Variáveis                              | Classe dos medicamentos                                                                            | Forma indeterminada (n=51) | Forma cardíaca (n=22) |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Hipertensão                            | Bloqueadores de angiotensina II, Alfa bloqueador, Beta bloqueadores, Inibidores da ECA, diuréticos | 20 (39,2%)                 | 9 (45%)               |
| Hipercolesterolemia                    | Estatina                                                                                           | 24 (47,1%)                 | 8 (40%)               |
| Diabetes /hiperglicemia                | Biguanidas, insulina, Sulfonilureias, Inibidores da proteína de transporte de sódio-glicose        | 7 (13,7%)                  | 3 (15%)               |
| Sem uso de medicação para comorbidades | -                                                                                                  | 20 (39,2%)                 | 1 (4,5%)              |

#### *Genotipagem SNP do gene ECA2 rs2074192*

Com relação aos resultados dos genótipos do polimorfismo do gene *ECA2* entre os grupos, houve maior frequência do alelo G nos indivíduos com a forma indeterminada (Tabela 4). Quando observada a distribuição dos alelos dentro do grupo de indivíduos assintomáticos e sintomáticos, houve maior predominância do alelo G (Tabela 4). Não houve diferença significativa entre os alelos G e A quando comparados no grupo e entre os grupos ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 4**

Frequência dos alelos G e A do gene *ECA2* rs2074192.

| Alelo <i>ECA2</i> | Forma indeterminada (n=36) | Forma cardíaca (n=7) | Valor de p        |
|-------------------|----------------------------|----------------------|-------------------|
| G                 | 24 (66,7%)                 | 6 (85,7%)            | 0,33 <sup>a</sup> |
| A                 | 12 (33,3%)                 | 1 (14,3%)            |                   |

G= guanina, A= adenina.

<sup>a</sup> Teste Exato de Fisher.

Quando se compara os alelos com as comorbidade, não houve diferença estatística (Tabela 5).

**Tabela 5**

Frequência dos alelos G e A do gene *ECA2* rs2074192 associado a comorbidades.

| Alelo <i>ECA2</i>         | G  | A  | Valor de p        |
|---------------------------|----|----|-------------------|
| Hipertensão + (n)         | 16 | 6  | 0,87 <sup>a</sup> |
| Hipertensão - (n)         | 20 | 9  |                   |
| Hipercolesterolemia + (n) | 13 | 5  | 0,98 <sup>a</sup> |
| Hipercolesterolemia - (n) | 23 | 11 |                   |

G= guanina; A=adenina; (+) presença de comorbidade; (-) ausência de comorbidade.

<sup>a</sup> Teste Qui-quadrado.

#### Genotipagem SNP *TNF-alfa* G-308A

Com relação aos resultados dos genótipos do gene *TNF-alfa*, não houve diferença de frequência do alelos GG, GA e AA nos indivíduos com a forma indeterminada *versus* com a forma cardíaca (Tabela 6). Os resultados foram mostrados como alelos GG, GA e AA em foto do gel de agarose (Figura 4).

**Tabela 6**

Distribuição dos genótipos do SNP G-308A rs1800629 do gene *TNF-alfa*.

| Alelos <i>TNF-alfa</i> | Forma indeterminada (n=39) | Forma cardíaca (n=17) | Valor de p        |
|------------------------|----------------------------|-----------------------|-------------------|
| GG                     | 19 (48,7%)                 | 10 (58,9%)            | 0,32 <sup>a</sup> |
| GA                     | 17 (43,6%)                 | 6 (35,3%)             |                   |
| AA                     | 3 (7,7%)                   | 1 (5,8%)              |                   |

G= guanina; A= adenina.

<sup>a</sup> Testes Qui-quadrado.

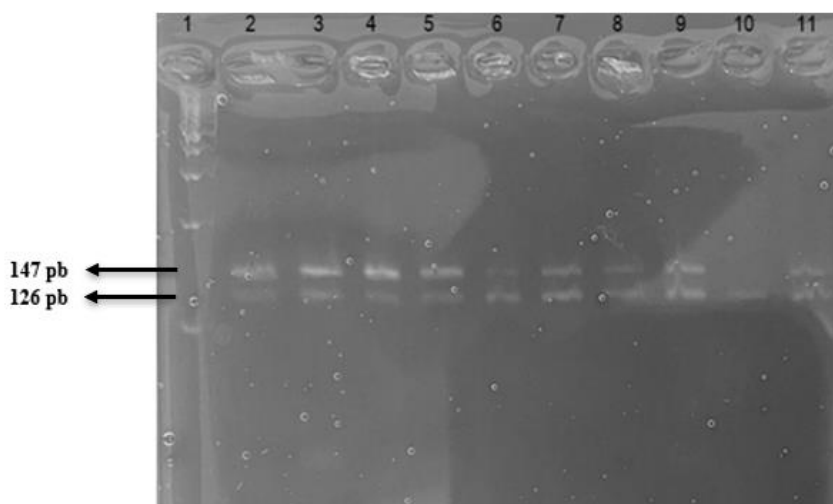


Figura 4. Genotipagem do SNP rs 1088629 do gene *TNF-alfa*.

Linha 1: marcador de peso molecular Ladder de 100 pares de bases (pb)

Linha 2;3;4;5;6;7;8;9 e 11: genótipo GA (147,126,21 pb);

Linha 10: genótipo GG (147 pb).

**Tabela 7**

Frequência dos alelos GG, GA e AA do gene *TNF-alfa* associado a comorbidades.

| Alelos <i>TNF-alfa</i>           | GG | GA | AA | Valor de p        |
|----------------------------------|----|----|----|-------------------|
| <b>Hipertensão + (n)</b>         | 11 | 11 | 3  | 0,34 <sup>a</sup> |
| <b>Hipertensão - (n)</b>         | 18 | 12 | 1  |                   |
| <b>Hipercolesterolemia + (n)</b> | 9  | 10 | 2  | 0,56 <sup>a</sup> |
| <b>Hipercolesterolemia - (n)</b> | 20 | 13 | 2  |                   |

guanina; A, adenina; (+) presença de comorbidade; (-) ausência de comorbidade.

<sup>a</sup> Teste Qui-quadrado.

Na Tabela 8, foram mostradas as características dos indivíduos que possuem os dois alelos A que são considerados alelos que predispõem a progressão da doença. Outros indivíduos com mesmo alelo AA para o *TNF-alfa* não foram sequenciados por motivos de insuficiência de material biológico e contaminações nas reações.

**Tabela 8**

Dados clínicos de três pacientes que possuem os dois alelos A dos genótipos do SNP G-308A.

| <i>TNF-alfa</i> | <i>ECA2</i> | Idade<br>(anos) | Forma<br>Clínica | IMC       | Hipertensão | Hipercolesterolemia | Diabetes |
|-----------------|-------------|-----------------|------------------|-----------|-------------|---------------------|----------|
| AA              | G           | 67              | Indeter.         | Sobrepeso | S           | N                   | N        |
| AA              | G           | 50              | Indeter.         | Eutrofia  | N           | N                   | N        |
| AA              | G           | 73              | Card.            | Eutrofia  | S           | S                   | S        |

Indeter, forma indeterminada; Card, forma cardíaca; S, presença de comorbidade; N, ausência de comorbidade, A, adenina.

