

1. INTRODUÇÃO

1.1 Considerações gerais

Acidente vascular encefálico (AVE) refere-se ao grupo de doenças cerebrovasculares de início abrupto, que resultam em sequelas neurológicas.⁽¹⁾ É a segunda maior causa de morte e a principal causa de incapacidade no mundo.⁽²⁾ De acordo com a etiologia o AVE pode ser classificado em hemorrágico—(AVEh) e isquêmico (AVEi).^(1,3,4) O AVEh ocorre na ruptura de aneurisma intracraniano (AI), ou associado a outras malformações vasculares, com extravasamento do sangue para o tecido adjacente, provocando lesão traumática ao tecido e edema ao redor da hemorragia, com aumento da pressão intracraniana, e progressão do dano tecidual.^(1,4) Dentre todos os tipos de acidente vascular encefálico (AVE), a hemorragia subaracnóidea (HSA), devido a ruptura de um AI é o mais perigoso.⁽⁵⁾



Figura 1. Imagem de angioressonância magnética mostrando presença de aneurismas nas artérias carótidas interna direita e esquerda, na emergência das artérias oftálmicas.

O cérebro recebe 20% do volume de sangue circulante por meio de quatro vasos cervicais (artérias carótidas e vertebrais). Há particularidades anatômicas como a presença de curvas e bifurcações, o que cria fluxo sanguíneo peculiar. A maioria dos aneurismas está localizada nas bifurcações das artérias do Polígono de Willis.^(6,7) Aneurisma cerebral é uma doença vascular na qual um vaso sanguíneo cerebral apresenta uma dilatação anormal, geralmente sacular, e ocorre principalmente na bifurcação dos vasos e artérias do polígono de Willis, na base do crânio.^(4,8-10) Sua etiologia é desconhecida, mas parecem ser causados pela combinação de defeitos congênitos na parede vascular e alterações degenerativas.⁽¹⁰⁻¹³⁾ Assim, tanto fatores congênitos quanto adquiridos são importantes no desenvolvimento dos aneurismas.^(9,14,15) São comuns nos locais de bifurcação dos vasos, principalmente nas ramificações arteriais do Polígono de Willis, onde o fluxo sanguíneo é turbulento e as forças na parede arterial são grandes.^(11,12,16)

Aproximadamente 90% dos aneurismas são saculares, sendo estes os principais responsáveis pela morbidade e mortalidade quando sofrem ruptura, levando à HSA.⁽¹⁷⁻¹⁹⁾ Crawford⁽²⁰⁾ estudou a patologia dos aneurismas intracranianos rotos e não rotos, verificando que as artérias cerebrais apresentam mal desenvolvimento da camada média e da lâmina elástica externa e que essas falhas ocorrem com maior frequência na média nos locais de bifurcação arterial, levando ao enfraquecimento das camadas da parede do vaso, o que propicia a formação do aneurisma nessas regiões, com grande possibilidade de ruptura.^(7,10,12,21)

Além disso, os AIs saculares também podem ser desenvolvidos a partir de lesões vasculares, provavelmente formadas após a lesão local da parede do vaso, que progressivamente desenvolve uma dilatação da mesma,⁽⁷⁾ a partir de alterações na

lâmina elástica interna e de defeitos na túnica muscular, tornando as artérias menos resistentes à mudanças na pressão no interior do lúmen.^(19,22) O progresso no entendimento da patogênese dos AIs é dificultado devido a sua natureza multifatorial.⁽²³⁾

Após o desenvolvimento do aneurisma, este pode permanecer inalterado e estável durante anos; é capaz de crescer até ser considerado grande ou gigante associado ou não a um elevado risco de ruptura ou sintomas de compressão; ou sofre ruptura.^(6,7) Após sua detecção, existem diversas formas de tratamento. A melhor estratégia terapêutica deve levar em consideração inúmeros fatores, como aqueles inerentes ao próprio aneurisma (tamanho, localização, morfologia, presença de trombo) e ao paciente (idade, história pregressa, caso de AI ou HSA na família). Cerca de 50% a 80% dos AIs não rompem⁽²⁴⁾ e a identificação daqueles que podem romper seria uma maneira de tratamento que evitaria a mortalidade e a morbidade do paciente.⁽²³⁾

Afetando 2-4% da população, sua incidência mostra ampla variação em diferentes partes do mundo,⁽²⁵⁻²⁷⁾ o que sugere a possível existência de diferenças raciais na incidência dos aneurismas.⁽¹²⁾ Os aneurismas intracranianos saculares são clinicamente silenciosos e podem apresentar HSA com significante mortalidade e morbidade.^(6,7,28) A prevalência estimada de AI na população adulta é de 1-5%,^(6,10) sendo que 50-80% deles não sofrem ruptura⁽²⁴⁾ e 1-2,3% são assintomáticos.⁽²⁹⁾

Apesar dos recentes avanços no diagnóstico, no atendimento médico e cirúrgico, o prognóstico de aneurisma permanece escasso.⁽³⁰⁻³⁷⁾ Após ruptura, tem elevado impacto econômico, pois ocorre geralmente na faixa etária de 40 - 60 anos.⁽³⁸⁾ A melhor maneira de reduzir a morbidade e mortalidade devido a HAS é a prevenção de sua ocorrência por meio da identificação dos seus fatores de risco. Os mecanismos que

levam à ruptura do aneurisma não são totalmente compreendidos. Estudos são direcionados para a possível previsão de surgimento de aneurisma e, desta maneira, selecionar aqueles com risco de ruptura para um tratamento direcionado.⁽³⁹⁾

O prognóstico de HSA devido à ruptura de AI é preocupante e, apesar dos avanços no diagnóstico e tratamento cirúrgico, a mortalidade e morbidade continuam significantes.^(12,40) Atualmente, os métodos mais eficientes de diagnóstico e de avaliação do seu risco de ruptura são os exames de imagem, porém sem grandes repercussões sobre a etiologia de sua formação e ruptura. O método mais efetivo para reduzir a morbi-mortalidade por aneurisma é realizar seu diagnóstico antes da ruptura, ou prevenir sua formação.⁽⁴¹⁻⁴³⁾

Tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM) são duas técnicas de imagem utilizadas na determinação do tipo de AVE assim como da região cerebral envolvida, melhorando a rapidez do diagnóstico.⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾ Entretanto, a angiografia digital por subtração (DAS) é considerada o método mais eficiente de diagnóstico (padrão ouro). Além de DAS (um método invasivo), a angioressonância magnética e a angiotomografia são métodos diagnósticos não invasivos e usados como exames adjuvantes no *screening* de AI.

