

O IMPACTO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS E DA FARMACOGENÉTICA NA AVALIAÇÃO E MANEJO DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

Andréia Biolo

Luis Eduardo Rohde

Grupo de Insuficiência Cardíaca e Transplante Cardíaco

Serviço de Cardiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Endereço para Correspondência:

Luis Eduardo Rohde
Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Rua Ramiro Barcelos 2350 – Sala 2060
Porto Alegre – RS 90035-003

Introdução

A prevalência da insuficiência cardíaca e sua importância na sociedade têm aumentado nos últimos anos¹, e a busca do melhor entendimento dos fatores responsáveis por sua apresentação ou evolução torna-se cada vez mais importante. Insuficiência cardíaca representa o estágio final de um processo contínuo e complexo, iniciado com uma agressão ao cardiomiócito. A agressão se inicia com insultos prevalentes, como a isquemia miocárdica, a hipertensão arterial sistêmica e o álcool, e, em alguns casos, o gatilho inicial ainda não está completamente compreendido, como na miocardiopatia idiopática.

Apesar dos enormes avanços terapêuticos nas últimas décadas, limitação funcional, hospitalizações e elevada mortalidade ainda representam um desafio para a busca de novas intervenções ou aperfeiçoamento das existentes. Entretanto, novos ensaios clínicos implicam em novos medicamentos ou procedimentos, os quais o paciente deverá agregar aos tantos que já vêm sendo utilizados. A polifarmácia, associada aos dispositivos terapêuticos disponíveis, em particular os desfibriladores e marcapassos biventriculares, torna o tratamento da insuficiência cardíaca progressivamente mais caro, complexo e de difícil aderência. Além disso, observações de diversos ensaios clínicos apontam para respostas individualizadas diferentes às medicações, trazendo questionamentos sobre a possibilidade de tratamentos particulares que facilitem a aderência, racionalizem os custos e possam trazer benefícios máximos para cada paciente.

A influência do fenótipo nas respostas aos tratamentos farmacológicos auxilia na seleção de pacientes para as intervenções terapêuticas. Na insuficiência cardíaca, a classe funcional, características ecocardiográficas e laboratoriais e a própria evolução (dificuldade de resposta ao tratamento, hospitalizações frequentes) ajudam na escolha do manejo mais adequado para grupos de pacientes. Assim, aqueles com fração de ejeção reduzida são candidatos a utilizar inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA) para evitar progressão à insuficiência cardíaca clínica, da mesma forma que a terapia de ressincronização está indicada somente para pacientes em classe funcional III ou IV.

De modo recente, passou a ser investigado o papel do genótipo influenciando as manifestações de doenças. Assim, interesse crescente tem surgido sobre a genética funcional (influência do

genótipo para o risco de desenvolver doenças e também como determinante de sua apresentação e evolução) e sobre a farmacogenética (influência do genótipo como determinante das respostas individuais ao tratamento farmacológico). Com relação à insuficiência cardíaca, por exemplo, as observações de ensaios clínicos demonstram que os IECA são mais eficazes em brancos do que em negros, enquanto a combinação hidralazina e isossorbida parece ser mais eficaz em negros.^{2,3} Além disso, para alguns beta-bloqueadores parece haver também diferença de resposta em relação à raça.⁴ Estes retornos poderiam ser explicadas, pelo menos em parte, por diferenças genotípicas entre as raças. De maneira alternativa, as diversas etiologias da insuficiência cardíaca (cujas prevalências diferem entre as raças) podem estar associadas a diferentes características genéticas, com influência nas respostas terapêuticas.

Para tentar compreender esta ligação entre o genótipo e os diferentes aspectos da síndrome insuficiência cardíaca, diversos estudos têm buscado avaliar a influência de características genotípicas no risco de desenvolver insuficiência cardíaca, em sua apresentação clínica e na resposta aos diferentes tratamentos disponíveis.⁵ Como foco principal de pesquisa, está o estudo de polimorfismos, ou seja, variações genéticas (mutações) não-letais que aparecem em pelo menos 1% da população, como o grupo sanguíneo ABO, por exemplo. Diferenças alélicas no DNA do gene resultam em variações polimórficas de seus produtos, proteínas envolvidas nas mais diversas funções do organismo. Existem centenas de polimorfismos em cada gene, e estes polimorfismos podem ou não ter algum significado funcional. Assim, a genômica funcional tenta identificar o significado funcional das alterações na estrutura genética.⁵ Diversos polimorfismos, com repercussão funcional em sistemas ligados à insuficiência cardíaca, têm sido estudados, como por exemplo os relacionados ao sistema adrenérgico e ao sistema renina-angiotensina-aldosterona.