## DISCUSSÃO

Neste estudo, foram analisados prontuários de 73 pacientes com DC crônica, distribuídos entre as formas indeterminada e cardíaca da doença. A prevalência da forma indeterminada foi de 64,4% e com a forma cardíaca 35,6% entre os pacientes chagásicos, com uma maior concentração na sub-região de Avaré, a qual destaca a relevância regional da doença e os desafios na gestão de suas manifestações crônicas.

No estudo, a média de idade dos pacientes com DC foi de 68 anos para a forma indeterminada e 70 anos para a forma cardíaca. No Brasil, um indivíduo é considerado idoso quando atinge 60 anos ou mais e a projeção é que até 2060, 38,7% da população será idosa.<sup>12</sup> Alguns estudos foram conduzidos em pacientes chagásico, com essa mesma faixa etária no Brasil e as comorbidades que os acompanham no processo de envelhecimento<sup>13,14,15</sup>. VIZZONI *et al.*, 2018, observaram que, cerca de 70% dos pacientes estudados possuíam pelo menos uma comorbidade, sendo hipertensão arterial (56%), dislipidemia (42%) e diabetes tipo 2 (30%) as mais comuns.<sup>13</sup> O estudo realizado por ALVES *et al.*, 2009, verificaram que a média de comorbidades por paciente foi de 2,8 comorbidades, e 33% dos participantes apresentavam quatro ou mais doenças crônicas associadas e a comorbidade mais comum foi a hipertensão arterial sistêmica (57%).<sup>14</sup> PEREIRA *et al.*, 2018, observaram que a média de comorbidades por paciente foi de  $2,23 \pm 1,54$ , com a hipertensão arterial de 67%.<sup>15</sup>

A incidência de hipertensão arterial aumenta após os indivíduos atingirem a idade de 60 anos. No Brasil, cerca de 37% da população idosa é afetada pela hipertensão. Esse grupo, em particular, apresenta uma tendência maior a desenvolver hipertensão, atribuível a fatores associados ao processo de envelhecimento geral e vascular.<sup>16</sup> No estudo, embora a frequência

de hipertensão entre os dois grupos não tenha demonstrado diferença significativa, houve mais casos no grupo com DC cardíaca, o valor de  $p$  nesta comparação foi de 0,063.

Outro dado levantado no estudo, foram as características clínicas que não revelaram diferenças estatisticamente significativas no IMC, peso e altura e a idade entre as formas indeterminada e cardíaca. O fato de não haver diferenças significativas, pode sugerir que o acompanhamento ambulatorial regular contribui para a homogeneização desses dados.

Nos últimos anos, a prevalência de obesidade e sobrepeso entre os idosos brasileiros cresceu consideravelmente. De 2006 a 2019, a prevalência de sobrepeso aumentou de 53% para 61%, enquanto a obesidade passou de 16% para 23%. Neste estudo, a prevalência de sobrepeso nas duas formas foi de 42,5% ( $n=31$ ) e a obesidade foi de 33,9% ( $n=12$ ). A classificação do IMC foi realizada de acordo com as diretrizes do Ministério da Saúde, que definiu como obesos, indivíduos com  $IMC >30$ . Logo, entre chagásicos indeterminados e cardíacos, existem relativamente poucos obesos. A obesidade em pacientes com DC, embora não tão comum quanto outras comorbidades, como a hipertensão, está relacionada ao maior risco de complicações cardiovasculares.<sup>17,18</sup>

A incidência de hipercolesterolemia entre os idosos brasileiros tem apresentado um crescimento considerável. A percentagem de hipercolesterolemia nas duas formas apresentou diferença significativa  $p$  de 0,05. Estes níveis elevados de colesterol estão diretamente associados ao crescimento do risco de enfermidades cardiovasculares, como ataques cardíacos e acidentes vasculares cerebrais, em um grupo já suscetível devido à idade avançada e à existência de outras condições de saúde, como hipertensão e diabetes.<sup>19</sup>

Pesquisas recentes indicam que a incidência de diabetes mellitus em idosos no Brasil persiste em ascensão, atingindo aproximadamente 24% da população acima de 60 anos.<sup>17</sup> No estudo a percentagem de diabetes não teve diferença significativa entre as formas clínicas, sendo 26% ( $n=19$ ), com um valor de  $p$  igual a 0,65.

Com relação aos resultados da genotipagem do SNP do gene *ECA2* - rs2074192 não houve diferenças na frequência das bases G (C) e A (T) entre os grupos com a forma indeterminada e cardíaca e nem para hipertensão arterial. Pesquisas realizadas com populações francesas e britânicas identificaram que o alelo A (T) desse SNP também está relacionado a um risco aumentado de hipertensão com manifestação precoce, especialmente em homens obesos e fumantes.<sup>20</sup>

Um estudo realizado na região Uigur da China, envolvendo 275 uigures com diabetes tipo 2 e 272 uigures não diabéticos, mostrou que o genótipo rs2074192 estava associado ao

diabetes e a um risco moderadamente aumentado de hipertensão. Pacientes hipertensos com o genótipo controle rs2074192 (CC) são considerados com risco de 50% ou mais de hipertensão complicada por aterosclerose carotídea<sup>21</sup>.

O *ECA2* rs2074192 está associado a um risco moderado e alto de hipertensão essencial e/ou dislipidemia, criando assim um risco de problemas cardiovasculares. Um estudo realizado por PATEL *et al.*, 2012 também relatou que o mesmo rs estava associado à hipertensão, principalmente em homens com o alelo C. Estes resultados fortalecem ainda mais a associação entre SNPs, hipertensão e comorbidades, frequentemente concomitantes.<sup>22,23</sup>

Com relação aos resultados dos genótipos do polimorfismo do gene *TNF-alfa* entre os grupos, não houve diferença significativa entre os genótipos GA, GG e AA quando comparados entre os grupos ( $p > 0,05$ ). Um estudo observou que os níveis de citocinas pró-inflamatórias, incluindo o *TNF-alfa*, estavam elevados em pacientes chagásicos hipertensos. Isso reforça a hipótese de que o polimorfismo rs1800629, ao aumentar a expressão de *TNF-alfa*, pode contribuir para o desenvolvimento de hipertensão nesses pacientes. No entanto, as evidências sobre a associação direta entre o SNP e a hipertensão ainda são limitadas e inconsistentes.<sup>24</sup>

