

## Genótipos de Haptoglobina e Hipertensão Refratária em Pacientes com Diabetes Melito Tipo 2

*Haptoglobin Genotypes and Refractory Hypertension in Type 2 Diabetes Mellitus Patients*

Vânia Pereira Albuquerque Wobeto<sup>1</sup>, Paula da Cunha Pinho<sup>1,2</sup>, José Roberto M. Souza<sup>2</sup>, Tânia Regina Zaccariotto<sup>1</sup>, Maria de Fátima Zonati<sup>1</sup>

Unicamp - Faculdade de Ciências Médicas - Departamento de Patologia Clínica<sup>1</sup>; Unicamp - Faculdade de Ciências Médicas - Departamento de Medicina Interna (Disciplina de Cardiologia Clínica)<sup>2</sup>, Campinas, SP, Brasil

### Resumo

**Fundamento:** Tem sido sugerido que o polimorfismo da haptoglobina pode influenciar na patogênese das complicações microvasculares e macrovasculares em pacientes diabéticos.

**Objetivo:** O objetivo principal deste estudo transversal foi de realizar uma investigação da existência ou não de uma associação entre os genótipos de haptoglobina e a prevalência de eventos isquêmicos cardiovasculares (angina estável, angina instável e infarto agudo do miocárdio), hipertensão arterial sistêmica, hipertensão refratária, obesidade e dislipidemia em 120 pacientes com diabetes melito tipo 2, seguidos no Hospital Universitário da Unicamp, em Campinas, Estado de São Paulo.

**Métodos:** A genotipagem da haptoglobina foi realizada por reações em cadeia da polimerase alelo-específicas. As frequências dos genótipos de haptoglobina foram comparadas com a presença/ausência de doença cardiovascular, hipertensão arterial sistêmica, hipertensão refratária, obesidade e dislipidemia; medições de pressão arterial sistólica e diastólica; glicemia, colesterol (total, lipoproteínas de alta densidade – HDL e lipoproteínas de baixa densidade – LDL) e triglicerídeos; assim como níveis de creatinina sérica.

**Resultados:** Embora nenhuma associação entre o genótipo de haptoglobina e a presença de doença cardiovascular tenha sido identificada, encontramos um excesso significativo de pacientes com o genótipo Hp2-1 entre as pessoas com hipertensão refratária, que também apresentavam uma maior pressão arterial sistólica e diastólica e níveis de colesterol total e LDL.

**Conclusão:** Nossos resultados sugerem que os pacientes com diabetes melito tipo 2 com o genótipo Hp2-1 podem apresentar uma maior chance de desenvolver hipertensão refratária. Estudos adicionais em populações diabéticas são necessários para confirmar esses achados. (Arq Bras Cardiol 2011; 97(4):338-345)

**Palavras-chave:** Haptoglobinas, hipertensão, infarto do miocárdio, obesidade, dislipidemias, diabetes melito tipo 2

### Abstract

**Background:** It has been suggested that haptoglobin polymorphism may influence the pathogenesis of microvascular and macrovascular complications in diabetic patients.

**Objective:** This cross sectional study was carried out to investigate the existence or not of an association between haptoglobin genotypes and prevalence of ischemic cardiovascular events (stable angina, unstable angina and acute myocardial infarction), systemic arterial hypertension, refractory hypertension, obesity and dyslipidemia in 120 type-2 diabetes mellitus patients followed up at Hospital de Clínicas da UNICAMP in Campinas, São Paulo state, southeastern Brazil.

**Methods:** Haptoglobin genotyping was performed by allele-specific polymerase chain reactions. The frequencies of the haptoglobin genotypes were compared with the presence/absence of cardiovascular disease, systemic arterial hypertension, refractory hypertension, obesity and dyslipidemia; systolic and diastolic blood pressure measurements; plasma levels of glucose, cholesterol (total, high density lipoprotein-HDL and low density lipoprotein-LDL) and triglycerides; and serum creatinine levels.

**Results:** Although no association between haptoglobin genotype and the presence of cardiovascular disease could be identified, we found a significant excess of patients with Hp2-1 genotype among those with refractory hypertension, who also had higher systolic and diastolic blood pressure, and total and LDL cholesterol levels.

**Conclusion:** Our results suggest that type-2 diabetes mellitus patients with the Hp2-1 genotype may have higher chances of developing refractory hypertension. Further studies in other diabetic populations are required to confirm these findings. (Arq Bras Cardiol 2011; 97(4):338-345)

**Keywords:** Haptoglobins; hypertension; myocardial infarction; obesity; dyslipidemias; diabetes mellitus, type 2.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Maria de Fátima Zonati •

Departamento de Patologia Clínica/FCM/Unicamp - C.P. 6111 - Barão Geraldo - 13083-970 – Campinas, SP, Brasil

E-mail: [sonati@fcm.unicamp.br](mailto:sonati@fcm.unicamp.br), [sonati\\_mf@yahoo.com.br](mailto:sonati_mf@yahoo.com.br)

Artigo recebido em 02/11/10; revisado recebido em 10/03/11; aceito em 11/04/11..