Neste artigo, revisamos alguns dos principais polimorfismos envolvidos no sistema adrenérgico e no sistema renina-angiotensina-aldosterona, bem como aqueles relacionados à disfunção endotelial e à atividade imuno-inflamatória, tentando abordar sua relação com o desenvolvimento e progressão da insuficiência cardíaca e sua interação com a resposta às intervenções medicamentosas.

Polimorfismos dos receptores adrenérgicos

Na insuficiência cardíaca, a ativação adrenérgica e o aumento dos níveis de epinefrina são mecanismos desencadeados na tentativa de aumentar o débito cardíaco. Entretanto, cronicamente esta resposta se torna inadequada e até mesmo prejudicial, com efeitos cardiotoxícos.^{6,7} Os receptores adrenérgicos são a chave para a regulação deste sistema e, na insuficiência cardíaca, sua função e distribuição estão alteradas de maneira significativa (figura 1).⁸ Estes achados levaram à identificação de polimorfismos em genes responsáveis pela decodificação dos receptores adrenérgicos, os quais pudessem influenciar na resposta terapêutica, no prognóstico ou no risco de desenvolver insuficiência cardíaca.⁹ Os principais polimorfismos com repercussão funcional na insuficiência cardíaca são listados na tabela, com os possíveis efeitos *in vitro* e repercussão clínica.

Tabela. Principais polimorfismos dos receptores adrenérgicos relacionados a insuficiência cardíaca

Polimorfismo	Efeitos <i>in vitro</i>	Possíveis consequências clínicas
β_1 Ser49Gly	Indefinido Maior <i>down-regulation</i> ?	Maior capacidade de regulação do sistema adrenérgico Melhor prognóstico
β_1 Arg389Gly	Função aumentada (agudamente)	Maior resposta do cardiomiócito Menor capacidade para o exercício Maior resposta aos β -bloqueadores?
β_2 Thr164Ile	Menor afinidade ao acoplamento com a proteína-G	Pior função contratil miocárdica Pior prognóstico
α_2c Del322-325	Função reduzida	Maior liberação de noradrenalina na fenda sináptica Maior risco de insuficiência cardíaca

Dois polimorfismos importantes foram identificados para o receptor adrenérgico β_1 . A substituição de uma adenina por uma guanina no nucleotídeo 145 resulta na substituição de uma serina por uma glicina no aminoácido 49 do receptor β_1 (*Ser49Gly*). Esta mutação resulta em maior dessensibilização por situações de estimulação crônica e maior resposta à inibição com metoprolol, o que poderia ter efeitos protetores na insuficiência cardíaca crônica.¹⁰ Em 184 pacientes com insuficiência cardíaca idiopática, a presença deste polimorfismo se associou à maior sobrevivência em 5 anos (62 vs 39%, $p=0,005$).¹¹

Outro polimorfismo do receptor β_1 é o *Arg389Gly*, o qual resulta em menor capacidade de resposta aos agonistas. Na verdade, parece que a variante Arg se associa de modo agudo a respostas hiperativas, mas cronicamente diminui sua função de ligação e sinalização.^{12,13} Assim, apesar de os pacientes homocigotos para Arg apresentarem melhor capacidade para o exercício, parece que a presença da variante Gly se associa à menor ocorrência de taquicardia ventricular, podendo estar associado a melhor prognóstico.^{14,15} Individualmente este polimorfismo não se associou a maior risco de insuficiência cardíaca, mas quando presente concomitante com o polimorfismo do receptor α -adrenérgico (*Del322-325* do receptor α_2c), houve aumento de cerca de 10 vezes nesse risco em pacientes negros.¹⁶

O receptor α_2c regula a liberação de noradrenalina na fenda sináptica (figura 1). O polimorfismo *Del322-325*, uma deleção de quatro aminoácidos neste receptor, parece se associar à maior liberação de noradrenalina.¹⁷ Sua prevalência foi maior de maneira significativa em negros, sendo associada a um risco quase seis vezes maior de insuficiência cardíaca nestes pacientes, com efeito sinérgico com o polimorfismo do receptor β_1 -adrenérgico, como já citado.¹⁶ Especula-se que diferenças na apresentação e resposta terapêutica entre pacientes de diferentes raças possam ter explicação em alterações genéticas dos receptores adrenérgicos.