O alelo A do polimorfismo rs1800629 tem sido relacionado a uma maior produção da citocina inflamatória *TNF-alfa*, o que pode agravar condições cardiovasculares, incluindo a hipertensão. Um estudo mexicano mostrou que o alelo A estava significativamente associado ao aumento da suscetibilidade à Doença de Chagas e à progressão para a cardiopatia chagásica crônica, sugerindo que a inflamação exacerbada desempenha um papel crítico na progressão da doença.<sup>25</sup> Em uma coorte brasileira, o alelo A foi associado à redução da sobrevida em pacientes com cardiomiopatia chagásica grave. Isso sugere que, embora o alelo A possa ter impacto na inflamação, outros fatores genéticos ou ambientais podem modular o risco de hipertensão em pacientes chagásicos.<sup>26</sup>

Um estudo em adultos palestinos sobre o polimorfismo rs1800629 no gene *TNF-alfa* explorou sua associação com o colesterol alto, especialmente no contexto de doenças inflamatórias. O alelo A foi relacionado a uma maior expressão da citocina *TNF-alfa*, conhecida por desempenhar um papel significativo na inflamação sistêmica. Esse aumento na produção de *TNF-alfa* pode levar a um desequilíbrio no metabolismo lipídico, elevando os níveis de colesterol total e LDL, ambos fatores de risco para doenças cardiovasculares.<sup>27</sup>

Ao analisar estatisticamente os dados coletados, constatou-se que os polimorfismos dos genes *ECA2* e *TNF-alfa* não apresentaram diferença estatística. Estudos de HAMET *et al.*, 2021; LIU *et al.*, 2018; PAN *et al.*, 2018 e PATEL *et al.*, 2012 mostram que portadores do alelo

A do polimorfismo rs1800629 está fortemente associado a complicações cardiovasculares em pacientes chagásicos, o que leva a hipótese que portadores desse alelo podem ter progressão da doença em algum momento da vida. Esses resultados ainda são insuficientes para tal afirmação, já que foram analisados apenas em duas formas clínicas, sem a inclusão da forma mista e digestiva, além do pequeno número de pacientes de uma unidade de saúde.

A análise dos polimorfismos não indicou ligação com a severidade da DC e as comorbidades associadas nos pacientes deste estudo que são monitorados no ambulatório de acompanhamento. Contudo, em uma amostra mais ampla e em pacientes que não seguem qualquer tipo de acompanhamento e/ou tratamento, não podemos garantir a inexistência dessa ligação.

## REFERÊNCIAS

1. Drugs for Neglected Diseases Initiative. Chagas disease. Acesso em: 27 - agosto -2024. Disponível em: <https://ndial.org/doencas/doenca-de-chagas/>.
2. World Health Organization. Chagas disease (also known as American trypanosomiasis). Acessado em: 27-agosto-2024. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).
3. Simões MV, Romano MMD, Schmidt A, Martins KSM, Marin-Neto JA. Chagas Disease Cardiomyopathy. *Int J Cardiovasc Sci*. 2018;31(2):173–89.
4. Santos E, Menezes Falcão L. Chagas cardiomyopathy and heart failure: From epidemiology to treatment. *Revista Portuguesa de Cardiologia*. 2020; 39(5):279–8.
5. Ayo CM, Dalalio MM, Visentainer JE, Reis PG, Sippert EÂ, Jarduli LR, et al. Genetic susceptibility to Chagas disease: an overview about the infection and about the association between disease and the immune response genes. *Biomed Res Int*. 2013; 2013:284729.
6. Biolo A, Ribeiro AL, Clausell N. Chagas Cardiomyopathy—Where Do We Stand After a Hundred Years? *Progress in Cardiovascular Diseases*. 2010; 52(4):300–16.
7. Diretrizes brasileiras de obesidade 2016. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica, 2016.
8. Rodacki M, Cobas RA, Zajdenverg L, et al. Diagnóstico de diabetes mellitus. *Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes*. 2024.
9. Bundy JD, Mills KT, He J. Comparison of the 2017 ACC/AHA Hypertension Guideline with Earlier Guidelines on Estimated Reductions in Cardiovascular Disease. *Curr Hypertens Rep*. 2019;21(10):76.
10. Fan Z, Wu G, Yue M, et al. Hypertension and hypertensive left ventricular hypertrophy are associated with ACE2 genetic polymorphism. *Life Sci*. 2019; 225:39-45.
11. Asghar T, Yoshida S, Kennedy S, et al. The tumor necrosis factor-alpha promoter -1031C polymorphism is associated with decreased risk of endometriosis in a Japanese population. *Hum Reprod*. 2004;19(11):2509-14.
12. Bomfim WC, Silva MC, Camargos MCS. Estatuto do Idoso: análise dos fatores associados ao seu conhecimento pela população idosa brasileira. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2022; 27(11): 4277–4288.
13. Vizzoni, AG, Varela, MC, et al. Envelhecimento com doença de Chagas: uma visão geral de uma coorte urbana brasileira no Rio de Janeiro. *Parasites Vectors*. 2018; 11, 354.

14. Alves RM, Thomaz RP, Almeida EA, Wanderley JS, Guariento ME. Chagas' disease and ageing: the coexistence of other chronic diseases with Chagas' disease in elderly patients. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009;42(6):622–8.
15. Pereira NS, Queiroga TBD, Nunes DF, et al. Innate immune receptors over expression correlate with chronic chagasic cardiomyopathy and digestive damage in patients. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018; 12(7):e0006589.
16. Julião NA, Souza A, Guimarães RRM. Tendências na prevalência de hipertensão arterial sistêmica e na utilização de serviços de saúde no Brasil ao longo de uma década (2008-2019). *Ciência & Saúde Coletiva.* 2021; 26(9):4007–4019.
17. Xavier IGG, Vieira MC, Rodrigues Junior LF, et al. Prevalence of metabolic syndrome and associated factors among patients with chronic Chagas disease. *PLoS One.* 2021;16(4):e0249116.
18. Bocchi EA, Veiga Guimarães G, Espinoza Romero C, et al. Assessment of biomarkers and clinical parameters as predictors of survival in patients with chagasic heart failure. *PLoS Negl Trop Dis.* 2023;17(12):e0011847.
19. Izar MC de O, Giraldez VZR, Bertolami A, et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar – 2021. *Arq Bras Cardiol.* 2021;117(4):782–844.
20. Hamet P, Pausova Z, Attaoua R, et al. SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Gene Is Associated with Hypertension and Severity of COVID 19: Interaction with Sex, Obesity, and Smoking. *Am J Hypertens.* 2021;34(4):367-376.
21. Liu C, Li Y, Guan T, et al. ACE2 polymorphisms associated with cardiovascular risk in Uyghurs with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol.* 2018;17(1):127.
22. Pan Y, Wang T, Li Y. et al. Association of ACE2 polymorphisms with susceptibility to essential hypertension and dyslipidemia in Xinjiang, China. *Lipids Health Dis.* 2018; 17, 241.
23. Patel SK, Wai B, Ord M, et al. Association of ACE2 genetic variants with blood pressure, left ventricular mass, and cardiac function in Caucasians with type 2 diabetes. *Am J Hypertens.* 2012;25(2):216-22.
24. Bestetti RB, Dellalibera-Joviliano R, Lopes GS, et al. Determination of the Th1, Th2, Th17, and Treg cytokine profile in patients with chronic Chagas heart disease and systemic arterial hypertension. *Heart Vessels.* 2019;34(1):123-133.
25. Rodríguez-Pérez JM, Cruz-Robles D, Hernández-Pacheco G, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  promoter polymorphism in Mexican patients with Chagas' disease. *Immunol Lett.* 2005;98(1):97-102.