O tratamento pode ser efetuado de forma cirúrgica com clipagem do aneurisma, ou endovascular pela colocação de *coil* no aneurisma (através de DAS), com consequente processo trombótico. Mesmo com os avanços da cirurgia endovascular no tratamento dos aneurismas intracranianos, a clipagem cirúrgica do colo aneurismático continua sendo o método padrão, uma vez que o risco de uma nova ruptura é extremamente baixo neste tipo de tratamento.^(10,19,47-50)

Assim, a formação do aneurisma é um processo complexo que envolve fatores biológicos, físicos e ambientais associados à predisposição genética e que interagem entre si na produção inicial da lesão, levando à remodelação vascular.^(7,51,52)

Até o momento não existem métodos que identifiquem pacientes com grande risco de ruptura. Diversos genes candidatos à predisposição genética para formação de AI foram relatados.⁽⁵³⁻⁵⁶⁾ Assim, uma abordagem efetiva com o objetivo de diminuir tanto a morbidade quanto a mortalidade em casos de HSA seria intervir antes da ruptura.

1.2 Interação genética e aneurisma intracraniano familiar

Estudos populacionais do tipo caso-controle sugerem que fatores genéticos e ambientais desempenham papel importante na formação e ruptura dos aneurismas intracranianos,^(57,58) como a ocorrência familiar e sua associação com outras doenças do tecido conectivo.^(12,19,59,60-64) Diversos estudos revelaram genes candidatos em diferentes populações.⁽⁶⁵⁻⁶⁸⁾ Há um risco de três a cinco vezes maior de desenvolver a doença em familiares em primeiro grau de indivíduos afetados, em comparação à população geral.⁽⁶⁹⁻⁷¹⁾ Neste caso de aneurisma familiar, revela-se a importância de diagnóstico precoce da doença, principalmente através de exames de imagem como angioressonância magnética. Alguns trabalhos sobre a regulação hemodinâmica dos vasos sanguíneos cerebrais levou a identificação de variantes genéticas relacionadas com a patogênese de doenças que envolvem a vasculatura cerebral.^(54,56,72-74)

Um dos primeiros relatos sobre AI foi descrito, em 1960, por Ullrich.⁽⁷⁵⁾ Trata-se de estudo em gêmeos idênticos de quatro famílias, cada qual com pelo menos dois

membros afetados pela doença. Posteriormente, vários autores também relataram casos familiares de AIs.⁽⁷⁶⁻⁷⁹⁾ Destaca-se o estudo de Fox & Ko⁽⁸⁰⁾ em família norte-americana com 13 irmãos, sendo que seis deles tinham AI. Por outro lado, populações européia⁽⁸¹⁾ e asiática⁽⁸²⁾ mostram frequência de 10% para AI familiar entre membros da família que apresentam a doença. Sabe-se que, em algumas populações, os parentes em primeiro grau de pacientes com HSA devido à ruptura de um aneurisma apresentam um risco quatro vezes maior de desenvolver AI,^(83,84) sendo este risco seis vezes maior em gêmeos que em relação à população geral.^(57,81,85)

Esses resultados não foram reproduzidos em outras populações e, assim, não podem ser aplicados universalmente.⁽⁶⁴⁾ O risco de AVEh entre familiares em primeiro grau de pacientes que sofreram HSA devido a ruptura de AI suscita a investigação desta doença nos familiares. Dois estudos mostraram que 10% dos familiares assintomáticos de pacientes que sofreram HSA apresentavam AIs.^(81,82)

Vários estudos confirmam a hereditariedade para AI. Foroud et al.⁽⁸⁶⁾ demonstraram que 9% a 14% dos indivíduos com HSA apresentam história familiar de parentes em primeiro grau também afetados, quando comparado àqueles sem a doença. Além disso, indivíduos com pelo menos dois parentes acometidos por AI apresentam risco sete vezes aumentado de desenvolver a doença,^(37,57,60,62,87-92) mostrando um histórico familiar destas doenças. Alguns estudos relatam riscos de três a sete vezes maiores em familiares de primeiro grau de pacientes com HSA do que na população geral.^(23,87,93,94) A taxa de ruptura de AI é maior em pacientes com história familiar da doença.⁽⁹⁵⁾

Schievink et al.,⁽⁶⁰⁾ em extenso artigo de revisão, relatam que irmãos são relativamente mais afetados quando comparados a outros membros da família, com destaque para familiares de pacientes do sexo masculino em relação ao feminino.

Na população geral, a prevalência de AI é de, aproximadamente, 2,3-4% quando há um indivíduo em primeiro grau afetado e 8% quando existem mais de um familiar afetado.⁽⁹⁶⁾ De acordo com alguns estudos epidemiológicos, a frequência de AI familiar é entre 6,6% e 20% de todas as HSA resultantes de AIs rotos.^(81,93,97) Casos de AI familiar são mais propensos à ruptura em idade mais precoce do que os aneurismas esporádicos e, assim, a ocorrência de HSA em AI familiar é maior.⁽⁹⁸⁾ Assim, a predisposição familiar para AI é um fator de risco para a doença.^(43,57,99,100)

Algumas diferenças nas características do AI existem entre pacientes com histórico familiar de aneurisma e aqueles sem histórico familiar da doença.⁽¹⁰¹⁾ Pacientes com histórico familiar de aneurisma são mais propensos a desenvolverem aneurismas múltiplos em comparação com os casos esporádicos da doença e, nesse caso, os AIs familiares são maiores no momento da ruptura e rompem em idade mais precoce.^(23,43,54,102)

A descoberta de um marcador genético associado ao maior risco de formação e ruptura de AI possibilitaria o diagnóstico mais rápido e o tratamento mais eficaz.⁽⁵³⁾ Entretanto, pouco se sabe sobre a genética dessa complexa doença, que envolve múltiplos loci e a interação de múltiplos genes.^(23,53,103) Desta maneira, um melhor entendimento da genética molecular dos AIs é fundamental no desenvolvimento de marcadores diagnósticos da doença para uso clínico.⁽¹⁰⁴⁾

Esses estudos indicam a complexidade genética relacionada a AI. A propósito, tem-se sugerido a participação de vários genes na patogênese da doença, embora com

resultados controversos.^(61,105) Diferentes fatores genéticos específicos que afetam tanto a arquitetura quanto a função de todas as camadas da parede arterial são importantes na formação, crescimento e ruptura de AIs.⁽⁵⁸⁾ Assim, um melhor entendimento da influência genética nas características desta doença poderia melhorar as abordagens terapêuticas usadas até o presente momento.