## Introdução

O Diabetes Mellito tipo 2 (DM2) é um distúrbio metabólico causado pela resistência a insulina e disfunção das células beta. É associado com um alto risco de desenvolvimento de Doenças Cardiovasculares (DCV)<sup>1,2</sup>. O ambiente diabético resultante da hiperglicemia crônica pode gerar produtos de glicolisação avançada e aumentar o estresse oxidativo, contribuindo diretamente para a progressão de complicações diabéticas e DCV<sup>3</sup>. Além do mais, as lipoproteínas são modificadas oxidativamente em lipoproteínas oxidadas de baixa densidade, estimulando a produção de citocinas inflamatórias responsáveis por algumas das alterações patológicas implicadas no início e desenvolvimento da doença coronariana, o que é causado principalmente pela aterosclerose<sup>4,5</sup>.

Os fatores de risco clássicos de DCV e outros fatores recentemente descobertos, tais como a inflamação e o estresse oxidativo associados ao estado diabético, no entanto, não são suficientes para explicar a ocorrência dessas complicações, sugerindo que fatores de suscetibilidade genética influenciando tanto a homeostase da glicose quanto o desenvolvimento da aterosclerose podem estar envolvidos<sup>6-8</sup>.

A Haptoglobina (Hp) é uma glicoproteína com propriedades antioxidantes e imunomodulatórias. Em seres humanos, o *locus* Hp localiza-se no braço longo do cromossomo 16 (16q22) e é polimórfico, com dois alelos principais (HP1 e HP2), resultando em três genótipos/fenótipos distintos (Hp1-1, Hp2-1 e Hp2-2)<sup>9,10</sup>. As diferentes proteínas Hp possuem propriedades bioquímicas e biofísicas distintas, e esse polimorfismo tem sido associado à suscetibilidade e ao desfecho de diversas doenças humanas<sup>11-13</sup>. A função biológica mais firmemente estabelecida da Hp é a forte ligação à hemoglobina livre (Hb)<sup>10,14</sup>. A depuração do complexo Hp-Hb pode ser mediada pelo receptor scavenger CD 163 presente em monócitos e macrófagos. No entanto, algumas alterações no padrão de glicosilação da Hb que ocorrem em pacientes diabéticos podem interferir na ligação do complexo de macrófagos<sup>15</sup>.

Tem sido sugerido que pacientes diabéticos portadores do genótipo Hp2-2 possuem um maior risco de desenvolver DCV<sup>16-20</sup>. No entanto, isso não parece ser uma observação consensual, parecendo depender da população e de aspectos analisados. Até onde sabemos, existem poucos estudos investigando a influência do polimorfismo da Hp na ocorrência de eventos isquêmicos cardiovasculares, Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), Hipertensão Refratária (HR), obesidade e dislipidemia, e nenhum desses eventos inclui pacientes brasileiros com DM. Esse foi, portanto, o objetivo principal deste estudo.

## Métodos

Depois de obtermos a aprovação do Comitê de Ética Local, foram coletadas amostras de sangue periférico de 120 pacientes com DM2 com pelo menos 10 anos de doença seguidos na Seção de Endocrinologia do Hospital Universitário da Unicamp, em Campinas, que já haviam sido investigados em outro estudo<sup>21</sup>, no Estado de São Paulo. Todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Pacientes grávidas e pacientes com 76 anos de idade ou mais foram excluídos do estudo. O estudo constituiu-se em um corte transversal e foi concebido para investigar uma possível associação entre o tipo de Hp e a prevalência de complicações isquêmicas, como angina estável, angina instável e infarto agudo do miocárdio com elevação do segmento ST e/ou com elevação dos marcadores de necrose miocárdica. O risco cardiovascular foi avaliado no grupo geral, apenas. A presença de doença arterial coronariana foi relacionada a sintomas sugestivos, incluindo claudicação aos esforços, alterações do eletrocardiograma (ECG), testes indutores de isquemia positivos ou estudo angiográfico das coronárias com doença obstrutiva. A ausência dos achados e sintomas descritos acima foi considerada uma ausência de doença cardiovascular clinicamente significativa<sup>22</sup>.

A angina estável foi diagnosticada pela presença de sintomas cardíacos em um padrão que se manteve constante na apresentação, frequência, caráter e duração ao longo do tempo, além de doença coronariana na angiografia coronariana. A angina instável foi diagnosticada pela presença de novos sintomas cardíacos e descobertas do eletrocardiograma positivo (ECG), utilizando-se biomarcadores normais ou alteração no padrão dos sintomas e resultados positivos do ECG com biomarcadores normais da doença coronariana na angiografia coronariana. O infarto agudo do miocárdio foi diagnosticado pelo ECG ou biomarcadores diagnósticos<sup>23</sup>. Os pacientes com diabetes mellito tipo 2 foram divididos em um grupo de 50 pacientes com DCV (42% de homens; 80% de indivíduos brancos; com idades de 42 a 75 anos) e outro grupo de 70 pacientes sem DCV (37,14% de homens; 86,6% de brancos; com idade de 48 a 75 anos). Todos os dados foram obtidos a partir dos prontuários dos pacientes após a avaliação cardiológica por um médico da Seção de Cardiologia Clínica do Hospital Universitário da Unicamp. Os dados demográficos e clínicos desses pacientes e as informações sobre os medicamentos que estavam tomando encontram-se resumidos na tabela 1.

