

Artigo
Original

Estudo de Polimorfismos Genéticos na Insuficiência Cardíaca (GenetIC): delineamento do estudo e metodologia

5

Study of Genetic Polymorphisms in Heart Failure (GenetIC): outline of the study and methodology

Oziel Marcio Araujo Tardin¹, Monica Velozo¹, Sabrina Bernardes¹, Henrique Balieiro¹, Bianca de Cássia Cavaliere², Sergio Schermont¹, Thiago Alves¹, Sabrina Lindemberg¹, Sérgio Salles Xavier³, Leandro Pessoa¹, Antonio Claudio Lucas da Nóbrega¹, Georgina Severo Ribeiro¹, Evandro Tinoco Mesquita¹

Resumo

Fundamentos: Vários estudos mostram grande variabilidade individual na evolução e na resposta terapêutica dos pacientes com IC. Parte dessa variabilidade individual se deve a fatores genéticos. Polimorfismos genéticos (PG) são modificações genéticas não-letais presentes em $\geq 1\%$ da população e que podem estar relacionadas ao prognóstico e à resposta terapêutica na IC. Muitos estudos associam os PG do sistema adrenérgico, do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) e da enzima óxido nítrico-sintase (NOS) a diferentes desfechos clínicos na IC. No entanto, são estudos em sua maioria pequenos e com resultados controversos. Além disso, a distribuição desses polimorfismos não é conhecida na população brasileira.

Objetivo: Avaliar a associação dos PG dos sistemas betaadrenérgico, SRAA e da NOS com a evolução clínica e resposta terapêutica dos pacientes com IC crônica estável.

Métodos: 800 pacientes (sendo 200 chagásicos) portadores de IC crônica estável com FEVE $< 50\%$ serão acompanhados por 12 meses e caracterizados quanto a nove PG, utilizando as técnicas de *polymerase chain reaction* (PCR) e *restrict fragment length polymorphisms* (RFLP) que serão relacionados a desfechos como remodelamento cardíaco, capacidade funcional, internação hospitalar por IC, morte cardiovascular e total. Também serão avaliados os PG em 200 voluntários saudáveis (grupo-controle).

Conclusão: O estudo GenetIC avaliará a associação de nove PG com o prognóstico e a resposta terapêutica em pacientes com IC crônica estável de etiologia chagásica e não-chagásica, num seguimento de 12 meses.

Abstract

Background: Several studies demonstrate wide individual variability in the development and responses to treatment among patients with heart failure (HF). Part of this individual variability is due to genetic factors. Genetic polymorphisms (GP) are non-lethal genetic modifications found in $\geq 1\%$ of the population that may be related both to prognoses and responses to treatment for HF. Many studies associate GP in adrenergic system, renin-angiotensin-aldosterone (SRAA) and in nitric oxide synthase enzyme (NOS) with various clinical outcomes in HF. However, most were small-scale studies that produced controversial findings. Moreover, the distribution of these polymorphisms among the Brazilian population is not well known.

Objective: To evaluate the association of GP in the β -adrenergic system, SRAA and in NOS, through the clinical development and response to treatment of chronic stable HF patients.

Methods: Among 800 chronic stable HF patients (200 with Chagas disease) with left ventricle ejection fraction (LVEF), $< 50\%$ will be followed up for one year and the nine GP will be analyzed through polymerase chain reaction (PCR) and restricted fragment length polymorphism (RFLP) techniques that will be related to outcomes such as cardiac remodeling, functional capacity, hospitalization for HF, cardiovascular and total death. Additionally, the GP will be assessed in 200 healthy volunteers (control group).

Conclusion: The GenetIC study will evaluate the association of the nine GP with the clinical development and responses to treatment among chronic stable HF patients with and without Chagas disease, in a follow-up lasting twelve months, in addition to assessing the GP in 200 healthy volunteers (control group).