Nesse contexto, a identificação de alterações genéticas pode esclarecer mecanismos relacionados à sua fisiopatologia e contribuir para o diagnóstico precoce da doença com novas intervenções terapêuticas, evitando o crescimento ou ruptura dos aneurismas. Incluem-se os genes associados ao endotélio vascular, como aquele da enzima óxido nítrico sintase (*eNOS*) com ação vasodilatadora, que inibe a produção do fator endotelial, sendo determinante na formação de trombos. O gene para elastina (*ELN*), outro gene candidato a fator de risco para AI, produz 90% das fibras elásticas, cujas alterações podem causar perda do suporte estrutural das artérias. Inclui-se, ainda, o gene relacionado com formação da parede do vaso arterial responsável pelo colágeno tipo 1 (*COL1A2*), cuja ruptura de suas fibras pode levar a formação de trombos. O fator de crescimento endotelial vascular (*VEGF*), importante regulador de vasculogênese e angiogênese, com mitogenicidade específica para células endoteliais, também parece estar envolvido no AI. Adicionalmente, destaca-se o gene para endogлина (*ENG*), que está relacionada com a formação de vasos sanguíneos, além de sua posterior manutenção em casos de inflamação e cicatrização, justificando o seu possível papel no desenvolvimento dos aneurismas.

1.2.1 Óxido nítrico sintase endotelial

Óxido nítrico (NO) endotelial, o qual é sintetizado nas células endoteliais pela enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) a partir da L-arginina, atua na regulação do fluxo sanguíneo e tônus vasomotor por meio da inibição da contração da musculatura lisa.^(58,106) NO tem um papel chave na homeostase vascular,⁽¹⁰⁷⁾ participando da regulação da rigidez arterial. Apesar da diversidade de propriedades fisiológicas, é responsável pelo relaxamento da musculatura lisa vascular e modula a migração e crescimento das células da musculatura lisa vascular,^(23,108-110) atuando como importante vasodilatador e inibidor de inflamação, agregação plaquetária,⁽¹¹¹⁾ além de sua participação nas funções metabólicas e regulatórias da parede arterial, assim como na regulação do tônus e do crescimento vascular e homeostase da pressão sanguínea.⁽¹¹²⁾

Evidências bioquímicas, imunohistoquímicas e funcionais mostram diminuição da sinalização do NO após HSA experimental em animais, enquanto níveis alterados de NO foram observados em humanos após HSA.⁽¹¹³⁾ Estas alterações funcionais na via do NO podem ser causadas por alterações genéticas na enzima eNOS ou outros fatores que reduzem a biodisponibilidade no NO, prejudicando suas propriedades fisiológicas.^(114,115)

Foram descritas três isoformas desta enzima, incluindo óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), neuronal (nNOS), e imunológica (iNOS).⁽⁵⁸⁾ Níveis elevados de NO produzidos por iNOS e eNOS promovem inflamação da camada média vascular. Isso gera subprodutos tóxicos que degradam a elastina, além de desorganizar a matriz extracelular⁽¹¹⁶⁾ e destruir a integridade da parede endotelial,⁽¹¹⁷⁾ caracterizando um evento de estresse oxidativo. Desse modo, a inibição do NO limita a progressão de

aneurisma intracraniano.⁽¹¹⁸⁾ Estudo realizado em modelo animal *knockout* para *eNOS* demonstrou sua função vasodilatadora e possível papel no controle da arquitetura endotelial, sugerindo potencial envolvimento da *eNOS* na progressão da doença.⁽¹¹⁹⁾

A enzima *eNOS* é codificada pelo gene *eNOS* no cromossomo 7q35-36 humano,⁽¹²⁰⁾ que possui 26 exons e 25 introns.⁽¹²¹⁾ Polimorfismos desse gene podem alterar a estrutura e a estabilidade dessa enzima ou modificar as interações do *eNOS* com outros componentes,⁽¹²²⁾ resultando em diminuição da expressão ou da atividade da *eNOS* e, conseqüentemente, redução na produção de NO.⁽¹²³⁾ Polimorfismos de *eNOS* podem estar relacionados à formação e ruptura de AIs, uma vez que a redução na produção de NO pode resultar em doença cardiovascular e aterosclerose da carótida.⁽¹²⁰⁾ Entretanto, ainda não foi esclarecido sobre a relação entre polimorfismo de *eNOS* e níveis plasmáticos de NO, embora Veldman et al.⁽¹²³⁾ tenham observado que o polimorfismo G984T no gene *eNOS* está associado à redução dos níveis basais de NO.⁽¹²⁰⁾

1.2.2 Elastina

A elastina (ELN) é essencial na elasticidade dos grandes vasos sanguíneos e um dos componentes centrais das fibras elásticas da lâmina média das artérias.⁽¹²⁴⁾ É a principal proteína que fornece elasticidade as artérias. Diversos trabalhos relatam que a ruptura das fibras elásticas arteriais e a proliferação da íntima nas grandes artérias resultam em modificação, quantitativa e/ou qualitativa, da elastina durante o desenvolvimento vascular, com importância patogênica.⁽¹²⁵⁾ Quando comparada a

outros tipos de células arteriais, as células da musculatura lisa da camada média arterial expressam grandes quantidades de elastina.⁽¹²⁶⁻¹²⁸⁾

Estudos genéticos em camundongos *knockout*^(129,130) identificaram deleções, mutações e diversos polimorfismos no gene *ELN*, que levam à rupturas das fibras elásticas e estreitamento do lúmen arterial, alterando as propriedades biomecânicas da parede arterial.^(131,132) O marcador com a melhor evidência de ligação na região 7q11 foi encontrado na região do gene da elastina (*ELN*).⁽¹⁰³⁾ O gene *ELN* codifica a elastina, um elemento essencial na parede arterial e responsável pela sua dilatação.⁽¹³³⁾ Essa mesma região no cromossomo inclui outro gene candidato: colágeno 1A2 (*COL1A2*), que representa mais de 90% de todo o colágeno arterial e é importante para a força da parede arterial.^(23,133)

O gene *ELN* está mapeado no cromossomo humano 7q11.23 humano. Farnham et al.⁽¹³⁴⁾ relataram pela primeira vez a associação entre predisposição para AI familiar e um gene na região do cromossomo 7q11.23, confirmada posteriormente por Onda et al.⁽¹⁰³⁾ e Olson et al.⁽¹³⁵⁾. Nesse caso, em ambos os estudos foram avaliados irmãos afetados e seus familiares em primeiro grau. Diversos polimorfismos nesse gene foram descritos.^(131,132) Tromp et al.⁽¹³⁶⁾ identificaram um polimorfismo de de adenina (A) para guanina (G) no exon 16 do gene da elastina, alterando o aminoácido serina (AGT) na posição 422 para glicina (GGT).⁽¹³⁷⁾ Ogata et al.⁽¹³⁸⁾ verificaram que este polimorfismo no gene *ELN* está envolvido em casos familiares de aneurisma abdominal aórtico.⁽¹²⁴⁾ Desse modo, revelaram que essa alteração afeta a arquitetura da rede elástica, levando a mudanças na parede arterial.

