



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Thiago Prudente Bártholo

**Avaliação genética nos diferentes fenótipos da
Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica**

Rio de Janeiro

2019

Thiago Prudente Bártholo

Avaliação genética nos diferentes fenótipos da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Henrique da Costa

Rio de Janeiro

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

B287 Bártholo, Thiago Prudente.
Avaliação genética nos diferentes fenótipos da Doença Pulmonar
Obstrutiva Crônica / Thiago Prudente Bártholo. – 2019
77 f.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Claudia Henrique da Costa

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. . Doença pulmonar obstrutiva crônica – Tese. 2. Pulmões – Doenças.
– Tese. 3. Tabagismo - Teses. 4. Fenótipo. I. Costa, Claudia Henrique da.
II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências
Médicas. III. Título.

CDU 616.15

Bibliotecária: Thais Ferreira Vieira - CRB/7 5302

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese desde
que citada a fonte.

Assinatura

Data

Thiago Prudente Bártholo

Avaliação genética nos diferentes fenótipos da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovado em 27 de novembro de 2019.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Claudia Henrique da Costa (Orientadora)
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Rogério Lopes Rufino Alves
Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ

Prof. Dr. Mário Fritsch Toros Neves
Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ

Prof. Dr. Antônio Monteiro da Silva Chibante
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Carlos Leonardo Carvalho Pessoa
Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2019

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese a pessoas extremamente importantes na minha vida. Primeiramente a Bárbara Beatriz , minha esposa, meu amor, a minha ursa, Você é a grande responsável por este trabalho. O apoio, as horas dedicadas e todo carinho do dia a dia me fazem não ter palavras para agradecer o quanto você é importante pra mim. Sua inteligência, garra e seu brilho no olhar em tudo que se dedica a fazer é um grande exemplo a ser seguido. Obrigado por existir na minha vida, ser minha esposa e mãe dos meus filhos.

Dedico aos meu filhos – razões da minha vida- pela paciência em esperar para jogar uma partida a mais de bola e brincar mais um pouco de Polly , pois havia a tese para finalizar. Vocês são lindos e tenho muito orgulho de ser pai de vocês. Obrigado por existirem Thor e Milla.

Dedico ainda este trabalho aos meus pais, Rogério e Elisa, que foram fundamentais para minha formação como homem e como médico e me fazem estar aqui hoje. Além de serem os melhores pais do mundo são grandes amigos que amo muito e em quem me espelho sempre.

Dedico ainda a minha irmã, Lena, aos meus sobrinhos Kauet, Leonardo e Gael e aos meus grandes amigos Rafael e Antenor muito obrigado por tudo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço todo o apoio da minha orientadora Professora Claudia Costa e agradeço a todo o grupo da Pneumologia UERJ por toda ajuda durante todo este tempo de doutorado.

Agradecimento muito especial ao Professor Luís Cristovão Porto por todo o apoio e dedicação durante a confecção desta tese estando sempre disponível para nos ajudar nos conceitos e na interpretação dos dados genéticos.

Agradeço ao Professor Roberto Pozzan pela ajuda na interpretação dos dados estatísticos e agradeço , ainda, ao colega pneumologista Raphael Klas pela disponibilidade para realizar muitos dos exames de função pulmonar completa dos pacientes desta tese.

RESUMO

BARTHOLLO, Thiago Prudente. *Avaliação genética nos diferentes fenótipos da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica*. 2019. 79 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

A doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) caracteriza-se por apresentação heterogênea e, recentemente, tem-se tentado subdividir os pacientes em diferentes fenótipos, sendo os principais: Exacerbador, Misto DPOC-asma e Enfisema hiperinsuflador. Diversos genes têm sido avaliados quanto à possível relação com DPOC, entretanto, polimorfismos associados a cinco desses genes têm apresentado resultados mais significativos: EPHX1, GSTP, CHRNA3 / 5, HHIP e FAM 13A. O estudo avaliou a presença de polimorfismos genéticos nos três diferentes fenótipos descritos acima. Recentemente, alguns polimorfismos genéticos têm sido implicados como prováveis fatores genéticos que aumentariam a susceptibilidade ao desenvolvimento da DPOC, porém sem associação com os diferentes fenótipos. O objetivo principal do estudo norteia a correlação de polimorfismos genéticos associados à DPOC com os diferentes fenótipos clínicos da doença. Os objetivos secundários incluíram a avaliação da presença dos principais polimorfismos genéticos descritos na literatura apesar do fenótipo dos pacientes, assim como tentar estabelecer a sua correlação com a gravidade da DPOC e com a carga tabágica. Comparar ainda a presença de polimorfismos genéticos entre os grupos DPOC e tabagistas sem obstrução ao fluxo aéreo. Estudo descritivo, observacional que analisou as variáveis supracitadas em pacientes com DPOC com os três diferentes fenótipos, e comparou com um grupo controle de indivíduos hígidos e outro de tabagistas sem obstrução ao fluxo aéreo. O grupo controle foi composto por 42 indivíduos, o de tabagista por 29 indivíduos. O grupo DPOC composto por 94 pacientes sendo 26 enfisema-hiperinsufladores, 14 misto asma/DPOC, 21 exacerbadores e 33 pacientes que não se encaixaram de forma pura em nenhum dos fenótipos e/ou não completaram todos os exames solicitados. Os pacientes, após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foram submetidos ao questionário clínico, espirometria e exames séricos com avaliação de hemograma e pesquisa de polimorfismos genéticos através de técnica de PCR em tempo real e, posteriormente, técnica de sequenciamento genético. O grupo de pacientes com DPOC foi submetido à medida dos volumes pulmonares e da difusão com CO. Após análise dos dados relacionados ao objetivo principal do estudo identificou-se diferença estatisticamente significativa entre os fenótipos da DPOC quando se avaliou o polimorfismo rs 13118928. A presença do alelo A possivelmente relaciona-se com tendência a desenvolver fenótipo enfisema/hiperinsuflador e a presença do alelo G possivelmente não está relacionado a este fenótipo. Quando analisado objetivos secundários observamos diferença estatisticamente significativa nos dois polimorfismos do gene CHRNA3/5 quanto a predisposição a adição ao cigarro e no polimorfismo rs2234922 do gene EPHX1. Na análise de variáveis únicas considerando apenas pacientes DPOC observamos diferença estatisticamente significativa na CPT% em dois polimorfismos do gene HHIP. Na análise do número absoluto de eosinófilos séricos observamos diferença estatisticamente significativa no polimorfismo rs1829541 do gene HHIP. Este trabalho sinaliza a necessidade de mais estudos sobre o tema fato que será de extrema importância para um melhor entendimento e manejo da DPOC.

Palavras-chave: DPOC. Polimorfismo. Fenótipo.

ABSTRACT

BARTHOLLO, Thiago Prudente. *Genetic evaluation of the different phenotypes of Chronic Obstructive Pulmonary Disease* 2019. 79 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is characterized by heterogeneous presentation and recently, patients have been divided into different phenotypes : Exacerbator, Mixed COPD-asthma and Emphysema hyperinflation. Several genes have been evaluated for possible relationship with COPD; however, polymorphisms associated with five of these genes have shown more significant results: EPHX1, GSTP, CHRNA3 / 5, HHIP and FAM 13A. The study evaluated the presence of genetic polymorphisms in the three different phenotypes described above. Recently, some genetic polymorphisms have been implicated as probable genetic factors that would increase the susceptibility to the development of COPD but without association with different phenotypes. The main objective of the study was to correlate genetic polymorphisms associated with COPD with the different clinical phenotypes of the disease. Secondary objectives included assessing the presence of the major genetic polymorphisms described in the literature despite the patients phenotype, as well as trying to establish their correlation with COPD severity and smoking habit and to compare the presence of genetic polymorphisms between COPD group and smokers without airflow obstruction. Observational study that analysed the above variables in COPD patients with the three different phenotypes, and compared it with a control group of healthy individuals and another of smokers without airflow obstruction. The control group consisted of 42 individuals, the smoker by 29 individuals. The COPD group consisted of 94 patients, 26 of which were emphysema hyperinsuflation, 14 mixed asthma / COPD, 21 exacerbators and 33 patients who did not fit all the phenotypes and / or did not complete all the exams. After signing the informed consent, the patients were submitted to clinical questionnaire, spirometry and serum exams with blood count cells evaluation and genetic polymorphisms by real-time PCR and, subsequently, genetic sequencing technique. The COPD group patients underwent pulmonary volume and CO diffusion measurements. After analysing the data related to the main objective of the study, a statistically significant difference between COPD phenotypes was identified when the rs 13118928 polymorphism. The presence of allele A is possibly related to the tendency to develop emphysema / hyperinflation phenotype and the presence of G allele is possibly unrelated to this phenotype. When analyzing secondary objectives, we observed a statistically significant difference in both polymorphisms of the CHRNA3 / 5 gene regarding predisposition to cigarette addiction and in the rs2234922 polymorphism of the EPHX1 gene regarding the possibility of predisposing to COPD. In the analysis of single variables considering only COPD patients, we observe a statistically significant in TPC% in two different polymorphisms of HHIP gene. In the analysis of the absolute number of serum eosinophils we observed a statistically significant difference in the rs1829541 polymorphism of the HHIP gene. This paper points to the need for further studies on the topic, which will be important for a better understanding and management of COPD.

Keywords: COPD. Polymorphism. Phenotype.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Critérios para caracterização dos fenótipos estudados	22
Tabela 2 –	Processo de recrutamento- Seleção e exclusão de pacientes/ indivíduos ..	28
Tabela 3-	Dados demográficos dos indivíduos do estudo	28
Tabela 4-	Diferenças alélicas de cada polimorfismo em cada um dos grupos estudados (controle, tabagista e DPOC)	29
Tabela 5-	Diferenças genótípicas de cada polimorfismo em cada um dos grupos estudados (controle, tabagistas e DPOC)	30
Tabela 6-	Resultados da presença % do alelo A ou C e dos genótipos AA e GG ou CC e TT de cada polimorfismo em cada um dos grupos estudado (tabagista sem distúrbio obstrutivo à espirometria vs DPOC)	32
Tabela 7-	Dados demográficos e espirométricos de cada um dos grupos de acordo com a CT	33
Tabela 8-	Frequência alélica em cada um dos polimorfismos entre os grupos tabagistas com CT < 40 maços ano e > ou igual a 40 maços ano	34
Tabela 9-	Dados demográficos e funcionais respiratórios de cada um dos grupos de fenótipo da DPOC	35
Tabela 10-	Dados da análise alélica de cada um dos polimorfismos nos 3 grupos de fenótipos da DPOC	37
Tabela 11-	Diferenças genótípicas de cada polimorfismo em cada um dos grupos de fenótipos da DPOC	38
Tabela 12-	Frequência alélica e genotípica na comparação 2 x 2 dos fenótipos no polimorfismo rs 13118928 do gene HHIP	39
Tabela 13-	Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o número de exacerbações nos últimos 12 meses	40
Tabela 14-	Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o número de exacerbações nos últimos 12 meses	41

Tabela 15-	Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o número de hospitalizações nos últimos 12 meses	42
Tabela 16-	Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o número de hospitalizações nos últimos 12 meses	43
Tabela 17-	Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o número absoluto de eosinófilos sérico	45
Tabela 18-	Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o número absoluto de eosinófilos sérico ...	46
Tabela 19-	Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o VEF1%	48
Tabela 20-	Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o VEF1 %	49
Tabela 21-	Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o DLCO%	51
Tabela 22-	Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o DLCO%	52
Tabela 23-	Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o CPT%	54
Tabela 24-	Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o CPT%	55
Tabela 25-	Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o VR%	56
Tabela 26-	Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o VR%	57
Tabela 27-	Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o VR/CPT%	61
Tabela 28-	Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o VR/CPT%	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACO -	Asthma COPD Overlap
CHRNA -	Receptor nicotínico colinérgico da acetilcolina
CPT -	Capacidade Pulmonar Total
CVF -	Capacidade Vital Forçada
DL _{co} -	Difusão ao monóxido de carbono
DNA -	Ácido desoxirribonucleico
DPOC -	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
EPHX -	Hidrolase epóxido microssomal
GOLD-	Global Initiative of Obstructive Lung Disease
GST -	Glutathione S Transferase
HHIP -	Proteína de interação Hedgehog
HLA -	Histocompatibilidade
HUPE -	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IL -	Interleucina
PCR -	Reação em cadeia de polimerase
SNP -	Single Nucleotide Polymorphism
UERJ -	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
VEF1 -	Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo
VR -	Volume Residual

SUMÁRIO

1	REVISÃO DA LITERATURA	12
1.1	A doença pulmonar obstrutiva crônica	12
1.2	Fenótipos clínicos	13
1.2.1	<u>Misto DPOC- Asma</u>	13
1.3	Alteração genética e DPOC	15
1.3.1	<u>Hidrolase epóxido microssomal (EPHX-1)</u>	16
1.3.2	<u>Glutathione S transferase (GST)</u>	17
1.3.3	<u>CHRNA 3/5</u>	18
1.3.4	<u>FAM 13 A</u>	18
1.3.5	<u>HHIP</u>	19
2	OBJETIVOS	21
2.1	Objetivo específico	21
2.2	Objetivos secundários	21
3	MÉTODOS	22
3.1	Casuística	22
3.1.1	<u>Desenho do estudo</u>	22
3.1.2	<u>População do estudo</u>	23
3.1.3	<u>Critérios de inclusão</u>	23
3.1.4	<u>Critérios de exclusão dos controles</u>	24
3.1.5	<u>Critérios de exclusão grupo DPOC</u>	24
3.1.6	<u>Tamanho amostral</u>	24
3.1.7	<u>Local do estudo</u>	25
3.1.8	<u>Aprovação Comitê de Ética em Pesquisa</u>	25
3.1.9	<u>Procedimentos</u>	25
3.2	Análise de dados	26
3.2.1	<u>Análise estatística dos dados</u>	26
4	RESULTADOS	27
4.1	Análises e resultados da comparação entre os grupos controle, tabagista e DPOC	27

4.2	Análises e resultados entre os subgrupos fenotípicos do grupo DPOC	35
4.3	Análises e resultados de subdivisões a partir de variáveis únicas do grupo DPOC	39
4.3.1	<u>Variáveis clínicas</u>	39
4.3.2	<u>Variável laboratorial – Número absoluto de eosinófilos séricos</u>	44
4.3.3	<u>Variáveis espirométricas</u>	47
4.3.4	<u>Variáveis funcionais respiratórias obtidas a partir da medida de volumes estáticos e capacidade de difusão</u>	50
5	DISCUSSÃO.....	60
	CONCLUSÃO.....	65
	REFERÊNCIAS.....	66
	APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido para indivíduos hígidos e tabagistas	71
	APÊNDICE B - Termo de consentimento livre e esclarecido para indivíduos com diagnóstico de DPOC	73
	APÊNDICE C - Questionário a ser aplicado aos indivíduos / pacientes do estudo	76
	ANEXO A – Aprovação do Comitê de ética e pesquisa	78

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1. A Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

A doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) é definida pelo documento GOLD como prevenível e tratável, além de ser caracterizada por limitação persistente ao fluxo aéreo, sendo geralmente progressiva e associada a um aumento da resposta inflamatória crônica da via aérea e dos pulmões e relacionada à exposição a gases tóxicos e partículas nocivas.¹ A DPOC é diagnosticada por espirometria através da redução da relação do volume expiratório forçado no primeiro segundo / capacidade vital forçada (VEF₁/CVF), abaixo de 0,7 após o uso de medicamento broncodilatador.¹ A prevalência da DPOC no mundo, em adultos com mais de 40 anos, é em torno de 9-10%, sendo importante causa de morbi-mortalidade.^{2,3,4,5} Além disso, espera-se que se torne a quarta principal causa de morte no ano de 2030.⁶

A patogênese da doença inclui mecanismos imunológicos, hipótese proteinase - antiproteinase, balanço oxidação e anti-oxidação, inflamação sistêmica, apoptose e reparo inefetivo de dano pulmonar ao nível celular.²

Diversos fatores de risco têm sido implicados no seu desenvolvimento, sendo o principal deles, o tabagismo, contribuindo com mais de 90% dos casos.⁷ O hábito de fumar leva ao dano tecidual por infiltração de neutrófilos, macrófagos e linfócitos no tecido pulmonar. Ainda destacam-se como fatores de risco a queima de biomassa, principalmente relacionada à inalação de fumaça oriunda de fogo à lenha em nosso meio, e ao vapor de cigarros eletrônicos.⁸ Acredita-se que a queima de biomassa apresenta um comportamento diferente daquele visto com o cigarro, já que, neste caso, o enfisema (destruição do espaço alveolar) é menor e observa-se menor grau de inflamação sistêmica.⁸

Entretanto, em tabagistas que desenvolvem DPOC observa-se que apenas uma minoria, em torno de 15% dos fumantes, segue esta relação temporal. Este fato, em conjunto com a observação de famílias com maior susceptibilidade à DPOC, indica que provavelmente exista um componente genético importante implicado na gênese desta doença. Estudo conduzido por Hersh et al⁷ demonstrou que a história familiar é fator de risco para DPOC independente de tabagismo.⁷ A deficiência de alfa 1 antitripsina associada aos polimorfismos do gene da SERPINA1 foi a primeira alteração genética implicada na patogênese da DPOC.⁹ Entretanto, diversos outros genes têm sido recentemente estudados. Dentre eles, destacam-se genes de

TNF alfa, da hidrolase epóxido microssomal, da Glutationa S-transferase, associados às interleucinas (IL)-6, IL-13 e IL-10, da Superóxido Dismutase 3, do receptor nicotínico colinérgico da acetilcolina (CHRNA 3/5), da proteína HHIP e do locus FAM13A, entre outros.^{9,10} Hobbs et al¹¹ recentemente descreveram 22 genes relacionados à DPOC, sendo que 13 foram relatados pela primeira vez.¹¹ No entanto, genes já descritos por outros autores também foram ratificados como possíveis influenciadores da patogênese da DPOC; entre eles estão FAM13A, CHRNA3/5 e HHIP.¹¹

À despeito da presença do mesmo fator de risco, em geral o tabagismo, e da mesma alteração espirométrica (VEF₁/CVF pós broncodilatador < 0,7), a DPOC é uma doença altamente heterogênea em sua apresentação clínica assim como na forma como a doença progride após o diagnóstico. A partir da observação deste fato foi proposta a diferenciação da DPOC em subtipos clínicos denominados fenótipos. Define-se fenótipo como um achado simples ou uma combinação de características comuns presente em alguns pacientes. Os fenótipos podem estar relacionados a fatores prognósticos importantes como presença de sintomas, maior ou menor risco de exacerbação, resposta à terapia, taxa de progressão de doença e mortalidade.^{12,13} Na tentativa de dividir os pacientes DPOC em fenótipos Miravittles et al¹⁴ descreveram três principais fenótipos sendo eles o misto, que associa DPOC com asma, exacerbador e enfisema com hiperinsuflação.¹⁴ A definição de pacientes com fenótipo misto DPOC-asma foi revista dois anos mais tarde pelo mesmo autor.¹⁵