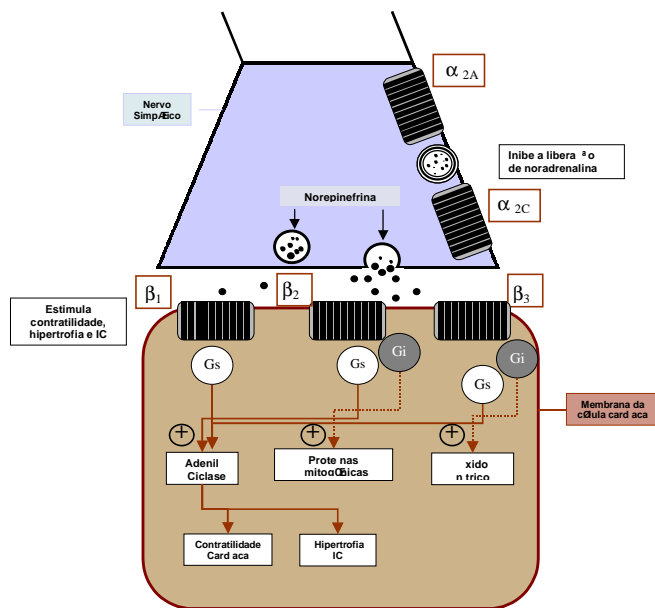


Figura 1. Principais componentes da sinalização adrenérgica. Os receptores α_2c têm localização pré-sináptica e inibem a liberação de noradrenalina na fenda sináptica. Os receptores β -adrenérgicos se localizam na membrana do cardiomiócito (o receptor β_1 é presente em maior quantidade) e regulam a função cardíaca mediante acoplamento com a proteína G. Os receptores β_1 e β_2 se acoplam à proteína G estimulatória (Gs) e apenas os receptores β_2 se acoplam à proteína G inibitória (Gi). O papel dos receptores β_3 ainda não está bem estabelecido. Os receptores α também têm funções pós-sinápticas, não mostradas nesta figura.

Com relação aos receptores β_2 -adrenérgicos, vários polimorfismos foram identificados. Os mais comuns são o *Arg16Gly*, o *Gln27Glu* e o *Thr164Ile*.¹⁸ Os dois primeiros não afetam a afinidade com agonistas ou antagonistas, mas alteram a resposta de "down-regulation" à estimulação crônica, estando associados à capacidade funcional e resposta ao exercício em pacientes com insuficiência cardíaca.¹⁹ Já a variante Ile164 do polimorfismo *Thr164Ile* resulta em menor afinidade e ativação do receptor. Pacientes com esta variante apresentam pior capacidade funcional, provavelmente relacionada à menor capacidade de resposta à ativação adrenérgica para o aumento do débito cardíaco.¹⁹ Além disso, a presença deste polimorfismo parece estar associada a pior prognóstico. Em estudo de Liggett e cols, a sobrevida livre de transplante em 1 ano, para pacientes com insuficiência cardíaca isquêmica ou idiopática, foi 42% para aqueles com a variante Ile164, comparada com 76% para os pacientes sem o polimorfismo.²⁰

Desta forma, parece que os polimorfismos dos receptores adrenérgicos podem ter implicações funcionais com repercussão no prognóstico e no tratamento de pacientes com insuficiência cardíaca. Entretanto, análise retrospectiva do estudo MERIT avaliou a influência do polimorfismo *Arg389Gly* na resposta terapêutica aos beta-bloqueadores, e a presença do polimorfismo não se associou ao prognóstico nem à resposta terapêutica. Assim, a interação entre os diversos polimorfismos e sua influência na resposta terapêutica ao uso de beta-bloqueadores ou outras intervenções ainda não foram avaliados de forma a permitir seu uso e valorização no contexto clínico.²¹