26. Alvarado-Arnez LE, Batista AM, Alves SM, et al. Single nucleotide polymorphisms of cytokine-related genes and association with clinical outcome in a Chagas disease case-control study from Brazil. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*.2018; 113(6): e170489.
27. Ayesh H, Ayesh SS, Beran A, Ayesh S. Association of NOS3 and TNF Genetic Polymorphisms With the Predisposition to Elevated Cholesterol, Retrospective Study. *J Endocr Soc*. 2021;5(Suppl 1):A33.

## 5. BRIEFING COMUNICACION

---

### Associação entre hipertensão e doença de Chagas

Bruna da Cruz Carvalho <sup>a</sup>, Cilmary Suemi Kurokawa <sup>a</sup>, Rodrigo Mattos dos Santos <sup>a</sup>, Daniela Filadelfo Sanches <sup>a</sup>, Erika Alessandra Pellison Nunes da Costa <sup>a</sup>.

<sup>a</sup> *Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, Botucatu, SP, Brasil*

A hipertensão arterial (HA) é um dos principais fatores de risco modificáveis para morbidade e mortalidade em todo o mundo, sendo um dos maiores fatores de risco para doença arterial coronária, acidente vascular cerebral, insuficiência renal<sup>1</sup>. A HA é altamente prevalente e atinge mais de um terço da população mundial. A porcentagem de pacientes com doença de Chagas (DC) com HA pode oscilar entre 26,1% e 33,3%.<sup>2</sup> Logo, pesquisas que elucidem a relação entre as duas patologias são escassas.

Guariento *et al*, 1998 relataram que os níveis de pressão arterial são geralmente mais elevados em pessoas infectadas com *Trypanosoma cruzi* em comparação com pessoas sem infecção. Existem alguns fatores determinantes da concomitância entre as duas enfermidades, sendo redução considerável da atividade parassimpática, associada a uma resposta adrenérgica insuficiente e a uma redução da resposta autonômica simpática; mudanças na excreção renal, problemas no sistema renina-angiotensina-aldosterona e falhas no transporte da membrana celular.<sup>3,4</sup> A presença simultânea das duas doenças ocorre com mais frequência entre os cardiopatas descontrolados e a partir da quarta década de vida, demonstrando um caráter cumulativo.<sup>5</sup> OJO *et al*, 2022 acreditam que a hipertensão é uma consequência da DC.<sup>6</sup>

A fisiopatologia da hipertensão e da miocardiopatia chagásica possui similaridades significativas, ambas conduzindo a um quadro clínico de inflamação sistêmica, danos consideráveis aos tecidos e a destruição das fibras musculares cardíacas, resultando na dilatação do ventrículo e do coração.<sup>7</sup>

Para compreender melhor a relação entre a HA e a DC, foi realizado uma revisão dos estudos mais relevantes nas bases de dados Lilacs, Pubmed e Scopus. O processo de busca utilizou os seguintes descritores: “doença de Chagas e hipertensão”, “trypanosomíase e hipertensão”. As pesquisas englobam estudos originais que analisaram diversas manifestações clínicas da doença, além de revisões e atualizações acerca do assunto. Segue a tabela com os estudos analisados. A separação dos artigos foi feita pelo título e resumo inicialmente e dois revisores independentes.

Tabela 1. Relação de artigos científicos que abordam a hipertensão arterial e doença de Chagas.

| <b>Autor/Ano</b>                       | <b>Formas clínicas e nº de pacientes</b>                                             | <b>Tipo de estudo</b> |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| <u>Guariento et al.</u> , 1993         | Estudo com a forma cardíaca - Nº participantes: 644                                  | Original              |
| <u>Guariento et al.</u> , 1998         | Estudo com a forma indeterminada, cardíaca, digestiva, mista - Nº participantes: 878 | Original              |
| Gurgel et al., 2003                    | Estudo com a forma cardíaca - Nº participantes: 225                                  | Original              |
| <u>Yagil &amp; Yagil et al.</u> , 2003 | -                                                                                    | Revisão               |
| <u>Francischetti et al.</u> , 2005     | -                                                                                    | Atualização           |
| Gurgel et al., 2007                    | Estudo com a forma cardíaca - Nº participantes: 138                                  | Original              |
| <u>Zaidel et al.</u> , 2020            | -                                                                                    | Revisão               |
| Santana et al., 2021                   | -                                                                                    | Revisão               |
| Silva & Alvares, et al., 2021          | -                                                                                    | Revisão               |
| Zhou et al., 2021                      | -                                                                                    | Revisão               |
| Medeiros et al., 2022                  | -                                                                                    | Revisão               |
| <u>Ojo et al.</u> , 2022               | -                                                                                    | Revisão sistemática   |
| <u>Guzik et al.</u> , 2024             | -                                                                                    | Revisão               |

Fonte: Elaborada pelo autor

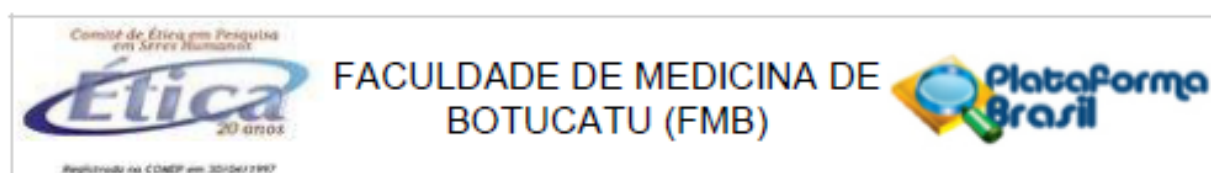
## REFERÊNCIAS

1. Zhou B, Perel P, Mensah GA, Ezzati M. Global epidemiology, health burden and effective interventions for elevated blood pressure and hypertension. *Nat Rev Cardiol.* 2021;18(11):785-802.
2. Gurgel CBFM, Almeida EA. Frequência da hipertensão arterial em chagásicos crônicos e sua repercussão no coração: estudo clínico e anatomopatológico. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia.* 2007; 89(3).
3. Guariento ME, Orosz JEB, Gontijo JAR. Interação clínica entre moléstia de Chagas e hipertensão arterial primária em um serviço de referência ambulatorial. *Arq Bras Cardiol.* 1998; 70 (6):431–434.
4. Gurgel CBFM, Miguel Junior A, Mendes CR, Zerbini CO, Carcioni TM. Frequency of hypertension in chronic Chagas' disease: retrospective clinical study. *Arq Bras Cardiol.* 2003;81(6):545–8
5. Guariento ME, Ramos MC, Gontijo JAR, Silvio dos Santos Carvalhal SS. Doença de Chagas e Hipertensão Arterial Primária. *Arq Bras Cardiol.* 1993; 60(2) 71-75.
6. Ojo R, Alare K, Adekanye I, Odedel T, Oladokun O, Akindele Z. Doenças cardiovasculares: uma revisão sistemática das manifestações cardiovasculares da esquistossomose, tripanossomíase africana e doença de Chagas. *J Clin Exp Cardiol.* 2022; 13:721.
7. Medeiros C de A, Silva MB de A, Oliveira ALS de, Alves SMM, Barros M das ND da S, Cavalcanti M da GA de M, et al. Mapping the morbidity and mortality of Chagas disease in an endemic area in Brazil. *Rev Inst Med trop S Paulo.* 2022;64:e5.