1.2. Fenótipos da DPOC

1.2.1 Misto DPOC- Asma

A coexistência de mais de uma doença obstrutiva ao fluxo aéreo define a presença de síndrome mista também conhecida como *overlap* Asma-DPOC.¹ Com isso, é possível que um percentual de pacientes com DPOC apresente características comum àqueles com asma. A definição deste fenótipo, conhecido pela sigla em língua inglesa ACO (*Asthma and COPD Overlap*), é bastante variável entre os diversos artigos que tratam do tema. Enquanto alguns são mais conservadores e utilizam critérios que consideram diversas variáveis como história de tabagismo e de asma e / ou atopia, reversibilidade pós teste broncodilatador, eosinofilia no

escarro, imunoglobulina (Ig)E elevada e sinais alergênicos,^{16,17,18} outros utilizam história de tabagismo e de asma associada a VEF₁/CVF <0,7.¹⁵ O uso da reversibilidade pós-teste broncodilatador como definidor deste fenótipo muitas vezes é questionado, dado que muitos pacientes com DPOC apresentam prova broncodilatadora positiva.¹⁹

Tabagistas com asma parecem responder menos à corticoterapia quando comparados aos asmáticos em geral e apresentam maior probabilidade de inflamação neutrofílica.¹ Entretanto, rinite alérgica, sinais de hiper-responsividade brônquica e sibilos são mais frequentes neste grupo, quando comparados ao restante dos pacientes com DPOC, além de ser comum a ocorrência de IgE sérica elevada.¹ A prevalência deste fenótipo é estimada em 20% dos pacientes com DPOC, sendo mais comum em idosos, com 50% dos pacientes acima de 50 anos.^{20,21} Estes doentes, quando comparado ao grupo geral de DPOC, apresentam maior capacidade de difusão ao monóxido de carbono (DLco), maior espessamento de via aérea ao exame de imagem e pior qualidade de vida avaliada pelo questionário *Saint George*.²² Além disto, é comum apresentarem, melhor resposta à corticoterapia do que aqueles com DPOC sem asma e, com isso, a identificação deste fenótipo é importante para tentar individualizar a terapia adicionando de forma mais precoce corticoide inalatório.¹⁴

- **Exacerbador**

Durante o curso da DPOC, frequentemente, pacientes apresentam episódios pontuais de instabilidade clínica da própria doença conhecidos como exacerbação.¹ Entretanto, alguns pacientes nunca apresentam exacerbação, enquanto outros o fazem de forma repetida em curto espaço de tempo.¹ Alguns fatores individuais como hipersecreção brônquica, presença de bronquiectasias, de doença cardiovascular ou de refluxo gastroesofágico aumentam o risco de exacerbação. A regra mnemônica A-G-X (do inglês) descreve os principais fatores desencadeantes de exacerbação (infecção Aguda, infecção Bacteriana, Coinfecção, Depressão, Embolia pulmonar, Insuficiência cardíaca, fatores Gerais outros).²³ Nenhuma alteração genética foi implicada, até o momento, de forma consistente como fator de risco para exacerbação. Define-se exacerbador como o paciente que apresenta duas ou mais exacerbações por ano, sendo que elas devem ser separadas por pelo menos quatro semanas, após término de tratamento ou seis semanas a partir do início dos sintomas, caso o paciente não tenha recebido tratamento.¹ Também são considerados exacerbadores pacientes que apresentam agudização da doença que obrigue à internação hospitalar no último ano.¹ Os pacientes com este fenótipo apresentam ao longo dos anos pior qualidade de vida e maior

risco de morbimortalidade. Estes pacientes se beneficiam do uso de terapia anti-inflamatória utilizando corticoide inalado e roflumilaste.^{14,24,25}

- **Enfisema com hiperinsuflação** – Enfisema pulmonar apresenta definição anatomopatológica ao nível dos bronquíolos terminais. A hiperinsuflação é causada pela perda da retração do parênquima pulmonar em pacientes com enfisema.¹ A característica clínica destes pacientes é a presença de dispneia, intolerância ao exercício, sinais de hiperinsuflação e tendência a apresentar baixo índice de massa corporal. A hiperinsuflação pode ser detectada através de tomografia computadorizada de tórax e /ou de exame de função respiratória com medida da capacidade de difusão ao monóxido de carbono (DLco) reduzida. A presença deste fenótipo é preditor de mortalidade independente da gravidade da doença.¹⁴ Estes pacientes parecem apresentar um benefício maior quando tratados com terapia associando dois broncodilatadores de longa duração.^{14,26} Este trabalho utilizou como critério de fenótipo enfisema com hiperinsuflação aquele paciente com DPOC que apresente sinais de hiperinsuflação na medida de volumes pulmonares estáticos (VR% e VR/CPT %) e redução da difusão ao CO.²⁷

1.3 Alteração genética e DPOC

Entende-se como alteração genética qualquer alteração ligada ao genoma. As principais alterações desta ordem estudadas na DPOC são os polimorfismos, definidos como variações alélicas ou mutações pontuais no DNA, incluindo os associados a um único nucleotídeo. *Single nucleotide polymorphism* (SNP) é definido como a presença de uma alteração única em determinado gene que pode levar à alteração funcional e/ou estrutural do produto final relacionado a este gene. Os polimorfismos podem ser identificados através do método da polimerase em cadeia de (PCR) simples, em tempo real e pelo sequenciamento genético.²⁸

A técnica de PCR em tempo real combina a metodologia de PCR convencional com um mecanismo de detecção e quantificação por fluorescência. A metodologia permite que os processos de amplificação, detecção e quantificação de DNA sejam realizados em uma única etapa, facilitando a obtenção de resultados, diminuindo o risco de contaminação da amostra e

dando maior precisão. A técnica de sequenciamento permite a identificação de polimorfismos em diversos *loci*.

A partir da observação de que apenas 15% dos tabagistas desenvolvem DPOC e de que existem grupos familiares que apresentam maior susceptibilidade à DPOC iniciou-se uma busca por explicações ao nível molecular e genético que pudesse explicar estes fatos.

O primeiro e único fator genético estabelecido como causa de DPOC é a deficiência grave de alfa-1 antitripsina que responde por 1-2% dos casos. A deficiência desta enzima leva ao desequilíbrio entre proteinase antiproteinase, causando a destruição do parênquima pulmonar. Esta enzima, que é produzida pelo fígado, tem como sua forma funcionante o alelo M derivado do gene SERPINA1.²⁸ São descritos mais de 125 SNPs da SERPINA1. Os principais polimorfismos que levam à doença são S (troca do glutamato pela valina na posição 264) e Z (troca do glutamato pela lisina na posição 342). A presença destes polimorfismos em homozigose ou heterozigose (MS, MZ, SZ, SS e ZZ) define a gravidade da deficiência enzimática.^{2, 10, 28, 29}

Além do gene da alfa-1 antitripsina, mais 191 genes foram avaliados em uma meta-análise quanto à associação com desenvolvimento de DPOC.³⁰ Dentre eles, destacam-se sete genes mais estudados, contando com mais de dez publicações encontrando associação com DPOC. Os genes são SERPINA1, ADRB2, TGFB1, TNF, GSTM1, GSTM2 e EPHX1.^{9,30} Recentemente, três polimorfismos foram implicados como fator de risco para DPOC, sendo eles o CHRNA 3/5 (receptor alfa nicotínico da acetilcolina), a HHIP (proteína de interação Hedgehog) e o FAM13A.^{31,32}

A seguir, faremos uma revisão sobre os principais polimorfismos supostamente associados à patogênese da DPOC, baseado no número de publicações encontradas sobre alterações genéticas nessa população.

1.3.1 Hidrolase epóxido microsomal (EPHX-1)

Esta enzima tem papel importante no metabolismo de intermediários epóxidos formados pela exposição ao cigarro, participando, com isso, do metabolismo de primeira passagem do tabaco. A EPHX-1 é expressa em diversas células epiteliais incluindo células epiteliais brônquicas e está localizada no braço longo do cromossoma 1. A expressão ao nível

pulmonar é alta, porém com grau de expressão reduzido em indivíduos com DPOC.³³ A correlação entre EPHX-1 e DPOC ainda é muito controversa na literatura.

A partir da diferença entre polimorfismos, a enzima é classificada em três diferentes níveis, de acordo com o grau de atividade: lento, normal ou rápido. Na posição 113 do exon 3 (T113C) a mudança de tirosina por histidina define uma redução em 50% na atividade desta enzima. Por outro lado, a troca de adenina por guanina na posição 139 do exon 4 (A139G) aumenta em 25% a atividade da enzima. Alguns estudos têm demonstrado que a atividade rápida tem efeito protetor para DPOC, em contrapartida, a atividade lenta estaria relacionada ao desenvolvimento de DPOC em caucasianos.^{28,29,34} Diferentemente do que se demonstrou no estudo em caucasianos esta enzima parece não apresentar esta relação em asiáticos.³⁰ Ainda sob esta perspectiva, uma meta-análise que avaliou 19 estudos em pessoas saudáveis e em pacientes com DPOC mostrou limitada relação entre estes polimorfismos e o risco de desenvolver DPOC.³¹ Estudo recente conduzido no Cazaquistão encontrou correlação entre aumento de susceptibilidade a DPOC e a presença do polimorfismo Y113H.³⁶

1.3.2 Glutathione S transferase (GST)

A GST é uma superfamília envolvida na conjugação de substâncias eletrofilicas como a glutathione. Com isso, estas enzimas participam da detoxificação de xenobióticos endógenos e ambientais como o cigarro. A atividade destas enzimas podem ser citosólicas e em membranas. São dezesseis subtipos citosólicos e seis que atuam na membrana. As citosólicas são divididas em oito classes e todas elas são altamente polimórficas. Dentre elas, destacam-se a GSTP, GSTM e GSTT. A GSTP apresenta quatro diferentes alelos localizados no cromossoma 11q13.²⁸

A GSTP1, cuja atividade é alterada a partir da substituição na posição 105, é expressa de forma abundante no alvéolo, macrófagos alveolares e bronquíolos respiratórios. A presença da substituição na posição 105 com genótipo Ile105Ile é prevalente em pacientes com DPOC de etnia japonesa. A GSTM apresenta cinco genes localizados no cromossoma 1p13.3. A forma de alelo deletado (GSTM1), parece ocorrer com maior frequência em pacientes com enfisema e neoplasia pulmonar. A GST é representada por dois genes localizados no cromossoma 22q11. A GSTT não demonstrou estar relacionada à DPOC em estudo com caucasianos e em outro estudo coreano.^{29,34} No entanto, outros autores verificaram a relação

entre o polimorfismo *GSTT1 null* acoplado à *GSTM1 null* com a DPOC.²⁸ Em uma análise de interação gênica, o polimorfismo de da *GSTP-1* associado a polimorfismos da *SERPINA-2*, *EPHX-1* e *FOS* apresentou relação com a redução de *VEF1*.³⁷

1.3.3 CHRNA 3/5

Receptor de acetilcolina alfa-nicotínico localizado no cromossoma 15q25 apresenta polimorfismos que parecem estar relacionados com perda de função pulmonar e de desenvolvimento de DPOC. Alguns polimorfismos desse receptor já são classicamente associados ao risco de neoplasia pulmonar.⁷ A adição ao tabaco pode estar parcialmente relacionada a polimorfismos neste gene dado que fumantes que tem alta exposição ao tabaco parecem apresentar polimorfismo no sítio rs1051730.³⁸ No estudo ECLIPSE verificou-se que polimorfismos desse receptor eram significativamente associados à queda do *VEF₁* e da relação *VEF₁/CVF*.^{7, 8, 29} Alterações desse receptor também parecem ter relação com o grau de adição ao tabaco, porém essa associação é controversa. Dentre os polimorfismos possivelmente relacionados com a DPOC destacam-se os sítios rs8034191 e rs1051730.^{32,39} O SNP rs8034191 apresenta 12,2% de risco atribuível para desenvolvimento de DPOC.⁴⁰ A combinação de polimorfismos *CHRNA 3/5* com polimorfismos do *CHRNA B4* parece estar relacionado a doenças tabaco relacionadas como DPOC, neoplasia pulmonar, doença arterial periférica e neoplasia de bexiga.⁴¹ No entanto, estudo recente demonstrou que o SNP rs78863472 do gene *CHRNA 3/5* não se apresenta como fator de risco para DPOC.⁴²

1.3.4 FAM 13 A

Família de genes *FAM13A* (*Family with sequence similarity 13, member A*), presente no cromossoma 4q22.1, participam de forma importante do processo de transdução de sinal. Pouco é sabido sobre esta família, entretanto, os estudos sugerem a presença de consistente aumento da sua expressão gênica em resposta à hipoxemia.²⁸ Estudo recente demonstrou que camundongos que não expressam *FAM13A* apresentam menor susceptibilidade a desenvolver enfisema pós exposição ao tabagismo e que a perda da *FAM13A* resulta em aumento de

proliferação celular e ativação da via de sinalização da Beta-catenina, que é recrutada durante a injúria tecidual e regeneração tecidual pulmonar.⁴³ O estudo sugere que a FAM13A regula a degradação da Beta-catenina, fato que contribuiria para desenvolvimento da DPOC.⁴⁴ Uma segunda via parece estar envolvida na correlação entre DPOC e FAM13A. Esta família de genes parece regular a via mitocondrial responsável pela oxidação de ácidos graxos na célula alveolar tipo 2 após stress incluindo exposição ao tabagismo, levando à ativação da enzima carnitina palmitol-transferase 1A e, por fim, aumentando a liberação de radicais livres de oxigênio.⁴⁵ Dois polimorfismos, rs7671167 e rs1903003, parecem estar associados a maior risco de desenvolvimento de DPOC e de obstrução ao fluxo aéreo com redução de VEF1/CVF, entretanto, parece não haver correlação com carga tabágica. Porém, estudos demonstraram que esses SNP podem ter efeito protetor^{10,31,46,47,48} Outros polimorfismos, como o rs 2609264 e rs 2609261, demonstraram associação significativa com DPOC, após ajuste de idade, sexo e carga tabágica.⁴⁹ Lee et al descreveram alguns SNP relacionados à FAM13A que podem se correlacionar com o fenótipo de bronquite crônica.⁵⁰ Hobbs et al¹¹ relatam que FAM 13A parece participar de interação com outros genes na gênese de DPOC e fibrose pulmonar.¹¹

1.3.5 HHIP

A proteína de interação Hedgehog é expressa no cromossoma 4q31 tendo ação inibitória sobre a via que leva o seu nome ao se ligar à proteína sonic Hedgehog.^{51,52} É peça crucial no processo de organogênese pulmonar por promover *feedback* negativo no processo de proliferação celular. Diante da exposição aos agentes nocivos presentes no cigarro o epitélio do trato respiratório é lesado, sendo a via de sinalização Hedgehog responsável por promover regeneração tecidual. Entretanto, para conter esta regeneração, a proteína HHIP é fundamental. Em um contexto onde esta proteína se encontre em *down regulation* ocorre perda do controle da proliferação celular, gerando defeitos no processo de crescimento e diferenciação do tecido epitelial.⁵¹ Com isso, a redução da expressão da HHIP induz ativação desenfreada da via Hedgehog, levando a expressão de mais de 300 genes envolvidos no crescimento celular, formação de matriz extracelular de tecido pulmonar e expressão de genes possivelmente envolvidos na patogênese da DPOC.^{52,53,54} Polimorfismos da HHIP têm sido inclusive implicados na perda da função pulmonar independentemente de haver ou não

história de tabagismo dado seu envolvimento na formação do tecido pulmonar.⁵⁴ Dois polimorfismos parecem estar relacionados à redução da atividade promotora desta proteína: rs6537296 e rs 1542725. Outros dois polimorfismos que sempre seguem presentes em conjunto, rs 1828591 e rs13118928, parecem facilitar a expressão de uma proteína alterada e não funcional, aumentando o risco de desenvolvimento de DPOC.^{52,53} O SNP rs 11938704 correlaciona-se de forma significativa à queda do VEF₁ na população de pacientes com DPOC.³³ Um estudo recente demonstrou correlação entre o SNP rs7654947 com desenvolvimento de DPOC e redução da função pulmonar.⁵⁵

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo específico

Correlacionar polimorfismos genéticos implicados à DPOC com diferentes fenótipos clínicos da doença.

2.2. Objetivos secundários

- I. Avaliar a presença de polimorfismo nos genes EPHX-1, GST, CHRNA 3/5, FAM13A e HHIP em pacientes com DPOC deste estudo, independentemente do fenótipo.
- II. Relacionar os polimorfismos nos genes EPHX-1, GST, CHRNA 3/5, FAM13A e HHIP com os fenótipos DPOC/asma, exacerbador, hiperinsuflado.
- III. Correlacionar polimorfismo genético com a gravidade da DPOC determinada pelo volume expiratório final no primeiro segundo (VEF₁%).
- IV. Comparar a presença de polimorfismos genéticos entre os grupos DPOC, tabagistas sem obstrução ao fluxo aéreo e controles hígidos.
- V. Determinar a presença de polimorfismos e sua correlação com a carga tabágica nos grupos tabagistas e DPOC.

3. MÉTODOS

3.1. Casuística

3.1.1. Desenho do estudo

Estudo descritivo, observacional, comparativo dos grupos de indivíduos hígidos, tabagistas e com DPOC para as variáveis supracitadas. Os pacientes elegíveis para o trabalho foram divididos em três diferentes grupos: o primeiro, corresponde ao grupo controle, incluindo não-fumantes sem evidência de doença pulmonar e espirometria normal. O segundo grupo foi composto por fumantes que não apresentam evidência de obstrução ao fluxo aéreo à espirometria. O terceiro grupo corresponde a pacientes com DPOC (história de tabagismo com obstrução ao fluxo aéreo visto pela espirometria).

Os pacientes com DPOC foram subdivididos de acordo com critérios clínicos e de prova funcional respiratória que definem os três diferentes fenótipos considerados neste estudo. Os critérios para diferenciação dos fenótipos se encontram na Tabela 1.

Tabela 1 – Critérios para caracterização dos fenótipos estudados.