Polimorfismos envolvendo o sistema renina-angiotensina-aldosterona

O sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAA) também está relacionado de modo íntimo à insuficiência cardíaca. A produção de angiotensina II é estimulada pela sobrecarga mecânica e exerce efeitos na estrutura do miócito e da matriz extracelular.²² De forma similar ao que ocorre com o sistema adrenérgico, níveis elevados de angiotensina II se associam a pior prognóstico nos pacientes com insuficiência cardíaca.²³ A inibição do sistema RAA é uma das mais importantes intervenções terapêuticas nestes pacientes.^{24,25} Entretanto, seu benefício parece não ser homogêneo entre aqueles com

insuficiência cardíaca, tendo sido demonstradas distinções entre pacientes de diferentes raças (maior eficácia em pacientes brancos), além da grande variabilidade no funcionamento e nos níveis da enzima conversora da angiotensina (ECA) entre pacientes com insuficiência cardíaca e mesmo entre pessoas normais.^{3,26}

Parece haver explicação genética para esta variabilidade. Um importante polimorfismo do gene da ECA foi identificado, o qual consiste na inserção (I) ou deleção (D) de um par de bases, resultando nos genótipos DD, ID ou II (figura 2).²⁷ A presença da deleção está associada a maiores níveis de ECA e maior atividade da angiotensina II.²⁸ Em pacientes com insuficiência cardíaca, aqueles com o genótipo DD têm menor tolerância para o exercício, e os pacientes com este mesmo genótipo desenvolvem maiores dilatações ventriculares após infarto do miocárdio.²⁹⁻³¹

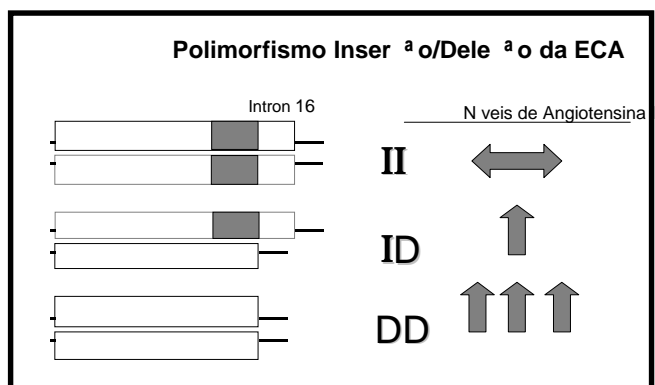


Figura 2. Polimorfismo no intron 16 do gene da enzima conversora da angiotensina (Inserção/Deleção da ECA) e seus efeitos sobre os níveis de angiotensina II

Embora não tenha sido encontrada associação deste polimorfismo (deleção) com o risco de desenvolvimento de insuficiência cardíaca, ele parece atuar em sua progressão, estando associado a pior prognóstico nos pacientes com insuficiência cardíaca.³²⁻³⁴ Com relação a seu papel na resposta ao tratamento farmacológico, foi demonstrado que o impacto prognóstico deste polimorfismo foi muito maior nos pacientes que não recebiam beta-bloqueador, enquanto naqueles que recebiam tratamento com beta-bloqueadores não houve influência da deleção na sobrevida.³² Este estudo sugere uma forte interação farmacogenética entre o polimorfismo inserção/deleção da ECA e o tratamento com beta-bloqueadores, o que poderia levar até mesmo a mudança nas estratégias de priorização de determinado tratamento, de acordo com a avaliação genotípica. Outro estudo recente avaliou a relação entre o tratamento com IECA e o polimorfismo inserção/deleção da ECA, encontrando pior prognóstico nos pacientes com a presença da deleção, em especial no grupo que recebia baixas doses de IECA.³⁵ Nos pacientes com dose-alvo da medicação, o efeito deletério do polimorfismo foi reduzido de forma marcante. O benefício de altas doses de IECA e do uso de beta-bloqueadores foi maior nos pacientes homocigotos, para a presença da deleção, sugerindo de novo forte interação e um possível papel para o polimorfismo da ECA na seleção de pacientes para tratamentos individualizados.