As frequências de genótipos de Hp foram comparadas com a presença/ausência de HAS, HR, obesidade e dislipidemia; medições de pressão arterial sistólica e diastólica (PAS e PAD); glicemia, colesterol (total, HDL e LDL) e triglicerídeos; além da creatinina sérica. Todo o grupo de pacientes com DM2 também foi comparado com um grupo de controle de 142 indivíduos saudáveis (36% de homens; 78% de indivíduos brancos; com idades de 18 a 62 anos) que tinham sido previamente estudados<sup>24</sup>, constituído funcionários e estudantes da universidade, pertencentes à mesma região geográfica dos pacientes, e que aceitaram voluntariamente participar do estudo.

Nossa definição de diabetes mellito foi baseada em características clínicas e glicemia em jejum de  $\geq 126$  mg/dL em duas diferentes ocasiões<sup>25</sup>. A hemoglobina glicosilada (HbA<sub>1c</sub>) foi medida utilizando o sistema de cromatografia líquida de alta performance com a Variante II Bio-Rad (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) (faixa normal de 4,5% - 6,2%). A hipertensão arterial sistêmica foi considerada presente se o PAS era  $> 130$  mm Hg e/ou PAD era  $> 90$  mm Hg, e foram mensuradas durante consulta de Cardiologia do Ambulatório do Hospital das Clínicas da Unicamp. A Monitorização Ambulatorial da Pressão

Tabela 1 – Características demográficas (média ± DP), dados clínicos e padrões de uso de medicamentos entre pacientes diabéticos com e sem DCV

Variáveis	Pacientes com DM2 e DCV (n = 50)	Pacientes com DM2 sem DCV (n = 70)	Valores de p
Idade, anos	66,0 ± 6,61	62,7 ± 7,94	0,0319
Sexo masculino, n (%)	21(44,7)	26(55,3)	0,5910
Branços, n (%)	32(35,6)	58(64,4)	0,3686
Duração da DM (anos)	19,2 ± 6,52	18,1 ± 6,41	0,2568
<b>Tabagismo, n (%)</b>			
Sim	9(18,0)	4(5,7)	0,0328
Não	41(82,0)	66(94,3)	
<b>Histórico de DM2 na família, n (%)</b>			
Sim	4(8,0)	2(2,9)	0,2331
Não	46(92,0)	68(97,2)	
<b>HAS, n (%)</b>			
Sim	49(98,0)	59(84,3)	0,0136
Não	1(2,00)	11(15,7)	
<b>HR, n (%)</b>			
Sim	35(70,0)	51(72,9)	0,7320
Não	15(30,0)	19(27,1)	
<b>Dislipidemia, n (%)</b>			
Sim	42(84,0)	43(61,4)	0,0073
Não	8(16,0)	27(38,6)	
<b>Obesidade, n (%)</b>			
Sim	18(36,0)	23(32,9)	0,7204
Não	32(64,0)	47(67,1)	
<b>RD, n (%)</b>			
Sim	34(68,0)	41(58,6)	0,2929
Não	16(32,0)	29(41,4)	
<b>ND, n (%)</b>			
Sim	32(64,0)	30(42,9)	0,0223
Não	18(36,0)	40(57,1)	
<b>Neuropatia, n (%)</b>			
Sim	27(54,0)	27(38,6)	0,0940
Não	23(46,0)	43(61,4)	
<b>Terapia anti-hipertensiva, n (%)</b>			
Sim	50(100,0)	57(81,4)	0,0013
Não	0(0,00)	13(18,6)	
<b>Terapia anti-hiperlipidêmica, n (%)</b>			
Sim	31(62,0)	32(45,7)	0,0782
Não	19(38,0)	38(52,3)	
<b>Terapia antidiabética oral, n (%)</b>			
Sim	29(58,0)	50(71,4)	0,1262
Não	21(42,0)	20(28,6)	
<b>Aspirina, n (%)</b>			
Sim	47(94,0)	39(55,7)	0,0001
Não	3(6,00)	31(44,3)	

DP - desvio padrão; DM2 – Diabete melito tipo 2; DCV - Doenças cardiovasculares; HAS - Hipertensão arterial sistêmica; HR - Hipertensão Refratária; RD - Retinopatia diabética; ND - Nefropatia diabética.