Fenótipo	História de atopia	n de exacerbações nos últimos 12 meses	Prova broncodilatadora	DLco %	CPT %	VR %
Exacerbador	Negativa	> ou igual a 2	Negativa	> 75%	< 130 %	< 125 %
Asma /DPOC	Positiva	< 2	Positiva	> 75%	< 130 %	< 125 %
Enfisema hiperinsuflador	Negativa	< 2	Negativa	< 75%	> 130 %	> 125 %

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica; VEF₁: volume expiratório forçado no primeiro segundo; CVF: capacidade vital forçada; DLco: capacidade de difusão do monóxido de carbono; CT: carga tabágica; Considerou-se DLco% normal acima de 75% do predito e sinais de hiperinsuflação pela prova funcional respiratória quando CPT% estava acima ou igual a 130% do predito e VR% se encontrava acima ou igual a 125% do predito. Os pacientes selecionados que não se enquadraram nos fenótipos supracitados foram considerados como sendo fenótipo indefinido. Prova broncodilatadora - CVF pré / pós > 350 mL e/ou VEF1 pré / pós > 200mL e 12% ; CPT: Capacidade Pulmonar Total ; VR: Volume Residual

Fonte : O autor, 2019

3.1.2. População do estudo

A população do estudo foi composta de pacientes advindos dos Ambulatórios de DPOC e tabagismo do Serviço de Pneumologia e Tisiologia – UERJ. Os indivíduos hígidos foram selecionados entre pacientes acompanhados em outras especialidades na Policlínica Piquet Carneiro.

3.1.3. Critérios de Inclusão:

- **Grupo de indivíduos hígidos** – Indivíduos hígidos com idade maior ou igual a 40 anos e sem história pregressa de doença respiratória e tabagismo apresentando exame de espirometria normal.
- **Grupo de pacientes tabagistas sem obstrução ao fluxo aéreo** – Indivíduos com idade maior ou igual a 40 anos sem história pregressa de doença respiratória e com histórico de tabagismo com carga tabágica (número de maços por dia multiplicado pelo número de anos com história de tabagismo) superior a 20 maços-ano com exame de espirometria normal.
- **Grupo de pacientes DPOC** – Pacientes com idade maior ou igual a 40 anos, diagnóstico de DPOC por espirometria, além de carga tabágica superior a 20 maços-ano. A espirometria com relação $VEF_1/CVF < 0,7$ após o uso de salbutamol 400 mcg caracterizando distúrbio ventilatório obstrutivo. A distribuição dos pacientes nos 3 diferentes subgrupos foi realizada de acordo com os critérios informados na tabela 1. Foram considerados como fenótipo misto DPOC/asma aqueles pacientes com diagnóstico de DPOC que apresentavam história de asma brônquica. Foi definido exacerbador o paciente que havia apresentado pelo menos 2 exacerbações no ano anterior ao recrutamento e consideramos exacerbação como piora clínica dos sintomas respiratórios que requeresse o uso de corticoide oral, antibioticoterapia ou ambos. Hospitalização e aumento da dose de corticoide inalatório não foram consideramos como critério para o presente estudo. Este trabalho utilizou como critério de fenótipo

enfisema com hiperinsuflação aquele paciente com DPOC que apresentasse sinais de hiperinsuflação na medida de volumes pulmonares, conforme apresentado na tabela 1.

3.1.4 Critérios de exclusão dos controles hígidos e tabagistas:

- História atual ou pregressa de doença pulmonar
- Qualquer alteração na espirometria
- História atual ou pregressa de outra doença, que a critério do investigador pudesse alterar o exame funcional. Pacientes com qualquer doença não controlada.

3.1.5 Critérios de exclusão dos pacientes com DPOC

- História atual ou pregressa de outra doença pulmonar
- Indício de provável distúrbio ventilatório restritivo em exame de espirometria.
- História atual ou pregressa de outra doença,. Pacientes com qualquer doença não controlada.

3.1.6. Tamanho amostral

O cálculo do tamanho amostral não foi realizado pela falta de elementos na literatura que servissem de referência para esta análise. Baseado em artigos publicados consideramos que o estudo de 30 indivíduos em cada grupo controle (hígidos e tabagistas) e de 90 pacientes com DPOC poderia fornecer análise estatística adequada.

3.1.7 Local de estudo

O estudo foi conduzido no Hospital Universitário Pedro Ernesto e na Policlínica Piquet Carneiro. Ambas as unidades pertencem ao complexo de saúde da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

3.1.8 Aprovação Comitê de Ética em Pesquisa

Este estudo foi submetido ao CEP do HUPE e aprovado em 19/12/2014 sob o número CAAE: 39414414.8.0000.5259 (Anexo A). Todos os pacientes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) antes da realização de qualquer etapa do estudo (Apêndices A e B). Todos os dados coletados foram armazenados de forma confidencial de acordo com os termos da lei.

3.1.9 Procedimentos

Questionário- O questionário para coleta de dados epidemiológicos e clínicos foi aplicado a todos os pacientes deste estudo. (Apêndice C)

Espirometria – A espirometria foi realizada de acordo com os critérios da ATS, de 1991. A CVF (% do predito), o VEF₁ (% do predito) e a relação VEF₁/CVF(%) foram determinados em dois momentos, antes e 20 minutos após o uso do broncodilatador salbutamol spray, na dosagem de 400mcg por via inalatória. Os valores teóricos previstos foram os descritos por Knudson et al. e o aparelho de função respiratória utilizado nas espirometrias foi o Vitatrace do tipo fole, acoplado ao aplicativo Spiromatic.

Medida da capacidade de difusão do monóxido de carbono (DLco) – A medida da capacidade de difusão foi realizada utilizando os critérios da ATS Os valores teóricos utilizados foram os de Knudson et al.. O exame foi realizado em equipamento para

pletismografia e medida de DLco – modelo HP CPL (nSpire Health Inc. Lonmont CO – USA).

Medida dos volumes pulmonares estáticos– A medida dos volumes pulmonares estáticos foi realizada utilizando os critérios da ATS Os valores teóricos utilizados foram os de Knudson et al. O exame foi realizado em equipamento para pletismografia e medida de DLco – modelo HP CPL (nSpire Health Inc. Lonmont CO – USA).

Pesquisa de polimorfismo genético – Uma amostra de sangue era enviada logo após a coleta para o laboratório de HLA da Policlínica Piquet Carneiro para avaliação genética através do método de PCR tempo real e método de sequenciamento. Todos os genes listados a seguir foram avaliados primeiramente pela técnica de PCR em tempo real através de *Taqman SNP Genotyping Assay*. Gene CHRNA 3/5 – *loci* rs8034191 e *loci* rs1051730, gene GSTP1 *loci* rs1695, gene HHIP *loci* rs6537296, *loci* rs1828591 e *loci* rs13118928, gene FAM 13A *loci* rs7671167 e *loci* rs1903003, além de gene EPHX1 *loci* rs1051740 e *loci* rs 2234922. Após esta primeira análise, os genes elencados foram avaliados pela técnica de sequenciamento genético *Applied Biosystems 3500xL Genetic Analyze*

3.2 Análise de dados

3.2.1. Análise estatística dos dados

Os dados obtidos foram planilhados em programa Excel considerando todas as variáveis obtidas. Os dados categóricos descritos nas tabelas foram avaliados por média e desvio padrão. As variáveis únicas foram analisadas em mediana para divisão entre os grupos. Para análise estatística foi utilizado programa IBM- SPSS *statistics* 25, ano 2017. Foram realizados teste de comparação de médias (T student), ANOVA e análise de distribuição de variáveis categóricas (X^2 quadrado). Considerou-se estatisticamente significativo quando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

Foram recrutados 40 indivíduos controles, 29 tabagistas e 94 com diagnóstico de DPOC, sendo 21 exacerbadores, 14 misto DPOC/Asma e 26 enfisema-hiperinsuflados. O restante, 33 pacientes, não se encaixaram em fenótipos puros, pois preenchiam critérios para mais de um fenótipo (ex: tinham história de asma e tinham tido 2 ou mais exacerbações no ano anterior) ou não apresentavam nenhuma das características necessárias dos fenótipos em avaliação.

A apresentação dos resultados considerará primeiro as análises realizadas entre os 3 grupos demonstrando as suas diferenças demográficas, espirométricas e, em relação aos resultados, no que tange à diferença entre os polimorfismos estudados. Na segunda parte dos resultados consideraremos todas as análises e resultados entre os diferentes fenótipos do grupo DPOC e as subanálises realizadas nos pacientes recrutados para este grupo.

4.1 – Análises e resultados da comparação entre os grupos controle, tabagista e DPOC

A tabela 2 demonstra o número de indivíduos recrutados e excluídos, além dos motivos da exclusão em cada um dos grupos.

Tabela 2- Processo de recrutamento – Seleção e exclusão de indivíduos

Grupos	Recrutados n	Excluídos N	Motivo da exclusão	Amostra Final
Controles Hígidos	43	3	Espirometria sugerindo distúrbio ventilatório restritivo (n=3)	40
Tabagistas	30	1	HTc < 10	29
DPOC	114	20	História tabágica < 20 maços ano (n=1) Deficiência de alfa 1 antitripsina (n=3) Presença de exacerbação nas 4 últimas semanas (n=2) Outras comorbidades pulmonares além da DPOC (n=14)	94

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica; Htc: hematócrito, A1AT: deficiência de alfa-1 antitripsina
Fonte: O Autor, 2019.

A tabela 3 apresenta os dados demográficos de cada grupo com relação ao gênero, idade e resultados espirométricos. No caso do grupo DPOC considerou-se a idade de início da doença. A diferença estatisticamente significativa quanto ao VEF1% está relacionada à característica dos pacientes com DPOC.

Tabela 3 – Dados demográficos dos indivíduos do estudo

	Controle (n=40)	Tabagista (n=29)	DPOC (n=94)	Valor p
Sexo masculino (n%)	16 (40%)	9 (31%)	53 (56%)	0,03
Idade em anos (Média e DP)	59,4 +/- 9,7	57,6 +/- 6,7	60,2 +/- 9,4	0,40
VEF1% (Média e DP)	98,1 +/- 16,5	92,3 +/- 10,1	58,1 +/- 19,8	0,01
CVF% (Média e DP)	95,8 +/- 15,9	93,1 +/- 12,4	92,1 +/- 23,3	0,60

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica; M: mulheres; H: homens; DP: desvio padrão
Fonte: O Autor, 2019.

As tabelas 4 e 5 apresentam a diferença de cada um dos alelos e genótipos entre os grupos controle, tabagista e DPOC. Observou-se diferença estatisticamente significativa entre os 3 grupos no alelo A do gene EPHX1 polimorfismo rs2234922 e na análise genotípica polimorfismo rs1695 do gene GSTP1.

Tabela 4- Diferenças alélicas de cada polimorfismo em cada um dos grupos estudados (hígidos / tabagistas / DPOC)

Polimorfismo	Controle (n=40)	Tabagista (n=29)	DPOC (n=94)	Valor p
CHRNA3/5 rs1051730				
A	18/ 45%	12/ 41,4%	49/ 52,1%	0,52
G	40/ 100%	89/ 94,7%	28/ 96,6%	0,32
GSTP1 rs1695				
A	36/ 90,0%	23/ 79,3%	78/83%	0,44
G	30/ 75,0%	14/ 48,3%	60/ 63,8%	0,07
EPHX1 rs1051740				
C	14/ 35,0%	12/ 41,4%	44/ 46,8%	0,44
T	37/ 92,5%	27/ 93,1%	85/ 90,4%	0,86
EPHX1 rs2234922				
A	36/ 90,0%	26/ 89,7%	93/ 98,9%	0,03
G	17/ 42,5%	11/ 37,9%	40/ 42,6%	0,90
CHRNA rs8034191				
C	19/ 52,5%	13/ 44,8%	55/ 58,5%	0,30
T	38/ 95%	27/ 93,1%	90/ 95,7%	0,84
FAM13A rs7611167				
C	28/ 70,0%	20/ 69,0%	67/ 71,3%	0,96
T	26/ 65,0%	20/ 69,0%	72/ 76,6%	0,35
FAM13A rs903003				
C	27/ 67,5%	19/ 65,5%	65/ 69,1%	0,93
T	29/ 72,5%	22/ 75,9%	75/ 79,8%	0,64
HHIP rs1828591				
A	37/ 92,5%	23/ 79,3%	77/ 81,9%	0,23
G	22/ 55,0%	18/ 62,1%	64/ 68,1%	0,34
HHIP rs13118928				
A	37/ 92,5%	26/ 89,7%	84/ 89,4%	0,85
G	19/ 47,5%	15/ 51,7%	50/ 53,2%	0,83
HHIP rs6537296				
A	20/ 50,0%	17/ 58,6%	56/ 59,6%	0,58
G	38/ 95,0%	27/ 93,1%	81/ 86,2%	0,24

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
 Fonte: O Autor, 2019.

Tabela 5 - Diferenças genótípicas de cada polimorfismo em cada um dos grupos estudados (controle, tabagistas e DPOC)

Polimorfismo	Controle (n=40)	Tabagista (n=29)	DPOC (n=94)	Valor p
CHRNA 3/5 rs1051730				
AG	18/ 45,0%	11/ 37,5%	44/ 46,8%	0,52
AA	0/ 0,0%	1/ 3,4%	5/ 5,3%	
GG	22/ 55,0%	17/ 58,6%	45/ 47,9%	
GSTP1 rs 1695				
AG	26/ 65,0%	8/ 27,6%	44/ 46,4%	0,04
AA	10/ 25,0%	15/ 51,7%	34/ 36,2%	
GG	4/ 10,0%	6/ 20,7%	16/ 17,0%	
EPHX1 rs 1051740				
CT	11/ 27,5%	10/ 34,5%	35/ 37,2%	0,78
CC	3/ 7,5%	2/ 6,9%	9/ 9,6%	
TT	26/ 65,0%	17/ 58,6%	50/ 53,2%	
EPHX1 rs 2234922				
AG	13/ 32,5%	8/ 27,5%	39/ 41,5%	0,08
AA	23/ 57,5%	18/ 62,1%	54/ 57,4%	
GG	4/ 10,0%	3/ 10,3%	1/ 1,1%	
CHRNA rs 8034191				
CT	17/ 42,5%	11/ 37,9%	51/ 54,3%	0,52
CC	2/ 5,0%	2/ 6,9%	4/ 4,3%	
TT	21/ 52,5%	16/ 55,2%	39/ 41,4%	
FAM 13 A rs 7611167				
CT	14/ 35,0%	11/ 37,5%	45/ 47,9%	0,58
CC	14/ 35,0%	9/ 31,0%	22/ 23,4%	
TT	12/ 30,0%	9/ 31,0%	27/ 28,7%	
FAM 13 A rs 903003				
CT	16/ 40,0%	12/ 41,4%	46/ 48,9%	0,84
CC	11/ 27,5%	7/ 24,1%	19/ 20,2%	
TT	13/ 32,5%	10/ 34,5%	29/ 30,9%	
HHIP rs 1828591				
AG	19/ 47,5%	12/ 41,4%	47/ 50,0%	0,38
AA	18/ 45,0%	11/ 37,5%	30/ 31,9%	
GG	3/ 7,5%	6/ 20,7%	17/ 18,1%	
HHIP rs 13118928				
AG	16/ 40,0%	12/ 41,4%	40/ 42,6%	0,97
AA	21/ 52,5%	14/ 48,3%	44/ 46,8%	
GG	3/ 7,5%	3/ 10,3%	10/ 10,6%	
HHIP rs 6537296				
AG	18/ 45,0%	15/ 51,7%	43/ 45,7%	0,50
AA	20/ 50,0%	12/ 41,4%	38/ 40,4%	
GG	2/ 5,0%	2/ 6,9%	13/ 13,8%	

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Fonte: O Autor, 2019.

Para avaliar a possível relação entre os polimorfismos estudados com o desenvolvimento de DPOC, foi verificado a diferença de cada um dos alelos e genótipos entre os grupos tabagista sem obstrução de via aérea e DPOC (Tabela 6).

Dos 123 pacientes, 29 eram tabagistas sem distúrbio obstrutivo à espirometria ($VEF1 / CVF \geq a 0,7$ pós BD) e 94 com diagnóstico estabelecido de DPOC. Ao comparar estes dois subgrupos foi observado diferença estatisticamente significativa na frequência alélica A ($p=0,01$) no gene EPHX1 rs2234922, sendo mais frequentemente observada naqueles com diagnóstico de DPOC. Na frequência genotípica AA, AG e GG também encontra-se diferença estatisticamente significativa neste mesmo polimorfismo.

Tabela 6 – Resultados da presença percentual do alelo A ou C e dos genótipos AA e GG ou CC e TT de cada polimorfismo em cada um dos grupos estudados (tabagistas sem distúrbio obstrutivo vs DPOC)

Polimorfismo	Tabagista sem distúrbio obstrutivo à espirometria (n=29)	DPOC (n=94)	Valor p
CHRNA3/5 rs1051730			
A	12/ 41,4%	49/ 52,1%	0,31
AA	1/ 3,4%	5/ 5,3%	0,58
GG	17/ 58,6%	45/ 47,9%	0,58
GSTP1 rs1695			
A	23/ 79,3%	78/ 83%	0,65
AA	15/ 51,7%	34/ 36,2%	0,17
GG	6/ 20,7%	16/ 17%	0,17
EPHX1 rs1051740			
C	12/ 41,4%	44/ 46,8%	0,60
CC	2/ 6,9%	9/ 9,6%	0,84
TT	17/ 58,6%	50/ 53,6%	0,84
EPHX1 rs2234922			
A	26/ 89,7%	93/ 98,9%	0,01
AA	18/ 62,1%	9/ 9,6%	0,02
GG	17/ 58,6%	50/ 53,6%	0,02
CHRNA rs8034191			
C	13/ 44,8%	55/ 58,5%	0,19
CC	18/ 62,1%	4/ 4,3%	0,29
TT	16/ 55,2%	39/ 41,5%	0,29
FAM13A rs7611167			
C	20/ 69,0%	67/ 71,3%	0,81
CC	9/ 31,0%	22/ 23,4%	0,59
TT	9/ 31,0%	27/ 28,7%	0,59
FAM13A rs903003			
C	19/ 65,5%	65/ 69,1%	0,71
CC	7/ 24,1%	19/ 20,2%	0,77
TT	10/ 34,5%	29/ 30,9%	0,77
HHIP rs1828591			
A	23/ 79,3%	77/ 81,9%	0,75
AA	11/ 37,9%	30/ 31,9%	0,71
GG	6/ 20,7%	17/ 18,1%	0,71
HHIP rs13118928			
A	15/ 51,7%	50/ 53,7%	0,89
AA	14/ 48,3%	44/ 46,8%	0,99
GG	3/ 10,3%	10/ 10,6%	0,99
HHIP rs6537296			
A	27/ 93,1%	81/ 86,2%	0,31
AA	12/ 41,4%	38/ 40,4%	0,59
GG	2/ 6,9%	13/ 13,8%	0,59

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Fonte: O Autor, 2019.