Onda et al.⁽¹⁰³⁾ também mostraram associação entre esse polimorfismo e AI em 85 famílias de etnia japonesa. Entretanto, Yamada et al.⁽¹³⁹⁾ não confirmaram essa

associação em 14 famílias japonesas, assim como Hofer et al.⁽¹⁴⁰⁾ em 30 famílias européias com AI. Nesse caso, destaca-se o envolvimento de outros fatores de risco genéticos e ambientais, considerando diferentes grupos populacionais.⁽¹³⁴⁾ Li et al.⁽¹²⁵⁾ revelaram que mutações no gene *ELN* causam estenose supra-avalvular aórtica. Desse modo, definiram o papel da elastina no desenvolvimento arterial, gerando modelos *knockout/ELN* (animais com ausência de elastina), que apresentaram doença arterial obstrutiva. Com sua função regulatória para o desenvolvimento arterial, controla proliferação de células do músculo liso e estabiliza a estrutura da parede do vaso.⁽¹⁴¹⁾ Nesse contexto, a elastina é um determinante molecular da morfogênese arterial tardia, estabilizando e regulando a organização da parede do vaso arterial.

1.2.3 Endogлина

A endogлина humana é uma proteína homodimérica de 658 aminoácidos, possui um domínio extracelular, um único domínio transmembrana e um pequeno domínio intracelular.⁽¹⁴²⁾ Estruturalmente, está relacionada ao betaglicano,⁽¹⁴³⁾ com grande similaridade nos domínios intra e extracelular. Ambos são expressos como homodímeros na superfície celular ligados por pontes dissulfeto. Complexos heteroméricos entre endogлина e betaglicano são observados nas células endoteliais da microvasculatura.⁽¹⁴⁴⁾ Além de sua localização na membrana plasmática, como glicoproteína transmembrana,⁽¹⁴⁵⁻¹⁴⁷⁾ a endogлина pode ser encontrada sob a forma solúvel,⁽¹⁴⁸⁻¹⁵⁰⁾ gerada por meio da clivagem proteolítica da membrana plasmática, responsável pela manutenção da integridade vascular.

Níveis de expressão de endogлина são quase indetectáveis nas células endoteliais normais, enquanto que sua expressão é alta nas células endoteliais vasculares nos locais de

intensa angiogênese,⁽¹⁵¹⁾ sendo que estados de hipóxia favorecem a ativação do promotor do gene da endogлина.⁽¹⁵²⁾ Apesar de ser até então considerada um específico marcador endotelial, diversos tipos celulares expressam endogлина.⁽¹⁵³⁾ Seus níveis de expressão são também elevados em casos de alterações na estrutura vascular,^(154,155) indicando um importante papel da endogлина na manutenção da arquitetura vascular normal.⁽¹⁵⁶⁾ Camundongos *knockout* para o gene da endogлина são incapazes de formar vasos sanguíneos normais, os quais são dilatados e frágeis, fáceis de ruptura.⁽¹⁵⁷⁾

O gene endogлина (*ENG*) está localizado no cromossomo 9q34.1 humano. É um componente transformador do complexo receptor do fator- β de crescimento, sendo expresso na superfície das células endoteliais da musculatura lisa vascular, influenciando sua função.⁽¹⁴⁵⁻¹⁴⁷⁾ Apresenta papel crítico na angiogênese, assim como na manutenção da integridade da parede do vaso ⁽¹⁵⁸⁻¹⁶⁰⁾ e síntese dos componentes da matriz extracelular.^(147,161)

Há relato, em população japonesa, de associação entre AIs e polimorfismo de inserção de 6 bases no intron 7 do gene *ENG*.⁽⁵¹⁾ Krex et al.⁽⁵²⁾ mostraram que, embora esta inserção não esteja associada com AI em uma população de etnia branca, existem diferenças nas frequências alélicas entre os indivíduos controles de etnias branca e japonesa. Onda et al.⁽¹⁶²⁾, também em população japonesa, avaliaram a associação desta inserção no intron 7 e 4 SNPs localizados no gene *ENG* com AI. Considerando a expressão de *ENG* nas células do endotélio vascular, as quais estão envolvidas no AI, é possível a associação entre polimorfismos genéticos de *ENG* e essa doença,⁽¹⁶³⁾ o que deve ser confirmado em diferentes populações.

1.2.4 Colágeno tipo 1 α 2 (COL1A2)

O colágeno tipo 1 (COL1) representa, aproximadamente, 80% do total do colágeno arterial, com função na elasticidade das artérias cerebrais que possuem três camadas, incluindo a adventícia, constituída por colágeno na parte externa, a camada média com característica muscular e a íntima localizada mais interiormente. Uma lâmina interna elástica separa a íntima da média, sendo que a lâmina elástica externa também está presente apenas em artérias extracranianas.^(154,165)

São reconhecidos 19 tipos de colágeno, entretanto o tipo 1 é mais abundante em humanos.⁽¹⁶⁶⁾ Alguns tipos são completamente expressos, enquanto outros possuem distribuição limitada, cada qual com sua função específica, ou local de atuação, com extensiva interação com outros componentes do tecido conectivo. Essas interações combinadas com a natural complexidade da biossíntese do colágeno⁽¹⁶⁷⁾ resultam em um perfeito sistema biológico mutação-suscetibilidade. Os fenótipos resultantes dessa biossíntese são amplamente distribuídos em suas manifestações e gravidade.⁽¹⁶⁸⁾