A aldosterona é outro neurohormônio intimamente relacionado à insuficiência cardíaca.³⁶ Por meio de efeitos no músculo cardíaco e nos vasos sanguíneos, influencia nas respostas vasodilatadoras e mesmo no remodelamento cardíaco.³⁷ Além disso, a inibição da aldosterona reduz a mortalidade de pacientes em classes funcionais III e VI.³⁸ O polimorfismo do gene que sintetiza a aldosterona (C-344T) parece resultar em níveis elevados deste neuro-hormônio, e especula-se que possa se associar a pior prognóstico quando associado ao polimorfismo mencionado de deleção da ECA.⁵ Entretanto, o papel deste polimorfismo, de maneira isolada ou por sua interação com outros sistemas, deve ser ainda melhor estudado.

Buscando avaliar se os polimorfismos do sistema RAA se associam à melhora da fração de ejeção apresentada por alguns pacientes em resposta ao tratamento, foram estudados os polimorfismos de inserção-deleção da ECA e C-344T da aldosterona.³⁹ O polimorfismo do gene da aldosterona foi associado à melhora da fração de ejeção consequente ao tratamento da insuficiência

cardíaca, sugerindo seu papel na progressão e na farmacogenética da síndrome. Neste estudo, o polimorfismo da ECA não se associou à resposta terapêutica.

Assim, parece que os polimorfismos do sistema renina-angiotensina-aldosterona estão muito associados aos efeitos dos tratamentos amplamente utilizados nos pacientes com insuficiência cardíaca. O melhor entendimento de tais interações poderá transformar este conhecer na ferramenta para a individualização destes tratamentos.

Polimorfismos de genes envolvidos em outros sistemas

Diversos outros sistemas parecem estar envolvidos e influenciar na progressão da insuficiência cardíaca. Variabilidades genéticas nestes sistemas podem também ter consequências funcionais na manifestação clínica ou na resposta terapêutica em pacientes com insuficiência cardíaca.

O **óxido nítrico** é um neurohormônio expresso em altos níveis em pacientes com insuficiência cardíaca.⁴⁰ Por sua função de relaxamento das fibras musculares nos vasos periféricos e atenuação dos efeitos cardiotoxícos da estimulação adrenérgica, espera-se que níveis reduzidos de óxido nítrico se associem a pior prognóstico.^{41,42} Um polimorfismo do gene da óxido nítrico sintase 3 (*Glut298Asp*) leva a menor meia-vida da enzima, podendo-se esperar maior resposta vasoconstritora.⁴³ De fato, pacientes com este polimorfismo (especialmente aqueles com etiologia idiopática) apresentaram pior prognóstico, sugerindo que polimorfismos deste sistema possam ser importantes marcadores prognósticos e mesmo alvos terapêuticos individualizados no futuro.⁴⁴

A **adenosina** é um nucleotídeo endógeno com diversas funções benéficas no sistema cardiovascular (atenua a liberação de catecolaminas, aumenta o fluxo coronariano, inibe a ativação plaquetária e a expressão do fator de necrose tumoral- α) e seus níveis estão elevados em pacientes com insuficiência cardíaca.⁴⁵⁻⁴⁷ O polimorfismo que resulta na deficiência da AMPD1 (enzima envolvida na catalisação da adenosina) se associa a níveis elevados de adenosina e os possíveis efeitos benéficos deste polimorfismo têm sido estudados.⁴⁸ Diversos estudos têm demonstrado associação deste polimorfismo com melhor prognóstico em pacientes com insuficiência cardíaca, tanto de etiologia isquêmica como idiopática.⁴⁹⁻⁵¹ Os mecanismos para esta proteção parecem ser relacionados de modo predominante a alterações metabólicas do próprio músculo cardíaco, sem alterações significativas em rotas sistêmicas.⁵²

O **fator de necrose tumoral- α (TNF α)** é uma citocina pró-inflamatória sintetizada por macrófagos ativados. Está envolvido com a liberação de óxido nítrico, com a permeabilidade vascular, com a contratilidade cardíaca e até mesmo com o estado pró-trombótico associado à insuficiência cardíaca.⁵³ O TNF α é expresso pelo músculo cardíaco na presença de disfunção, e seus níveis se associam à mortalidade.⁵⁴ Apesar de sua íntima relação com a patogênese da insuficiência cardíaca, os estudos clínicos não têm conseguido demonstrar associação dos polimorfismos deste sistema com risco ou progressão da insuficiência cardíaca.^{53,55} Existe evidência de possível associação entre o polimorfismo do gene do TNF α (conhecido como variante TNF α 2) e risco de insuficiência cardíaca de etiologia idiopática.⁵⁶ Entretanto, seu papel na patogênese da insuficiência cardíaca ainda não está definido, e parece que seus níveis representam mais uma resposta à ativação de diversos sistemas do que alterações do próprio TNF.