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências Cardiovasculares - Universidade Federal Fluminense (UFF) - Niterói (RJ), Brasil

² Programa de Mestrado em Cardiologia - Universidade Federal do Rio de Janeiro - (UFRJ) - Rio de Janeiro (RJ), Brasil

³ Fundação Instituto Oswaldo Cruz - Hospital Evandro Chagas - Rio de Janeiro (RJ), Brasil

Palavras-chave: Insuficiência cardíaca, Variabilidade individual, Polimorfismos genéticos, Evolução clínica, Resposta terapêutica

Keywords: Heart failure, Individual variability, Genetic polymorphisms, Clinical development, Response to treatment

Introdução

Uma característica importante na biologia é a sua diversidade, a sua variação. Por isso a medicina personalizada é tão importante.
Kessler

A insuficiência cardíaca (IC) representa o estágio final de um processo contínuo comum a várias doenças cardiovasculares, tais como cardiopatia isquêmica, hipertensão arterial, valvulopatias, doença de Chagas e miocardiopatias¹.

AIC é uma das principais causas de morte e internações em todo mundo, principalmente em indivíduos acima de 60 anos, sendo hoje considerada uma epidemia mundial e importante problema de saúde pública, com elevado custo social e econômico.

Segundo dados obtidos do Sistema Único de Saúde (SUS) do Ministério da Saúde (MS), ocorreram cerca de 398 mil internações hospitalares e 26 mil óbitos por IC só no ano de 2000².

Atualmente, a abordagem terapêutica para IC consiste em um pacote de medidas baseadas nos grandes ensaios clínicos randomizados (ECR)³⁻⁷. No entanto, os benefícios encontrados nos grandes ECR não se distribuíram uniformemente. Pelo contrário, estima-se que apenas cerca de 35% dos pacientes estudados obtiveram impacto na sobrevida, sugerindo diferenças individuais na resposta terapêutica^{8,9}. Essas diferenças na resposta terapêutica se devem a vários fatores ligados à doença, comorbidades, interações medicamentosas, hábitos alimentares e a fatores genéticos.

Quadro 1

Polimorfismos genéticos vs resposta terapêutica na IC

Genes	Polimorfismos	Impacto na terapêutica da IC
AD β R1	Arg389Gly	Arg389Arg maior tolerância a β B; > aumento FEVE%; melhora sobrevida com bucindolol (BEST) ¹⁹⁻²²
	Ser49Gly	Ser49Ser < tolerância ao aumento dose β B ¹⁹⁻²²
AD β R2	Gln27Glu	Glu27Glu > aumento FEVE% com carvedilol ¹⁹⁻²²
ECA	Inserção/Deleção	Alelo D >aumento FEVE% com IECA ¹⁴⁻¹⁶
NOS3	G894T (Glu298Asp)	G894 <internação e <mortalidade com nitrato-hidralasina ²⁷
Angiotensina II	A1166C	Alelo C >resposta à IECA ⁵
CYP2C9	T3023A	Alelo T exige menor dose de warfarin ^{28,29}
Aldosterona sintase	C344T	C344 >aumento FEVE% em afro-americanos com IC ²⁴

ECA=enzima conversora de angiotensina; NOS3=enzima óxido nítrico sintetase-endotelial; CYP2C9=isoforma do citocromo P450 responsável pela metabolização do warfarin; AD β R₁=receptor adrenérgico β_1 ; AD β R₂=receptor adrenérgico β_2

Dessa forma, a generalização ou a padronização do tratamento da IC embasada nos resultados dos grandes ensaios clínicos pode deixar uma parcela significativa da população sem reais benefícios e expostas aos efeitos adversos das medicações¹⁰.

A existência de polimorfismos genéticos (PG), que são mutações genéticas não-letais, presentes em $\geq 1\%$ da população, pode ajudar a explicar as diferenças na evolução clínica e na resposta terapêutica entre pacientes com a mesma enfermidade e que utilizam as mesmas medicações.