O colágeno tipo I é um componente crítico na manutenção da elasticidade da parede vascular e importante na matriz extracelular.⁽¹⁶⁹⁾ A desintegração da fibra do colágeno no tecido conectivo pericelular reduz o acúmulo de tecido conectivo na parede celular, diminuindo assim a flexibilidade da parede da artéria, e isso está associado à formação de AI.⁽¹⁷⁰⁾ Reduz a força da parede vascular, possui um importante papel na adesão celular, na manutenção da arquitetura tecidual e na função do tecido normal. COL1A2 é essencial na expressão do colágeno tipo I *in vivo*, o que é importante no desenvolvimento embrionário e no reparo tecidual nos adultos.^(171,172)

O gene do colágeno tipo I alfa-2 (*COL1A2*) está localizado no cromossomo 7q22.1 humano e tem sido identificado como um gene de suscetibilidade em muitos problemas relacionados ao colágeno.^(145,173) Além disso, está envolvido no desenvolvimento, estabilização, maturação e remodelamento vascular.^(174,175) Diversos estudos mostram que alterações neste gene estão envolvidas na patogênese de AI.^(165,173,176,177) O polimorfismo rs42524 neste gene resulta em uma substituição de aminoácido (Ala para Pro) na posição 459, o que influencia a integridade do colágeno tipo I, reduz a rigidez da parede arterial e eventualmente provoca a destruição das paredes dos vasos sanguíneos.⁽¹⁷⁶⁾

Roder et al.⁽¹⁷⁸⁾ observaram expressão gênica alterada no tecido arterial biopsiado de pacientes com aneurisma. Polimorfismos do *COL1A2* em AI foram reportados em populações chinesa,⁽¹⁷⁹⁾ japonesa⁽¹⁷⁶⁾ e coreana.⁽¹⁴⁵⁾ Yoneyama et al.⁽¹⁷⁶⁾ em estudo de associação alélica avaliaram 21 polimorfismos de base única (SNP) de *COL1A2* em 553 indivíduos, incluindo 260 pacientes e 293 controles. Identificaram uma variante no exon 28 (rs42524), com diferença significativa na frequência alélica entre pacientes e controles, especialmente em casos. Essa alteração ocorre por substituição do aminoácido alalina por prolina (Ala459Pro) que altera a estabilidade do colágeno tipo α 1, sugerindo que esse fator afeta a estrutura do colágeno. Nesse caso, com possível efeito na integridade da parede arterial progredindo para formação do aneurisma. Desse modo, tal fragilidade vascular pode ocorrer nos indivíduos com AI.

1.2.5 Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)

O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é uma glicoproteína de ligação à heparina que atua como fator de permeabilidade vascular.^(180,181) É um importante regulador de vasculogênese e angiogênese, com mitogenicidade específica para células endoteliais.⁽¹⁸²⁾ Além disso, o VEGF é capaz de aumentar a permeabilidade capilar, dilatar artérias e atrair monócitos quimiotaticamente.⁽¹⁸³⁾

A família do VEGF consiste de sete diferentes fatores designados VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, fator de crescimento da placenta e veneno de serpente VEGF (VEGF-F). Os receptores de VEGF estão localizados na superfície das células endoteliais; pertencem à família de fatores de crescimento, sendo sua importância destacada nas células endoteliais,⁽¹⁸⁴⁾ onde é responsável pela proliferação, migração e diferenciação deste tipo celular.⁽¹⁸⁵⁾

O VEGF é um fator pró-angiogênico responsável pela manutenção da integridade estrutural das artérias,⁽¹⁸⁶⁾ assim como seus receptores VEGFR1/ VEGFR2. Assim, a expressão de VEGF tem papel central tanto na formação quanto no crescimento dos AIs,⁽¹⁸⁷⁾ onde as células endoteliais são seu alvo na modificação da permeabilidade vascular e neovascularização.

Seu gene está localizado no cromossomo 6p21.3 humano, organizado em oito exons e sete introns,^(182,188-190) gerando seis isoformas diferentes de 121, 145, 165, 189 e 206 aminoácidos, as quais possuem atividades biológicas distintas tais como interação diferencial com proteoglicanos e neurofilinas. Os aminoácidos que são codificados pelos exons 1-5 são conservados em todas as isoformas, embora *splicing* alternativo possa ocorrer nos exons 6 e 7.⁽¹⁹¹⁾ Diversos estudos têm demonstrado a existência de

mais de 30 SNPs no gene do VEGF, dentre eles o polimorfismo *VEGF-C936T*, o qual está relacionado à baixa expressão de *VEGF* e, conseqüentemente, a uma produção reduzida de sua proteína.⁽¹⁹²⁻¹⁹⁴⁾

Uma mutação no gene *VEGF* (936 C→T) leva à perda de um sítio de ligação para a proteína ativadora 4 (AP-4), caracterizada como um fator de transcrição responsável pelo aumento da expressão de vários genes virais e celulares por ligação a sítios potenciadores específicos.⁽¹⁸³⁾ A presença dessa mutação associa-se a níveis plasmáticos mais baixos de VEGF, comparado ao genótipo *VEGF 936CC*. Desse modo, a mutação 936 C→T pode ser um importante marcador genético para a angiogênese envolvida em doenças. Assim, o polimorfismo *VEGF-C936T* está correlacionado com a redução da expressão gênica e reduz drasticamente a concentração plasmática da proteína VEGF nos indivíduos portadores do alelo *T*.⁽¹⁹⁵⁾ Diversos SNPs no *VEGF* afetam seu nível de expressão.⁽¹⁹⁶⁻¹⁹⁹⁾ O polimorfismo C936T na região promotora 3' não traduzida (UTR) afeta os níveis plasmáticos de VEGF. Indivíduos portadores do alelo *T* possuem níveis plasmáticos significativamente reduzidos de VEGF.^(182,200-202)

Nesse contexto, o polimorfismo genético do *VEGF* é considerado fator de risco para AI, uma vez que esse gene está associado à angiogênese da musculatura lisa vascular. Skirgaudas et al.⁽²⁰³⁾ observaram aumento na expressão de *VEGF* na parede endotelial dos aneurismas. Por outro lado, Maderna et al.⁽²⁰⁴⁾, em estudos por imunohistoquímica em AI, sugerem perda de expressão de VEGF e de seus receptores VEGFR1 e VEGFR2 comparado a controles.

