

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROJETO PARA AVALIAÇÃO
DA VARIABILIDADE GENÉTICA INTERINDIVIDUAL DA
RESPOSTA À HIDROCLOROTIAZIDA EM DOENTES
PORTUGUESES COM HTA**

Joana Margarida Lebre de Abreu

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(Mestrado Integrado)

Orientador: Prof. Doutor Miguel Castelo Branco Craveiro de Sousa
Co-orientador: Prof. Doutora Luiza Augusta Tereza Gil Breitenfeld Granadeiro

junho de 2023

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

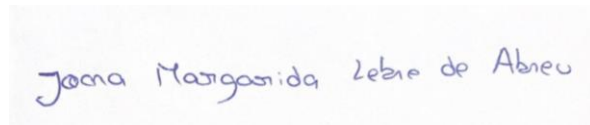
Folha em branco

Declaração de Integridade

Eu, **Joana Margarida Lebre de Abreu**, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição **39902** de **Medicina** da Faculdade de **Ciências da Saúde**, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 05/06/2023



Joana Margarida Lebre de Abreu

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

Folha em branco

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

Dedicatória

A todos aqueles que me apoiaram nestes últimos 6 anos.

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

Folha em branco

Agradecimentos

Quero, desde já, agradecer ao meu orientador, Professor Doutor Miguel Castelo-Branco, pela orientação, críticas construtivas e pela possibilidade de trabalhar num tema tão atual, promissor e repleto de novas oportunidades. Quero agradecer também à minha co-orientadora, Professora Luiza Granadeiro, pela constante disponibilidade, por ter esclarecido todas as minhas dúvidas a qualquer hora e por ter sido um apoio enorme durante a elaboração desta dissertação.

Quero agradecer também à minha família, em especial aos meus pais e irmã, que sempre acreditaram em mim e no meu potencial. Sem vocês não estaria onde estou hoje. Eternamente grata por tudo o que fizeram de forma a possibilitar a conclusão desta etapa.

Por fim, quero agradecer a todos os meus amigos. Estes 6 anos não teriam sido os mesmos sem vocês. Ficarei sempre agradecida pelo apoio incondicional que me proporcionaram em todas as áreas da minha vida. Se aqui estou, a vocês o devo.

Folha em branco

Resumo

Introdução

A Hipertensão Arterial (HTA) ocorre quando a pressão arterial, isto é, a força que o sangue exerce contra as paredes arteriais, é persistentemente elevada. A HTA é multifatorial, estando dependente de fatores ambientais, vasculares, hormonais e genéticos, entre outros. A sua prevalência crescente constitui um problema de saúde pública, dados os conhecidos efeitos da HTA no organismo a nível de vários sistemas: cardiovascular, neurológico, músculo-esquelético e renal, para nomear alguns.

A sua terapêutica inclui intervenções não farmacológicas, como a adoção de um estilo de vida mais saudável, e farmacológicas. As classes farmacológicas mais usadas são os Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina, os Antagonistas dos Recetores de Aldosterona, os Bloqueadores dos Canais de Cálcio, os Diuréticos Tiazídicos e os Beta-bloqueantes.

Vários estudos têm tido como objetivo identificar possíveis fatores que influenciam a resposta à terapêutica anti-hipertensora. Muitos deles estabeleceram uma interação entre o genoma humano (e as suas variações) e a resposta à farmacoterapia instituída. Este facto justifica a importância da farmacogenómica, que estuda a influência da variabilidade genética na resposta à terapêutica de diversas patologias, entre as quais, a HTA. A importância da individualização terapêutica tem vindo a ganhar espaço na otimização da terapêutica. Na HTA, um dos fármacos clássicos utilizados tem sido a Hidroclorotiazida, um diurético tiazídico, cuja variabilidade interindividual à resposta à terapêutica tem vindo a ser associada a diversos polimorfismos genéticos. O estudo destes polimorfismos numa população poderá levar a uma melhor aplicação deste fármaco.

Objetivos

O objetivo principal desta dissertação é o desenvolvimento de um projeto para avaliar a variabilidade genética interindividual da resposta à hidroclorotiazida em doentes portugueses com HTA.

Metodologia

Para a atualização do tema e estudo de outros projetos neste âmbito, foram consultadas *guidelines* atuais da terapêutica da HTA e foi realizada uma pesquisa bibliográfica, com recurso à plataforma PubMed, durante o período de outubro de 2022 a março de 2023. As palavras-chave utilizadas foram as seguintes: hipertensão arterial, farmacogenómica, farmacogenética, variabilidade genética, polimorfismos genéticos, hidroclorotiazida, diuréticos tiazídicos, beta-bloqueantes, bloqueadores dos canais de cálcio, inibidores da enzima conversora de angiotensina e antagonistas dos recetores de aldosterona.

Para o desenho dos *primers*, foi utilizada a base de dados *GenBank*.

Após a análise do material encontrado, foi realizada esta dissertação.

Resultados e Discussão

Após uma breve revisão e atualização do tema, concluiu-se que existem inúmeros genes que influenciam a resposta terapêutica aos fármacos anti-hipertensores. A presença de polimorfismos nestes genes é responsável por uma variação do controlo tensional, que pode, ou não, ser favorável. Assim, é importante perceber se os indivíduos com o diagnóstico de HTA apresentam polimorfismos genéticos que possam modificar a resposta à terapêutica farmacológica anti-hipertensora que efetuam. Ao identificar a presença destas variações interindividuais, torna-se possível o ajuste terapêutico de forma a que a medicação seja personalizada e o mais eficaz possível para o doente em questão.