Vários estudos associam os PG a diversos desfechos como remodelamento cardíaco, resposta ao tratamento e prognóstico na IC¹¹ (Quadro 1). No entanto, tais estudos são, em sua maioria, pequenos, observacionais e retrospectivos.

Dentre os PG mais estudados, encontra-se o polimorfismo Inserção/Deleção (I/D) do gene da enzima de conversão da angiotensina (ECA), que pode estar associado a diferenças na evolução clínica e resposta aos inibidores da ECA¹²⁻¹⁷. Recentemente, foi publicado um estudo associando o alelo D a um aumento significativamente maior da fração de ejeção de ventrículo esquerdo (FEVE) comparado com o alelo I, em pacientes utilizando IECA durante um seguimento de 38,9 meses¹⁸.

Vários estudos associam os PG do receptor β_1 -adrenérgico (Arg389Gly ou Ser49Gly) e do receptor β_2 -adrenérgico (27Glu) com diferenças nos parâmetros ecocardiográficos, resposta aos β -bloqueadores e prognóstico da IC, sendo os alelos Gly389 e Ser49 associados a pior evolução clínica e ecocardiográfica, pior resposta aos β -bloqueadores e maior mortalidade¹⁹⁻²².

Um outro estudo mostrou associação do alelo Gly389 com melhor sobrevida em pacientes com IC, porém o alelo Arg389 apresentou melhor resposta ao β -bloqueador²³.

Também foram publicados estudos sugerindo que o polimorfismo C-344T da enzima aldosterona-sintase possa interferir no grau de remodelamento cardíaco e no risco de ocorrência de fibrilação atrial²⁴.

Em 2004 foi publicado o A-HEFT²⁵, que mostrou grande redução na mortalidade e taxa de internação com a associação de nitrato-hidralazina, que atua sobre o metabolismo do óxido nítrico, em adição à terapêutica-padrão, inclusive inibidores da enzima de conversão de angiotensina (IECA), nos pacientes autodeclarados afro-americanos e com IC em classe funcional III e IV da *New York Heart Association* (NYHA).

O estudo GRAHF (*Genetic Risk Assessment of Heart Failure*)²⁶ avaliou o perfil genotípico dos pacientes do A-HEFT e demonstrou a existência de um polimorfismo no gene G894T(Glu298Asp) da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial (NOS3), verificando-se um predomínio do alelo G entre os pacientes autodeclarados afro-americanos, caracterizando o que foi chamado de polimorfismo étnico.

Os PG do CYP2C9 e VKORC1 foram relacionados à predisposição de complicações hemorrágicas em pacientes em uso de anticoagulante oral^{27,28}. A partir desses achados, o *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou um teste genético para a detecção desses PG com o intuito de guiar a estratégia de anticoagulação.

Há alguns estudos que sugerem a associação de determinados PG a uma maior susceptibilidade ao desenvolvimento de cardiopatia chagásica após a contaminação por *Trypanosoma cruzi*²⁹. No entanto, não existem estudos avaliando o impacto dos PG sobre a evolução e a resposta terapêutica na cardiopatia chagásica, etiologia ainda prevalente em vários estados do Brasil.

Os avanços no conhecimento da genética molecular, a redução dos custos e a simplificação dos métodos de tipagem genotípica irão permitir a incorporação dos PG como novos biomarcadores, auxiliando no diagnóstico e no tratamento dos pacientes portadores de doenças cardiovasculares, permitindo a prática da medicina personalizada, com o intuito de maximizar os benefícios e minimizar os riscos individuais³⁰.

Objetivo

O objetivo primário do estudo GenetIC é determinar a associação entre os diferentes polimorfismos genéticos relacionados ao sistema adrenérgico, sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) e do metabolismo do óxido nítrico com a evolução clínica a longo prazo dos pacientes portadores de insuficiência cardíaca crônica estável.