## **6. CONCLUSÃO**

A análise dos polimorfismos não indicou ligação com a severidade da DC e as comorbidades associadas nos pacientes deste estudo que são monitorados no ambulatório de acompanhamento. Contudo, em uma amostra mais ampla e em pacientes que não seguem qualquer tipo de acompanhamento e/ou tratamento, não podemos garantir a inexistência dessa ligação.

## ANEXO 1- Aprovação no comitê de Ética em Pesquisa Clínica.



Continuação do Parecer: 6.333.295

Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento                                                        | Arquivo                                       | Postagem            | Autor                 | Situação |
|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------|-----------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto                                        | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2102352.pdf | 16/09/2023 10:00:11 |                       | Aceito   |
| Outros                                                                | cartaresposta.docx                            | 16/09/2023 09:58:07 | CILMERY SUEMI KUOKAWA | Aceito   |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador                             | ProjetoDePesquisaatualizado.docx              | 16/09/2023 09:57:40 | CILMERY SUEMI KUOKAWA | Aceito   |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência             | toleajustadoo.docx                            | 16/09/2023 09:57:12 | CILMERY SUEMI KUOKAWA | Aceito   |
| Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco | biorepositorio.pdf                            | 25/08/2023 12:03:57 | CILMERY SUEMI KUOKAWA | Aceito   |
| Outros                                                                | AnuenciaDoHcfmb2023.pdf                       | 30/05/2023 19:15:52 | CILMERY SUEMI KUOKAWA | Aceito   |
| Folha de Rosto                                                        | FolhaDeRostoAssinada.pdf                      | 10/05/2023 14:38:52 | CILMERY SUEMI KUOKAWA | Aceito   |

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

BOTUCATU, 29 de Setembro de 2023

---

Assinado por:  
Trajano Sardenberg  
(Coordenador(a))

## ANEXO 2 - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).



Universidade Estadual Paulista  
Faculdade de Medicina de Botucatu

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.  
CEP: 18.618-970  
Fone: (14) 38801608/3880-1609  
e-mail secretaria: [cep.fmb@unesp.br](mailto:cep.fmb@unesp.br)  
e-mail coordenadoria: [smolina@fmb.unesp.br](mailto:smolina@fmb.unesp.br)



Registrado no Ministério da Saúde  
em 30 de abril de 1997

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) RESOLUÇÃO 466/2012

CONVIDO, o Senhor (a) para participar do meu Projeto de Pesquisa intitulado "Polimorfismo de base única dos genes *ECA 2* e *TNF-α* em pacientes com a forma cardíaca da Doença de Chagas", que será desenvolvido por mim, Bruna da Cruz Carvalho, Biomédica, com orientação da Biomédica e Professora Dra. Cilmery Suemi Kurokawa da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.

Busco diferenças genéticas em pessoas com a Doenças de Chagas para ajudar no tratamento e esclarecimento desta doença. Para isto usamos os dados do seu prontuário e coletaremos 5 ml de sangue periférico para extração de DNA. Este procedimento, trará riscos mínimos para você, como desconforto no braço durante a coleta, um pequeno sangramento ao final da punção e pode ou não ficar com desconforto local momentos depois, lembrando que a coleta de sangue será realizada somente com um profissional capacitado. Os dados serão mantidos somente com o pesquisador do estudo e em sigilo. Declaro ainda, que não haverá custo aos participantes da presente pesquisa.

É garantido a todos os participantes do presente estudo, o direito a indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

Esclareço que o material biológico será mantido em freezer e utilizado em estudos posteriores com a mesma finalidade. É proibido em nossa instituição utilizar o material biológico colhido para benefício ou ganho do pesquisador. O material colhido não utilizado voltará a ser armazenado na Faculdade de Medicina, podendo esse material ser reutilizado em futuras pesquisas e com outros pesquisadores, no qual será apresentado um novo TCLE.

Neste momento, o (a) senhor (a) não terá nenhum benefício. Contudo, sua contribuição é de grande valia, pois a intenção deste projeto de pesquisa é permitir que, no futuro, pacientes com a mesma doença possam ter um tratamento mais adequado.

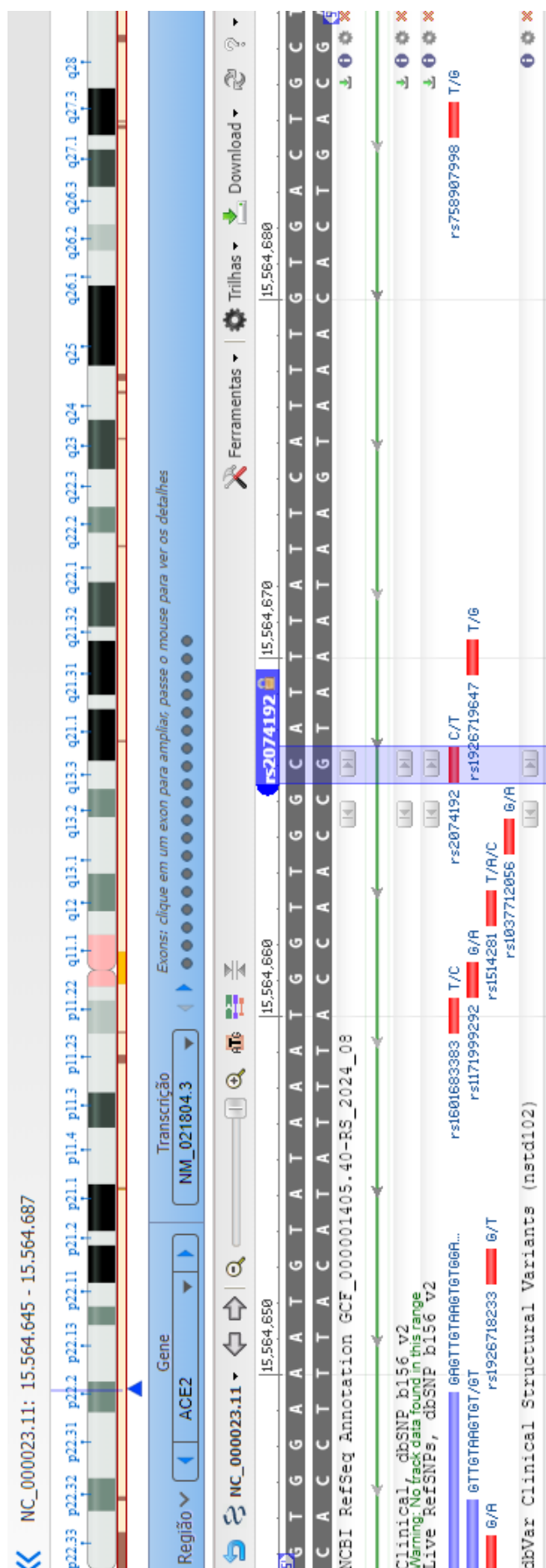
Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e poderá retirá-lo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo na continuidade do seu tratamento. Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será entregue uma via para o senhor (a) e outra será mantida em arquivo pelo pesquisador.