Em uma terceira análise, os grupos de tabagistas e DPOC foram agrupados e subdivididos a partir da carga tabágica (CT). O primeiro grupo apresentava CT < 40 maços-ano e o segundo, CT > ou igual a 40 maços-ano. Os dados demográficos de cada grupo são

descritos na tabela 7. A tabela 8 demonstra a frequência alélica de cada um dos grupos acima. Esta análise avaliou possível correlação dos polimorfismos com adição ao tabaco. A análise alélica demonstrou diferença estatisticamente significativa ($p=0,02$) quanto à presença do alelo C no polimorfismo do CHRNA rs8034191. A análise genotípica não demonstrou diferença estatisticamente significativa em nenhum dos polimorfismos estudados.

Tabela 7 – Dados demográficos e espirométricos de cada um dos grupos de acordo com a CT

	Tabagista CT < 40 maços ano (n=76)	Tabagistas CT ≥ 40 maços ano (n=47)	Valor p
Sexo masculino n%	31 (40%)	31 (66%)	0,76
Idade em anos (Média e DP)	62,96 +/- 9,66	65,22 +/- 8,04	0,02
VEF1% (Média e DP)	62,36 +/- 23,61	61,01 +/- 8,01	0,92
CVF% (Média e DP)	88,39 +/- 22,07	92,02 +/- 8,03	0,61

Legenda: VEF₁: volume expiratório forçado no primeiro segundo; CVF: capacidade vital forçada; DP: desvio padrão

Fonte: O Autor, 2019.

Tabela 8 – Frequência alélica em cada um dos polimorfismos entre os grupos tabagistas com CT < 40 maços ano e > ou igual a 40 maços ano

Polimorfismo	Tabagista CT < 40 maços ano (n=76)	Tabagistas CT ≥ 40 maços ano (n=47)	Valor p
CHRNA3/5 rs1051730			
A	32/ 42,1%	29/ 61,7%	0,03
G	72/ 94,74	45/ 95,7%	0,8
GSTP1 rs1695			
A	60/ 78,9%	41/ 87,2%	0,24
G	47/ 61,4%	27/ 57,4%	0,62
EPHX1 rs1051740			
C	37/ 48,6%	19/ 40,3%	0,37
T	67/ 88,1%	41/ 87,2%	0,87
EPHX1 rs2234922			
A	74/ 97,3%	45/ 95,7%	0,62
G	31/ 40,7%	20/ 42,5%	0,84
CHRNA rs8034191			
C	36/ 47,3%	32, 68,0%	0,02
T	72/ 94,7%	45/ 95,7%	0,80
FAM13A rs7611167			
C	54/ 71,0%	33/ 71,7%	0,92
T	58/ 76,3%	34/ 73,9%	0,62
FAM13A rs903003			
C	51/ 60,7%	33/ 71,7%	0,71
T	58/ 76,3%	36/ 76,6%	0,62
HHIP rs1828591			
A	51/ 67,1%	33/ 70,2%	0,91
G	61/ 80,2%	36/ 76,6%	0,08
HHIP rs13118928			
A	68/ 89,4%	42/ 89,3%	0,98
G	40/ 52,6%	25/ 53,1%	0,95
HHIP rs6537296			
A	46/ 60,5%	27/ 57,4%	0,73
G	60/ 78,9%	41/ 87,2%	0,24

Fonte: O Autor, 2019.

4.2 Análises e resultados entre os subgrupos fenotípicos do grupo DPOC

Conforme já explicado, os pacientes com DPOC foram subdivididos de acordo com o fenótipo. Aqueles que apresentaram características de mais de um fenótipo ou que não apresentaram característica de nenhum dos fenótipos deste estudo foram excluídos da análise. Desta forma, foram analisados aqui 21 exacerbadores, 26 enfisema-hiperinsufladores e 14 misto Asma-DPOC.

A tabela 9 demonstrou a diferença de dados demográficos e espirométricos entre os 3 fenótipos. Observa-se a diferença estatisticamente significativa em relação ao VEF1%, sendo o fenótipo misto asma-DPOC com valores mais elevados em relação aos outros 2 fenótipos ($p=0,03$) e, principalmente, em relação ao fenótipo enfisema-hiperinsuflação ($p=0,02$)

Tabela 9– Dados demográficos e funcionais respiratórios de cada um dos grupos de fenótipo da DPOC

	Misto Asma – DPOC (n=14)	Exacerbadores (n=21)	Enfisema hiperinsuflador (n=26)	Valor p
Gênero masculino (n / total)	15/21	7/14	13/26	0.99
Idade em anos (Média e DP)	67.0 ±7.8	60.7 ± 7.8	67.0 ± 7.8	0.06
VEF1/CVF (Média e DP)	46.7 ± 24.5	60.2 ± 27.6	48.5±30.2	0.33
VEF1% (Média e DP)	68.3 ± 15.3*	58.4 ± 20.7	52.3 ± 16.3*	0.03
CVF% (Média e DP)	92.0 ± 25.1	100.0 ± 19.0	91.3 ± 18.5	0.41

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica; VEF₁: volume expiratório forçado no primeiro segundo; CVF: capacidade vital forçada; DP: desvio padrão. Análise por comparação múltipla demonstrou diferença estatística com $p=0,02$ entre os grupos Misto Asma-DPOC e enfisema hiperinsuflador.

Fonte: O Autor, 2019.

As tabelas 10 e 11 demonstram as análises alélicas e genotípicas de cada um dos polimorfismos estudados e os valores encontrados em cada um dos fenótipos da DPOC.

Em nove dos dez polimorfismos estudados não foi encontrado resultado estatisticamente significativo, porém quando analisamos o polimorfismo rs13118928 observa-se tendência a diferença estatística ($p=0,05$) (tabela 11). Apesar de pouco prevalente nos 3 grupos, o alelo G não foi encontrado nos pacientes do grupo enfisema/hiperinsuflador (tabela

10). Na análise genotípica, observa-se um maior percentual de pacientes do fenótipo enfisema/hiperinsuflador com genótipo AA (Tabela 11). Dessa forma, realizamos análise 2 x 2 (tabela 12) para tentar encontrar uma possível implicação do fenótipo enfisema/hiperinsuflador nesta tendência estatística.

Ao realizarmos a análise em separado 2 x 2 (tabela 12) dos 3 fenótipos observamos diferença estatisticamente significativa no alelo A ao compararmos exacerbadores com enfisema/hiperinsufladores ($p=0,01$), sendo que estes últimos apresentavam mais frequentemente este alelo. Na análise entre asma/DPOC e enfisema/hiperinsufladores também encontramos diferença estatisticamente significativa na comparação entre os genótipos AA x AG x GG ($p= 0,04$), com maior prevalência do genótipo AA no grupo enfisema/hiperinsuflador, e diferença estatisticamente significativa no alelo G ($p= 0,04$) neste mesmo grupo, sendo menos frequentemente encontrada nos pacientes do fenótipo enfisema/hiperinsuflador. Na análise entre asma/DPOC e exacerbadores não foi encontrada diferença estatisticamente significativa na análise alélica e genotípica. Com isso, possivelmente a presença do alelo A relaciona-se com tendência em desenvolver fenótipo enfisema/hiperinsuflador e a presença do alelo. (Tabela 12).

Tabela 10 – Dados da análise alélica de cada um dos polimorfismos nos 3 grupos de fenótipos da DPOC

Polimorfismo	Misto Asma – DPOC (n=14)	Exacerbadador (n=21)	Enfisema hiperinsuflador (n=26)	Valor p
CHRNA3/5 rs1051730				
A	8/ 57,1%	9/ 42,9%	16/ 61,5%	0,42
G	12/ 87,5%	21/ 100%	25/ 96,2%	0,15
GSTP1 rs1695				
A	12/ 85,7%	18/ 85,7%	21/ 80,8%	0,87
G	9/ 64,3%	14/ 66,7%	16/ 61,5%	0,93
EPHX1 rs1051740				
C	5/ 35,7%	11/ 52,4%	15/ 57,7%	0,27
T	14/ 100%	17/ 81,0%	24/ 92,3%	0,16
EPHX1 rs2234922				
A	14/ 100%	20/ 95,2%	26/ 100%	0,69
G	6/ 42,9%	9/ 42,9%	9/ 34,6%	0,80
CHRNA rs8034191				
C	8/ 57,1%	10/ 47,6%	16/ 61,5%	0,62
T	13/ 92,9%	21/ 100%	24/ 92,3%	0,43
FAM13A rs7611167				
C	12/ 87,5%	13/ 61,9%	19/ 73,1%	0,30
T	9/ 64,3%	15/ 71,4%	21/ 80,8%	0,50
FAM13A rs903003				
C	11/ 78,6%	13/ 61,9%	19/ 73,1%	0,53
T	10/ 71,4%	16/ 76,2%	21/ 80,8%	0,79
HHIP rs1828591				
A	11/ 78,6%	17/ 81,0%	24/ 92,3%	0,40
G	11/ 78,6%	15/ 71,4%	15/ 57,7%	0,35
HHIP rs13118928				
A	13/ 92,9%	17/ 81,0%	26/ 100%	0,06
G	10/ 71,4%	13/ 61,9%	10/ 38,5%	0,05
HHIP rs6537296				
A	11/ 78,6%	18/ 85,7%	25/ 96,2%	0,22
G	9/ 64,3%	16/ 76,2%	14/ 53,8%	0,28

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
 Fonte: O Autor, 2019.

Tabela 11 - Diferenças genótípicas de cada polimorfismo em cada um dos grupos de fenótipos da DPOC

Polimorfismo	Misto Asma – DPOC (n=14)	Exacerbador (n=21)	Enfisema hiperinsuflador (n=26)	Valor p
CHRNA 3/5 rs1051730				
AG	6/ 42,9%	9/ 42,9%	15/ 57,7%	0,26
AA	2/ 14,3%	0/ 0,0%	1/ 3,8%	
GG	6/ 42,9%	12/ 57,1%	10/ 38,5%	
GSTP1 rs 1695				
AG	7/ 50,0%	11/ 52,4%	11/ 42,3%	0,96
AA	5/ 35,7%	7/ 33,3%	10/ 38,5%	
GG	2/ 14,3%	3/ 14,3%	5/ 19,2%	
EPHX1 rs 1051740				
CT	5/ 35,7%	7/ 33,3%	13/ 50,0%	0,27
CC	9/ 64,3%	4/ 19,0%	2/ 7,7%	
TT	0/ 100%	10/ 47,6%	11/ 42,3%	
EPHX1 rs 2234922				
AG	6/ 42,9%	8/ 38,1%	9/ 34,6%	0,69
AA	8/ 57,1%	12/ 57,1%	17/ 65,4%	
GG	0/ 0,0%	1/ 4,8%	0/ 0,0%	
CHRNA rs 8034191				
CT	7/ 50,0%	10/ 47,5%	14/ 53,8%	0,70
CC	1/ 7,1%	0/ 0,0%	2/ 7,7%	
TT	6/ 42,9%	11/ 52,4%	10/ 38,5%	
FAM 13 A rs 7611167				
CT	7/ 50,0%	7/ 33,3%	14/ 53,8%	0,42
CC	5/ 35,7%	6/ 28,6%	5/ 19,2%	
TT	2/ 14,3%	8/ 38,1%	7/ 26,9%	
FAM 13 A rs 903003				
CT	7/ 50,0%	8/ 38,1%	14/ 53,8%	0,75
CC	4/ 28,6%	5/ 23,8%	5/ 19,2%	
TT	3/ 21,4%	8/ 38,1%	7/ 26,9%	
HHIP rs 1828591				
AG	8/ 57,1%	11/ 52,4%	13/ 50,0%	0,55
AA	3/ 21,4%	6/ 28,6%	11/ 42,3%	
GG	3/ 21,4%	4/ 19,0%	2/ 7,7%	
HHIP rs 13118928				
AG	9/ 64,3%	9/ 42,9%	10/ 38,5%	0,05
AA	4/ 28,6%	8/ 38,1%	16/ 61,5%	
GG	1/ 7,1%	4/ 19,0%	0/ 0,0%	
HHIP rs 6537296				
AG	6/ 42,9%	13/ 61,9%	13/ 50,0%	0,29
AA	5/ 35,7%	5/ 23,8%	12/ 46,2%	
GG	3/ 21,4%	3/ 14,3%	1/ 3,8%	

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
 Fonte: O Autor, 2019.

Tabela 12 – Frequência alélica e genotípica na comparação 2 x 2 dos fenótipos no polimorfismo rs 13118928 do gene HHIP

Polimorfismo	Alelo A (n/%)	A (p- valor)	Alelo G (n/%)	G (p-valor)	AA x AG x GG (n)	AA x AG x GG (p-valor)
Exacerbador	17 (80,95)	0,019	13 (61,90)	0,1	AA 8 / AG 9 / GG 4	0,1
Enfisema hiperinsuflador	26 (100,0)		10 (38,46)		AA 16 / AG 10 / GG 0	
Exacerbador	17 (80,95)	0,32	13 (61,90)	0,5	AA 8 / AG 9 / GG 4	0,4
Misto asma / DPOC	13 (92,85)		10 (71,42)		AA 4 / AG 9 / GG 1	
Misto asma / DPOC	13 (92,85)	0,16	10 (71,42)	0,04	AA 4 / AG 9 / GG 1	0,04
Enfisema hiperinsuflador	26 (100,0)		10 (38,46)		AA 16 / AG 10 / GG 0	

Fonte: O Autor, 2019.

4.3- Análises e resultados de subdivisões a partir de variáveis únicas do grupo DPOC

Nesta parte da análise de resultados foram utilizadas variáveis únicas para subdividir os pacientes do grupo DPOC em 2 grupos dependendo do ponto de corte de cada variável a ser estudada. Para as variáveis clínicas todos os pacientes DPOC foram incluídos (n=94), para variável laboratorial relacionada ao número de eosinófilos consideraremos os pacientes que colheram hemograma (n=94). Para as variáveis funcionais respiratórias foram analisados os dados os pacientes do grupo DPOC que conseguiram realizar espirometria (n=94), avaliação de medida de volumes pulmonares estáticos (CPT%, VR% e VR/CPT%) (n=77) e aqueles que obtiveram êxito ao realizar a manobra de DLCO (n=84).

4.3.1 Variáveis clínicas

As tabelas abaixo demonstram a subdivisão dos 94 pacientes do grupo DPOC de acordo com cada uma das variáveis clínicas estudadas abaixo. O ponto de corte de cada uma das variáveis foi obtido a partir da mediana dos resultados analisados.

A tabela 13 demonstra a divisão do grupo DPOC de acordo com o número de exacerbações (< 2 vs ≥ 2) nos últimos 12 meses e análise alélica de cada polimorfismo realizado a partir desta dicotomização.

Tabela 13 - Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes com DPOC subdivididos de acordo com o número de exacerbações nos últimos 12 meses

Polimorfismo	< 2 exacerbações nos últimos 12 meses (n=60)	≥ 2 exacerbações nos últimos 12 meses (n=34)	Valor p
CHRNA3/5 rs1051730			
A	33/ 55,0%	16/ 47,1%	0,30
G	57/ 95,0%	32/ 94,1%	0,59
GSTP1 rs1695			
A	49/ 81,7%	29/ 85,3%	0,44
G	38/ 63,3%	22/ 64,7%	0,53
EPHX1 rs1051740			
C	28/ 46,7%	16/ 47,1%	0,57
T	56/ 93,3%	29/ 85,3%	0,18
EPHX1 rs2234922			
A	60/ 100%	33/ 97,1%	0,36
G	24/ 40,0%	34/ 47,1%	0,32
CHRNA rs8034191			
C	35/ 58,3%	20/ 58,8%	0,56
T	57/ 95,0%	33/ 97,1%	0,54
FAM13A rs7611167			
C	45/ 75,0%	22/ 64,7%	0,20
T	47/ 78,3%	25/ 73,5%	0,38
FAM13A rs903003			
C	43/ 71,7%	22/ 64,7%	0,31
T	48/ 80,0%	27/ 79,4%	0,57
HHIP rs1828591			
A	52/ 86,7%	25/ 73,5%	0,09
G	39/ 65,0%	25/ 73,5%	0,26
HHIP rs13118928			
A	56/ 93,3%	28/ 82,4%	0,09
G	28/ 46,7%	22/ 64,7%	0,07
HHIP rs6537296			
A	54/ 90,0%	27/ 79,4%	0,13
G	32/ 53,3%	24/ 70,6%	0,07

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
Fonte: O Autor, 2019.

A tabela 14 demonstra a análise genotípica considerando esta subdivisão. Não foi observada diferença estatisticamente tanto na análise alélica quanto genotípica em relação a variável exacerbação.

Tabela 14 - Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o número de exacerbações nos últimos 12 meses

Polimorfismo	< 2 exacerbações nos últimos 12 meses (n=60)	≥ 2 exacerbações nos últimos 12 meses (n=34)	Valor p
CHRNA 3/5 rs1051730			
AG	30/ 50,0%	14/ 41,2%	0,71
AA	3/ 5,0%	2/ 5,9%	
GG	27/ 45,0%	18/ 52,9%	
GSTP1 rs 1695			
AG	27/ 45,0%	17/ 50,0%	0,86
AA	22/ 36,7%	12/ 35,3%	
GG	11/ 18,3%	5/ 14,7%	
EPHX1 rs1051740			
CT	24/ 40,0%	11/ 32,4%	0,40
CC	4/ 6,7%	5/ 14,7%	
TT	32/ 53,3%	18/ 52,9%	
EPHX1 rs2234922			
AG	24/ 40,0%	15/ 44,1%	0,36
AA	36/ 60,0%	18/ 52,9%	
GG	0/ 0,0%	1/ 2,9%	
CHRNA rs8034191			
CT	32/ 53,3%	19/ 55,9%	0,88
CC	3/ 5,0%	1/ 2,9%	
TT	25/ 41,7%	14/ 41,2%	
FAM 13 A rs7611167			
CT	32/ 53,3%	13/ 38,2%	0,35
CC	13/ 21,7%	9/ 26,5%	
TT	15/ 25,0%	12/ 35,3%	
FAM 13 A rs903003			
CT	31/ 51,7%	15/ 44,1%	0,74
CC	12/ 20,0%	7/ 20,6%	
TT	17/ 28,3%	12/ 35,3%	
HHIP rs1828591			
AG	31/ 51,7%	16/ 47,1%	0,26
AA	21/ 35,0%	9/ 26,5%	
GG	8/ 13,3%	9/ 26,5%	
HHIP rs13118928			
AG	24/ 40,0%	16/ 47,1%	0,12
AA	32/ 53,3%	12/ 35,3%	
GG	4/ 6,7%	6/ 17,6%	
HHIP rs6537296			
AG	26/ 43,3%	17/ 50,0%	0,16
AA	28/ 46,7%	10/ 29,4%	
GG	6/ 10,0%	7/ 20,6%	

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
Fonte: O Autor, 2019.