Metodologia

O estudo GenetIC é um estudo observacional, tipo coorte, prospectivo, envolvendo 800 pacientes portadores de IC crônica estável, com fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) ao ecocardiograma menor que 50% pelo método de Simpson e com critérios de Boston maior que 8 pontos.

Os pacientes serão estratificados em dois grupos: o Grupo 1 (G1) será composto de 600 pacientes com IC de fração de ejeção reduzida (ICFER), atendidos em três centros: ambulatório de Insuficiência Cardíaca do Hospital Universitário Antônio Pedro (UFF), ambulatório de IC da Faculdade de Medicina de Valença (RJ) e do Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro (IECAC). O Grupo 2 (G2) será constituído de 200 pacientes com IC de etiologia chagásica, atendidos no ambulatório de cardiopatia chagásica da Fundação Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz).

Os pacientes admitidos no estudo (Quadro 2) serão seguidos por pelo menos 12 meses e avaliados quanto

Quadro 2

Critérios de inclusão e de exclusão que serão adotados no estudo

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Idade >18 anos	Idade <18 anos ou
Portadores de IC em CFII-IV (NYHA)	Portadores de desfibrilador implantável ou
Critérios de Boston \geq 8 pontos	Portadores de ressinronizador cardíaco ou
	Pacientes eleitos para intervenção cardíaca cirúrgica / Angioplastia
	no próximo ano ou
	IAM recente (\leq 3 meses)

CF-NYHA=classe funcional - *New York Heart Association*; IC=insuficiência cardíaca; IAM=infarto agudo do miocárdio

aos seguintes desfechos: morte total, morte cardiovascular e internação hospitalar por IC. Serão também avaliados o remodelamento ventricular e atrial esquerdo e a capacidade funcional através da avaliação clínica (NYHA) e do teste de caminhada de 6 minutos.

O remodelamento cardíaco será avaliado através da análise do volume diastólico indexado e do índice do volume atrial esquerdo. Todos os ecoDopplercardiogramas (ECO) serão gravados e avaliados por dois examinadores independentes, do Serviço de Ecocardiografia do Hospital Universitário Antônio Pedro (UFF).

Durante o seguimento, todos os pacientes serão atendidos por uma equipe multidisciplinar, composta de médicos cardiologistas, enfermeiros, fisioterapeutas e nutricionistas (Quadro 3) e receberão orientação quanto às medidas não farmacológicas como dieta, atividade física e cessação do tabagismo. O tratamento medicamentoso seguirá os critérios da II Diretriz de Tratamento da IC da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC): todos os pacientes sem contra-indicação receberão IECA (captopril) e β -bloqueador (carvedilol). Os pacientes em CF III-IV (NYA) receberão aldactone e os que permanecerem em classe funcional III e IV (NYHA) receberão também a combinação nitrato e hidralazina. Diuréticos serão utilizados se houver sinais de congestão pulmonar ou sistêmica. Digital (digoxina) será acrescentado se o paciente permanecer em CF III-IV apesar das medidas acima. Será buscada a dose-alvo das medicações.

Na admissão, será coletada amostra de sangue para a extração de DNA leucocitário, amplificação pela técnica de *polymerase chain reaction* (PCR) e avaliação

genética pela técnica de *restrict fragment length polymorphisms* (RFLP) de nove PG.

Haverá uma ficha-padrão de inclusão e avaliação de retorno de seis e doze meses, constando os critérios clínicos e funcionais, medicações em uso e resultados dos exames complementares. Os médicos serão os responsáveis pelo preenchimento das fichas, recebendo treinamento para a padronização nas respostas.

Os PG (Quadro 4) serão relacionados aos desfechos já descritos, aos seis meses e aos 12 meses.