Arterial (MAPA) não foi realizada. A hipertensão refratária foi considerada presente em pacientes sendo tratados com três diferentes medicamentos anti-hipertensivos (incluindo, idealmente, um diurético), em dosagens eficazes se o PAS > 130 mm Hg e PAD > 80 mmHg<sup>26</sup>. A dislipidemia foi identificada de acordo com as diretrizes do Programa Nacional de Educação sobre o Colesterol (NCEP) III com níveis de colesterol total  $\geq 200$  mg/dL, ou HDL < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres ou triglicérides  $\geq 150$  mg/dL<sup>27</sup>. Os níveis de colesterol e triglicérides foram medidos por ensaio colorimétrico enzimático no sistema modular de Roche-Hitachi (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha). A obesidade foi definida com um índice de massa corporal (IMC)  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup><sup>28</sup>. A Retinopatia Diabética (RD) e a nefropatia diabética (ND) foi investigada anteriormente nesses pacientes<sup>21,29</sup>. A creatinina sérica foi medida pelo método de Jaffé modificado, e os valores de referência para homens e mulheres foi  $\leq 1,20$  mg/dL e  $\leq 0,90$  mg/dL, respectivamente<sup>30</sup>.

As amostras de DNA genômico foram obtidas a partir de leucócitos do sangue periférico (Kit de Purificação Sanguínea Genômica da GFX, GE Healthcare, Reino Unido) e a genotipagem de Hp foi realizada por reação em cadeia da polimerase alelo-específica, de acordo com Yano e cols.<sup>31</sup>.

As análises estatísticas foram realizadas com o Sistema de Análise Estatística 8.02 para Windows, do SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA. O teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e o teste exato de Fischer foram utilizados para determinar se havia uma associação entre as variáveis categóricas. Os resultados do equilíbrio de Hardy-Weinberg também foram obtidos com o teste  $\chi^2$ . Os testes de Mann-Whitney e ANOVA foram utilizados para comparar as variáveis contínuas. A regressão logística univariada não ajustada e a regressão logística multivariada ajustada para o sexo e idade foram utilizadas para testar a associação entre HR e alguns fatores de risco potencial. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos. O erro alfa de 5%, o erro b de 20% e a potência

**Tabela 2 – Genótipo da haptoglobina em um grupo de pacientes brasileiros com diabetes com ou sem complicações macrovasculares e em controles de saúde**

	Hp1-1 (%)	Hp2-1 (%)	Hp2-2 (%)	Valores de p
DM2 com complicações macrovasculares (n = 50)	28,0	46,0	26,0	0,6954
DM2 sem complicações macrovasculares (n = 70)	21,4	48,6	30,0	
Pacientes (n = 120)	24,2	47,5	28,3	0,6740
Controles (n = 142)	25,3	42,3	32,4	

DM2 – Diabetes melito tipo 2.

**Tabela 3 – Presença/ausência de HAS, HR, obesidade e dislipidemia; PAS e PAD (média  $\pm$  DP); e parâmetros bioquímicos (média  $\pm$  DP) dos pacientes com DM2 divididos de acordo com o genótipo de Hp**

Pressão arterial, Dados clínicos e bioquímicos	Hp1-1	Hp2-1	Hp2-2	Valores de p
DM2 com HAS (n = 108)	24,1	49,1	26,8	0,4919
DM2 sem HAS (n = 12)	25,0	33,3	41,7	
DM2 com HR (n = 86)	22,1	55,8	22,1	0,0104
DM2 sem HR (n = 34)	29,4	26,5	44,1	
DM2 com obesidade (n = 41)	24,4	56,1	19,5	0,2617
DM2 com obesidade (n = 79)	24,1	43,0	32,9	
DM2 com dislipidemia (n = 85)	24,7	52,9	22,3	0,0630
DM2 sem dislipidemia (n = 35)	22,9	34,3	42,8	
PAS (mmHg)	137,7 $\pm$ 18,9	147,5 $\pm$ 18,1	137,7 $\pm$ 20,1	0,0113
PAD (mmHg)	81,9 $\pm$ 9,5	89,6 $\pm$ 16,2	81,8 $\pm$ 11,4	0,0064
Glicemia (mg/dl)	156,1 $\pm$ 70,9	147,5 $\pm$ 18,1	146,4 $\pm$ 81,5	0,4180
Colesterol total (mg/dl)	166,2 $\pm$ 34,4	195,8 $\pm$ 46,8	188,3 $\pm$ 41,2	0,0006
HDL total (mg/dl)	44,7 $\pm$ 12,2	50,8 $\pm$ 16,2	50,1 $\pm$ 14,3	0,3303
LDL total (mg/dl)	88,6 $\pm$ 27,0	115,7 $\pm$ 42,9	106,4 $\pm$ 31,8	0,0065
Triglicérides	156,1 $\pm$ 77,0	190,3 $\pm$ 46,8	156,4 $\pm$ 72,8	0,7938
Creatinina sérica (mg/dl)	1,16 $\pm$ 0,81	1,32 $\pm$ 1,10	1,02 $\pm$ 0,52	0,2114

DM2 – Diabetes melito tipo 2; HAS - Hipertensão arterial sistêmica; HR - Hipertensão refratária; PAS - Pressão arterial sistólica; PAD - pressão arterial diastólica.