Conclusão

Diversos polimorfismos com consequências nos mais diversos sistemas envolvidos na patogênese da insuficiência cardíaca têm sido estudados recentemente. À medida que seu papel no risco da doença, no prognóstico e na resposta a tratamentos específicos vai sendo esclarecido, novas ferramentas poderão ser agregadas na abordagem dos pacientes com insuficiência cardíaca.

Até o momento, porém, estratégias terapêuticas derivadas de ensaios clínicos "tradicionais" implicam no uso de determinado medicamento ou procedimento em inúmeros pacientes, para que apenas uma minoria seja de fato beneficiada. Podemos esperar, para um futuro não tão distante, que os clínicos possam somar as informações genotípicas às informações fenotípicas já utilizadas, e

individualizar os tratamentos, com maior benefício para cada paciente. Para isso, entretanto, será necessária a realização de novos estudos clínicos que reavaliam tratamentos já estabelecidos, considerando, em conjunto, aspectos genéticos individuais. Neste sentido, parece plausível que se redefina, por exemplo, o benefício clínico do uso de beta-bloqueadores e inibidores da enzima de conversão da angiotensina à luz da presença ou não de variações genéticas na própria enzima de conversão. O delineamento destes estudos será tarefa certamente desafiadora e complexa dos pontos de vista logístico e ético. Da mesma forma, identificar indivíduos com risco aumentado de desenvolver insuficiência cardíaca e intervir na sua prevenção se tornará importante ferramenta para frear o aumento progressivo da prevalência desta síndrome.