### ANEXO 3- Verificação do RS no site db SNP ECA2.

☐ [rs2074192](#) [*Homo sapiens*]

1.

|                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tipo de variante:       | VNS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Alelos:                 | C>T <a href="#">[Mostrar flancos]</a>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Cromossoma:             | X:15564667 (GRCh38)<br>X:15582790 (GRCh37)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| SPDI canônico :         | NC_000023.11:15564666:C:T                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Gene:                   | ACE2 ( <a href="#">Varview</a> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Consequência funcional: | variante_intron                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Validado:               | por frequência, por alfa, por cluster                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| MAF:                    | T=0,430587/24385 ( <a href="#">ALFA</a> )<br>C=0,147059/5 (Siberiano)<br>C=0,176692/47 (SGDP_PRJ)<br>T=0,324074/35 (Catar)<br>T=0,325/13 (GENOME_DK)<br>T=0,363371/1372 (1000Genomas)<br>T=0,37412/425 (Daguestão)<br>T=0,382979/108 (PharmGKB)<br>T=0,394125/104321 (TOPMED)<br>T=0,396341/130 (HapMap)<br>T=0,403908/41447 (GnomAD)<br>C=0,4375/21 (Vietnamita)<br>T=0,449849/5777 (TOMMO)<br>T=0,454577/1331 (COREANA)<br>T=0,456311/1692 (TWINSUK)<br>T=0,465905/1346 (ALSPAC)..... |



**ANEXO 5- Análise do sequenciamento das amostras posição 53 a 420.****Amostra 20 cardíaca**

ACCTTTTATTTGGAAAATATTACTATAGAGACTTGGTCATAGGACCTGATTCATTTGT  
ATAATAGAAGAGGTGTATCCAATTATCCGTTTCCATTATTTGATATAAAAGTCATTGTA  
GATGTACTCTGACAGAAGGGAAATTCTTGCCAAATATGATAACTTTGCCCTTAAACAC  
AGCAGTCACAAATGAATAAATGCCAACCATTATACATTTCCACACTTACAACCTCAAT  
TTTCCAATGGAGCTGTTGATGAACCTAATCTAGGTTGCAAGGCATGAAAGATGCATA  
ATTGTCAAAGACTTATATCTTTAATTAGACCTATTTACTTTGCTCTTATGATTTTAGGT  
GTATATTCCTTTTTTTTTTT

**Amostra 24 indeterminada**

ACCTTTTATTTGGAAAATATTACTATAGAGACTTGGTCATAGGACCTGATTCATTTGT  
ATAATAGAAGAGGTGTATCCAATTATCCGTTTCCATTATTTGATATAAAAGTCATTGTA  
GATGTACTCTGACAGAAGGGAAATTCTTGCCAAATATGATAACTTTGCCCTTAAACAC  
AGCAGTCACAAATGAATAAATGCCAACCATTATACATTTCCACACTTACAACCTCAAT  
TTTCCAATGGAGCTGTTGATGAACCTAATCTAGGTTGCAAGGCATGAAAGATGCATA  
ATTGTCAAAGACTTATATCTTTAATTAGACCTATTTACTTTGCTCTTATGATTTTAGGT  
GTATATTCCTTTTTTTTTTT

## ANEXO 6- Verificação do rs no site db SNP *TNF-alfa*

☐ rs1800629 [*Homo sapiens*]

1.

|                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tipo de variante:       | VNS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Alelos:                 | G>A <a href="#">[Mostrar flancos]</a>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Cromossoma:             | 6:31575254 (GRCh38)<br>6:31543031 (GRCh37)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| SPDI canônico :         | NC_000006.12:31575253:G:A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Gene:                   | TNF ( <a href="#">Varview</a> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Consequência funcional: | 2KB_variante_upstream,variante_transcrição_upstream                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Significado clínico :   | fator de risco,significância incerta,afeta,resposta ao medicamento                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Validado:               | por frequência, por alfa, por cluster                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| MAF:                    | A=0,152067/39579 ( <a href="#">ALFA</a> )<br>A=0,010333/173 (TOMMO)<br>A=0,067259/53 (PRJEB37584)<br>A=0,072014/211 (COREANO)<br>A=0,085095/161 (HapMap)<br>A=0,093067/466 (1000Genomas)<br>A=0,096737/7613 (PAGE_STUDY)<br>A=0,106765/101 (PharmGKB)<br>A=0,110487/59 (MGP)<br>A=0,116335/17554 (GnomAD_exomes)<br>A=0,121951/10 (PRJEB36033)<br>A=0,134935/35716 (TOPMED)<br>A=0,141423/803 (GoESP)<br>A=0,141634/19841 (GnomAD)<br>A=0,161591/3247 (ExAC)<br>A=0,167187/749 (Estoniano)<br>A=0,175/105 (Norte da Suécia)<br>A=0,175/7 (GENOME_DK)<br>A=0,192385/192 (GoNL)<br>A=0,195523/725 (TWINSUK)<br>A=0,197198/760 (ALSPAC)<br>A=0,212963/46 (Catar)<br>G=0,411765/28 (SGDP_PRJ)<br>G=0,5/4 (Siberiano) |