**Tabela 4 – Análise de regressão logística univariada não ajustada e análise de regressão logística multivariada ajustada para o sexo e idade da associação entre a HR e as variáveis independentes em pacientes com DM2**

Regressão univariada	Razão de chances	Valores de p
Idade (anos)	1,037	0,1781
Sexo (mulheres versus homens)	2,211	0,0543
Grupo étnico (brancos versus negros)	1,083	0,8906
Obesidade (sim versus não)	1,646	0,2663
Colesterol total (mg/dl)	1,002	0,7114
LDL (mg/dL)	1,000	0,9424
Triglicerídeos (mg/dL)	1,003	0,1838
Creatinina sérica (mg/dl)	1,416	0,2840
Complicações vasculares (presença versus ausência)	0,869	0,7321
Genótipo de Hp (Hp1-1 versus Hp2-2)	1,500	0,4368
Genótipo de Hp (Hp2-1 versus Hp2-2)	4,210	0,0041
Regressão multivariada	Razão de chances	Valores de p
Idade (anos)	1,040	0,1693
Sexo (mulheres versus homens)	2,129	0,0839
Genótipo de Hp (Hp1-1 versus Hp2-2)	1,601	0,3860
Genótipo de Hp (Hp2-1 versus Hp2-2)	4,271	0,0046

*Não obstante, em razão do tamanho da amostra, nossos dados corroboram a hipótese de associação entre os genótipos Hp e complicações cardiovasculares apenas para os pacientes analisados neste estudo, a existência de associação entre o genótipo Hp2-1 e HR pode ser estendida para a população geral de diabéticos com DMT2 (potência de teste superior a 80%).*

de teste igual ou superior a 80% para todas as análises estatísticas constituíram o corte para o nível de significância.

## Resultados

Conforme pode ser identificado na tabela 1, há uma diferença significativa entre os pacientes diabéticos com e sem DCV com relação a idade (a idade média do último grupo é mais baixa) e hábito de fumar (uma porcentagem mais elevada no primeiro grupo), assim como a presença de HAS, dislipidemia e ND e, como esperado, o uso de medicamentos anti-hipertensivos e aspirina.

Uma comparação das frequências dos genótipos de Hp nos dois grupos de pacientes e no grupo total de pacientes e o grupo controle é retratada na tabela 2. Os dois grupos de pacientes estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p = 0,5962$ ) e uma associação significativa não pôde ser constatada.

Quando, no entanto, comparamos a distribuição de frequência do genótipo de Hp com a presença/ausência de HAS, H, obesidade e dislipidemia e PAS, PAD e parâmetros laboratoriais, encontramos uma prevalência de pacientes com Hp2-1 e HR ( $p = 0,0104$ ), assim como diferenças significativas

na PAS, PAD e colesterol total e de lipoproteína de baixa densidade (LDL) (valores de p de 0,0113, 0,004, 0,0006 e 0,0065, respectivamente) (Tabela 3).

A análise de regressão logística univariada foi utilizada para testar a associação entre a HR e a idade, sexo, grupo étnico, obesidade, altos níveis de colesterol total e LDL, triglicerídeos e creatinina. A análise mostrou que a prevalência de HR em pacientes com DM2 com o genótipo Hp2-1 difere daquela em pacientes com DM2 com genótipo Hp2-2 (IC de 95%, 1,576 – 11,246;  $p = 0,0041$ ; RC de 4.210). Essa diferença permaneceu estatisticamente significativa na análise de regressão *stepwise* múltipla logística (IC de 95%, 1,542 – 11,021;  $p = 0,0047$ ; RC de 4,123). Esses dados foram mostrados na tabela 4.

Não obstante, em razão do tamanho da amostra, nossos dados corroboram a hipótese de associação entre os genótipos Hp e complicações cardiovasculares apenas para os pacientes analisados neste estudo, a existência de associação entre o genótipo Hp2-1 e HR pode ser estendida para a população geral de diabéticos com DMT2 (potência de teste superior a 80%).

## Discussão

O estado diabético contribui para o início e progressão das complicações vasculares, o que permanece uma das principais causas de mortalidade em pacientes diabéticos<sup>32</sup>. Salles e cols.<sup>33</sup> investigaram as taxas de mortalidade e os preditores de mortalidade em pacientes brasileiros com T2DM e encontraram evidência de que esses pacientes apresentavam uma mortalidade três vezes maior se comparados à população em geral. De acordo com os autores, esse cenário é parcialmente explicado pelo aumento da mortalidade cardiovascular. Eles também demonstraram que algumas variáveis, tais como a idade avançada, doença vascular preexistente, o aumento da proteinúria de 24 horas e o colesterol HDL diminuído são consideradas preditores independentes dessa mortalidade aumentada<sup>33</sup>.

No presente estudo, descobrimos que a presença de DCV em pacientes brasileiros com DM2 estava associada com idade avançada, tabagismo, HAS, dislipidemia e desenvolvimento da ND. Não foram encontradas diferenças significativas para o sexo, duração do diabetes, histórico familiar de DM2, HR, obesidade ou a presença de RD.