Desta maneira, a confirmação de marcadores genéticos para AI em diferentes casuísticas pode contribuir para o prognóstico da doença e perfil de risco, possibilitando a identificação de familiares de risco para o desenvolvimento de aneurisma

intracraniano. No Brasil, são inexistentes estudos envolvendo alterações genéticas e AI. Desse modo, o presente estudo, pioneiro em casuística brasileira, poderá contribuir na identificação dos possíveis marcadores genéticos para AI nessa população.

1.3 Outros fatores de risco

A patogênese dos aneurismas intracranianos é ainda desconhecida;^(8,205) no entanto, diversos estudos ^(52,96,103,139,140,176,206-208) mostram que vários fatores podem estar relacionados, como sexo, idade avançada, hipertensão, diabetes, tabagismo, etilismo, tamanho e localização do AI, ^(16,19,23,34,95,205,209-225) além de história familiar de HSA em familiares em primeiro grau.^(82,91)

Existe uma relação entre tabagismo e formação e ruptura de AI,^(120,212,222,226-228) sendo um fator preditor independente de ruptura de AI,⁽²²²⁾ uma vez que 70-80% dos pacientes relatam este hábito.⁽²²⁹⁾ Tabagismo é o principal fator independente para o desenvolvimento de doença vascular. Apesar dos diversos mecanismos patofisiológicos, o tabagismo provoca deterioração da atividade biológica da enzima eNOS.⁽²³⁰⁾ Representa o principal fator exógeno que afeta a função endotelial. Chrysohoou et al.⁽²³⁰⁾ observaram alteração na função endotelial em fumantes quando comparados com indivíduos não fumantes. O efeito agudo do cigarro na rigidez arterial foi relatada por Siasos et al.⁽²³¹⁾ e Mayer et al.⁽¹¹⁵⁾.

O uso de cigarro aumenta a viscosidade e o volume do sangue, além de aumentar a tensão de cisalhamento por meio da indução da vasoconstrição.⁽²³²⁾ A vasoconstrição em fumantes ocorre devido a inibição da enzima eNOS e prejuízo na sinalização de NO,

responsável pela regulação do tônus vascular cerebral.⁽²³³⁻²³⁵⁾ Parece que a exposição crônica a nicotina impede a vasodilatação cerebral pelo NO.⁽²³⁶⁾

Feigin et al.⁽²¹⁹⁾ observaram que o risco de AI é aumentado em 2,4 vezes em pacientes com histórico de tabagismo do que em não fumantes, e que as mulheres tabagistas apresentam um risco ainda mais elevado.^(217,219,237) O tabagismo agrava a aterosclerose e altera a tensão da parede vascular. O espessamento da camada íntima da parede arterial e a maior fragilidade dos vasos sanguíneos aumentam a quebra da elastina na parede, favorecendo a formação dos aneurismas.⁽²³⁸⁾ Além disso, parece que o cigarro aumenta a taxa de ocorrência de aneurismas maiores ou a multiplicidade dos aneurismas.

Shinton & Beevers⁽²³⁹⁾ encontraram associação entre risco de HSA e hábito tabagista. Do mesmo modo, Weir et al.⁽²⁴⁰⁾ mostraram que pacientes tabagistas apresentam maior predisposição à ruptura do aneurisma, embora o mecanismo exato desta associação ainda não seja totalmente esclarecido. Entretanto, sabe-se que o tabagismo provoca aumento agudo na pressão sanguínea, o que pode levar à ruptura do AI e, além disso, é possível que em longo prazo, o hábito tabagista possa levar à formação do aneurisma por meio do enfraquecimento da parede arterial ou até mesmo aumentar o tamanho do aneurisma pelo mesmo mecanismo.⁽²²²⁾ Mais de 80% dos pacientes com HSA devido à ruptura de AI já apresentaram hábito tabagista e 50-60% destes são ainda fumantes. Apesar desta forte associação entre tabagismo e formação de AI, as vias patogênicas subjacentes permanecem desconhecidas.⁽⁶³⁾

Qureshi et al.^(224,241) revelaram que tabagismo promove a degradação da elastina na parede dos vasos sanguíneos, tornando as paredes mais suscetíveis à dilatação devido à carga de pressão sanguínea nos locais anatômicos de turbulência máxima. Além disso,

alguns estudos mostram que o tabagismo pode estar associado à aneurismas múltiplos.^(221,222)

Outro fator de risco para AI é diabetes melito, uma doença crônica de alta prevalência que, de acordo com sua etiologia, é classificada em tipos 1 e 2. O tipo 1 constitui uma doença auto-imune, na qual anticorpos específicos atacam e destroem as células beta das ilhotas pancreáticas, havendo deficiência absoluta de insulina, com maior incidência em crianças e adultos jovens. Por outro lado, diabetes do tipo 2 constitui uma doença multifatorial, relacionada à expressão gênica, e que é caracterizada por falência pancreática secundária (com deficiência relativa de insulina) à resistência insulínica primária.⁽¹⁾

Segundo os Centros para Controle e Prevenção de Doenças, em 2005 aproximadamente 21 milhões de norte-americanos (quase 7% da população), preenchem critérios diagnósticos para diabetes melito, sendo que 95% deles tinham diabetes melito tipo 2, com prevalência em indivíduos com mais de 60 anos (60%).⁽¹⁾

De acordo com a *World Health Organization* ⁽²⁴²⁾ estima-se que mais de 220 milhões de pessoas tenham diabetes melito ao redor do mundo, sendo que 80% das mortes relacionadas à doença se concentram em países de média ou baixa renda. Alguns fatores contribuem para aumento da prevalência de diabetes em todo o mundo, incluindo envelhecimento populacional, sedentarismo, alimentação inadequada e obesidade.⁽²⁴³⁾ Dentre as principais consequências do diabetes melito crônico, destacam-se a retinopatia, nefropatia, neuropatia, pé diabético, além de hiperglicemia e hiperlipidemia, causadas pelo aumento da mobilização acelerada do depósito adiposo.⁽¹⁾

O papel do diabetes melito como fator de risco para HSA ainda necessita de esclarecimento, entretanto, sua importância tem sido discutida em diferentes

casuísticas.^(5,43,219) Estudo realizado na população japonesa, em indivíduos acima de 60 anos, mostrou maior prevalência de diabetes melito em pacientes com AI não roto comparado àqueles com aneurisma roto.⁽⁵⁾ Nesse caso é possível que o tratamento com insulina, desempenhe papel protetor, reduzindo o risco de ruptura do AI.⁽²⁴⁴⁾ Outro estudo em casuística chinesa revela associação entre desenvolvimento de AI e aumento da taxa de glicose e lipídios no sangue.⁽⁸⁾ Por outro lado, Qureshi et al.⁽²²¹⁾, avaliando casuística norte-americana, observaram que diabetes melito não se associa com a presença de múltiplos aneurismas.