Foram realizadas análises alélica e genotípica de cada polimorfismo nos pacientes grupo DPOC de acordo com o número de hospitalizações (< 1 vs ≥ 1) nos últimos 12 meses. Os resultados obtidos da análise alélica estão demonstrados na tabela 15 e a genotípica na tabela 16. Não foi observada diferença estatisticamente significativa para nenhum dos polimorfismos estudados tanto na análise alélica quanto genotípica em relação a esta variável.

Tabela 15 - Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com o número de hospitalizações nos últimos 12 meses

Polimorfismo	< 1 hospitalização nos últimos 12 meses (n=69)	≥ 1 hospitalização nos últimos 12 meses (n=25)	Valor p
CHRNA3/5 rs1051730			
A	39/ 56,5%	10/ 40,0%	0,11
G	66/ 95,7%	23/ 92,0%	0,40
GSTP1 rs1695			
A	58/ 84,1%	20/ 80%	0,42
G	43/ 62,3%	17/ 68,0%	0,40
EPHX1 rs1051740			
C	32/ 46,4%	12/ 48,0%	0,53
T	61/ 88,4%	24/ 96,0%	0,25
EPHX1 rs2234922			
A	69/ 100%	1/ 4,0%	0,26
G	31/ 44,9%	9/ 36,0%	0,29
CHRNA rs8034191			
C	42/ 60,9%	13/ 52,0%	0,29
T	66/ 95,7%	25/ 96%	0,71
FAM13A rs7611167			
C	49/ 71,0%	18/ 72,0%	0,57
T	55/ 79,7%	17/ 68,0%	0,18
FAM13A rs903003			
C	46/ 66,7%	19/ 76,0%	0,27
T	58/ 84,1%	17/ 68,0%	0,08
HHIP rs1828591			
A	58/ 84,1%	19/ 76,0%	0,27
G	46/ 66,7%	18/ 72,0%	0,41
HHIP rs13118928			
A	63/ 91,3%	21/ 84,0%	0,25
G	37/ 53,6%	13/ 52,0%	0,53
HHIP rs6537296			
A	61/ 88,4%	20/ 80%	0,23
G	41/ 59,4%	15/ 60,0%	0,57

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
Fonte: O Autor, 2019.

Tabela 16 - Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes com DPOC subdivididos de acordo com o número hospitalizações nos últimos 12 meses

Polimorfismo	< 1 hospitalização nos últimos 12 meses (n=69)	≥ 1 hospitalização nos últimos 12 meses (n=25)	Valor p
CHRNA 3/5 rs1051730			
AG	36/ 52,2%	8/ 32,0%	0,21
AA	3/ 4,3%	2/ 8,0%	
GG	30/ 43,5%	15/ 60%	
GSTP1 rs 1695			
AG	32/ 46,4%	12/ 48,0%	0,83
AA	26/ 37,7%	8/ 32%	
GG	11/ 15,9%	5/ 20%	
EPHX1 rs 1051740			
CT	24/ 34,8%	11/ 44,0%	0,46
CC	8/ 11,6%	1/ 4,0%	
TT	37/ 53,6%	13/ 52,0%	
EPHX1 rs 2234922			
AG	21/ 44,9%	8/ 32,0%	0,15
AA	38/ 55,1%	16/ 64,0%	
GG	0/ 0,0%	1/ 4,0%	
CHRNA rs 8034191			
CT	39/ 56,5%	12/ 48,0%	0,74
CC	3/ 4,3%	1/ 4,0%	
TT	27/ 39,1%	12/ 48%	
FAM 13 A rs 7611167			
CT	35/ 50,7%	10/ 40,0%	0,46
CC	14/ 20,3%	8/ 32,0%	
TT	20/ 29,0%	7/ 28,0%	
FAM 13 A rs 903003			
CT	35/ 50,7%	11/ 40,0%	0,22
CC	11/ 15,9%	8/ 32,0%	
TT	23/ 33,3%	6/ 24,0%	
HHIP rs 1828591			
AG	35/ 50,7%	12/ 48,0%	0,65
AA	23/ 33,7%	7/ 28,0%	
GG	11/ 15,9%	6/ 24,0%	
HHIP rs 13118928			
AG	31/ 44,9%	9/ 36,0%	0,52
AA	32/ 46,4%	12/ 48,0%	
GG	6/ 8,7%	4/ 16,0%	
HHIP rs 6537296			
AG	33/ 47,8%	10/ 40,0%	0,55
AA	28/ 40,6%	10/ 40,0%	
GG	8/ 11,6%	5/ 20,0%	

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Fonte: O Autor, 2019.

4.3.2 Variável laboratorial – Número absoluto de eosinófilos séricos

Para avaliar se o número absoluto de eosinófilos sanguíneos apresentava alguma relação com os polimorfismos estudados, os pacientes com DPOC foram subdivididos em < 300 céls/ mm³ vs ≥ 300 céls/mm³. Novamente, foi apresentada as análise alélicas e genóticas de cada polimorfismo realizado a partir deste corte (Tabelas 17 e 18). A análise alélica demonstrou diferença estatisticamente significativa ($p=0,04$) no polimorfismo rs1828591 do gene HHIP. Não foi observada diferença estatisticamente na análise genotípica em relação a esta variável.

Tabela 17 - Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes com DPOC subdivididos de acordo com o número absoluto de eosinófilos séricos

Polimorfismo	< 300 eosinófilos / mm ³ n=60	≥ 300 eosinófilos / mm ³ n=34	Valor p
CHRNA3/5 rs1051730			
A	32/ 53,3%	17/ 50,0%	0,40
G	56/ 93,3%	33/ 97,1%	0,46
GSTP1 rs1695			
A	50/ 83,3%	28/ 82,4%	0,46
G	39/ 65,0%	21/ 61,8%	0,55
EPHX1 rs1051740			
C	26/ 43,3%	18/ 52,9%	0,24
T	53/ 88,3%	32/ 94,1%	0,29
EPHX1 rs2234922			
A	60/ 100%	34/ 97,1%	0,49
G	25/ 41,7%	15/ 44,1%	0,36
CHRNA rs8034191			
C	35/ 58,3%	20/ 58,8%	0,56
T	58/ 96,7%	32/ 94,1%	0,45
FAM13A rs7611167			
C	43/ 71,7%	24/ 70,6%	0,54
T	49/ 81,7%	23/ 67,7%	0,10
FAM13A rs903003			
C	41/ 68,3%	24/ 70,6%	0,50
T	51/ 85,0%	24/ 70,6%	0,08
HHIP rs1828591			
A	50/ 83,3%	27/ 79,4%	0,41
G	45/ 75,0%	19/ 55,9%	0,04
HHIP rs13118928			
A	54/ 90,0%	30/ 88,2%	0,52
G	35/ 58,3%	15/ 44,1%	0,13
HHIP rs6537296			
A	50/ 83,3%	31/ 91,2%	0,23
G	37/ 61,7%	19/ 55,9%	0,36

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
Fonte: O Autor, 2019.

Tabela 18 - Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes com DPOC subdivididos de acordo com o número absoluto de eosinófilo sérico

Polimorfismo	< 300 eosinófilos / mm ³ n=60	≥ 300 eosinófilos / mm ³ n=34	Valor p
CHRNA 3/5 rs1051730			
AG	28/ 46,7%	16/ 47,1%	0,73
AA	4/ 6,7%	1/ 2,9%	
GG	28/ 46,7%	17/ 50,0%	
GSTP1 rs 1695			
AG	29/ 48,3%	15/ 44,1%	0,92
AA	21/ 35,0%	13/ 38,2%	
GG	10/ 16,7%	6/ 17,6%	
EPHX1 rs 1051740			
CT	19/ 31,7%	16/ 47,1%	0,28
CC	7/ 11,7%	2/ 5,9%	
TT	34/ 56,7%	16/ 47,1%	
EPHX1 rs 2234922			
AG	25/ 41,7%	14/ 41,2%	0,40
AA	35/ 58,3%	19/ 55,9%	
GG	0/ 0,0%	1/ 2,9%	
CHRNA rs 8034191			
CT	33/ 55,0%	18/ 52,9%	0,84
CC	2/ 3,3%	2/ 5,9%	
TT	25/ 41,7%	14/ 41,2%	
FAM 13 A rs 7611167			
CT	32/ 53,3%	13/ 38,2%	0,23
CC	11/ 18,3%	11/ 32,4%	
TT	17/ 28,3%	10/ 29,4%	
FAM 13 A rs 903003			
CT	32/ 53,3%	14/ 41,2%	0,23
CC	15/ 9,0%	10/ 29,4%	
TT	19/ 31,7%	10/ 29,4%	
HHIP rs 1828591			
AG	35/ 58,3%	12/ 35,3%	0,08
AA	15/ 25,0%	15/ 44,1%	
GG	10/ 16,7%	7/ 20,6%	
HHIP rs 13118928			
AG	29/ 48,3%	11/ 32,4%	0,31
AA	25/ 41,7%	19/ 55,9%	
GG	6/ 10,0%	4/ 11,8%	
HHIP rs 6537296			
AG	27/ 45,0%	16/ 47,1%	0,55
AA	23/ 38,3%	15/ 44,1%	
GG	10/ 16,7%	3/ 8,8%	

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
Fonte: O Autor, 2019.

4.3.3 Variáveis espirométricas

Com o objetivo de avaliar se há diferença em relação à gravidade da DPOC em cada um dos polimorfismos estudados, as análises alélicas e genotípicas foram feitas após a subdivisão dos 94 pacientes do grupo DPOC de acordo com a gravidade, baseado nos valores de VEF1%. O ponto de corte quanto à gravidade levou em consideração 50 e 70% do predito mesclando valores relacionados à divisão dos grupos por mediana. Embora o documento GOLD separe os pacientes em quatro grupos de gravidade espirométrica, neste estudo optou-se por usar a mediana, de forma a ter um número adequado de indivíduos nos três grupos de interesse. Os dados obtidos estão apresentados nas tabelas 19 e 20. Não foi observada diferença estatisticamente tanto na análise alélica quanto fenotípica em relação a esta variável de acordo com a subdivisão proposta.

Tabela 19 - Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes com DPOC subdivididos de acordo o VEF1%

Polimorfismo	VEF1% predito < 51 (n=33)	VEF1% predito entre 51-69 (n=33)	VEF1% predito > 69 (n=28)	Valor p
CHRNA3/5 rs1051730				
A	19/ 57,5%	18/ 54,5%	12/ 42,8%	0,48
G	31/ 93,9%	32/ 96,9%	26/ 92,8%	0,75
GSTP1 rs1695				
A	18/ 54,5%	23/ 38,3%	19/ 31,7%	0,38
G	18/ 54,5%	23/ 69,7%	19/ 67,8%	0,38
EPHX1 rs1051740				
C	14/ 42,4%	17/ 51,5%	13/ 46,4%	0,75
T	30/ 90,9%	31/ 93,9%	24/ 85,7%	0,54
EPHX1 rs2234922				
A	32/ 96,9%	33/ 100%	28/ 100%	0,39
G	11/ 33,3%	18/ 54,5%	11/ 39,2%	0,20
CHRNA rs8034191				
C	20/ 60,6%	20/ 60,6%	15/ 53,7%	0,81
T	31/ 93,4%	32/ 96,7%	27/ 96,4%	0,81
FAM13A rs7611167				
C	24/ 72,7%	25/ 75,7%	18/ 64,2%	0,59
T	25/ 75,6%	24/ 72,7%	23/ 82,1%	0,68
FAM13A rs903003				
C	24/ 72,7%	25/ 75,7%	16/ 57,1%	0,25
T	26/ 78,7%	24/ 72,7%	25/ 89,2%	0,27
HHIP rs1828591				
A	26/ 78,7%	28/ 84,8%	23/ 82,1%	0,81
G	25/ 75,6%	19/ 57,5%	20/ 71,4%	0,25
HHIP rs13118928				
A	29/ 87,8%	31/ 93,9%	24/ 85,7%	0,55
G	20/ 60,6%	15/ 45,4%	15/ 53,5%	0,46
HHIP rs6537296				
A	27/ 81,8%	29/ 87,8%	25/ 89,2%	0,65
G	24/ 72,7%	17/ 51,2%	15/ 53,5%	0,15

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, VEF₁: volume expiratório forçado no primeiro segundo
Fonte: O Autor, 2019.

Tabela 20 - Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes com DPOC subdivididos de acordo com o VEF1 %

Polimorfismo	VEF1% predito < 51 (n=33)	VEF1% predito entre 51-69 (n=33)	VEF1% predito > 69 (n=28)	Valor p
CHRNA 3/5 rs1051730				
AG	17/ 51,2%	17/ 51,2%	10/ 35,7%	0,67
AA	2/ 6,0%	1/ 3,0%	2/ 7,1%	
GG	14/ 42,4%	15/ 45,4%	16/ 57,1%	
GSTP1 rs 1695				
AG	14/ 42,4%	17/ 51,1%	13/ 46,4%	0,67
AA	15/ 45,4%	10/ 30,3%	9/ 32,1%	
GG	4/ 12,1%	6/ 18,1%	6/ 21,4%	
EPHX1 rs 1051740				
CT	11/ 33,3%	15/ 45,4%	9/ 32,4%	0,68
CC	3/ 9,0%	2/ 6,0%	4/ 14,2%	
TT	19/ 57,5%	15/ 45,4%	15/ 53,5%	
EPHX1 rs 2234922				
AG	10/ 30,3%	18/ 54,5%	11/ 39,2%	0,23
AA	22/ 66,6%	15/ 45,4%	17/ 60,7%	
GG	1/ 3,0%	0/ 0,0%	0/ 0,0%	
CHRNA rs 8034191				
CT	18/ 54,5%	19/ 57,8%	14/ 50,0%	0,93
CC	2/ 6,0%	1/ 3,0%	1/ 3,5%	
TT	13/ 39,3%	13/ 39,3%	13/ 46,4%	
FAM 13 A rs 7611167				
CT	16/ 48,4%	16/ 48,4%	13/ 46,4%	0,85
CC	8/ 24,2%	9/ 27,2%	5/ 17,8%	
TT	9/ 27,2%	8/ 24,2%	10/ 35,7%	
FAM 13 A rs 903003				
CT	17/ 51,5%	16/ 48,4%	13/ 46,4%	0,39
CC	7/ 21,2%	9/ 27,2%	3/ 10,7%	
TT	9/ 27,2%	8/ 24,2%	12/ 42,8%	
HHIP rs 1828591				
AG	18/ 54,5%	14/ 42,4%	15/ 53,5%	0,59
AA	8/ 24,2%	14/ 42,4%	8/ 28,5%	
GG	7/ 21,2%	5/ 15,1%	5/ 17,8%	
HHIP rs 13118928				
AG	16/ 48,4%	13/ 39,3%	11/ 39,2%	0,68
AA	13/ 39,3%	18/ 54,5%	13/ 46,3%	
GG	4/ 12,1%	2/ 6,0%	4/ 14,2%	
HHIP rs 6537296				
AG	18/ 54,5%	13/ 39,3%	12/ 42,8%	0,43
AA	9/ 27,2%	16/ 48,4%	13/ 46,4%	
GG	6/ 18,1%	4/ 12,1%	3/ 10,7%	

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, VEF₁: volume expiratório forçado no primeiro segundo
Fonte: O Autor, 2019.

4.3.4 Variáveis funcionais respiratórias obtidas a partir da medida de volumes estáticos e capacidade de difusão

As tabelas abaixo demonstram as análises genóticas e fenóticas de cada um dos polimorfismos nos 84 pacientes do grupo de pacientes com DPOC que realizaram avaliação da manobra de DLco e nos 77 pacientes que completaram a pletismografia. Os pontos de corte para cada uma das variáveis (DLco%, CPT%, VR% e VR/CPT%) foram obtidos de acordo com a mediana dos resultados analisados .

As tabelas 21 e 22 apresentam os dados a partir da medida da DLCO%. Não foi observada diferença estatisticamente tanto na análise alélica quanto genotípica em relação a esta variável.

Tabela 21 - Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes com DPOC subdivididos de acordo com a capacidade de difusão do monóxido de carbono

Polimorfismo	DLCO % < 76% predito (n=42)	DLCO ≥ 76% predito (n=42)	Valor p
CHRNA3/5 rs1051730			
A	23/ 53,4%	20/ 46,5%	0,66
G	41/ 97,6%	40/ 95,2%	0,50
GSTP1 rs1695			
A	36/ 85,7%	34/ 80,9%	0,38
G	23/ 54,7%	29/ 69,0%	0,13
EPHX1 rs1051740			
C	24/ 57,1%	17/ 40,4%	0,09
T	37/ 88,1%	38/ 90,4%	0,50
EPHX1 rs2234922			
A	41/ 97,6%	42/ 100%	0,5
G	17/ 40,4%	19/ 45,2%	0,41
CHRNA rs8034191			
C	25/ 59,5%	22/ 46,8%	0,33
T	40/ 95,2%	41/ 97,6%	0,50
FAM13A rs7611167			
C	30/ 71,4%	30/ 71,4%	1,00
T	30/ 71,4%	33/ 78,7%	0,30
FAM13A rs903003			
C	30/ 71,4%	28/ 66,6%	0,40
T	32/ 76,1%	34/ 80,9%	0,39
HHIP rs1828591			
A	34/ 80,9%	36/ 85,7%	0,38
G	29/ 69,0%	27/ 64,2%	0,40
HHIP rs13118928			
A	37/ 88,1%	39/ 92,8%	0,35
G	24/ 57,1%	20/ 47,6%	0,51
HHIP rs6537296			
A	36/ 85,7%	37/ 88,1%	0,50
G	27/ 64,2%	23/ 54,7%	0,50

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, DLCO: capacidade de difusão do monóxido de carbono
Fonte: O Autor, 2019.