Quadro 4 Polimorfismos genéticos que serão estudados

Gene	Polimorfismo
Receptores Beta 1-adrenérgicos	Arg389Gly Ser49Gly
Receptores Beta 2-adrenérgicos	Gln27Glu Arg16Gly
ECA	Inserção/Deleção
NOS3	G894T(Glu298Asp)
Angiotensina II	A1166C
Angiotensinogênio	M235T
Aldosterona sintase	C344T

ECA=enzima conversora de angiotensina; NOS3=enzima óxido nítrico sintetase-endotelial

Grupo-controle

Serão avaliados 200 indivíduos assintomáticos, sem evidência de doença cardíaca estrutural, pareados para idade e sexo, que serão convidados para constituírem o grupo-controle e realizarão avaliação clínica, hemograma, glicose, uréia, creatinina, ECG, ECO e análise do DNA.

Quadro 3 Seguimento do Estudo GenetIC

Admissão/ Inclusão	Aos 6 / 12 meses	Desfechos (6/12meses)	Análise estatística
Termo de Consentimento	Ficha de seguimento	Morte total	Desfecho
Ficha de inclusão	Hemograma	Morte cardiovascular	vs
Análise genética	Bioquímica	Internação por IC	Genótipo
Hemograma	RX de tórax	Remodelamento cardíaco	
Bioquímica	Eletrocardiograma	(volume VE e AE)	
Eletrocardiograma	Ecocardiograma	CF (NYHA)	
RX de tórax	CF-NYHA	TC6M	
Ecocardiograma	Reavaliação		
CF-NYHA	multidisciplinar		
Avaliação multidisciplinar	TC6M		
TC6M			

CF-NYHA=classe funcional - *New York Heart Association*; TC6M=teste de caminhada de 6 minutos; IC=insuficiência cardíaca; VE=ventrículo esquerdo; AE=átrio esquerdo

Essa amostra do grupo-controle será utilizada para um subestudo que avaliará a prevalência dos PG na população.

Serão excluídos do grupo-controle indivíduos com sintomas cardiovasculares ou portadores de hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), insuficiência renal crônica (IRC), indivíduos com doença estrutural cardíaca ao ecocardiograma e aqueles que não completarem o protocolo de seleção.

Análise Estatística

Os resultados serão apresentados como valores médios e desvios-padrão. Características de base serão compiladas não parametricamente baseadas de acordo com os polimorfismos, usando-se o teste Jonckheere-Tersptra. A avaliação dos desfechos será realizada através da curva de sobrevivência de Kaplan-Meier. O teste de long-rank será utilizado para a compilação das curvas de sobrevivência.

Considerações Éticas

O protocolo do Estudo GenetIC foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense.

Os pacientes antes de participarem do estudo, assinarão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme a Resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde.

Este trabalho é resultado da colaboração entre o Laboratório de Genética Molecular do Serviço de Patologia da UFF e os Laboratórios de Genética Molecular do Instituto de Biofísica da UFRJ e o ambulatório de Insuficiência Cardíaca do Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP).

Também participam do estudo o Ambulatório de IC da Faculdade de Medicina de Valença, o Setor de IC do Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro (IECAC) e o Ambulatório de Cardiomiopatia Chagásica da Fiocruz.

Discussão

O pacote de medidas terapêuticas utilizado no tratamento da IC não garante uma resposta uniforme para todos os pacientes, havendo grande variação individual.

A identificação de pacientes portadores de IC respondedores e não-respondedores a determinadas

intervenções terapêuticas pode proporcionar um aumento na qualidade do cuidado ao paciente e uma melhor alocação de recursos.

Biomarcadores são medidas biológicas utilizadas para a definição causal ou estratificação de risco de determinada doença. Com o desenvolvimento da biologia molecular, os biomarcadores genéticos têm surgido como mais uma ferramenta na previsão do comportamento individual do paciente frente às opções terapêuticas.

A resposta às drogas utilizadas na IC depende de múltiplos fatores não genéticos como idade, sexo, adesão ao tratamento, interações medicamentosas, hábitos alimentares, função renal e hepática e também de fatores ligados aos genes e à interação destes com o ambiente.