Diabete tipo 2 é uma doença complexa que afeta a parede arterial através de diversos mecanismos.⁽²⁴⁵⁻²⁴⁸⁾ É um fator de risco bem estabelecido para o infarto cerebral e a predisposição para hemorragia intracerebral.⁽²⁴⁹⁻²⁵¹⁾ Entretanto, a associação entre diabete tipo 2 e AI permanece incerta. Alguns estudos sugerem que esta doença seja um fator protetor da ruptura de AI.⁽²⁵²⁻²⁵⁶⁾

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) atinge, mundialmente, cerca de um bilhão de indivíduos, sendo que, aproximadamente, 7,1 milhões deles morrem por ano. O aumento da pressão arterial (>115 mmHg de pressão sistólica) é responsável por 62% das doenças cerebrovasculares e 40% de doença isquêmica do coração, com pequena variação do sexo. Nesse caso, é causa de 40% dos óbitos por AVE e 25% daqueles por doença arterial coronária. Nos EUA, é um problema grave de saúde pública, na medida em que 30% da população norte-americana adulta apresentam algum grau de hipertensão.⁽²⁵⁷⁾ No Brasil, de acordo com estudo realizado nas capitais brasileiras e no distrito federal, HAS é altamente prevalente, atingindo índices em torno de 15% a 24,9% da população adulta, dependendo da cidade e com maiores índices nos Estados do Sul e do Sudeste do Brasil.⁽²⁵⁸⁾ À medida que se avança na faixa etária, a pressão

arterial sistólica eleva-se, o que constitui um fator de risco importante para as doenças cerebrovasculares, além de que entre esses pacientes a prevalência de HAS também é maior.⁽²⁵⁹⁾

Assim, a HAS é considerada como o maior fator de risco para hemorragias intracerebrais. De acordo com Owens et al.⁽²²⁵⁾, a HSA devido ao rompimento do aneurisma, pode ser prevenida com a manutenção da pressão arterial sistólica abaixo de 150mmHg. Em estudo com casuística japonesa, HAS foi considerada o mais poderoso fator de risco para a formação aneurismática, independentemente de idade e sexo.⁽⁵⁾ Nos EUA, 46% de pacientes com aneurisma intracraniano familiar apresentam histórico de HAS, enquanto que 22% dos pacientes com aneurisma intracraniano esporádico apresentam histórico de HAS.⁽⁴³⁾ Segundo Gu et al.⁽⁸⁾, HAS prolongada pode facilitar a formação de um aneurisma intracraniano porque, entre outros fatores, lesa o tecido endotelial e interfere na biossíntese do colágeno.

Desta maneira, a hipertensão está envolvida na formação e progressão dos AIs.^(37,95,212,260) Pacientes que apresentam história familiar de hipertensão possuem maior risco de desenvolvimento de AI em relação aqueles sem história familiar. Inci & Spetzler (2000)⁽¹⁶⁾ mostraram que 43,5% dos pacientes com AI sofriam de hipertensão, uma incidência 24,4% maior em relação a indivíduos não hipertensos. Hipertensão prolongada pode acelerar o desenvolvimento do aneurisma, uma vez que hipertensão crônica danifica as células endoteliais, destrói a elastina e prejudica a biossíntese do colágeno.

O consumo excessivo de álcool parece ser um fator de risco para formação de AI,^(209,261) uma vez que predispõe a HSA por meio de vários mecanismos, como efeitos na pressão sanguínea,^(262,263) arritmias induzidas pelo álcool⁽²⁶⁴⁾ além de alterações no

fluxo sanguíneo cerebral.⁽²⁶⁵⁾ O hábito etilista, independentemente de outros fatores, eleva a pressão sanguínea, assim como a retirada transitória do álcool.^(263,266)

1.4 Morfologia, localização e crescimento do aneurisma

Aumento no tamanho do aneurisma é um conhecido fator de risco para sua ruptura.^(28,96) Entretanto, aneurismas de pequeno tamanho também podem sofrer ruptura. A degeneração da parede dos AIs, demonstrada por re-endotelialização, aumenta a morte celular e reduz a espessura da parede do AI, o que está associado a ruptura do AI.⁽²⁶⁷⁻²⁶⁹⁾ Sinais de remodelamento vascular – hiperplasia da mioíntima, proliferação das células da musculatura lisa vascular e desorganização das estruturas da parede e sinais de inflamação são encontradas na parede do AI.^(267,268,270)

Estresse hemodinâmico na parede do AI difere de uma artéria cerebral normal,⁽²⁷¹⁾ e pode ocasionar um remodelamento vascular assimétrico, resultando em aneurisma em formato sacular e pode ser refletido na expressão e atividade de diversas proteínas de sinalização que mantêm a homeostase na parede do AI. O Estudo Internacional de Aneurismas Intracranianos Não Rotos (ISUIA)⁽²⁸⁾ mostrou que a localização do aneurisma é um fator preditor independente de ruptura. Observaram que os aneurismas localizados no topo da artéria basilar, vertebrobasilar ou artéria comunicante posterior são mais propensos à ruptura do que os aneurismas presentes em outras localidades. Entretanto, Yasui et al.⁽²⁷²⁾ em estudo com aneurisma não rotos, não encontrou diferença significativa no risco de ruptura de acordo com o sítio de localização do aneurisma.