Referências

1. Levy D, Kenchaiah S, Larson MG et al. Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure. *New Engl J Med* 2002; 347: 1397-402.
2. Cohn JN, Johnson G, Ziesche S et al. A comparison of enalapril with hydralazine-isosorbide dinitrate in the treatment of chronic congestive heart failure. *N Engl J Méd* 1991; 325:303-10.
3. Carson P, Ziesche S, Johnson G, Cohn JN. Racial differences in response to therapy for heart failure: analysis of the vasodilator-heart failure trials. Vasodilator-heart failure trial study group. *J Card Fail* 1999; 5: 178-87.
4. Yancy CW, Fowler MB, Colucci WS et al. Race and the response to adrenergic blockade with carvedilol inpatients with chronic heart failure. *N Engl J Med* 2001; 344: 1358-65.
5. Feldman AM. The emerging role of pharmacogenomics in the treatment of patients with heart failure. *Ann Thorac Surg* 2003; 76: S2246-53.
6. Esler M, Kaye D, Lanberv G, Esler D and Jennings G. Adrenergic nervous system in heart failure. *Am J Cardiol* 1997; 80: 7L-14L.
7. Bristow MR, Hershberger RE, Port JD et al. Beta-adrenergic pathways in nonfailing and failing human ventricular myocardium. *Circulation* 1990; 82: 112-25.
8. Port JD and Bristow MR. Altered beta-adrenergic receptor gene regulation and signaling in chronic heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 887-905.
9. Taylor MGR, Bristow MR. The emerging pharmacogenomics of the beta-adrenergic receptors. *Congest Heart Fail* 2004; 10: 281-8.
10. Levin MC, Marullo S, Muntaner O, Andersson B and Magnusson Y. The myocardium-protective Gly-49 variant of the beta1-adrenergic receptor exhibits constitutive activity and increased desensitization and down-regulation. *J Biol Chem* 2002; 277: 30429-35.
11. Borjesson M, Magnusson Y, Hjalmarson A, Anderson B. A novel polymorphism in the gene coding for the beta1-adrenergic receptor associated with survival in patients with heart failure. *Eur Heart J* 2000; 21: 1853-8.
12. Mason DA, Moore JD, Green SA et al. A gain of function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human beta-1 adrenergic receptor. *J Biol Chem* 1997; 274: 12670-4.
13. Perez JM, Rathz DA, Petrashevskaya NN et al. b1-adrenergic receptor polymorphisms confer differential function and predisposition to heart failure. *Nat Med* 2003; 9: 1300-5.
14. Wagoner LE, Craft LL, Zengel P et al. Polymorphisms of the b1-adrenergic receptor predict exercise capacity in heart failure. *Am Heart J* 2002; 144: 840-6.
15. Iwai C, Akita H, Shiga N et al. Suppressive effect of the Gly389 allele of the b1-adrenergic receptor gene on the occurrence of ventricular tachycardia in dilated cardiomyopathy. *Circ J* 2002; 66: 723-8.
16. Small KM, Wagoner LE, Levin AM, Kardia SLR and Liggett SB. Synergistic polymorphisms of b1- and a2c-adrenergic receptors and the risk of congestive heart failure. *New Engl J Med* 2002; 347: 1135-42.
17. Small KM, Forbes SL, Rahamni FF, Bridges KM, Liggett SB. A four amino acid deletion polymorphism in the third intracellular loop of the human a2c-adrenergic receptor confers impaired coupling to multiple effectors. *J Biol Chem* 2000; 275:23059-64.
18. Liggett SB. Pharmacogenetics of beta-1 and beta-2 adrenergic receptors. *Pharmacology* 2000; 61: 10483-8.
19. Wagoner LE, Craft LL, Singh B et al. Polymorphisms of the b2-adrenergic receptor determine exercise capacity in patients with heart failure. *Circ Res* 2000; 86: 834-40.
20. Liggett SB, Wagoner LE, Craft LL et al. The Ile164 b2-adrenergic receptor polymorphism adversely affects the outcome of congestive heart failure. *J Clin Invest* 1998; 102: 1534-9.
21. White HL, de Boer RA, Maqbool A et al. An evaluation of the beta-1 adrenergic receptor Arg389Gly polymorphism in individuals with heart failure: a MERIT-HF sub-study. *Eur J Heart Fail* 2003; 5(4): 463-8.
22. Gaussin V, Schneider MD. Surviving infarction one gene at a time: decreased remodeling and mortality in engineered mice lacking the angiotensin II type 1A receptor. *Circulation* 1999; 100: 2043-4.
23. Swedberg K, Eneroth P, Kjekshus J, Wilhelmssen L. Hormones regulating cardiovascular function in patients with severe congestive heart failure and their relation to mortality. CONSENSUS trial study group. *Circulation* 1990; 82: 1730-6.
24. The CONSENSUS trial study group. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). *N Engl J Med* 1987; 316: 1429-35.
25. The SOLVD investigators. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. *N Engl J Med* 1991; 325: 293-302.
26. Exner DV, Dries DL, Domanski MJ and Cohn J. Lesser response to angiotensin-converting-enzyme inhibitor therapy in black as compared with white patients with left ventricular dysfunction. *New Engl J Med* 2001; 344: 1351-7.
27. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. Na insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86: 1343-6.
28. Tiret L, Rigat B, Visvikis S et al. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet* 1992; 51: 197-205.
29. Abraham MR, Olson LJ, Joyner JF, Turner ST, Beck KC, Johnson BD. Angiotensin-converting enzyme genotype modulates pulmonary function and exercise capacity in treated patients with congestive stable heart failure. *Circulation* 2002; 106: 1794-9.
30. Bryne J, Robb SD, Morton IJ, Cooke A, McMurray JJ, Dargie HJ. The insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and indices of left ventricular function following myocardial infarction [Abstract]. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 491A.
31. Murayama M. Effect of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on left ventricular remodeling after antero-septal infarction. *Clin Cardiol* 1999; 22: 587-90.
32. McNamara DM, Holubkov R, Janosko K et al. Pharmacogenetic interactions between beta-blocker therapy and the angiotensin-converting enzyme deletion polymorphism in patients with congestive heart failure. *Circulation* 2001; 103: 1644-8.