Neste sentido, foi desenvolvido um projeto para a avaliação da variabilidade genética interindividual da resposta à hidroclorotiazida em doentes portugueses com HTA. Após a referida atualização do tema, foi possível identificar o gene candidato, o polimorfismo genético candidato e proceder à descrição do projeto que se encontra pronto a ter início.

Conclusões

De facto, continua a ser pertinente o estudo da influência dos polimorfismos genéticos na resposta à hidroclorotiazida e outros fármacos anti-hipertensores, estudo esse que deve ser desenvolvido a nível nacional. É de extrema importância perceber a prevalência destes polimorfismos e adaptar a medicação consoante a presença dos mesmos, de forma a obter uma resposta terapêutica o mais eficaz possível.

Palavras-chave

Hipertensão arterial;hidroclorotiazida;variabilidade genética;polimorfismos genéticos; GNB₃

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

Folha em branco

Abstract

Introduction

Arterial Hypertension (HT) occurs when blood pressure, that is, the force that blood exerts against arterial walls, is persistently high. Hypertension is multifactorial, depending on environmental, vascular, hormonal and genetic factors, among others. Its growing prevalence constitutes a public health problem, given the known effects of hypertension in various systems of the body: cardiovascular, neurological, musculoskeletal and renal, to name a few.

Its therapy includes non-pharmacological interventions, such as adopting a healthier lifestyle, and pharmacological ones. The most used pharmacological classes are Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors, Aldosterone Receptor Antagonists, Calcium Channel Blockers, Thiazide Diuretics and Beta-blockers.

Several studies have aimed to identify possible factors that influence the response to antihypertensive therapy. Many of them established an interaction between the human genome (and its variations) and the response to the instituted pharmacotherapy. This fact justifies the importance of pharmacogenomics, which studies the influence of genetic variability on the response to therapy for various pathologies, including hypertension. The importance of therapeutic individualization has been gaining ground in the optimization of therapy. In HT, one of the classic drugs that has been used is Hydrochlorothiazide, a thiazide diuretic, whose interindividual variability in response to therapy has been associated with several genetic polymorphisms. The study of these polymorphisms in a population could lead to a better application of this drug.

Goals

The main goal of this dissertation is the development of a project to evaluate the interindividual genetic variability of the response to hydrochlorothiazide in Portuguese patients with hypertension.

Methodology

In order to update the theme and study other projects in this field, current guidelines for the treatment of hypertension were consulted and bibliographical research was carried out, using the PubMed platform, from October 2022 to March 2023. The following keywords were used: arterial hypertension, pharmacogenomics, pharmacogenetics, genetic variability, genetic polymorphisms, hydrochlorothiazide, thiazide diuretics, beta-blockers, calcium channel blockers, angiotensin converting enzyme inhibitors and aldosterone receptor antagonists.

For the design of the primers, the GenBank database was used.

After analyzing all the material, this dissertation was made.

Results and discussion

After a brief review and update of the topic, it was concluded that there are numerous genes that influence the therapeutic response to antihypertensive drugs. The presence of polymorphisms in these genes is responsible for a variation in blood pressure control, which may or may not be favorable. Thus, it is important to understand whether individuals diagnosed with HT have genetic polymorphisms that may modify their response to the antihypertensive pharmacological therapy they undergo. By identifying the presence of these inter-individual variations, it becomes possible to adjust the therapy so that the medication is personalized and as effective as possible for the patient in question.

In this light, a project was developed to evaluate the interindividual genetic variability of the response to hydrochlorothiazide in Portuguese patients with hypertension. After the referred update of the topic, it was possible to identify the candidate gene, the candidate genetic polymorphism and proceed to the description of the project, which is ready to be started.

Conclusions

It is relevant to study the influence of genetic polymorphisms on the response to hydrochlorothiazide and other antihypertensive drugs, a study that should be carried out at national level. It is extremely important to understand the prevalence of these polymorphisms and adapt the medication according to their presence, in order to obtain the most effective therapeutic response possible.

Keywords

Arterial hypertension;hydrochlorothiazide;genetic variability;genetic polymorphisms; GNB3

Folha em branco

Índice

| | |
|---|------|
| Declaração de Integridade | iii |
| Dedicatória | v |
| Agradecimentos | vii |
| Resumo | ix |
| <i>Abstract</i> | xiii |
| Índice | xvii |
| Lista de Tabelas | xix |
| Lista de Acrónimos | xxi |
| Capítulo 1. Introdução | 1 |
| 1.1 Contextualização | 1 |
| 1.2 Hipertensão Arterial (HTA) | 1 |
| 1.2.1 Fisiopatologia da HTA | 3 |
| 1.2.2 Efeitos da HTA no organismo | 5 |
| 1.2.3 Causas e tipos de HTA | 6 |
| 1.3 Genética na HTA | 7 |
| 1.4 Terapêutica da HTA | 9 |
| Capítulo 2. Objetivos | 13 |
| Capítulo 3. Metodologia | 14 |
| Capítulo 4. Resultados e Discussão | 15 |
| 4.1 Identificação dos genes que influenciam a resposta aos fármacos anti-hipertensores e determinação do seu impacto | 15 |
| 4.1.1 IECAs e ARAs | 17 |
| 4.1.2 Bloqueadores dos Canais de Cálcio (BCC) | 21 |
| 4.1.3 Beta-boqueantes | 25 |
| 4.1.4 Diuréticos Tiazídicos | 29 |
| 4.2 Projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual da resposta à hidroclorotiazida em doentes portugueses com HTA | 36 |
| Capítulo 5. Conclusões e Perspetivas Futuras | 42 |
| Bibliografia | 43 |
| Anexo 1 – Consentimento Informado | 52 |

Folha em branco

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Classificação da HTA pela Sociedade Europeia de Cardiologia