A haptoglobina atua como um antioxidante, protegendo contra a ação dos radicais livres, e seu polimorfismo funcional alélico se correlaciona com as diferenças na proteção contra doença vascular<sup>11</sup>. Diversos estudos postularam que algumas características do estado diabético, tais como a alta glicolização da molécula da Hb e a redução na proporção de monócitos que expressam o receptor CD163, poderiam prejudicar a internalização do complexo Hb-Hp, especialmente em pacientes diabéticos com o fenótipo Hp2-2. Além disso, a oxidação do LDL por Hb glicosilada não demonstra ser completamente bloqueado por sua ligação à Hp<sup>15</sup>.

Tem sido sugerido que o fenótipo de Hp é um fator de risco independente para DCV em pacientes com diabetes melito e que a proteína Hp2-2 pode conferir menor

proteção contra complicações vasculares do que os outros dois tipos de Hp<sup>17,19</sup>. Levy e cols.<sup>17</sup>, em uma análise de caso-controle combinada do Strong Heart Study, que investigou um grupo de indígenas americanos, observaram que os indivíduos diabéticos com o fenótipo Hp2-2 apresentavam um risco cinco vezes maior de desenvolver DCV do que aqueles que apresentavam o fenótipo Hp1-1. Constatamos uma associação do risco intermediário de DCV com o fenótipo Hp 2-1. No entanto, nenhuma associação foi observada em indivíduos sem diabetes melito<sup>17</sup>.

Além disso, Suleiman e cols.<sup>19</sup> demonstraram que o fenótipo de Hp é um importante preditor de mortalidade em 30 dias e insuficiência cardíaca entre indivíduos com diabetes e infarto agudo do miocárdio. Eles descobriram que pacientes diabéticos com o fenótipo HP1-1 apresentavam infarto de menor tamanho, enquanto os pacientes com os fenótipos Hp2-1 e Hp2-2 apresentavam infartos maiores e, consequentemente, uma taxa mais elevada de insuficiência cardíaca e mortalidade<sup>19</sup>.

Não encontramos nenhuma associação significativa entre o genótipo Hp e a presença de DCV nos pacientes diabéticos da população estudada. No entanto, quando comparamos a frequência dos diferentes genótipos com outros parâmetros clínicos e laboratoriais, encontramos uma prevalência significativamente maior de pacientes com Hp2-1 entre aqueles com HR, além de maiores PAS, PAD e níveis de colesterol total e LDL no plasma.

A patogênese da hipertensão humana é considerada complexa e multifatorial e é o resultado do efeito combinado dos fatores de risco genéticos e ambientais predisponentes<sup>34</sup>. Surya Prabha e cols.<sup>35</sup> sugeriram que os pacientes com o fenótipo Hp 2-2 apresentavam um maior risco de hipertensão essencial em associação com a doença isquêmica do coração quando comparados com indivíduos normais. Observando que houve uma diminuição significativa nos níveis séricos médios de Hp nos indivíduos com hipertensão em comparação com aqueles sem hipertensão, os autores sugeriram a possibilidade de hemólise intravascular devido a danos vasculares em pacientes com HAS, e que isso poderia levar a complicações adicionais<sup>35</sup>. Delanghe e cols.<sup>36</sup> também observaram que os pacientes hipertensos com o fenótipo Hp2-2 precisavam de combinações mais complexas de medicamentos anti-hipertensivos para reduzir a sua pressão arterial<sup>36</sup>. No entanto, Depypere e cols.<sup>37</sup>, estudando pacientes com pré-eclâmpsia, concluíram que o fenótipo Hp 1-1 estava associado com hipertensões mais graves. Até onde sabemos, apenas um estudo anterior na literatura investigou a existência de uma associação entre HR e o polimorfismo da Hp. Nesse estudo, Delanghe e cols.<sup>36</sup> constataram que os pacientes hipertensos com fenótipo Hp 2-2 apresentavam um maior risco de desenvolvimento de HR do que aqueles com fenótipo Hp2-1 e Hp1-1. Todos esses estudos, no entanto, foram realizados com pacientes não diabéticos.

Estudos anteriores descobriram uma associação entre o fenótipo Hp2-1 e a DCV. Fröhlander e Johnson<sup>38</sup> analisaram pacientes com infarto agudo do miocárdio e encontraram níveis mais elevados de colesterol sérico em pacientes com o fenótipo Hp2-1. Hochberg e cols.<sup>39</sup> observaram que os pacientes diabéticos com o fenótipo Hp 2-1 apresentavam mais artérias coronárias colaterais que os pacientes diabéticos com o fenótipo Hp2-2 no quadro da doença arterial coronariana. Densem e cols.<sup>40</sup>, investigando a associação entre o fenótipo de Hp e o desenvolvimento de vasculopatia do transplante cardíaco, observaram que os receptores com o fenótipo Hp2-1 apresentavam uma maior probabilidade de desenvolver doença angiográfica. Os autores sugeriram que as funções intermediárias da Hp em receptores Hp2-1 poderiam colocar esses pacientes em desvantagem por causa da eficácia intermediária da proteína Hp2-1, que parece ser menos efetiva do que a proteína Hp nos homocigotos Hp1-1 e Hp2-2<sup>40</sup>. Nossas constatações corroboram a hipótese postulando a predisposição ao desenvolvimento da HR.