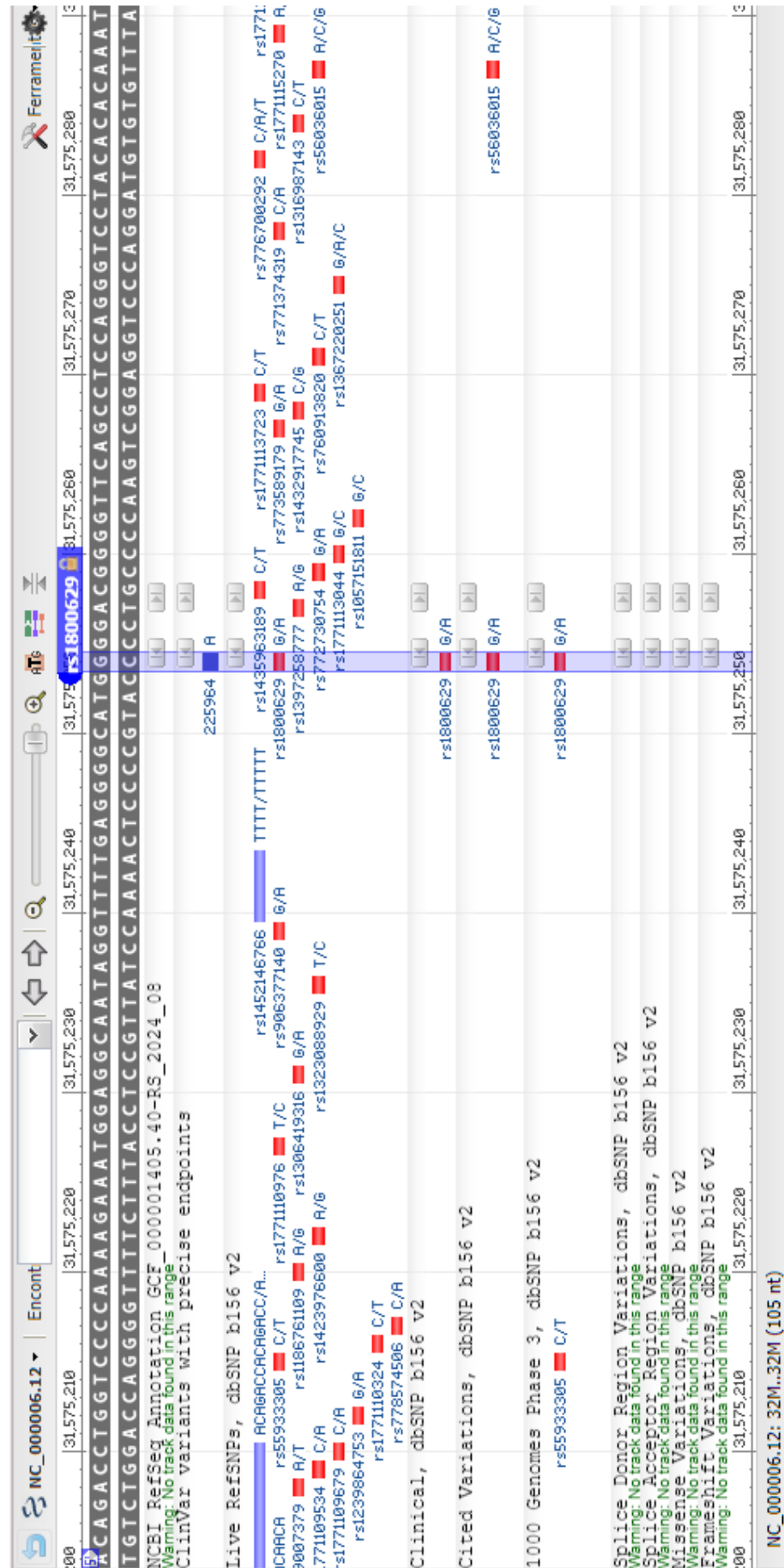
## ANEXO 7- Região genômica SNP *TNF-alfa* rs 1800629

## Regiões genômicas, transcrições e produtos

## Escolha a colocação

GRCh38.p14 (NC\_000006.12)