Tabela 2 – Terapêutica da HTA

Tabela 3 – Resumo de alguns estudos sobre a farmacogenómica dos IECAs e ARAs

Tabela 4 - Resumo de alguns estudos sobre a farmacogenómica dos BCC

Tabela 5 - Resumo de alguns estudos sobre a farmacogenómica dos beta-bloqueantes

Tabela 6 - Resumo de alguns estudos sobre a farmacogenómica dos diuréticos tiazídicos

Tabela 7- Critérios de Inclusão e Exclusão

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

Folha em branco

Lista de Acrónimos

| | |
|--------|---|
| AASK | <i>African American Study of Kidney Disease and Hypertension</i> |
| ADN | Ácido Desoxirribonucleico |
| AINEs | Anti-Inflamatórios Não Esteroides |
| ANP | Péptido Natriurético Atrial (<i>Atrial Natriuretic Peptide</i>) |
| ARAs | Antagonistas dos Recetores de Aldosterona |
| AVC | Acidente Vascular Cerebral |
| BCC | Bloqueadores dos Canais de Cálcio |
| BNP | Péptido Natriurético Cerebral (<i>Brain Natriuretic Peptide</i>) |
| CHUCB | Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira |
| DM2 | Diabetes Mellitus Tipo 2 |
| EAM | Enfarte Agudo do Miocárdio |
| ECA | Enzima Conversora de Angiotensina |
| ET-1 | Endotelina-1 |
| GERA | <i>Genetic Epidemiology Research on Aging</i> |
| GNB3 | Subunidade β_3 da proteína G (<i>Guanine nucleotide-binding protein subunit β_3</i>) |
| GWAS | Estudos de associação do genoma completo (<i>Genome Wide Association Studies</i>) |
| HCTZ | Hidroclorotiazida |
| HDL | Lipoproteína de Alta Densidade (High-Density Lipoprotein) |
| HTA | Hipertensão Arterial |
| IECAs | Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina |
| IMC | Índice de Massa Corporal |
| INSEF | Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico |
| INVEST | <i>INternational VErapamil SR Trandolapril Study</i> |
| LDL | Lipoproteína de Baixa Densidade (Low-Density Lipoprotein) |
| MAF | Frequência do Alelo Menor (<i>Minor Allele Frequency</i>) |
| NHE | Bomba Sódio-Protão (<i>Na⁺/H⁺ Exchanger</i>) |
| NO | Óxido Nítrico |
| NORDIL | <i>Nordic Diltiazem Study</i> |
| PAD | Pressão Arterial Diastólica |
| PAM | Pressão Arterial Média |
| PAS | Pressão Arterial Sistólica |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | |
|------|---|
| PCR | Reação em Cadeia de Polimerase (<i>Polymerase Chain Reaction</i>) |
| PDM | Perturbação Depressiva Major |
| PEAR | <i>Pharmacogenomic Evaluation of Antihypertensive Responses</i> |
| SNP | Polimorfismo de Nucleótido Único (<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>) |
| SNS | Sistema Nervoso Simpático |
| SPS3 | <i>SPS3-Genetic Substudy</i> |
| SRAA | Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona |
| VASP | Fosfoproteína Estimulada por Vasodilatador (<i>Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein</i>) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

Folha em branco

Capítulo 1. Introdução

1.1 Contextualização

Segundo a Organização Mundial de Saúde, aproximadamente 1,28 mil milhões de adultos entre os 30 e os 79 anos tem Hipertensão Arterial (HTA) a nível mundial. Destes, 46% desconhece que tem esta doença e apenas 42% das pessoas são diagnosticadas e tratadas. A percentagem de indivíduos hipertensos que tem valores tensionais controlados ronda apenas os 21%. (1)

Em Portugal, a prevalência de HTA é igualmente significativa. Em 2015 foi realizado o INSEF (Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico), um estudo epidemiológico observacional, transversal, com o intuito estimar a prevalência de certas doenças e determinantes de saúde em Portugal. Os resultados foram obtidos através de 1) exame físico (medição da pressão arterial, altura, peso e perímetros da cintura e da anca); 2) recolha de amostras de sangue para a avaliação de parâmetros bioquímicos (ficha lipídica, HbA1c e hemograma); 3) questionário, com recolha de informação sobre variáveis demográficas e socioeconómicas, estado de saúde, determinantes de saúde relacionados com comportamentos, utilização de serviços e cuidados de saúde, incluindo os cuidados preventivos. (2,3)

Um dos parâmetros avaliados, tal como indicado previamente, foi a pressão arterial. Uma Pressão Arterial Sistólica (PAS) igual ou superior a 140 mmHg ou uma Pressão Arterial Diastólica (PAD) igual ou superior a 90 mmHg ou a toma de anti-hipertensores nas duas semanas anteriores à recolha de dados definiam o indivíduo como hipertenso. (2)

Tendo em conta os resultados deste estudo, concluiu-se que, em 2015 e em Portugal, a prevalência de hipertensão era de 36,0% em indivíduos entre os 25 e os 74 anos, tendo-se demonstrado um aumento da prevalência com o aumento da idade. Há que ter em conta que estes valores podem ser subestimados, dado que indivíduos com mais de 74 anos não foram avaliados e são um grupo onde existe uma importante prevalência de HTA. Outro dado avaliado foi o controlo da pressão arterial com farmacoterapia, verificando-se que dos indivíduos que faziam tratamento farmacológico, apenas 66,6% tinha a TA controlada (PAS < 140 mmHg e PAD < 90 mmHg). (2)

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

Dados mais recentes, obtidos a partir do Inquérito Nacional de Saúde de 2019, mostraram que 26,4% das pessoas inquiridas referiam sofrer de hipertensão arterial. (4) Há que ter em conta, no entanto, que os dados obtidos se referem a pessoas com um diagnóstico conhecido de HTA, não contabilizando aqueles que efetivamente a têm, mas desconhecem.