Tabela 22 - Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes com DPOC subdivididos de acordo com a capacidade de difusão do monóxido de carbono

Polimorfismo	DLCO % < 76% predito (n=42)	DLCO ≥ 76% predito (n=42)	Valor p
CHRNA 3/5 rs1051730			
AG	22/ 52,3%	18/ 42,8%	0,50
AA	1/ 2,3%	2/ 4,7%	
GG	19/ 45,2%	22/ 52,3%	
GSTP1 rs 1695			
AG	17/ 40,4%	21/ 50,0%	0,36
AA	19/ 45,2%	13/ 30,9%	
GG	6/ 14,2%	8/ 19,0%	
EPHX1 rs 1051740			
CT	19/ 45,2%	13/ 30,9%	0,27
CC	5/ 11,9%	4/ 9,5%	
TT	18/ 42,8%	25/ 59,5%	
EPHX1 rs 2234922			
AG	16/ 38,1%	19/ 45,2%	0,47
AA	25/ 59,5%	23/ 54,7%	
GG	1/ 2,3%	0/ 0,0%	
CHRNA rs 8034191			
CT	23/ 54,7%	21/ 50,0%	0,63
CC	2/ 4,7%	1/ 2,3%	
TT	17/ 40,4%	20/ 47,6%	
FAM 13 A rs 7611167			
CT	18/ 42,5%	21/ 53,8%	0,66
CC	12/ 28,5%	9/ 21,4%	
TT	12/ 28,5%	21/ 50,0%	
FAM 13 A rs 903003			
CT	20/ 47,6%	20/ 47,6%	0,78
CC	10/ 23,8%	8/ 19,0%	
TT	12/ 28,5%	14/ 33,3%	
HHIP rs 1828591			
AG	21/ 50,0%	21/ 50,0%	0,75
AA	13/ 30,9%	15/ 35,7%	
GG	8/ 19,0%	6/ 14,2%	
HHIP rs 13118928			
AG	19/ 45,2%	17/ 40,4%	0,58
AA	18/ 42,8%	22/ 52,3%	
GG	5/ 11,9%	3/ 7,1%	
HHIP rs 6537296			
AG	21/ 50,0%	18/ 42,8%	0,65
AA	15/ 37,5%	19/ 45,2%	
GG	6/ 14,2%	5/ 11,9%	

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, DLCO: capacidade de difusão do monóxido de carbono
Fonte: O Autor, 2019.

As tabelas 23 e 24 demonstram, respectivamente, as análises alélica e genotípica de cada polimorfismo após a divisão dos pacientes com DPOC de acordo com a CPT% do predito. Na tabela 23 foi demonstrada em dois polimorfismos do gene HHIP diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. No polimorfismo rs13118928 houve

predominância do alelo A em pacientes com CPT acima ou igual a 108% do predito. No polimorfismo rs6537296 houve predominância do alelo G em pacientes com CPT abaixo de 108% do predito.

A tabela 24 demonstra a análise genotípica considerando esta subdivisão. Não foi observada diferença estatisticamente significativa na análise genotípica.

Tabela 23 - Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes com DPOC subdivididos de acordo com a capacidade pulmonar total

Polimorfismo	CPT % < 108% predito (n=37)	CPT% ≥ 108% do predito (n=40)	Valor p
CHRNA3/5 rs1051730			
A	21/ 52,7%	19/ 47,5%	0,49
G	35/ 94,5%	40/ 100%	0,22
GSTP1 rs1695			
A	33/ 89,1%	34/ 50,7%	0,41
G	22/ 59,4%	24/ 60,0%	0,57
EPHX1 rs1051740			
C	20/ 50,0%	19/ 47,5%	0,65
T	32/ 86,4%	37/ 92,5%	0,31
EPHX1 rs2234922			
A	36/ 97,3%	40/ 100%	0,48
G	17/ 45,9%	17/ 42,5%	0,47
CHRNA rs8034191			
C	23/ 52,2%	21/ 47,7%	0,26
T	34/ 94,5%	39/ 97,5%	0,47
FAM13A rs7611167			
C	24/ 64,8%	30/ 75,0%	0,23
T	30/ 81,0%	27/ 67,5%	0,13
FAM13A rs903003			
C	24/ 64,8%	29/ 72,5%	0,62
T	30/ 81,0%	29/ 72,5%	0,26
HHIP rs1828591			
A	29/ 78,3%	35/ 87,5%	0,36
G	27/ 72,9%	26/ 65,0%	0,30
HHIP rs13118928			
A	31/ 83,7%	39/ 97,5%	0,04
G	22/ 59,4%	20/ 50,0%	0,49
HHIP rs6537296			
A	31/ 83,7%	36/ 90,0%	0,31
G	27/ 72,9%	20/ 50,0%	0,03

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, CPT: capacidade pulmonar total
 Fonte: O Autor, 2019.

Tabela 24- Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes DPOC subdivididos de acordo com a capacidade pulmonar total

Polimorfismo	CPT % < 108% predito (n=37)	CPT% ≥ 108% do predito (n=40)	Valor p
CHRNA 3/5 rs1051730			
AG	19/ 51,3%	19/ 47,5%	0,26
AA	2/ 5,4%	0/ 0,0%	
GG	16/ 43,2%	21/ 52,5%	
GSTP1 rs 1695			
AG	18/ 48,6%	18/ 45,0%	0,51
AA	15/ 40,5%	16/ 40,0%	
GG	4/ 10,8%	6/ 15,0%	
EPHX1 rs 1051740			
CT	15/ 48,3%	16/ 40,0%	0,51
CC	5/ 13,5%	3/ 7,5%	
TT	17/ 45,9%	21/ 52,5%	
EPHX1 rs 2234922			
AG	16/ 43,2%	17/ 42,5%	0,47
AA	20/ 54,0%	23/ 57,5%	
GG	1/ 2,7%	0/ 0,0%	
CHRNA rs 8034191			
CT	21/ 56,7%	20/ 50,0%	0,59
CC	2/ 5,4%	1/ 2,5%	
TT	14/ 37,8%	19/ 47,5%	
FAM 13 A rs 7611167			
CT	17/ 45,9%	17/ 42,5%	0,25
CC	7/ 18,9%	13/ 32,5%	
TT	13/ 35,1%	10/ 25%	
FAM 13 A rs 903003			
CT	17/ 45,9%	18/ 45,0%	0,44
CC	7/ 18,9%	11/ 27,5%	
TT	13/ 35,1%	11/ 27,5%	
HHIP rs 1828591			
AG	19/ 51,3%	21/ 52,5%	0,49
AA	10/ 27,0%	14/ 35,0%	
GG	8/ 21,6%	5/ 12,5%	
HHIP rs 13118928			
AG	16/ 43,2%	19/ 47,5%	0,12
AA	15/ 40,5%	20/ 50,0%	
GG	6/ 16,2%	1/ 2,5%	
HHIP rs 6537296			
AG	21/ 56,7%	16/ 40,0%	0,11
AA	10/ 27,0%	20/ 50,0%	
GG	6/ 16,2%	4/ 10,0%	

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, CPT: capacidade pulmonar total

Fonte: O Autor, 2019.

As tabelas 25 e 26 apresentam, respectivamente, os dados obtidos das análises alélica e genotípica de cada polimorfismo após a divisão do grupo de pacientes com DPOC de acordo com o VR% predito. Não foi observada diferença estatisticamente tanto na análise alélica quanto fenotípica em relação a esta variável.

Tabela 25 - Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes com DPOC subdivididos de acordo com o volume residual

Polimorfismo	VR% < 133% predito (n=42)	VR% ≥ 133% predito (n=35)	Valor p
CHRNA3/5 rs1051730			
A	21/ 52,5%	19/ 47,5%	0,44
G	41/ 97,6%	34/ 97,1%	0,70
GSTP1 rs1695			
A	36/ 85,7%	31/ 88,5%	0,49
G	28/ 66,6%	18/ 51,4%	0,13
EPHX1 rs1051740			
C	20/ 47,6%	19/ 54,2%	0,36
T	37/ 88,1%	32/ 91,4%	0,46
EPHX1 rs2234922			
A	41/ 97,6%	35/ 100%	0,54
G	20/ 47,6%	14/ 40,0%	0,33
CHRNA rs8034191			
C	21/ 50,0%	23/ 65,7%	0,24
T	41/ 97,6%	33/ 94,2%	0,43
FAM13A rs7611167			
C	29/ 69,0%	25/ 71,4%	0,82
T	32/ 76,1%	25/ 71,4%	0,79
FAM13A rs903003			
C	28/ 66,6%	25/ 71,4%	0,42
T	33/ 78,5%	26/ 74,2%	0,78
HHIP rs1828591			
A	33/ 78,5%	31/ 88,5%	0,19
G	31/ 73,8%	22/ 62,8%	0,21
HHIP rs13118928			
A	36/ 85,7%	34/ 97,1%	0,18
G	24/ 57,1%	18/ 51,4%	0,65
HHIP rs6537296			
A	35/ 83,3%	32/ 91,4%	0,24
G	29/ 69,0%	18/ 51,4%	0,08

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, VR: volume residual
 Fonte: O Autor, 2019.

Tabela 26 - Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes com DPOC subdivididos de acordo com o volume residual

Polimorfismo	VR% < 133% predito (n=42)	VR% ≥ 133% predito (n=35)	Valor p
CHRNA 3/5 rs1051730			
AG	20/ 47,6%	18/ 51,4%	0,51
AA	1/ 2,3%	1/ 2,8%	
GG	21/ 50,0%	16/ 45,7%	
GSTP1 rs 1695			
AG	22/ 52,3%	14/ 40,0%	0,21
AA	14/ 33,3%	17/ 48,5%	
GG	6/ 14,2%	4/ 11,4%	
EPHX1 rs 1051740			
CT	15/ 35,7%	16/ 45,7%	0,50
CC	5/ 11,9%	3/ 8,5%	
TT	22/ 52,3%	16/ 45,7%	
EPHX1 rs 2234922			
AG	19/ 45,2%	14/ 40,0%	0,48
AA	22/ 52,3%	21/ 60,0%	
GG	1/ 2,3%	0/ 0,0%	
CHRNA rs 8034191			
CT	20/ 47,6%	21/ 60,0%	0,32
CC	1/ 2,3%	2/ 5,7%	
TT	21/ 50,0%	12/ 34,2%	
FAM 13 A rs 7611167			
CT	19/ 45,2%	15/ 42,8%	0,69
CC	10/ 23,8%	10/ 28,5%	
TT	12/ 30,9%	10/ 28,5%	
FAM 13 A rs 903003			
CT	19/ 45,2%	16/ 45,7%	0,64
CC	9/ 21,4%	9/ 25,7%	
TT	14/ 33,3%	10/ 28,5%	
HHIP rs 1828591			
AG	22/ 52,3%	18/ 51,4%	0,38
AA	11/ 26,1%	13/ 37,1%	
GG	9/ 21,4%	4/ 11,4%	
HHIP rs 13118928			
AG	18/ 42,8%	17/ 48,5%	0,22
AA	18/ 42,8%	17/ 48,5%	
GG	6/ 14,2%	1/ 2,8%	
HHIP rs 6537296			
AG	22/ 52,3%	15/ 42,8%	0,23
AA	13/ 30,9%	17/ 48,5%	
GG	7/ 16,6%	3/ 8,5%	

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, VR: volume residual

Fonte: O Autor, 2019.

A tabela 27 demonstra a análise alélica de cada polimorfismo a partir da divisão do grupo de pacientes com DPOC de acordo com a relação VR/CPT. A tabela 28 apresenta a

análise genotípica para a mesma variável. Não foi observada diferença estatisticamente tanto na análise alélica quanto fenotípica em relação a esta variável.

Tabela 27 - Análise alélica de cada um dos polimorfismos dos pacientes com DPOC subdivididos de acordo com a relação do volume residual com a capacidade pulmonar total

Polimorfismo	VR/CPT% % < 129% predito (n=38)	VR/CPT% ≥ 129% predito (n=39)	Valor p
CHRNA3/5 rs1051730			
A	20/ 50,0%	20/ 50,0%	0,90
G	37/ 97,3%	38/ 97,4%	0,74
GSTP1 rs1695			
A	33/ 86,4%	34/ 87,1%	0,61
G	26/ 68,4%	20/ 51,2%	0,09
EPHX1 rs1051740			
C	19/ 50,0%	20/ 51,2%	0,54
T	33/86,4%	36/ 92,3%	0,48
EPHX1 rs2234922			
A	37/ 97,3%	39/ 100%	0,49
G	18/ 47,3%	16/ 41,0%	0,37
CHRNA rs8034191			
C	20/ 52,6%	24/ 61,5%	0,49
T	37/ 97,3%	37/ 94,8%	0,91
FAM13A rs7611167			
C	25/ 65,7%	29/ 74,3%	0,46
T	29/ 76,3%	28/ 71,9%	0,79
FAM13A rs903003			
C	24/ 63,1%	29/ 74,3%	0,20
T	30/ 78,9%	29/ 74,3%	0,78
HHIP rs1828591			
A	31/ 81,5%	33/ 84,6%	0,47
G	27/ 71,0%	26/ 66,6%	0,43
HHIP rs13118928			
A	33/ 86,8%	37/ 94,8%	0,20
G	21/ 55,2%	21/ 53,8%	0,90
HHIP rs6537296			
A	33/ 86,4%	34/ 87,1%	0,61
G	24/ 63,1%	23/ 58,9%	0,44

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, VR: volume residual, CPT: capacidade pulmonar total
Fonte: O Autor, 2019.

Tabela 28 - Análise genotípica de cada um dos polimorfismos dos pacientes com DPOC subdivididos de acordo com a relação do volume residual com a capacidade pulmonar total

Polimorfismo	VR/CPT% % < 129% predito (n=38)	VR/CPT% ≥ 129% predito (n=39)	Valor p
CHRNA 3/5 rs1051730			
AG	19/ 50,0%	19/ 48,7%	0,55
AA	1/ 2,6%	1/ 2,5%	
GG	18/ 47,3%	19/ 48,7%	
GSTP1 rs 1695			
AG	21/ 55,2%	15/ 38,4%	0,14
AA	12/ 31,5%	19/ 48,7%	
GG	5/ 13,1%	5/ 12,8%	
EPHX1 rs 1051740			
CT	14/ 36,8%	17/ 53,5%	0,52
CC	5/ 13,1%	3/ 7,6%	
TT	19/ 50,0%	19/ 48,7%	
EPHX1 rs 2234922			
AG	17/ 44,7%	16/ 41,0%	0,45
AA	20/ 52,6%	23/ 58,9%	
GG	1/ 2,6%	0/ 0,0%	
CHRNA rs 8034191			
CT	19/ 50,0%	22/ 53,6%	0,64
CC	1/ 2,6%	2/ 5,1%	
TT	18/ 47,3%	15/ 38,4%	
FAM 13 A rs 7611167			
CT	16/ 42,1%	18/ 46,1%	0,54
CC	9/ 23,6%	11/ 28,2%	
TT	13/ 34,2%	10/ 25,6%	
FAM 13 A rs 903003			
CT	16/ 42,1%	19/ 48,7%	0,42
CC	8/ 21,0%	10/ 25,6%	
TT	14/ 36,8%	10/ 25,6%	
HHIP rs 1828591			
AG	20/ 52,6%	20/ 51,2%	0,83
AA	11/ 28,9%	13/ 33,3%	
GG	7/ 18,4%	6/ 15,3%	
HHIP rs 13118928			
AG	16/ 42,1%	19/ 48,7%	0,42
AA	17/ 44,7%	18/ 46,1%	
GG	5/ 13,1%	2/ 5,1%	
HHIP rs 6537296			
AG	19/ 50,0%	18/ 46,1%	0,85
AA	14/ 36,8%	18/ 46,1%	
GG	5/ 13,1%	5/ 12,8%	

Legenda: DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, VR: volume residual, CPT: capacidade pulmonar total
Fonte: O Autor, 2019.

5 DISCUSSÃO

A doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) é definida pelo documento GOLD como condição que causa limitação persistente ao fluxo aéreo que é geralmente progressiva e associada a um aumento da resposta inflamatória crônica da via aérea e dos pulmões e relacionada à exposição a gases tóxicos e partículas nocivas.² O tabagismo contribui com mais de 90% dos casos, mas um grande questionamento é o porquê de alguns tabagistas desenvolverem DPOC e outros não e a outra grande pergunta que se impõe é se o paciente desenvolve a DPOC o que determinaria o perfil fenotípico.⁷

Polimorfismos genéticos e Fenótipos

Muito se discute hoje na literatura sobre os diferentes fenótipos, destacando-se principalmente os fenótipos associação de asma com DPOC, enfisema/hiperinsuflador e exacerbador. Miravittles et al¹⁷ descrevem, além destes 3, outros quatro fenótipos com suas nuances clínicas e as principais opções terapêuticas para cada um.¹⁴ Outros autores também reportam os mais diferentes fenótipos, na tentativa de identificar um espectro clínico para uma melhor terapêutica alvo.¹⁷ Observa-se, com isso, que indivíduos expostos ao mesmo fator de risco desenvolvem espectros distintos de uma mesma doença. O racional é que este fato se deva à predisposição genética.

Apesar de didaticamente simples e de fácil entendimento, a subdivisão em fenótipos é bem complexa na prática clínica. Uma das grandes dificuldades do nosso estudo foi identificar fenótipos puros. Dos 94 pacientes recrutados com diagnóstico de DPOC, 33 foram excluídos da análise fenotípica, pois perfaziam critério para mais de um fenótipo ou não preenchiam critério para nenhum dos 3 fenótipos estudados. Um questionamento durante o seguimento do estudo foi com relação aqueles que preenchiam critérios para mais de um grupo - Exclusão ou contabilização dobrada. Optamos pela exclusão de todos estes pacientes da análise fenotípica, porém não da análise de variáveis únicas.

Nosso estudo encontrou dado ainda não descrito na literatura. A possível relação da presença do alelo A e ausência do alelo G no polimorfismo rs13118928 do gene HHIP com o fenótipo enfisema/hiperinsuflador é achado de grande relevância no que tange a desenvolvimento futuro de terapias alvo. Este gene tem enorme relevância quando falamos de gênese da DPOC, porém não encontramos nenhum estudo correlacionando este polimorfismo com um fenótipo específico da DPOC.

A identificação de possível polimorfismo implicado com um fenótipo específico seria de grande importância devendo ser explorado em grandes populações, já que poderia estabelecer terapia alvo mais efetiva. Apesar da relevância do tema, não encontramos dados positivos na literatura.