33. Andersson B, Sylven C. The DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with increased mortality in idiopathic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28: 162-7.
34. Montgomery HE, Keeling PJ, Goldman JH, Humphries SE, Talmud PJ, McKenna WJ. Lack of association between the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 1627-31.
35. McNamara Dm, Holubkov R, Postava L et al. Pharmacogenetic interactions between angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy and the angiotensin-converting enzyme deletion polymorphism in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 2019-26.
36. Dzau VJ, Colucci WS, Hollenberg NK, Williams GH. Relation of the renin-angiotensin-aldosterone system to clinical state in congestive heart failure. *Circulation* 1981; 63: 645-51.
37. Zhou G, Kandala JC, Tyagi SC, Katwa LC, Weber KT. Effects of angiotensin II and aldosterone on collagen gene expression and protein turnover in cardiac fibroblasts. *Mol Cell Biochem* 1996; 154: 171-8.
38. Pitt B, Zannad F, Remme WJ et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study investigators. *N Engl J Med* 1999; 341: 709-17.
39. Tiago AD, Badenhorst D, Skudicky D et al. An aldosterone synthase gene variant is associated with improvement in left ventricular ejection fraction in dilated cardiomyopathy. *Cardiovasc Res* 2002; 54: 584-9.
40. Haywood GA, Tsao PS, von der Leyen HE et al. Expression of inducible nitric oxide synthase in human heart failure. *Circulation* 1996; 93: 1087-94.
41. Kelly RA, Balligand JL, Smith TW. Nitric oxide and cardiac function. *Circ Res* 1996; 79: 363-80.
42. Meguire SM, Nugent AG, McGurk C, Johnston GD, Nicholls DP. Abnormal vascular responses in human chronic cardiac failure are both endothelium dependent and endothelium independent. *Heart* 1998; 80: 141-5.
43. McNamara DM. Pharmacogenetics in heart failure: genomic markers of endothelial and neurohumoral function. *Congest Heart Fail* 2004; 10: 302-8.
44. McNamara Dm, Holubkov R Postava L et al. Effect of the Asp298 variant of endothelial nitric oxide synthase on survival for patients with congestive heart failure. *Circulation* 2003; 107: 1598-602.
45. Kitakaze M, Hori M, Kamada T. Role of adenosine and its interaction with alpha adrenoceptor activity in ischaemic and reperfusion injury of the myocardium. *Cardiovas Res* 1993; 27: 18-27.
46. Wagner DR, McTiernan C, Sanders VJ, Feldman AM. Adenosine inhibits lip polysaccharide-induced cardiac secretion of tumor necrosis factor-alpha in the failing human heart. *Circulation* 1998; 97: 521-4.
47. Funaya H, Kitakaze , Node K, Minamino T, Komamura K, Hori M. Plasma adenosine levels increase in patients with chronic heart failure. *Circulation* 1997; 95: 1363-5.
48. Binkley PF, Auseon A, Cooke G. A polymorphism of the gene encoding AMPD1: clinical impact and proposed mechanisms in congestive heart failure. *Congest Heart Fail* 2004; 10: 274-8.
49. Yazaki Y, Muhlestein JB, Carlquist JF et al. A common variant of the AMPD1 gene predicts improved survival in patients with ischaemic left ventricular dysfunction. *J Card Fail* 2004; 10: 316-20.
50. Gastman A, Sigusch HH, Henke A et al. Role of adenosine monophosphate deaminase-1 gene polymorphism in patients with congestive heart failure (influence on tumor necrosis factor-alpha level and outcome). *Am J Cardiol* 2004; 93: 1260-4.
51. Loh E, Rebbeck TR, Mahoney PD, DeNofrio D, Swain JL, Holmes EW. Common variant in AMPD1 gene predicts improved clinical outcome in patients with heart failure. *Circulation* 1999; 99: 1422-5.
52. Kalsi KK, Yuen AH, Rybaskowsda IM et al. Decreased cardiac activity of AMP deaminase in subjects with the AMPD1 mutation – a potential mechanism of protection in heart failure. *Cardiovasc Res* 2003; 59: 678-84.
53. Vadlamani L, Iyengar S. Tumor necrosis factor alpha polymorphism in heart failure/cardiomyopathy. *Congest Heart Fail* 2004; 10: 289-92.
54. Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J et al. Tumor necrosis factor-alpha and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart. *Circulation* 1996; 93: 704-11.
55. Kubota T, McNamara DM, Wang JJ et al. Effects of tumor necrosis factor gene polymorphisms on patients with congestive heart failure. *Circulation* 1998; 97: 2499-501.
56. Ito M, Takahashi H, Fuse K et al. Polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 genes in Japanese patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Jpn Heart J* 2000; 41: 183-91.