1.2 Hipertensão Arterial (HTA)

A Hipertensão Arterial ocorre quando a pressão arterial, isto é, a força que o sangue exerce contra as paredes arteriais, é persistentemente elevada. (5)

A distinção entre um valor de pressão arterial normal e elevada tem-se demonstrado difícil, visto que mesmo valores mais baixos de pressão arterial podem estar associados a um aumento do risco cardiovascular. Contudo, na prática clínica é útil ter valores que definam o que é a HTA, sendo que os definimos como os valores a partir dos quais os benefícios do tratamento anti-hipertensivo ultrapassam expressamente os riscos do mesmo. A classificação usada atualmente pela Sociedade Europeia de Cardiologia é a que se segue: (6)

Tabela 1. Classificação da HTA pela Sociedade Europeia de Cardiologia

| Categoria | Sistólica (mmHg) | | Diastólica (mmHg) |
|-------------------|-------------------------|-------------|--------------------------|
| Ótima | <120 | e | <80 |
| Normal | 120-129 | e/ou | 80-84 |
| Normal alta | 130-139 | e/ou | 85-89 |
| HTA grau 1 | 140-159 | e/ou | 90-99 |
| HTA grau 2 | 160-179 | e/ou | 100-109 |
| HTA grau 3 | ≥ 180 | e/ou | ≥ 110 |

| | | | |
|-------------------------------|------------|---|-------|
| Hipertensão sistólica isolada | ≥ 140 | e | <90 |
|-------------------------------|------------|---|-------|

Assim, consideramos HTA a partir de valores de PAS ≥ 140 mmHg e/ou PAD ≥ 90 mmHg.

1.2.1 Fisiopatologia da HTA

A HTA é uma patologia multifatorial. Está dependente de fatores genéticos, hemodinâmicos, ambientais, anatômicos, humorais, endócrinos, neurais e adaptativos.

A pressão arterial relaciona-se diretamente com o débito cardíaco e a resistência vascular periférica. Vários elementos interferem na regulação destes dois determinantes, nomeadamente o volume sistólico, a frequência cardíaca e a atividade de vários sistemas neurohormonais, dos quais se destacam o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), o sistema nervoso simpático (SNS), o sistema imune e os péptidos natriuréticos. (7)

Há diversos fatores ambientais que afetam estes sistemas neurohormonais, o que os liga ao desenvolvimento de HTA em indivíduos com predisposição genética. Alguns deles são a ingestão de uma quantidade exagerada de sódio, uma má qualidade de sono, elevados níveis de stress mental e consumo excessivo de álcool. A própria idade é um dos principais fatores de risco não modificáveis para a HTA, o que é explicado não só pela maior prevalência de aterosclerose, mas também pelo endurecimento das paredes arteriais. (7)

A ingestão de sódio e a sua homeostasia têm um papel importante na fisiopatologia da HTA. O sódio influencia a volemia corporal, sendo que, em condições normais, um aumento de sódio implica um aumento da volemia. Isto obriga a que haja estratégias compensatórias na tentativa de impedir a tradução deste aumento volémico em aumento tensional. Assim, o que se segue é uma diminuição da resistência vascular periférica através da produção de óxido nítrico, um vasodilatador. Caso este seja insuficiente, teremos HTA. (7)

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

O SRAA é também um sistema com um papel ativo na regulação da pressão arterial. A sua função é garantir uma volemia adequada em situações de depleção de volume, através da regulação da absorção e excreção de sódio a nível renal. (7) Este sistema é composto pela renina, produzida pelas células justaglomerulares do rim, que transforma o angiotensinogénio, produzido no fígado, em angiotensina I. De seguida, a Enzima Conversora de Angiotensina (ECA), catalisa a conversão de angiotensina I a angiotensina II. Os efeitos mediados pela angiotensina II são extremamente importantes, já que pode levar ao aumento da pressão arterial mediante diversos mecanismos: vasoconstrição (aumento da resistência vascular periférica) e aumento direto da reabsorção de sódio e água e indireto, através da estimulação da secreção de aldosterona pelo córtex suprarrenal. (8) Uma disfunção em qualquer parte destas vias pode causar um aumento da pressão arterial.

Outro sistema imprescindível na base fisiopatológica da HTA é o Sistema Nervoso Autónomo. A hipertensão arterial pressupõe um estado de desequilíbrio autonómico em muitos pacientes, o que se traduz num aumento da atividade do SNS e na diminuição da atividade do Sistema Nervoso Parassimpático. Esta hiperatividade do SNS está, como conseguinte, na origem e manutenção de uma pressão arterial aumentada. Para tal contribuem os seguintes fatores: disfunção endotelial, vasoconstrição, aumento da rigidez das paredes arteriais e proliferação das células de músculo liso vascular. (7)

Os péptidos natriuréticos, ANP (Péptido Natriurético Atrial) e BNP (Péptido Natriurético Cerebral), diminuem a pressão arterial. Para além de serem vasodilatadores, reduzem a reabsorção renal de sódio, impedindo a concomitante reabsorção de água. Como tal, uma diminuição destes péptidos pode fazer parte da etiologia de uma doença hipertensiva. (7)

O próprio endotélio pode participar no desenvolvimento de HTA. De facto, as células endoteliais são responsáveis pela produção de substâncias vasoativas, associando-se assim à regulação do tónus vascular. A substância mais importante, mencionada anteriormente, é o óxido nítrico, que tem propriedades vasodilatadoras, tal como a prostaciclina e fatores hiperpolarizantes derivados do endotélio. Porém, substâncias com capacidade de vasoconstrição são também sintetizadas pelo endotélio, das quais são exemplo a endotelina-1 (ET-1), o tromboxano A₂ e a prostaglandina A₂. É o equilíbrio entre todas estas substâncias que dita o tónus final da vasculatura corporal. Assim, uma disfunção endotelial, que pode ter como base o stress oxidativo, tem um papel indiscutível na fisiopatologia da HTA. (7)