Embora este estudo não tenha tido um grupo de controle bem combinado para a idade, nossas descobertas constituem uma significativa contribuição para a compreensão do papel do genótipo Hp no DM, pois evidenciam que os pacientes com DM2 com o genótipo Hp2-1 estudados apresentaram uma alta prevalência de HR e elevados níveis de colesterol. A frequência desse genótipo nos pacientes com HR foi de 55,8%, ao passo que, em pacientes sem HR, foi de 26,5%. Neste último grupo, a frequência do genótipo Hp2-2 foi de 44,1%, contra 22,1% no primeiro. São necessárias mais pesquisas para esclarecer a relação entre as propriedades estruturais e funcionais da Hp e uma predisposição para desenvolver HR e níveis de colesterol elevados, assim como o papel dessa proteína na hipertensão e suas complicações.

## Conclusões

Em conclusão, embora o genótipo Hp não possa ser usado como um marcador genético para a predisposição à DCV nessa população de pacientes brasileiros, nossos resultados sugerem que os pacientes com DM2 com o genótipo Hp2-1 apresentam uma maior suscetibilidade a HR.

### Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

### Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pela FAPESP e CNPq.

### Vinculação Acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

## Referências

1. Adeghate E, Schattner P, Dunn E. An update on the etiology and epidemiology of diabetes mellitus. *Ann NY Acad Sci.* 2006;1084:1-29.
2. Siqueira AF, Almeida-Pititto B, Ferreira SR. Cardiovascular disease in diabetes mellitus: classical and non-classical risk factors. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2007;51(2):257-67.
3. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care.* 2006;19:257-67.
4. Levy AP. Genetics of diabetic cardiovascular disease: identification of a major susceptibility gene. *Acta Diabetol.* 2003;40(Suppl 2):S330-3.
5. Shimada K, Mokuno H, Matsunaga E, Miyazaki T, Sumiyoshi K, Kume A, et al. Predictive value of circulating oxidized LDL for cardiac events in type 2 diabetic patients with coronary artery disease. *Diabetes Care.* 2004;27(3):843-4.
6. Eckel RH, Wassef M, Chait A, Sobel B, Barrett E, King G, et al. Prevention Conference VI: Diabetes and Cardiovascular Disease: Writing Group II: pathogenesis of atherosclerosis in diabetes. *Circulation.* 2002;105(18):e138-43.
7. Freedman BI, Bowden DW, Sale MM, Langefeld CD, Rich SS. Genetic susceptibility contributes to renal and cardiovascular complications of type 2 diabetes mellitus. *Hypertension.* 2006;18(1):8-13.
8. Fumeron F, Reis AF, Velho G. Genetics of macrovascular complications in diabetes. *Curr Diab Rep.* 2006;6(2):62-166.
9. Bowman BH, Kurosky A. Haptoglobin: the evolutionary product of duplication, unequal crossing over, and point mutation. *Adv Hum Genet.* 1982;12:189-261.
10. Langlois MR, Delanghe JR. Biological and clinical significance of polymorphism in humans. *Clin Chem.* 1996;42(10):1589-600.
11. Sadrzadeh SM, Bozorgmehr J. Haptoglobin phenotypes in health and disorders. *Am J Clin Pathol.* 2004;121(Suppl):S97-104.
12. Carter K, Worwood M. Haptoglobin: a review of the major allele frequencies worldwide and their association with diseases. *Int J Lab Hematol.* 2007;29(2):92-110.
13. Wobeto VPA, Zaccariotto TR, Sonati MF. Polymorphism of human haptoglobin and its clinical importance. *Genet Mol Biol.* 2008;31(3):602-20.
14. Melamed-Frank M, Lache O, Enav BI, Szafrank T, Levy NS, Rickilis RM, et al. Structure-function analysis of the antioxidant properties of haptoglobin. *Blood.* 2001;98(13):3693-8.
15. Levy AP, Purushothaman KR, Levy NS, Purushothaman M, Strauss M, Asleh R, et al. Downregulation of the hemoglobin scavenger receptor in individuals with diabetes and the Hp2-2 genotype: implications for the response to intraplaque hemorrhage and plaque vulnerability. *Circ Res.* 2007;101(1):106-10.
16. Levy AP, Roguin A, Hochberg I, Herer P, Marsh S, Nakhoul FM, et al. Haptoglobin phenotype and vascular complications in patients with diabetes. *N Engl J Med.* 2000;343(13):969-70.
17. Levy AP, Hochberg I, Jablonski K, Resnick HE, Lee ET, Best L, et al. Haptoglobin phenotype is an independent risk factor for cardiovascular disease in individuals with diabetes: the Strong Heart Study. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40(11):1984-90.
18. Roguin A, Koch W, Kastrati A, Aronson D, Schomig A, Levy AP. Haptoglobin genotype is predictive of major adverse cardiac events in the 1-year period after percutaneous transluminal coronary angioplasty in individuals with diabetes. *Diabetes Care.* 2003;26(9):2628-31.