O emprego de estudos coorte, como o GenetIC visa à validação do emprego dos PG como biomarcadores genéticos que auxiliem na previsão da resposta terapêutica individual e também como critério prognóstico na IC.

A prevalência dos PG nos Estados Unidos da América e Europa apresenta uma distribuição bem distinta quanto à etnia autodeclarada. No Brasil, pelo fato de ser um país com elevada taxa de miscigenação, a distinção de raças por cor da pele autodeclarada não deve ser aplicada.

Os poucos estudos no Brasil que relacionam os PG ao prognóstico na IC envolvem número limitado de pacientes. Além disso, não é conhecida a distribuição alélica dos principais PG na população brasileira.

Assim, o conhecimento da frequência alélica desses PG na população brasileira, a sua distribuição quanto à raça autodeclarada e o seu impacto na IC é uma etapa básica na construção do paradigma da medicina personalizada, a partir do conhecimento do perfil molecular exclusivo do paciente, aumentando os benefícios e reduzindo os riscos individuais do tratamento da IC.

Ressalte-se o pioneirismo do GenetIC na avaliação dos PG e seu impacto na evolução e resposta terapêutica da cardiopatia chagásica, doença endêmica em alguns estados do Brasil.

Conclusão

O estudo GenetIC avaliará a associação de nove polimorfismos genéticos relacionados ao sistema adrenérgico, sistema renina-angiotensina-aldosterona

(SRAA) e do metabolismo do óxido nítrico (NOS) e a evolução clínica dos pacientes portadores de insuficiência cardíaca crônica estável de etiologia chagásica e não-chagásica no seguimento de 12 meses.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflitos de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O estudo GenetIC é financiado por recursos do Departamento de Ciência e Tecnologia (DECIT) do Ministério da Saúde (MS) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), com o objetivo de avaliar o emprego da genética molecular no tratamento de pacientes do SUS.

Vinculação Acadêmica

Este artigo representa o delineamento do estudo e a metodologia da dissertação de mestrado de Oziel Marcio Araujo Tardin, a ser apresentada ao Curso de pós-graduação em Ciências Cardiovasculares da Universidade Federal Fluminense.