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

Por fim, a inflamação e o sistema imune podem estar associados à gênese desta patologia. Com efeito, as citocinas libertadas num estado pró-inflamatório têm a habilidade de gerar uma nova camada vascular, a neo-íntima, o que reduz o lúmen dos vasos e promove a sua fibrose. Outro efeito das citocinas é a sua ação a nível renal, onde estimulam a síntese de angiotensinogénio e angiotensina II, com os seus respetivos efeitos a nível do balanço do sódio. (7)

Concluindo, a fisiopatologia da HTA é bastante complexa e, sem dúvida, multifatorial.

1.2.2 Efeitos da HTA no organismo

A HTA desempenha um papel independente no risco cardiovascular, através de vários mecanismos.

O aumento da pressão arterial danifica os vasos ao longo do tempo, nomeadamente a túnica íntima das artérias. O processo é iniciado através de zonas de lesão endotelial ao longo das paredes arteriais, predispondo à deposição de LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade) nas mesmas e à consequente formação de placas de aterosclerose, diminuindo o lúmen das artérias. Quando esta estenose é grave o suficiente, pode levar a isquemia das paredes ventriculares e à ocorrência de um enfarte agudo do miocárdio (EAM). (5,9)

Para além disso, o aumento da pressão arterial causa um incremento na pós-carga cardíaca, o que força o ventrículo esquerdo a contrair com mais força de forma a conseguir fornecer sangue suficiente ao resto do corpo. Ao longo do tempo, isto vai levar a uma hipertrofia do músculo cardíaco, tornando os ventrículos mais rígidos e espessos, o que, por sua vez, pode culminar em insuficiência cardíaca. (5)

Outra consequência a nível do sistema circulatório é a formação de aneurismas, dilatações de vasos sanguíneos afetados, em qualquer lugar do corpo. A rutura de um aneurisma de um dos grandes vasos (como a aorta torácica ou abdominal) pode ser fatal. (9)

Assim, algumas das consequências da HTA são eventos cardiovasculares, através dos mecanismos descritos, entre os quais o EAM, morte súbita, insuficiência cardíaca e doença arterial periférica. (6)

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

Outras doenças/condições para as quais a HTA é também um fator de risco estão listadas a seguir:

- Fibrilação auricular, devido à rigidez arterial, hipertrofia ventricular esquerda e aumento do tamanho da aurícula esquerda (10)
- Doenças valvulares (estenose ou insuficiência aórtica) (10), devido à degeneração da estrutura valvular
- Dificuldades visuais (visão desfocada ou cegueira), quando há atingimento e consequente rotura ou hemorragia dos vasos sanguíneos oculares (9)
- Acidente vascular cerebral isquémico e hemorrágico (6)
- Doença renal crónica (5)
- Declínio cognitivo, caracterizado por dificuldades na aprendizagem, défices de atenção, alterações da marcha e depressão (11)
- Demência (6)
- Disfunção erétil (12) e disfunção sexual na mulher (secura vaginal, dispareunia) (13)
- Osteoporose, principalmente nas mulheres na pós-menopausa (9)

1.2.3 Causas e tipos de HTA

Existem vários tipos de HTA arterial, sendo os mais importantes:

- **HTA secundária**, 5-10% dos casos. Alguns exemplos são citados de seguida (14):
 - Coartação da aorta
 - Doença renal parenquimatosa
 - HTA renovascular (estenose da artéria renal por aterosclerose ou secundária a displasia fibromuscular)
 - Doença renal crónica
 - Hipotireoidismo
 - Hiperaldosteronismo
 - Feocromocitoma
 - Síndrome de Cushing
 - Apneia obstrutiva do sono

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

Dentro deste tipo de HTA, inclui-se a HTA monogénica. Apesar de rara forneceu evidências quanto à fisiopatologia da HTA. Alguns exemplos são o Síndrome de Liddle e o Síndrome de Bartter. (15)

No entanto, o tipo de HTA mais importante, dada a sua prevalência, é a HTA primária ou essencial.

- **HTA primária ou essencial** - corresponde a 90-95% dos casos. Este tipo de HTA é de causa desconhecida, não sendo secundária a outras patologias. Pensa-se que a HTA essencial é multifatorial, relacionando-se com fatores ambientais/culturais (alta ingestão de sal e uma baixa ingestão de potássio), comportamentais (sedentarismo, tabagismo, ACOs, obesidade, dieta) e genéticos. Muitas vezes aparece na presença de outros fatores de risco cardiovasculares, como a idade, obesidade, diabetes e dislipidemia. (16–18)

1.3 Genética na HTA

Como referido anteriormente, existem formas monogénicas de HTA, o que ilustra o papel da genética no desenvolvimento desta doença. Apesar disso, estas formas, por serem muito raras, desempenham um papel secundário a nível de saúde pública. (15)

A importância da genética na HTA não é apoiada apenas pelas formas monogénicas da mesma; de facto, existem variações na prevalência, gravidade e idade de aparecimento da HTA entre diferentes populações, como os homens e os Afro-Americanos, que apresentam um risco superior. Isto pode estar relacionado com diferentes perfis genéticos de vários genes. (19) Para além disso, demonstrou-se que a hereditabilidade da pressão arterial ronda os 15-40% para a PAS e os 15-30% para a PAD. (15)