**Veja rs1800629 no Vis**



## ANEXO 8 - Informações gerais sobre os pacientes com DC na forma indeterminada

| Nº  | Idade | Etnia  | Procedência       | Forma clínica | Peso  | Altura | IMC   | Classificação IMC | Hipertensão | Colesterol alto | Diabetes |
|-----|-------|--------|-------------------|---------------|-------|--------|-------|-------------------|-------------|-----------------|----------|
| 4   | 61    | Branco | Botucatu          | Ind           | 84    | 1,7    | 29,07 | Sobrepeso         | N           | S               | N        |
| 5   | 58    | Branco | Fartura           | Ind           | 72    | 1,62   | 27,43 | Sobrepeso         | N           | N               | N        |
| 6   | 80    | Branco | Itaí              | Ind           | 81    | 1,73   | 27,06 | Sobrepeso         | N           | N               | N        |
| 11  | 62    | Pardo  | Itaporanga        | Ind           | 72    | 1,85   | 21,04 | Baixo peso        | N           | N               | N        |
| 13  | 73    | Branco | Laranjal Paulista | Ind           | 56,4  | 1,54   | 23,78 | Eutrofia          | S           | N               | N        |
| 15  | 59    | Branco | Taquarituba       | Ind           | 80    | 1,69   | 28,01 | Sobrepeso         | N           | S               | S        |
| 19  | 82    | Branco | Botucatu          | Ind           | 104   | 1,75   | 33,96 | Obesidade         | S           | N               | S        |
| 24  | 58    | Branco | Coronel Macedo    | Ind           | 74    | 1,75   | 24,16 | Eutrofia          | N           | N               | N        |
| 27  | 74    | Branco | Itatinga          | Ind           | 61    | 1,73   | 20,38 | Eutrofia          | S           | S               | S        |
| 28  | 54    | Branco | Barra Bonita      | Ind           | 71    | 1,7    | 24,57 | Eutrofia          | N           | N               | N        |
| 37  | 56    | Branco | Itaí              | Ind           | 66    | 1,6    | 25,78 | Sobrepeso         | N           | N               | N        |
| 43  | 68    | Branco | Itapeva           | Ind           | 75    | 1,59   | 29,67 | Sobrepeso         | N           | N               | N        |
| 45  | 67    | Branco | Paranapanema      | Ind           | 100,4 | 1,68   | 35,57 | Obesidade         | N           | N               | N        |
| 46  | 67    | Branco | Itaí              | Ind           | 74    | 1,72   | 25,01 | Sobrepeso         | S           | N               | S        |
| 65  | 71    | Branco | Itatinga          | Ind           | 80,4  | 1,7    | 27,82 | Eutrofia          | N           | S               | S        |
| 66  | 77    | Branco | Holambra          | Ind           | 67,9  | 1,65   | 24,94 | Eutrofia          | S           | N               | N        |
| 68  | 62    | Branco | Taquarituba       | Ind           | 94,8  | 1,67   | 33,99 | Obesidade         | S           | N               | S        |
| 73  | 50    | Branco | Itaporanga        | Ind           | 101,1 | 1,77   | 32,27 | Obesidade         | N           | N               | N        |
| 76  | 70    | Branco | Avaré             | Ind           | 75    | 1,64   | 27,89 | Sobrepeso         | N           | N               | N        |
| 80  | 69    | Branco | Paranapanema      | Ind           | 75    | 1,62   | 28,58 | Sobrepeso         | N           | S               | N        |
| 86  | 70    | Negro  | Botucatu          | Ind           | 69,3  | 1,69   | 24,26 | Eutrofia          | N           | N               | S        |
| 88  | 83    | Branco | Itaporanga        | Ind           | 79,5  | 1,71   | 27,19 | Sobrepeso         | N           | N               | N        |
| 94  | 71    | Branco | Itaí              | Ind           | 84,1  | 1,67   | 30,16 | Sobrepeso         | S           | S               | N        |
| 96  | 63    | Branco | Itaporanga        | Ind           | 80,2  | 1,69   | 28,08 | Sobrepeso         | N           | N               | S        |
| 97  | 65    | Branco | Taquarituba       | Ind           | 70,7  | 1,6    | 27,62 | Sobrepeso         | N           | S               | S        |
| 98  | 65    | Branco | Avaré             | Ind           | 87,5  | 1,7    | 30,28 | Obesidade         | S           | S               | N        |
| 110 | 64    | Branco | Taquarituba       | Ind           | 92    | 1,73   | 30,74 | Obesidade         | S           | S               | N        |
| 116 | 80    | -      | Botucatu          | Ind           | 72,6  | 1,64   | 26,99 | Sobrepeso         | N           | N               | N        |
| 118 | 72    | Branco | Taquarituba       | Ind           | 83    | 1,61   | 32,02 | Sobrepeso         | S           | S               | N        |
| 120 | 70    | Branco | Coronel Macedo    | Ind           | 84    | 1,9    | 23,27 | Eutrofia          | S           | N               | N        |
| 122 | 71    | Branco | Itaí              | Ind           | 92    | 1,7    | 31,83 | Sobrepeso         | S           | N               | N        |
| 123 | 58    | -      | Taguaí            | Ind           | 86    | 1,66   | 31,21 | Obesidade         | N           | S               | N        |
| 126 | 61    | Branco | Itaporanga        | Ind           | 73    | 1,64   | 27,14 | Sobrepeso         | N           | N               | N        |
| 127 | 76    | Branco | Boré              | Ind           | 84    | 1,74   | 27,74 | Sobrepeso         | S           | N               | N        |
| 135 | 67    | Branco | Paranapanema      | Ind           | 64    | 1,62   | 24,39 | Eutrofia          | N           | N               | N        |
| 140 | 79    | Branco | Paranapanema      | Ind           | 67    | 1,72   | 22,65 | Eutrofia          | S           | S               | N        |
| 143 | 65    | -      | Itaí              | Ind           | 81,5  | 1,66   | 29,58 | Sobrepeso         | S           | N               | N        |
| 148 | 70    | Branco | Bofete            | Ind           | 63,4  | 1,56   | 26,05 | Sobrepeso         | N           | N               | S        |
| 149 | 65    | Branco | Coronel Macedo    | Ind           | 52    | 1,55   | 21,64 | Eutrofia          | N           | N               | N        |
| 150 | 73    | Branco | Cerquilha         | Ind           | 74    | 1,67   | 26,53 | Sobrepeso         | S           | N               | S        |
| 151 | 67    | Branco | Itaí              | Ind           | 90    | 1,75   | 29,39 | Sobrepeso         | S           | N               | N        |
| 152 | 73    | -      | Cerquilha         | Ind           | 73    | 1,63   | 27,48 | Sobrepeso         | N           | N               | N        |
| 154 | 69    | Branco | Taguaí            | Ind           | 88    | 1,6    | 34,38 | Obesidade         | S           | S               | N        |
| 155 | 50    | Branco | Conchas           | Ind           | 62    | 1,65   | 22,77 | Eutrofia          | N           | N               | N        |
| 156 | 76    | Branco | Iaras             | Ind           | 66    | 1,64   | 24,54 | Eutrofia          | S           | S               | N        |
| 157 | 70    | Branco | Botucatu          | Ind           | 67    | 1,65   | 24,61 | Eutrofia          | N           | S               | N        |
| 161 | 57    | -      | São Manuel        | Ind           | 73    | 1,78   | 23,04 | Eutrofia          | N           | N               | N        |
| 162 | 64    | -      | Itaporanga        | Ind           | 73    | 1,69   | 25,56 | Sobrepeso         | N           | N               | N        |
| 163 | 71    | -      | Tarararé          | Ind           | 64    | 1,85   | 18,70 | Eutrofia          | N           | N               | N        |
| 166 | 74    | Branco | Piraju            | Ind           | 67    | 1,67   | 24,02 | Eutrofia          | N           | N               | S        |
| 168 | 79    | -      | Piraju            | Ind           | 55    | 1,6    | 21,48 | Eutrofia          | S           | S               | S        |

### ANEXO 9 - Informações gerais sobre os pacientes com DC na forma cardíaca

| Nº  | Idade | Etnia  | Procedência            | Forma clínica | Peso | Altura | IMC   | Classificação IMC | Hipertensão | Colesterol alto | Diabetes |
|-----|-------|--------|------------------------|---------------|------|--------|-------|-------------------|-------------|-----------------|----------|
| 14  | 82    | Branco | Bofete                 | <u>Car</u>    | 77,5 | 1,72   | 26,20 | Eutrofia          | S           | S               | N        |
| 26  | 54    | Branco | Coronel Macedo         | <u>Car</u>    | 105  | 1,76   | 33,90 | Obesidade         | N           | S               | S        |
| 34  | 69    | Branco | Avaré                  | <u>Car</u>    | 89   | 1,72   | 30,08 | Obesidade         | S           | S               | S        |
| 51  | 48    | Branco | Águas de Santa Bárbara | <u>Car</u>    | 81,9 | 1,75   | 26,74 | Sobrepeso         | N           | S               | N        |
| 71  | 87    | Branco | Itatinga               | Mis           | 77,6 | 1,77   | 24,77 | Eutrofia          | N           | S               | S        |
| 75  | 81    | Branco | Bofete                 | <u>Car</u>    | 60,8 | 1,6    | 23,75 | Eutrofia          | S           | S               | S        |
| 84  | 72    | Branco | Itaporanga             | <u>Car</u>    | 84,9 | 1,7    | 29,38 | Sobrepeso         | S           | S               | N        |
| 101 | 62    | -      | Piraju                 | <u>Car</u>    | 75,9 | 1,58   | 30,40 | Obesidade         | S           | S               | N        |
| 117 | 72    | Pardo  | Paranapanema           | <u>Car</u>    | 80,5 | 1,61   | 31,06 | Sobrepeso         | S           | S               | N        |
| 119 | 70    | Branco | Areiópolis             | <u>Car</u>    | 58   | 1,62   | 22,10 | Eutrofia          | N           | S               | N        |
| 142 | 73    | Branco | Taquarituba            | <u>Car</u>    | 85   | 1,71   | 29,07 | Sobrepeso         | S           | S               | S        |
| 159 | 76    | Branco | Tatui                  | Mis           | 68   | 1,59   | 26,90 | Sobrepeso         | S           | S               | N        |
| 165 | 73    | -      | Botucatu               | <u>Car</u>    | 73   | 1,75   | 23,84 | Eutrofia          | S           | S               | S        |