Referências

1. Libby P, Bonow RO, Zipes DP, et al. Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. 8th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2007:457-52.
2. Sociedade Brasileira de Cardiologia/Departamento de Cardiologia Clínica (SBC/DCC). II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o diagnóstico e tratamento da insuficiência cardíaca. Arq Bras Cardiol. 2002;79(supl IV):3-28.
3. Anand IS, Florea VG. Traditional and novel approaches to management of heart failure: successes and failures. Cardiol Clin. 2008;26:59-72.
4. Almeida DR, Diniz RVZ, Viegas RFM, et al. Betabloqueadores na insuficiência cardíaca. Rev SOCESP. 2000;10(1):76-87.
5. Stakos DA, Boudoulas H. Pharmacogenetics and pharmacogenomic in cardiology. Hellenic J Cardiol. 2002;43:1-15.
6. Scheier RW, Abraham WT. Hormones and hemodynamic in heart failure. N Engl J Med. 1999;341:577-87.
7. Maddy C, Montera MW. Avanços recentes no tratamento da insuficiência cardíaca baseados em evidências. Programa de Educação Continuada da SBC. Módulo 1. 2002;1:30-34.
8. Johnson JA, Evans WE. Molecular diagnostics as a predictive tool: genetics of drug efficacy and toxicity. Trends Mol Med. 2002;8(6):300-305.
9. Norton RM. Clinical pharmacogenomics: applications in pharmaceutical R & D. Drug Discov Today. 2001;6(4):180-85.
10. Sundberg I. Pharmacogenomic biomarkers for prediction of severe adverse drug reactions. N Engl J Med. 2008;358(6):637-39.
11. Feinberg AP. Epigenetics at the epicenter of modern medicine. JAMA. 2008;299(11):1345-350.
12. Rigat B, Hubert C, Visvikis S, et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme accounting for half the variance of serum enzyme levels. J Clin Invest. 1990;86:1343-346.
13. Gharavi AG, Lipkowitz MS, Diamond JA, et al. Deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is independently associated with left ventricular mass and geometric remodeling in systemic hypertension. Am J Cardiol. 1996;77:1315-319.
14. Perticone F, Maio R, Cosco C, et al. Hypertensive left ventricular remodeling and ACE-gene polymorphism. Cardiovasc Res. 1999;43:192-99.
15. Reynolds MV, Bristow MR, Bush EW, et al. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. Lancet. 1993;342:1073-1075.
16. Schutt AFC, Bleumink GS, Stricker BH, et al. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism and the risk of heart failure in hypertensive subjects. Eur Heart J. 2004;25:2143-148.
17. Forleo C, Resta N, Sorrentino S, et al. Association of β 2-Adrenergic receptor polymorphisms and progression to heart failure in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. Am J Med. 2004;117:451-58.
18. Cuoco MA, Pereira AC, Mota GF, et al. Genetic polymorphisms, medical therapy and sequential cardiac function in patients with heart failure. Arq Bras Cardiol. 2008;90(4):252-56.
19. Muthumala A, Drenos F, Elliott PM, et al. Role of adrenergic receptor polymorphisms in heart failure: Systemic review and meta-analysis. Eur J Heart Fail. 2008;10:3-13.
20. Leineweber K, Brodde OE. β 2-adrenoceptor polymorphisms: relation between in vitro and in vivo phenotypes. Life Sci. 2004;74:2803-814.
21. Castellano M, Rossi F, Giacchè M, et al. β 2-Adrenergic receptor gene polymorphism, age, and cardiovascular phenotypes. Hypertension. 2003;41:361-67.
22. Shin J, Johnson JA. Beta-blocker pharmacogenetics in heart failure. Heart Fail Rev. 2008 Apr 24. Epub ahead of print.
23. Biolo A, Clausell N, Santos KG, et al. Impact of beta1-adrenergic receptor polymorphisms on susceptibility to heart failure, arrhythmogenesis, prognosis, and response to beta-blocker therapy. Am J Cardiol. 2008;102(6):728-32.
24. Biolo A, Chao T, Duhany TAS, et al. Usefulness of the aldosterone synthase gene polymorphism C-344-T to predict cardiac remodeling in African-Americans versus non-Africans with chronic systolic heart failure. Am J Cardiol. 2007;100:285-90.

25. Taylor AL, Ziesche S, Yancy C, et al. Combination of isosorbide dinitrate and hydralasine in blacks with heart failure. *N Engl J Med.* 2004;351:2049-2057.
26. McNamara DM, Tam SW, Sabolinski MS, et al. Endothelial nitric oxide synthase (NOS3) polymorphisms in African Americans with heart failure: Results from the A-HeFT Trial. *J Cardiac Fail.* 2009;1-8. In press.
27. Schwarz UI, Ritchie MD, Bradford Y, et al. Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation. *N Engl J Med.* 2008;358(10):999-1008.
28. Lima MV, Ribeiro GS, Mesquita ET, et al. Genotypes and the quality of anticoagulation control with warfarin therapy among Brazilian patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2008;(64):9-15.
29. Ramasawm R, Faé KC, Cunha Neto E, et al. Variants in the promoter region of IKBL/NFKBIL1 gene may mark susceptibility to the development of chronic Chagas cardiomyopathy among *Trypanosoma cruzi*-infected individuals. *Mol Immunol.* 2008;45(1):283-88.
30. Monçores MW, Pereira SB, Gouvea LSF, et al. Medicina individualizada aplicada à cardiologia. *Rev SOCERJ.* 2008;21(3):184-93.