É fácil de perceber, dada a fisiopatologia da HTA, que esta é o resultado da interação entre vários sistemas, que atuam através de mecanismos neurais, endócrinos, vasculares e/ou renais. É de destacar a presença de múltiplos genes que, atuando em cada um dos mecanismos supracitados, é capaz de alterar, de forma mais ou menos favorável, a pressão arterial. Deste modo, confirma-se que a HTA é fruto da inter-relação entre os genes de um determinado indivíduo e da sua interação com o ambiente. (15)

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

Com o intuito de avaliar as variantes genéticas mais comumente associadas à HTA, vários GWAS (Estudos de Associação do Genoma Completo) foram realizados. Um GWAS consiste na inspeção do genoma de um conjunto de pessoas com a mesma doença ou característica, de forma a tentar encontrar variações genéticas que ocorram mais frequentemente nessas populações e que possam estar associadas ao aparecimento de certa condição. (15,20) Os GWAS fazem a genotipagem de 500,000 a 1 milhão de Polimorfismos de Nucleótido Único (SNPs) do genoma da pessoa. (15) SNPs são pares de bases em posições fixas do genoma que variam de indivíduo para indivíduo e, por isso, podem estar relacionados com maior suscetibilidade para certas doenças. Ao comparar os SNPs de hipertensos com os SNPs de não hipertensos, é possível perceber quais deles estão efetivamente associados ao fenótipo em estudo, neste caso, a HTA. (21)

Normalmente, a realização de GWAS tem como objetivo identificar variantes genéticas mais frequentes. Estas variantes são aquelas que têm uma Frequência do Alelo Menor (MAF) superior a 5%. (22) Mais de 90% da variabilidade genética encontrada entre diferentes pessoas relaciona-se com SNPs com MAFs > 1%, o que suporta que divergências a nível da pressão arterial sejam causadas por variantes mais frequentes, em vez das mais raras (MAF < 1%). (15) De facto, os GWAS apoiam-se na hipótese “doença comum-variante comum”, que afirma que as variantes mais comuns em certos genes são aquelas verdadeiramente importantes na modificação do risco de doenças complexas. (23) Como referido, os GWAS usam 500,000 a 1 milhão de SNPs, já que este número de SNPs é, regra geral, suficiente para encontrar aproximadamente 80% dos SNPs com MAF > 5%. (15)

A identificação de variantes menos frequentes (MAF 1-5%) e raras (< 1%) requer o uso de outras técnicas, como a sequenciação, que caracteriza e determina a ordem de todas as bases/nucleótidos presentes numa porção específica de ADN (Ácido Desoxirribonucleico). (22,24)

Vários estudos têm-se focado na implementação de GWAS de forma a descobrir SNPs relevantes para a HTA. Através dos mesmos, já foram descobertos mais de 1477 SNPs associados a características hipertensivas. (25)

Alguns dos SNPs relevantes descobertos através de GWAS enumeram-se de seguida (19):

- rs11014166 do gene CACNB2, que codifica uma subunidade de canais de cálcio dependentes de voltagem;
- rs2681472 do gene ATP2B1, que codifica uma enzima dependente de magnésio importante na manutenção da homeostasia do cálcio;

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

- rs12946454 do gene PLCD3, que codifica uma fosfolipase;
- rs13082711 do gene SLC4A7, que codifica um cotransportador de sódio e bicarbonato;
- rs1799945 do gene HFE, que codifica uma proteína da membrana celular envolvida na absorção de ferro;
- rs1327235 do gene JAG1, que codifica um ligando para o recetor Notch 1;
- rs1801253 do gene ADRB1, que codifica um recetor adrenérgico;
- rs4305 do gene ACE, que codifica a ECA;
- rs1173766 do gene NPR3, que codifica um recetor dos péptidos natriuréticos.

Outro tipo de estudo genético, mais clássico, baseia-se na utilização de genes candidatos. Estes estudos analisam, maioritariamente através de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase), variantes genéticas de interesse com base na sua função biológica e presumível impacto numa doença em particular. Ou seja, partindo da função daquele gene em específico, já conhecida por estudos prévios, assume-se uma possível intervenção na doença a estudar, e organizam-se estudos para testar essa hipótese (23,26)

1.4 Terapêutica da HTA

O tratamento da HTA assenta em dois pilares: alterações do estilo de vida e terapêutica farmacológica.

No que diz respeito às alterações comportamentais, realça-se a restrição de sal (<5 g/dia, o que corresponde a <2 g/dia de sódio), moderação do consumo de álcool (nos indivíduos hipertensos que bebem, limitar o consumo para 14 unidades/semana, nos homens, e 8 unidades/semana, nas mulheres), dieta equilibrada, perda de peso (em indivíduos com excesso de peso ou obesidade) e manutenção de um peso saudável (IMC entre 20 e 25 kg/m² em pessoas < 60 anos; mais alto nos mais idosos), atividade física regular (30 minutos de exercício moderado, 5-7 vezes por semana) e cessação tabágica. (6)

As classes farmacológicas mais importantes no controlo da HTA enumeram-se na seguinte tabela: (6,27-32)