O crescimento do aneurisma provavelmente está associado à sua ruptura, apesar dessa relação não estar ainda bem esclarecida. Estudos de imagem sobre o crescimento e mudanças na morfologia dos aneurismas permanecem controversos.⁽²⁷³⁻²⁸²⁾ O ISUIA⁽²⁸⁾ sugeriu que existe baixo risco de HSA em pacientes com aneurismas de tamanho inferior a 10mm,⁽²¹⁵⁾ sendo seu tamanho fator chave na determinação do risco de ruptura. Os AIs podem ser menores que 11 mm ou até maiores que 25 mm. Em pacientes com AI não rotos com diâmetro <7 mm e histórico de HAS, a taxa anual de risco de ruptura é alta. Estudos retrospectivos sugerem que o tamanho do aneurisma é o principal preditor de ruptura com HSA, com taxa anual de ruptura de 3,3% por ano para aqueles com tamanho entre 10 e 15 mm, 5,6% por ano para aqueles com tamanho entre 16 e 25 mm e 8,9% por ano para aqueles maiores de 25 mm⁽²⁷³⁾ A maioria dos trabalhos definiu o crescimento como sendo um aumento de 1 ou 2 mm no diâmetro.⁽²⁸³⁾

A multiplicidade dos AIs é fator de risco para seu crescimento e pode predizer maior risco de ruptura.^(23,274,276) Os AIs podem ser únicos (70–75%) ou múltiplos (25–30%).^(23,56) Mais de 30% dos pacientes desenvolvem AIs múltiplos, geralmente dois ou três, e sua ocorrência representa cerca de 20% dos aneurismas intracranianos.⁽²⁸⁴⁻²⁸⁸⁾ Juvela et al.⁽²²²⁾ e ISUIA⁽²⁸⁾ mostraram que a existência de aneurismas múltiplos não prevê o risco de ruptura.^(12,42) Entretanto, alguns estudos mostram que AIs múltiplos são associados a resultado menos favorável do que os aneurismas únicos após ruptura.^(12,221,289,290)

A localização do aneurisma é também um conhecido fator de risco.^(15,291,292) Os aneurismas mais propensos a ruptura estão localizados na artéria comunicante anterior e posterior.⁽²¹⁵⁾ Além disso, o formato do aneurisma parece influenciar sua ruptura.^(293,294) Aproximadamente 15% dos aneurismas ocorrem na circulação posterior. Os locais mais

comuns de ruptura de aneurisma intracraniano são na bifurcação da artéria comunicante posterior a partir da artéria carótida interna (41%), artéria comunicante anterior/ artéria cerebral anterior (34%), e artéria cerebral média (20%).^(9,295) Mais de 20% dos pacientes apresenta aneurismas múltiplos.^(9,296) Para pacientes sem história prévia de HSA, os aneurismas de baixo risco de ruptura são aqueles localizados na circulação anterior com diâmetro inferior a 7 mm. A taxa de ruptura anual para estes aneurismas de circulação anterior são 0,5% (7-12 mm), 2,9% (13-24 mm) e 8% (>24 mm). Para os aneurismas localizados na circulação vertebro-basilar ou na artéria comunicante posterior, a taxa anual de ruptura por tamanho de aneurisma é 0,5% (<7 mm), 2,9% (7-12 mm), 3,7% (13-24 mm) e 10% (>24 mm).⁽²³⁾ Assim, o curso natural dos aneurismas intracranianos é influenciado não apenas pelo seu tamanho, como também pela sua localização e morfologia.⁽²⁹⁷⁾

Estudos adicionais sobre a predisposição genética e suas interações com os demais fatores de risco em população brasileira são necessários. Mais pesquisas são essenciais para elucidar a complexa relação entre fatores de risco ambientais e genéticos, o que levaria à prevenção da doença e novas estratégias terapêuticas menos invasivas no tratamento dos AIs.

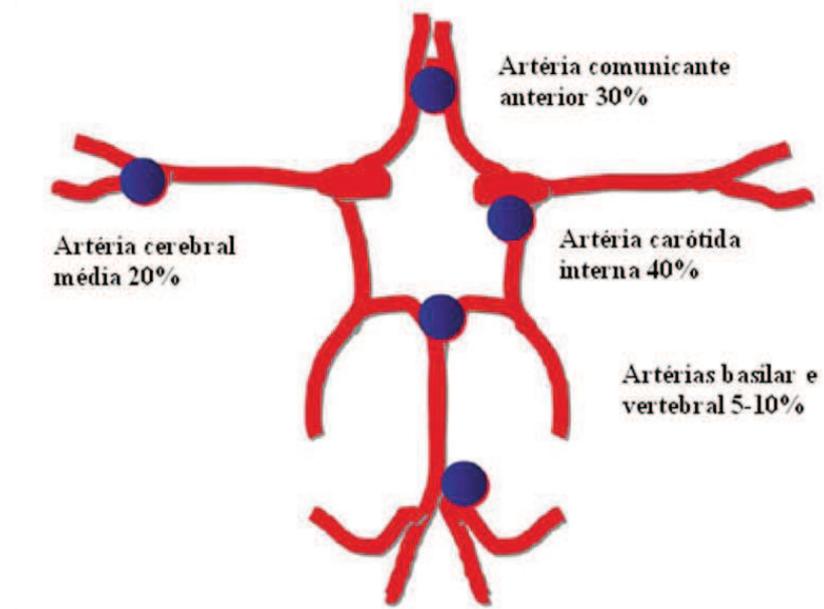


Figura 2. Locais mais comuns de ocorrência de aneurisma intracraniano no Polígono de Willis (Zhang et al., 2003).

2. OBJETIVOS

Avaliar a influência de variantes genéticas relacionadas com a formação e desenvolvimento arterial no aneurisma intracraniano familiar e esporádico.

2.1 Objetivos Específicos

1. Analisar a prevalência dos polimorfismos *eNOS*-G894T, *ELN*-A422G, *ENG*-Ins/Del, *COL1A2*-Ala459Pro e *VEGF*-C936T em indivíduos com AI familiar e esporádico, em relação a indivíduos sem a doença.
2. Analisar a distribuição dos polimorfismos *eNOS*-G894T, *ELN*-A422G, *ENG*-Ins/Del, *COL1A2*-Ala459Pro e *VEGF*-C936T entre familiares em primeiro grau de indivíduos com aneurisma intracraniano familiar ou esporádico, em relação aos familiares de indivíduos sem a doença.
3. Avaliar a combinação genotípica dos polimorfismos estudados e a razão de chance para aneurisma intracraniano em portadores dos polimorfismos *eNOS*-G894T, *ELN*-A422G, *ENG*-Ins/Del, *COL1A2*-Ala459Pro e *VEGF*-C936T.
4. Analisar a distribuição dos referidos polimorfismos, considerando os hábitos de vida dos indivíduos.
5. Avaliar a relação entre os referidos polimorfismos com diabetes melito e hipertensão arterial sistêmica.
6. Avaliar a relação entre os referidos polimorfismos considerando as características morfológicas de aneurismas intracranianos.
7. Avaliar a relação dos polimorfismos *eNOS*-G894T, *ELN*-A422G, *ENG*-Ins/Del, *COL1A2*-Ala459Pro e *VEGF*-C936T com a ruptura do aneurisma, nos grupos familiar e esporádico.