Dentro desta análise, além da limitação relacionada à determinação de fenótipos puros, algumas outras considerações quanto aos critérios de inclusão no nosso estudo devem ser observadas. A história de atopia e asma eram baseadas na anamnese colhida com o paciente. O número de exacerbações ocorridas no ano anterior ao recrutamento foi confirmada na maioria dos casos através das anotações médicas, mas alguns pacientes haviam sido atendidos em emergência durante os episódios de agudização e para o estudo foram consideradas exacerbações todos os episódios nos quais os pacientes recebiam antibiótico ou corticoide sistêmico, mesmo que não fossem na nossa instituição. Assim, os resultados obtidos neste estudo podem ser diferentes dos conseguidos por outros pesquisadores.

Polimorfismo genético e Adição ao tabaco

É descrito na literatura que o polimorfismo do CHRNA locus rs 1051730 pode estar associado com dependência à nicotina, definida pelo questionário de Fagerstrom em fumantes.²³ Este mesmo polimorfismo foi igualmente encontrado em fumantes e não fumantes, sugerindo que ele não esteja associado à predisposição a fumar, mas sim à dependência entre fumantes, já que ele é mais frequente em pacientes que fumam muito.²³

Nosso estudo avaliou dez polimorfismos distintos, encontrando resultado estatisticamente significativo nos dois polimorfismos do gene CHRNA 3/5 (rs1051730 e rs8034191), sugerindo serem possíveis fatores de risco à adição ao cigarro, já que estão relacionados com uma maior carga tabágica.

Com relação ao locus rs1051730, Pillai et al³² reportaram que ele não apresentava diferença estatisticamente significativa entre tabagistas e não tabagistas.³²

Em relação ao polimorfismo do locus rs8034191, não encontramos referência na literatura analisando o seu papel na adição ao tabaco. Dessa forma, nosso achado é inédito e deve ser confirmado em outros estudos.

Nosso estudo apresenta algumas limitações para esta análise. A primeira é que o dado em relação ao tabagismo e à carga tabágica são autoreportados e não realizamos avaliação bioquímica para comprovação do hábito de fumar. A dificuldade de determinação de fatores ambientais como influência social versus determinação genética é uma outra limitação deste estudo. Não verificamos outros fatores de risco de desenvolvimento de DPOC, como queima

de biomassa. No entanto, o estudo foi realizado no Rio de Janeiro, cidade pouco relacionada com este fator. Os aspectos familiares, tabagismo passivo e a miscigenação étnica característica da população estudada também não foram considerados.

Polimorfismo genético e desenvolvimento de DPOC

É descrito na literatura que alguns polimorfismos genéticos do gene *CHRNA 3/5* são possivelmente associados com a perda da função pulmonar e desenvolvimento de DPOC e, vários trabalhos relataram a associação com risco aumentado de neoplasia pulmonar.³² Em subanálise do estudo *Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate Endpoints* (ECLIPSE), verificou-se que polimorfismos desse receptor eram significativamente associados à queda do VEF₁ e da relação VEF₁/CVF.^{23,32} Dentre os polimorfismos possivelmente relacionados com a patogênese da DPOC destacam-se os loci rs8034191 e rs1051730.^{23,39} Foi publicado que o locus rs8034191 apresenta 12,2% de risco atribuível para desenvolvimento de DPOC.⁴⁰ Nosso estudo, no entanto, não conseguiu verificar a relação entre estes dois loci do gene *CHRNA 3/5* e o risco de desenvolvimento de DPOC. Uma das possibilidades para explicar essa diferença de resultados pode ser imputado na metodologia usada e seleção de pacientes. Outra hipótese mais interessante seria baseada na população do estudo, por ser diferente do ponto de vista genético.

Em nossa análise foi encontrado achado interessante em polimorfismo do gene codificador da enzima EPHX1. Esta proteína tem papel importante na quebra de intermediários epóxidos formados pela exposição ao cigarro, participando, com isso, do metabolismo de primeira passagem do tabaco.²² Em nossa amostra, a presença do alelo A no locus rs 2234922 do gene da EPHX1 pareceu representar fator de risco para desenvolvimento de DPOC. Apesar de ser alelo com prevalência alta nos dois grupos (tabagistas com e sem DPOC), a presença deste polimorfismo foi estatisticamente mais alta nos pacientes com diagnóstico de DPOC. Na análise genotípica também encontramos diferença estatisticamente significativa, demonstrando principalmente a presença de GG como fator protetor para DPOC.

Na literatura, alguns autores descreveram polimorfismos da EPHX1 como possivelmente associados a efeito protetor para DPOC em caucasianos,^{28,29,34} mas não em asiáticos.³⁴ Ainda sob esta perspectiva uma meta-análise que avaliou 19 estudos em pessoas saudáveis e em pacientes com DPOC mostrou limitada relação entre estes polimorfismos e o risco de desenvolver DPOC.⁴¹

A diferença no alelo A do gene EPHX1 no mesmo polimorfismo quando comparamos DPOC, tabagistas e indivíduos hígidos corroboram o achado descrito acima. Nesta mesma comparação de grupos também se encontrou diferença genotípica no polimorfismo rs1695 no gene GSTP1, porém na comparação considerando DPOC e tabagistas esta diferença não foi encontrada.

Polimorfismos genéticos e número absoluto de eosinófilos séricos

Quando nos fixamos nos dados relacionados a divisão dos pacientes em relação ao número de eosinófilos absolutos séricos nos deparamos com diferença estatisticamente significativa no polimorfismo rs1828591 do gene HHIP. Este dado deve ser melhor estudado principalmente pela relevância que o número de eosinófilos tem tido principalmente quando avaliamos conduta terapêutica de acordo com o documento GOLD atual.¹ Hoje discute-se muito o papel do corticoide inalatório na DPOC. Objetivando identificar pacientes que teoricamente se beneficiariam de corticoterapia inalatória, um dos critérios hoje utilizado é o número de eosinófilos séricos elevado acima ou igual a 100 células por mL. Quando este achado laboratorial está presente em pacientes exacerbadores deve-se prescrever terapia tripla, ou seja, adicionado corticoterapia inalatória ao LABA e LAMA. Não encontramos trabalhos na literatura correlacionando número de eosinófilos séricos em pacientes DPOC com os polimorfismos estudados.

Este achado de possível correlação do polimorfismo rs1828591 do gene HHIP com número de eosinófilos séricos deve ser melhor explorado dada a importância que este parâmetro laboratorial tem hoje na definição terapêutica de parte dos pacientes com DPOC.

Polimorfismos genéticos e variáveis clínicas e funcionais respiratórias

Nosso estudo não encontrou diferença estatisticamente significativa em nenhum dos polimorfismos analisados quando estudada variável de DLCO% em separado. Trabalho conduzido por Sakornsakolpat et al⁵⁶ investigou determinantes genéticos da DLCO.⁵⁶ Os autores detectaram correlação em pacientes com ancestralidade europeia e redução da DLCO% com três principais loci de genes distintos após análise de GWA (*genome wide association*). Estas correlações, no entanto, não foram detectadas em americanos afro-descendentes. Os três genes que apresentaram correlação foram TGFB2, CHRNA3/5 e PDE11A.⁵⁶ A miscigenação racial que compõe a população brasileira e de nosso Estado pode justificar a ausência de resultados em nosso estudo. Outro dado de relevância é a ausência de

descrição do ponto de corte da DLCO no estudo acima. Nosso estudo considerou ponte de corte de 75% do predito.

Em relação às análises tanto das variáveis espirométricas, avaliando gravidade da DPOC, quanto dos parâmetros de medida de volumes pulmonares estáticos, não foram encontradas diferenças estatisticamente nos polimorfismos estudados. Também não encontramos estudo na literatura avaliando estas variáveis em separado.

Não encontramos nenhum polimorfismo relacionado à gravidade da doença no nosso estudo nem na literatura pesquisada. A utilização de pontos de corte de 50% e 70% do VEF₁% do predito se justificam pela escassez de pacientes com VEF₁ acima de 80% predito na nossa amostra.

Um outro ponto de análise relacionada ao VEF₁% seria o declínio da função pulmonar estudado por Zhao J et al. Os autores descrevem maior progressão da DPOC possivelmente relacionada ao polimorfismo rs7654947 do gene HHIP, porém esta análise não foi realizada em nosso estudo.⁵⁵

Os achados estatisticamente relevantes no polimorfismo rs13118928 em relação ao fenótipo enfisema hiperinsuflador apresenta correlação com o achado estatisticamente positivo de presença alélica A em pacientes com CPT maior ou igual a 108% do predito. Este dado de CPT% corrobora o achado com relação aos fenótipos, mas deve ser interpretado com cautela dado que uma limitação do estudo no que tange a CPT% foi o fato do valor da mediana utilizado não expressar formalmente hiperinsuflação. Obtivemos um segundo achado estatisticamente relevante em outro polimorfismo do HHIP. No polimorfismo rs6537296 a presença do alelo G correlacionou-se de forma estatisticamente positiva com uma CPT menor que 108% do predito. Como dissemos, o ponto de corte fornecido pela mediana não nos permite obter conclusões relacionadas a hiperinsuflação. Porém, estes dois achados indicam de uma forma mais robusta uma correlação entre o gene HHIP com hiperinsuflação. Os outros parâmetros de medida de volumes pulmonares estáticos não apresentaram diferença estatisticamente significativa e, também, não foram encontrados estudos sobre tema em busca realizada no PubMed.

CONCLUSÃO

- 1) Correlação entre a presença do alelo A e a ausência do alelo G no polimorfismo rs13118928 do gene HHIP com o fenótipo enfisema /hiperinsuflador. Este dado deve ser corroborado em estudos posteriores, mas abre espaço para a discussão da relação entre fenótipo e genótipo da DPOC e possível desenvolvimento de terapias gênicas alvo para cada um dos diferentes tipos de fenótipo da doença.
- 2) Análise de variáveis únicas - Correlação do gene HHIP polimorfismo rs 1828591 na análise do valor absoluto de eosinófilos em pacientes DPOC. Este achado deve ser melhor avaliado em estudos subsequentes. Não houve diferença estatisticamente significativa quando avaliamos em separado variáveis clínicas – número de exacerbações nos últimos 12 meses e número de hospitalizações nos últimos 12 meses, assim como, quando avaliamos variáveis funcionais respiratórias em separado –DLCO%, VR% e VR/CPT. A única exceção foi a presença de dois achados estatisticamente significativos em dois polimorfismos do gene HHIP. Este fato corrobora a necessidade de maior estudo sobre o papel do HHIP na presença de hiperinsuflação.
- 3) Não houve diferença estatisticamente significativa quando avaliamos em separado a gravidade da DPOC baseando-se no VEF1%.
- 4) Correlação entre desenvolvimento de DPOC com polimorfismo do gene codificador do EPHX1 na frequência alélica de A parecendo exercer fator de risco para desencadear DPOC, enquanto a frequência genotípica GG parece exercer fator protetor.
- 5) Correlação de adição ao cigarro a alguns polimorfismos específicos dos genes CHRNA 3/5 (rs1051730 e rs8034191) caracterizando possível fator protetor.

REFERÊNCIAS

- 1- Chair, JV; Agusti, A; Anzuetto, A. et al. The Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease- Global strategy for the diagnosis, management and prevention for chronic obstructive pulmonary disease- Update 2019. Disponível em: < www.goldcopd.org >. Acesso em 13 de agosto de 2019.
- 2- Vijayan, VK. Chronic obstructive pulmonary disease. *Indian J Med Res* 2013 ; 137 (2) : 251-269.
- 3 - . Viegi, G; Pistelli, F ; Sherrill, DL. et al. Definition, epidemiology and natural history of COPD. *Eur Respir J* 2007; 30 : 993-1013.
- 4 – Bakke, PS; Ronmark , E; Eagan, T. et al. Recommendations for epidemiological studies on COPD. *Eur Respir J* 2011 ; 38 : 1261-1277.
- 5- Sekine, Y; Katsura, H; Koh, E. et al. Early detection of COPD is important for lung cancer surveillance. *Eur Respir J* 2012 ; 39 : 1230-1240.
- 6- Wang, BO; Zhou, H; Yang, J. et al. Association of HHIP polymorphisms with COPD and COPD- related phenotypes in a Chinese Han population. *Gene* 2013 ; 531 : 101-105.
- 7 – Hersch, CP; Hokanson, JE; Lynch, DA. et al. Family history is a risk factor for COPD . *Chest* 2011 ; 140 : 343-350.
- 8 – Agusti, A; Hogg, JC. Update on the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2019 ; 381 : 1248-1256.
- 9- Cho, MH; McDonald, ML; Zhou, X. et al. Risk loci for chronic obstructive pulmonary disease : a genome wide association study and meta-analysis. *Lancet Respir Med* 2014 ; 2(3) : 214-225.
- 10 – Pillai, SG; Kong, X; Edwards, LD. et al. Loci identified by genome wide association studies influence different disease related phenotypes in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2010 ; 182 : 1498-1505.
- 11- Hobbs, BD; de Jong, K; Lamontagne, M. et al. Genetic loci associated with chronic obstructive pulmonary disease overlap with loci for lung function and pulmonary fibrosis. *Nat Genet* 2017 ; 49 : 426-432.
- 12 – Han, MK; Agusti, A; Calverley, PM. et al. Chronic obstructive pulmonary disease phenotypes : The future of COPD ; *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182: 598-604.
- 13 – Agusti, A; Sobradillo, P; Celli, B. Addressing the complexity of chronic obstructive pulmonary disease – From phenotypes and biomarkers to scale free networks, system biology and P4 medicine. *Am J Respir Crit Care Med* 2011 ; 183 : 1129-1137.

- 14 – Miravittles, M; Calle, M; Soler-Cataluna, JJ. Clinical phenotypes of COPD : Identification, definition and implications for guidelines. Arch Bronconeumol 2012 ; 48(3) : 86-98.
- 15- Miravittles, M; Soler, Cataluña; JJ, Calle. Guía Española de la EPOC(GesEPOC).Tratamiento farmacológico de la EPOC estable. Arch Bronconeumol. 2012; 48 :247–25
- 16- Rhee, CK. Phenotype of asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap syndrome. Korean J Intern Med 2015 ; 30 : 443-449.
- 17- Alshabanat, A; Zafari, Z; Albanyan, O. et al. Asthma and COPD overlap syndrome (ACOS) . A systematic review and meta analysis. Plos One 10 (9) : e0136065 doi:10.1371/journal.pone.0136065.
- 18- Corhay, JL; Schleich, F; Louis, R. Phénotypes de la broncho-pneumopathie chronique obstructive. Rev Med Liège 2011; 69 :415-421.
- 19– Piras, B; Miravittles, M. The overlap phenotype : the (missing) link between asthma and COPD. Multidiscip Respir Med 2012 ; 7 : 8.
- 20 – Postma, DJ; Rabe, KF. The Asthma –COPD Overlap Syndrome. N Eng J Med 2015 ; 373 : 1241-1249.
- 21 – Gibson, PG; McDonald, VM. Asthma – COPD overlap 2015 : now we are six. Thorax 2015 ; 70 : 683-691.
- 22 – Suzuki, T; Tada, Y; Matsuura Y. et al. Clinical, physiological and radiological features os asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap síndrome. Int J COPD 2015 ; 10 : 947-954.
- 23 – MacDonald, M; Korman, T; King, P. et al. Exacerbation phenotyping chronic obstructive pulmonary disease. Respirology 2013 ; 18 : 1280-1281.
- 24 – Burge, S; Wedzicha, JA. COPD exacerbations: definitions and classifications. Eur Respir J 2003 ; 21(41) : 46s-53s.
- 25 – Vestbo, J; Agusti, A; Wouters, EFM. et al. Should we view chronic obstructive pulmonary disease differently after ECLIPSE ? – A clinical perspective from the study team. Am J Respir Crit Care Med 2014; 189 : 1022-1030.
- 26 – Celli, BR. Chronic obstructive pulmonary disease phenotypes and their clinical relevance. Proc Am Thorac Soc 2006 ; 3 : 461-466.
- 27- French, A; Balfe, D; Mirocha, JM. The inspiratory capacity / total lung capacity ratio as a predictor of survival in a emphysematous phenotype of chronic obstructive pulmonary disease. Int J COPD 2015; 10 : 1305-1312.

- 28- Wu, X; Yuan, B; López, E. et al. Gene polymorphisms and chronic obstructive pulmonary disease. *J Cell Mol Med* 2014 ; 18(1) : 15-26.
- 29- Ugenskiene, R; Sanak, M; Sakalauskas, R. et al. Genetic polymorphisms in chronic obstructive pulmonary disease. *Medicina* 2005 ; 41(1) : 17-22.
- 30 – Bosse, Y. Updates on the COPD gene list. *Int J COPD* 2012 ; 7 : 607-631.
- 31- Cho, MH; Boutaoui, N; Klanderman, BJ. et al. Variants in FAM13A are associated with chronic obstructive pulmonary disease. *Nat Gen* 2010 ; 42 (3) : 200-202.
- 32- Pillai, SG; Ge, D; Zhu, G. et al. A genome-wide association study in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) : Identification of two major susceptibility loci. *Plos Genetics* 2009; 3(3) : e1000421.
- 33- L, An; H, Xia; P, Zhou. et al. Exploration of association between EPHX1 and chronic obstructive pulmonary disease on the basis of combined data mining. *Gen Mol Res* 2016 ; 15 (2) : gmr.15028639.
- 34- Cheng, SL; Yu, CJ; Chen, CJ. et al. Gene polymorphism of epoxide hydrolase and glutathione S-transferase in COPD. *Eur Resp J* 2004 ; 23 : 818-824.
- 35- Lee, J; Norderstgaard, BG; Dahi, M. et al. EPHX1 polymorphism , COPD and asthma in 47000 individuals and in meta analysis. *Eur Respir J* 2011; 37: 18-25.
- 36- Akparava, A; Abdrakhmanova, B; Banerjee N. et al. EPHX1 Y113H polymorphism is associated with increased risk of chronic obstructive pulmonary disease in Kazakhstan population. *Mut Res* 2017 ; 816 : 1-6.
- 37- An, L; Lin, Y; Yang, T. et al. Exploring the interaction among EPHX1, GSTP1, SERPINE2, and TGFB1 contributing to the quantitative traits of chronic obstructive pulmonary disease in Chinese Han population. *Hum Gen* 2016 ; 10 : 13.
- 38- Hallden, S; Sjogren, M; Hedblad, B. et al. Gene variance in the nicotinic receptor cluster (CHRNA5-CHRNA3-CHRNAB4) predicts death from cardiopulmonary disease and cancer in smokers. *J Int Med* 2016 ; 279 : 388-398.
- 39- Cui, K; Ge, X; Ma, H. et al. Four SNPs in the CHRNA 3 / 5 alpha neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit locus are associated with COPD risk base don meta analyses. *Plos One* 2014 ; 9 (7) e102324.
- 40- Chen, X; Xu, X; Xiao, F. et al. Heterogeneity of chronic obstructive pulmonary disease: from phenotype to genotype. *Front Med* 2013 ; 7 : 425-432.
- 41- Kaur-Knudsen, D; Bojesen, SE; Tybjaerg-Hansen, A. et al. Nicotine acetylcholine receptor polymorphism , smoking behavior, and tobacco related cancer and lung and cardiovascular diseases: a cohort study. *J Clin Oncol* 2011 ; 29 : 2875-2882.