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

Tabela 2. Terapêutica da HTA

| FÁRMACO | MECANISMO DE AÇÃO | VANTAGENS | EFEITOS ADVERSOS | EXEMPLOS |
|--|--|---|---|--|
| <p>Inibidores do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA): IECAs (Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina) e ARAs (Antagonistas dos Recetores de Aldosterona)</p> | <p>IECAs: inibição da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA), impedindo a formação de angiotensina II.</p> <p>ARAs: inibição da ação da angiotensina II nos recetores AT1R.</p> | <p>- São os fármacos mais eficazes na redução da albuminúria e progressão da doença renal crónica;</p> <p>- Conseguem prevenir ou regredir a lesão de órgão mediada pela HTA, como a hipertrofia ventricular;</p> <p>- Reduzem a incidência de fibrilhação auricular.</p> | <p>IECAs (28): tosse não produtiva; angioedema; declínio reversível na função renal em grupos suscetíveis (estenose da artéria renal e doença renal); hipotensão; hipercalemiemia; icterícia e hepatite.</p> <p>ARAs (29): tosse não produtiva e angioedema (muito raros); hipotensão; insuficiência renal.</p> | <p>IECAs: captopril, lisinopril, enalapril e ramipril.</p> <p>ARAs: losartan e valsartan</p> |
| <p>Bloqueadores dos Canais de Cálcio (BCC)</p> | <p>Ligam-se aos canais de cálcio tipo L presentes nas células do músculo liso vasculares e cardíacas, bloqueando-os. Eles impedem a entrada de cálcio nestas células, o que se traduz em relaxamento muscular, vasodilatação e diminuição da</p> | <p>- Muito eficazes na redução de acidentes vasculares cerebrais</p> | <p>Dihidropiridinas: cefaleias, tonturas, <i>flushing</i> e edema periférico, hiperplasia gengival.</p> <p>Não-dihidropiridinas: obstipação, bradicardia, diminuição do débito cardíaco, hiperplasia gengival.</p> | <p>BCC dihidropiridinas (amlodipina, nicardipina) e não-dihidropiridinas (verapamil e diltiazem)</p> |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | |
|---|--|---|--|---|
| | resistência vascular periférica, levando a uma diminuição na pressão arterial | | (30) | |
| Diuréticos Tiazídicos e Análogos | Inibem o cotransportador de sódio e cloro expresso no túbulo contornado distal do nefrônio, aumentando a natriurese e diminuindo o volume extracelular. Diminuem a resistência vascular periférica | - São muito eficazes na prevenção de insuficiência cardíaca | Hipocaliemia, hiponatremia, alcalose metabólica, hipercalcemia, hiperglicemia, hiperuricemia, hiperlipidemia, alergia a sulfonamidas. (31) | Hidroclorotiazida, clorotalidona, metalazona e indapamida |
| Beta- bloqueantes | Inibem a secreção de renina pelo rim e diminuem a contratilidade cardíaca, a frequência cardíaca e o débito cardíaco | | Bradicardia, aumento da resistência da via aérea, exacerbação da doença arterial periférica, hipoglicemia, hipercaliemia, depressão, fadiga, disfunção sexual, ganho de peso, alterações no metabolismo lipídico. (32) | Labetalol, nebivolol e carvedilol |

Atualmente, o tratamento da HTA segue o seguinte algoritmo:

- **HTA normal alta:** Alterações do estilo de vida e tratamento farmacológico apenas se risco cardiovascular muito alto (por exemplo, doença arterial coronária).

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

- **HTA grau 1:** Alterações do estilo de vida e tratamento farmacológico se risco cardiovascular alto ou muito alto ou se não houver controlo da HTA após 3-6 meses de alterações do estilo de vida.
- **HTA graus 2 e 3:** Alterações do estilo de vida e tratamento farmacológico imediato.

Quando se inicia terapêutica farmacológica, podemos considerar monoterapia na HTA grau 1 ou em pacientes muito idosos (>80 anos) ou muito frágeis. Excetuando esses casos, o mais frequente é optar-se por terapia dupla com IECA/ARA + BCC/diurético tiazídico. Caso esta combinação não seja suficiente para o controlo da HTA, faz-se terapia tripla com IECA/ARA + BCC + diurético tiazídico. Se com 3 fármacos (sendo um deles um diurético em dose máxima) a pressão arterial não estiver nos alvos propostos, considera-se que estamos perante uma HTA resistente. A espironolactona ou outro diurético, um beta-bloqueante ou um alfa-bloqueante devem ser adicionados à terapêutica. (6)

Capítulo 2. Objetivos

O objetivo principal deste trabalho é desenhar um projeto que avalie a variabilidade genética interindividual da resposta à hidroclorotiazida em doentes portugueses com HTA.

Para alcançar este objetivo, definimos os seguintes objetivos secundários:

- Identificação, em geral, dos genes que influenciam a resposta aos fármacos anti-hipertensores;
- Determinação do impacto desses genes na resposta aos fármacos anti-hipertensores;
- Determinação do fármaco a estudar;
- Identificação do gene candidato para o estudo da resposta terapêutica à hidroclorotiazida;
- Identificação dos polimorfismos genéticos do gene candidato para o estudo da resposta terapêutica à hidroclorotiazida.

Capítulo 3. Metodologia

Para a atualização do tema e estudo de outros projetos neste âmbito, foram consultadas *guidelines* atuais da terapêutica da HTA e foi realizada uma pesquisa bibliográfica, com recurso à plataforma PubMed, durante o período de outubro de 2022 a março de 2023. As palavras-chave utilizadas foram as seguintes: hipertensão arterial, farmacogenómica, farmacogenética, variabilidade genética, polimorfismos genéticos, hidroclorotiazida, diuréticos tiazídicos, beta-bloqueantes, bloqueadores dos canais de cálcio, inibidores da enzima conversora de angiotensina e antagonistas dos recetores de aldosterona. A pesquisa foi realizada em todas as línguas, sendo que os artigos mais relevantes para a elaboração desta dissertação encontravam-se sobretudo em inglês, havendo um em francês. Os artigos foram selecionados após leitura do seu *abstract* e as suas datas de publicação encontram-se entre 1995 e 2023. Foram ainda utilizados artigos constantes da bibliografia dos artigos inicialmente escolhidos.

Para o desenho dos *primers*, foi utilizada a base de dados *GenBank*.

Após a análise do material encontrado, foi realizada esta dissertação.