19. Suleiman M, Aronson D, Asleh R, Kapeliovich MR, Roguin A, Meisler MR, et al. Haptoglobin polymorphism predicts 30-day mortality and heart failure in patients with diabetes and acute myocardial infarction. *Diabetes.* 2005;54(9):2802-6.
20. Costacou T, Ferrel RE, Orchard TJ. Haptoglobin genotype: a determinant of cardiovascular complication risk in type 1 diabetes. *Diabetes.* 2008;57(6):1702-6.
21. Wobeto VPA, Rosim ET, Melo MB, Calliari LEP, Sonati MF. Haptoglobin polymorphism and diabetic retinopathy in Brazilian patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007;77(3):385-8.
22. Rajagopalan N, Miller TD, Hodge DO, Frye RL, Gibbons RJ. Identifying high-risk asymptomatic diabetic patients who are candidates for screening stress single-photon emission computed tomography imaging. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(1):43-9.
23. Luepker RV, Apple FS, Christenson RH, Crow RS, Fortmann SP, Goff D, et al. Case definitions for acute coronary heart disease in epidemiology and clinical research studies: a statement from the AHA Council on Epidemiology and Prevention; AHA Statistics Committee; World Heart Federation Council on Epidemiology and Prevention; the European Society of Cardiology Working Group on Epidemiology and Prevention; Centers for Disease Control and Prevention; and the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Circulation.* 2003;108(20):2543-9.
24. Zaccariotto TR, Rosim ET, Melo D, Garcia PM, Munhoz RR, Aoki FH, et al. Haptoglobin polymorphism in a HIV-1 seropositive Brazilian population. *J Clin Pathol.* 2006; 59(5):550-3.
25. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2004;27(Suppl. 1):S5-10.
26. Lecchini R, Sabha M, Coeli FB, Fávero FF, Yugar-Toledo J, Izidoro-Toledo TC, et al. T allele of 344C/T polymorphism in aldosterone synthase gene is not associated with resistant hypertension. *Hypertens Res.* 2009;32(2):159-62.
27. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults: Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001;285(19):2486-97.
28. Richard JL, Sultan A, Daures JP, Vannereau D, Parer-Richard C. Diagnosis of diabetes mellitus and intermediate glucose abnormalities in obese patients based on ADA (1997) and WHO (1985) criteria. *Diabet Med.* 2002;19(4):292-9.
29. Wobeto VPA, Garcia PM, Zaccariotto TR, Sonati MF. Haptoglobin polymorphism and diabetic nephropathy in Brazilian diabetic patients. *Ann Hum Biol.* 2009;36(4):637-41.
30. Junge W, Wilke B, Halabi A, Klein G. Determination of reference intervals for serum creatinine, creatinine excretion and creatinine clearance with an enzymatic and a modified Jaffé method. *Clin Chim Acta.* 2004;344(1-2):137-48.
31. Yano A, Yamamoto Y, Miyaishi S, Ishizu H. Haptoglobin genotyping by allele-specific polymerase chain reaction amplification. *Acta Med Okayama.* 1998;52(4):173-81.
32. Moreira LB, Fucks SC, Wiehe M, Neyeloff JL, Picon RV, Moreira MB, et al. Cardiovascular risk attributable to diabetes in southern Brazil: a population-based cohort study. *Diabetes Care.* 2009;32(5):854-6.
33. Salles GF, Block KV, Cardoso CR. Mortality and predictors of mortality in a cohort of Brazilian type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2007;27(6):1299-305.
34. Dominiczak AF, Negrin DC, Clark JS, Brosnan MJ, McBride MW, Alexander MY. Genes and hypertension: from gene mapping in experimental models to vascular gene transfer strategies. *Hypertension.* 2000;35(1 Pt 2):164-72.
35. Surya Prabha P, Padma T, Ramaswamy M. Haptoglobin patterns in essential hypertension and associated conditions-increased risk for Hp2-2. *Hum Hered.* 1987;37(6):345-8.
36. Delanghe JR, Duprez DA, De Buyzere ML, Bergeat BM, Claeys LR, Leroux-Roels CG, et al. Refractory hypertension is associated with haptoglobin 2-2 phenotype. *J Cardiovasc Risk.* 1995;2(2):131-6.

37. Depypere HT, Langlois MR, Delanghe JR, Temmerman M, Dhont M. Haptoglobin polymorphism in patient with preeclampsia. *Clin Chem Lab Med*. 2006;44(8):924-8.
38. Fröhlander N, Johnson O. Haptoglobin groups in acute myocardial infarction. *Hum Hered*. 1989;39(6):345-50.
39. Hochberg I, Roguin A, Nikolsky E, Chandrasekhar PV, Cohen S, Levy AP. Haptoglobin phenotype and coronary artery collaterals in diabetic patients. *Atherosclerosis*. 2002;161(2):441-6.
40. Densem CC, Wassel J, Cooper A, Yonan N, Brooks NH, Keevil B. Haptoglobin phenotype correlates with development of cardiac transplant vasculopathy. *J Heart Lung Transplant*. 2004;23(1):43-9.