- 42- Ding, Y; Yang, D; Xun, X. et al. Association of genetic polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease in the Hanan population : a case control study. *Int J COPD* 2015 ; 10 : 7-13.
- 43- Zhang, Y; Qiu, J; Zhang, P. et al. Genetic variants in FAM13A and IREB2 are associated with the susceptibility to COPD in a chinese rural population : a case control study. *Int J COPD* 2018 ; 13 : 1735-1745.
- 44- Jiang, Z; Lao, T; Qiu, W. et al. A chronic obstructive pulmonary disease susceptibility gene, FAM13A, regulates protein stability of Beta – Catenin. *Am J Respir Crit Care Med* 2016 ; 194 : 185-197.
- 45- Mora, AL. FAM13A , a fatty acid oxidation switch in mitochondria – Friend or foe in chronic obstructive pulmonary disease pathogenesis? *Am J Respir Crit Care Med* 2017 ; 56 : 689-691.
- 46- Xie, J; Wu, H; Xu, Y. et al. Gene susceptibility identification in a longitudinal study confirms new loci in the development of chronic obstructive pulmonary disease and influences lung function decline. *Respir Res* 2015 ; 16 : 49.
- 47- Ziokowska – Suchanec, I; Mosor, M; Gabryel, P. et al. Susceptibility loci in lung cancer and COPD : association of IREB2 and FAM13A with pulmonary diseases. *Sci Rep* 2015 ; doi10.1038 /srep 3502.
- 48- Ranjan, A; Amanjot, S; Gagandeep, KW. et al. Genetic underpinnings of lung function and COPD. *J Genetics* 2019 ; 98 : 76.
- 49- Kim, JW; Lim, MN; Hong, Y. et al. Association of lung function genes with chronic obstructive pulmonary disease. *Lung* 2014 ; 192 : 473-480.
- 50- Lee, JH; Cho, MH; Hersh, CP. et al. Genetic susceptibility for chronic bronchitis in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Res* 2014 ; 15 : 113-125.
- 51- Xu, J; Shang, Y; Cai F. et al. Correlation between lung cancer and HHIP polymorphism of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in the chinese Han population. *Gen Immun* 2017 ; doi10.1038/s41435-018-0033-0.
- 52- Zhou, X; Baron, RM; Hardin, M. et al. Identification of chronic obstructive pulmonary disease genetic determinant that regulates HHIP ; *Hum Mol Gen* 2012 ; 21 (6) : 1325-1335.
- 53- Durme, YMTAV; Eijgelsheim, N; Joos, GF. et al. Hedgehog interaction protein is a COPD susceptibility gen : The Rotterdam study. *Eur Respir J* 2010 ; 36 : 89-95.
- 54- Van der Plaats, DA; Jong, K; Lahousse, L. et al. Genome wide association study on the FEV1/FVC ratio in never smokers identifies HHIP and FAM13A. *J Allerg Clin Immunol* 2016 ; doi:10.1016/j.jaci.2016.06.062.

- 55- Zhao, J; Li, M; Chen, J. et al. Smoking status and gene susceptibility play important roles in the development of chronic obstructive pulmonary disease and lung function decline. *Medicine* 2017 ; 96 : 25.
- 56- Sakornsalkopat, P; McCormack, M; Bakke, P. et al. Genome wide association analysis of single breath diffusing capacity of carbon monoxide (DLCO). *Am J Respir Cell Mol Biol* 2019 ; 60 (5) : 523-531.

APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido para indivíduos hígidos e tabagistas

Número e iniciais do(a) Paciente : _____ / _____

- **TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO LIVRE E ESCLARECIDO – Grupo controle e tabagistas**

Estudo : Avaliação genética nos diferentes fenótipos da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Coordenadores: Dra. Cláudia Henrique da Costa e Dr. Thiago Bártholo

Endereço: Disciplina de Pneumologia - Boulevard 28 de setembro, 77 – 2º andar – Rio de Janeiro - RJ

Número do telefone: 28688248

- **INTRODUÇÃO E CONVITE PARA PARTICIPAR:**

O(A) Sr.(a) está sendo convidado(a) para participar de uma pesquisa. Antes de concordar em participar desta pesquisa, é importante que o Sr.(a) leia e entenda a explicação. Esta declaração descreve o objetivo, as consultas e exames, benefícios, riscos, desconfortos e cuidados associados com a pesquisa. Ela descreve também o seu direito de sair da pesquisa a qualquer momento do estudo.

O(A) Sr.(a) está sendo convidado(a) para participar desta pesquisa para avaliar melhor a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC).

A DPOC é uma doença que ocorre em pessoas que fumam. O cigarro causa uma inflamação crônica nos pulmões dos fumantes e, em alguns casos, pode causar lesão responsável pelo aparecimento de sintomas, como falta de ar e tosse.

O(A) Sr(a) está sendo convidado a participar desta pesquisa porque não tem DPOC. Os achados dos pacientes serão comparados com o de pessoas que não tem a doença.

OBJETIVO DO ESTUDO

O objetivo do estudo é avaliar as bases genéticas da doença pulmonar obstrutiva crônica e tentar correlacionar com os diferentes subtipos clínicos da doença.

CONSULTAS E EXAMES DO ESTUDO

Depois que o Sr.(a) concordar em participar e assinar este termo de consentimento livre e esclarecido será feita coleta de sangue (cerca de 10 ml) para estudo de alterações genéticas e logo após será realizado exame de espirometria.

A espirometria será realizada na Disciplina de Pneumologia e durante o exame, o (a) paciente deverá produzir uma expiração forçada (soprar com força). O exame será repetido após o uso de medicamento broncodilatador (que dilata os brônquios) para avaliar se esse medicamento pode lhe ajudar a respirar.

B- Os exames de sangue serão coletados no próprio setor de Pneumologia da Policlínica Piquet Carneiro e as análises serão feitas pelo próprio laboratório desta mesma instituição.

SUAS RESPONSABILIDADES

- O (A) Sr(a) deverá informar ao médico do estudo se tem alguma doença ou se faz uso regular de alguma medicação.

RISCOS RELACIONADOS AO ESTUDO

A coleta de sangue pode causar uma mancha roxa e dolorosa no local da punção que melhora com o passar de poucos dias.

BENEFÍCIOS

Não há benefícios diretos relacionados com a sua participação, mas nos ajudará a entender melhor a DPOC e suas bases genéticas.

RESSARCIMENTO DE DESPESAS

Não haverá nenhum tipo de compensação financeira para os participantes da pesquisa. Por outro lado, a coleta de sangue e a espirometria serão realizadas na Policlínica Piquet Carneiro sem nenhum custo e no horário de sua conveniência.

CONFIDENCIALIDADE

Seu médico do estudo irá coletar informações a seu respeito. Em todos esses registros um código substituirá seu nome. Todos os dados coletados serão mantidos de forma confidencial e serão usados para a avaliação do estudo. Os dados podem ser submetidos às autoridades de saúde, do Comitê de Ética em Pesquisa ou outras pessoas exigidas por lei podem revisar os dados fornecidos. Estes dados também podem ser usados em publicações médicas sobre os resultados do estudo. Porém, sua identidade não será revelada em qualquer relatório do estudo ou publicações médicas.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA / RETIRADA

Sua participação neste estudo é completamente voluntária. Cabe ao(à) Sr(a) decidir se quer participar ou não. Mesmo se decidir participar, o(a) Sr(a) é livre para desistir do estudo a qualquer momento sem dar um motivo ou explicação. Isto não afetará seu cuidado médico futuro de qualquer forma.

ANUÊNCIA PARA FAZER PARTE DO ESTUDO

Assinando este documento você concorda que:

- Você teve chance para fazer perguntas.
- Você é voluntário(a) para participar deste estudo.

EU CONCORDO LIVREMENTE EM PARTICIPAR DESTE ESTUDO

Assinatura do Paciente		Data (dd/mm/aa)
Nome por escrito do Paciente		

Assinatura de Pessoa que Explicou o Consentimento		Data (dd/mm/aa)

Nome e título da Pessoa que Explicou o Consentimento	

APÊNDICE B - Termo de consentimento livre e esclarecido para indivíduos com diagnóstico de DPOC

Número e iniciais do(a) Paciente : _____ / _____

• **TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO LIVRE E ESCLARECIDO – Grupo pacientes com DPOC**

Estudo : Avaliação genética nos diferentes fenótipos da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Coordenadores: Dra. Cláudia Henrique da Costa e Dr. Thiago Bártholo

Endereço: Disciplina de Pneumologia - Boulevard 28 de setembro, 77 – 2º andar – Rio de Janeiro - RJ

Número do telefone: 28688248

• **INTRODUÇÃO E CONVITE PARA PARTICIPAR:**

O(A) Sr.(a) está sendo convidado(a) para participar de uma pesquisa. Antes de concordar em participar desta pesquisa, é importante que o Sr.(a) leia e entenda a explicação. Esta declaração descreve o objetivo, as consultas e exames, benefícios, riscos, desconfortos e cuidados associados com a pesquisa. Ela descreve também o seu direito de sair da pesquisa a qualquer momento do estudo.

O(A) Sr.(a) está sendo convidado(a) para participar desta pesquisa para avaliar melhor a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC).

A DPOC é uma doença que ocorre em pessoas que fumam. O cigarro causa uma inflamação crônica nos pulmões dos fumantes e, em alguns casos, pode causar lesão responsável pelo aparecimento de sintomas, como falta de ar e tosse.

Nesta pesquisa realizaremos exames de sangue, exame de tomografia computadorizada e exames de avaliação da função pulmonar. Os exames são de simples realização e geram informações extremamente relevantes para o melhor entendimento da doença pulmonar obstrutiva crônica e suas bases genéticas .

O(A) Sr(a) está sendo convidado a participar desta pesquisa porque é acompanhado no ambulatório da Disciplina de Pneumologia devido à DPOC.

OBJETIVO DO ESTUDO

O objetivo do estudo é avaliar as bases genéticas da doença pulmonar obstrutiva crônica e tentar correlacionar com os diferentes subtipos clínicos da doença.

CONSULTAS E EXAMES DO ESTUDO

Haverá um período de seleção e um período de realização dos exames.

Depois que o Sr.(a) concordar em participar e assinar este termo de consentimento livre e esclarecido, serão feitos os seguintes exames:

- Prova de função respiratória (espirometria);
- Medida de volumes pulmonares estáticos com a técnica de pletismografia
- Medida de difusão com monóxido de carbono
- Exames de sangue que irão avaliar hemograma, bioquímica, nível sérico de alfa 1 antitripsina e presença de polimorfismos genéticos.

- Tomografia computadorizada de tórax

Durante o período de seleção de pacientes, o seu médico lhe orientará quanto aos medicamentos que podem ser utilizados.

A Prova de Função Respiratória será feita na Disciplina de Pneumologia, como de costume e faz parte dos exames normalmente solicitados para acompanhamento de pessoas que tem DPOC. Durante o exame, o (a) paciente deverá produzir uma expiração forçada (soprar com força). O exame será repetido após o uso de medicamento broncodilatador (que dilata os brônquios) para avaliar se esse medicamento pode lhe ajudar a respirar.

B- Medida de volumes pulmonares estáticos com a técnica de pletismografia e a medida de difusão com monóxido de carbono será feito na Disciplina de Pneumologia, como de costume e faz parte dos exames normalmente solicitados para acompanhamento de pessoas com DPOC.

C- Os exames de sangue serão coletados no próprio setor de Pneumologia da Policlínica Piquet Carneiro e as análises serão feitas pelo próprio laboratório desta mesma instituição.

D- Tomografia computadorizada de tórax será feito na Disciplina de Radiologia em aparelho de tomografia computadorizada

SUAS RESPONSABILIDADES

- O (A) Sr(a) deverá vir realizar todos os exames programados;
- O (A) Sr(a) deverá informar ao médico do estudo sobre qualquer medicamento que esteja tomando;

RISCOS RELACIONADOS AO ESTUDO

Este estudo requer que seja feita tomografia de tórax. Apesar de ser um exame comum, expõe o Sr (a) a uma dose pequena de radiação, que é cumulativa. A coleta de sangue pode causar uma mancha roxa e dolorosa no local da punção que melhora com o passar de poucos dias.

BENEFÍCIOS

Além de obter maior informação quanto ao seu estado de saúde e de poder contribuir para que os médicos possam estudar e compreender melhor a presença de alguns marcadores da DPOC, o (a) Sr (a) não obterá nenhum benefício direto ao participar desta pesquisa.

RESSARCIMENTO DE DESPESAS

Não haverá nenhum tipo de compensação financeira para os participantes da pesquisa. Por outro lado, os exames serão feitos na Policlínica Piquet Carneiro / Hospital Universitário Pedro Ernesto e não serão cobrados.

CONFIDENCIALIDADE

Seu médico do estudo irá coletar informações a seu respeito. Em todos esses registros um código substituirá seu nome. Todos os dados coletados serão mantidos de forma confidencial e serão usados para a avaliação do estudo. Os dados podem ser submetidos às autoridades de saúde, do Comitê de Ética em Pesquisa ou outras pessoas exigidas por lei podem revisar os dados fornecidos. Estes dados também podem ser usados em publicações médicas sobre os resultados do estudo. Porém, sua identidade não será revelada em qualquer relatório do estudo ou publicações médicas.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA / RETIRADA

Sua participação neste estudo é completamente voluntária. Cabe ao(à) Sr(a) decidir se quer participar ou não. Mesmo se decidir participar, o(a) Sr(a) é livre para desistir do estudo a qualquer momento sem dar um motivo ou explicação. Isto não afetará seu cuidado médico futuro de qualquer forma.

ANUÊNCIA PARA FAZER PARTE DO ESTUDO

Assinando este documento você concorda que:

- Você teve chance para fazer perguntas.
- Você é voluntário(a) para participar deste estudo.

EU CONCORDO LIVREMENTE EM PARTICIPAR DESTE ESTUDO

Assinatura do Paciente		Data (dd/mm/aa)
Nome por escrito do Paciente		

Assinatura de Pessoa que Explicou o Consentimento		Data (dd/mm/aa)

Nome e título da Pessoa que Explicou o Consentimento	

APÊNDICE C - Questionário a ser aplicado aos indivíduos / pacientes do estudo

QUESTIONÁRIO INICIAL DO ESTUDO

Doutorando: Thiago Prudente Bártholo

Orientadora: Cláudia Henrique da Costa

1 -CADASTRO :

a) Paciente :

b) ID do paciente no estudo :

c) Registro PPC :

d) Idade : anos

e) DN .: / /

f) Telefones de contato :

g) Etnia :

2 - DADOS CLÍNICOS -

a) Presença de atopia ? Quais ?

b) Diagnóstico de asma na infância ?

c) Comorbidades : ___ HAS ___ DMII ___ DAC ___ Dislipidemia
Outras : _____

d) Medicações em uso : ___ LABA ___ CI ___ Tiotrópio
Outros : _____

e) Tabagismo : CT :
Fumante atual :
Ex- fumante : Há quanto tempo parou de fumar :

3 – DADOS DA DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA –

a) Tempo de diagnóstico :

b) Número de exacerbações no último ano :

c) Uso de antibiótico / corticóide ?

d) Necessidade de hospitalização pela exacerbação ?

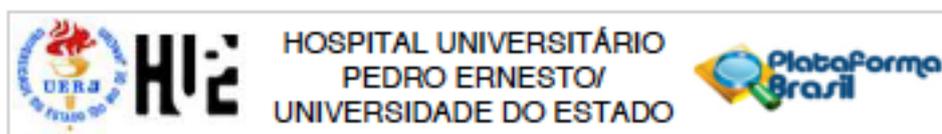
4- EXAME FÍSICO –

Resumo do exame físico :

PA: _____ mmHg FC : _____ bpm SaO₂: _____ %

IMC : _____

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação genética nos diferentes fenótipos da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Pesquisador: Thiago Prudente Bártholo

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);

Versão: 1

CAAE: 39414414.8.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

Patrocinador Principal: Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 923.856

Data da Relatoria: 16/12/2014

Apresentação do Projeto:

Adequada, com boa justificativa. A hipótese deste estudo é que cada fenótipo da DPOC seja determinada por diferente alteração genética.

Objetivo da Pesquisa:

Correlacionar polimorfismos genéticos implicados à DPOC com os diferentes fenótipos clínicos da doença.

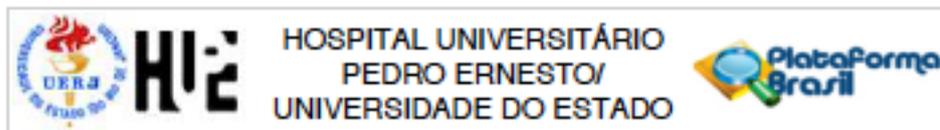
Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Sem benefícios diretos, mas através de maior conhecimento. Riscos apenas relacionados à coleta de sangue.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Todos os documentos de apresentação obrigatória foram enviados a este Comitê, estando dentro das boas práticas e apresentando todos dados necessários para apreciação ética. Foram avaliadas as informações contidas na Plataforma Brasil e as mesmas se encontram dentro das normas vigentes e sem riscos eminentes ao participante de pesquisa envolvido.

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Tênego
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2055-8253 **Fax:** (21)2284-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 823.858

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos de apresentação obrigatória foram encaminhados a este Comitê.

.

Recomendações:

TGLE: apenas incluir o endereço e contato telefônico do CEP.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, o projeto pode ser enquadrado na categoria – APROVADO

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao Pesquisador: 1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que encaminhe relatórios parciais e anuais referentes ao andamento da pesquisa ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

RIO DE JANEIRO, 19 de Dezembro de 2014

Assinado por:
WILLE OIGMAN
(Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Tênego
Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-090
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2065-6253 Fax: (21)2284-0653 E-mail: cep-hupe@uerj.br