Capítulo 4. Resultados e Discussão

4.1 Identificação dos genes que influenciam a resposta aos fármacos anti-hipertensores e determinação do seu impacto

A HTA, por si só e como já referido, constitui um fator de risco para múltiplas doenças cérebro e cardiovasculares. Se a pressão arterial não estiver controlada, o risco de eventos cardiovasculares e AVCs aumenta. Como tal, é necessário entender que fatores podem contribuir para um mau controlo da HTA. Alguns dos fatores relacionadas com um pobre controlo tensional incluem a coexistência de diabetes, dislipidemia e obesidade, a idade, a raça/etnia, a severidade da doença, o tabagismo e consumo de álcool, a dieta, o exercício físico, a função renal e hepática e ainda a não adesão à terapêutica. (33,34)

É interessante notar que a própria escolha dos fármacos a utilizar é importante na redução e controlo da pressão arterial. Existe uma diferença considerável entre as diversas classes utilizadas no controlo da HTA (diuréticos tiazídicos, IECAs/ARAs, BCCs e beta-bloqueantes) e essas diferenças estendem-se a fármacos que pertencem à mesma classe, facto a ter em consideração na seleção do fármaco a usar. Para além disso, demonstrou-se que uma terapia farmacológica combinada, para além de produzir um maior efeito anti-hipertensor, vai depender da combinação escolhida, ou seja, existem associações mais eficazes que outras. As características dos indivíduos hipertensos demonstraram ser importantes, dado que, para o mesmo fármaco, encontrávamos respostas diferentes dependendo do sexo, do IMC e da etnia, por exemplo. (35)

Para além dos fatores acima enunciados, a variabilidade genética pode ser a causa de uma resposta heterogénea à mesma medicação, tendo-se demonstrado que parte da variabilidade interindividual na resposta à terapêutica anti-hipertensora reside em fatores genéticos, nomeadamente SNPs apresentados pelos pacientes hipertensos. (25,34,36)

SNPs, como mencionado previamente, são pares de bases em posições fixas do genoma que variam de indivíduo para indivíduo. (21) Os SNPs representam a principal causa de variação genética humana e estão presentes em toda a população. (15,37) Uma grande parte dos SNPs encontra-se em zonas não codificadoras do genoma, o que reflete uma

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

baixa importância clínica. No entanto, vários SNPs foram encontrados e considerados relevantes para a HTA. Efetivamente, é conhecido o interesse dos SNPs no risco de desenvolver HTA, tal como exposto na **seção 1.3: Genética na Hipertensão**. Porém, os polimorfismos são também cruciais como mediadores da ação de determinados fármacos anti-hipertensores, tanto na sua eficácia como no seu perfil de efeitos adversos. (37)

Com efeito, um número significativo de processos e de moléculas que participam na regulação da pressão arterial são influenciados por genes específicos. Muitos deles codificam proteínas, canais iônicos, transportadores e enzimas que influenciam a farmacocinética do fármaco em questão (ou seja, os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção). Assim, desta variabilidade genética pode decorrer uma alteração na atividade do fármaco, seja a sua diminuição, aumento, ausência e, em certos casos, manutenção. (38)

Para melhor compreensão da interação entre os polimorfismos genéticos e a resposta à terapêutica anti-hipertensora, enunciam-se seguidamente alguns dos SNPs identificados até à data, o fármaco que afetam e em que consiste a alteração na resposta farmacológica.

4.1.1 IECAs e ARAs

Tabela 3. Resumo de alguns estudos sobre a farmacogenômica dos IECAs e ARAs

| GENE | FUNÇÃO DO GENE | SNP | FÁRMACO | POPULAÇÃO DO ESTUDO | PRINCIPAIS RESULTADOS | REF. |
|------|--|---|---|--|--|------|
| ACE | Codifica a ECA, que converte a angiotensina I em angiotensina II | ACE (I/D) Inserção ou deleção no intrão 16 do gene ACE | Enalapril Lisinopril | Homens malaios com hipertensão essencial (n = 144) | - Pacientes com o genótipo DD demonstraram uma maior queda na pressão arterial após tratamento com enalapril ou lisinopril (SBP = 18.5 ± 14.1 mmHg, DBP = 15.29 ± 7.1 mmHg), quando comparados com pacientes com o genótipo ID (SBP = 4.1 ± 3.3 mmHg, DBP = 9.1 ± 3.5) ou II (3 ± 0.2 mmHg, DBP = 0.11 ± 6.1 mmHg) | (39) |
| | | | Ibersartan | Caucasianos com hipertensão ligeira a moderada e hipertrofia ventricular esquerda (n = 86) | - Pacientes com o genótipo II demonstraram uma redução mais significativa da PAD após tratamento com ibersartan do que pacientes com o genótipo DD ou ID | (40) |
| | | | Atenolol, lisinopril e nifedipina | | - A variante ACE (I/D) não se associa a diferenças nos efeitos anti- | (41) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | | |
|-------|--|------------------------|-----------|---|--|------|
| | | | | | hipertensores dos fármacos que bloqueiam o SRAA | |
| NOS3 | Codifica a NOS3, uma sintetase de NO, um importante vasodilatador. É de notar que parte da ação dos IECAs consiste no aumento da atividade da NOS3. (42) | rs3918188 (tagSNP) | Enalapril | Pacientes brasileiros com hipertensão essencial, com PAS ≥ 140 e ≤ 179 mmHg e PAD ≥ 90 e ≤ 109 mmHg (n = 101) | <p>- Pacientes com o genótipo CC demonstraram uma maior redução da PAS após tratamento com enalapril do que pacientes com o genótipo AA</p> <p>- Pacientes com o haplótipo TCA demonstraram uma maior redução da PAS após tratamento com enalapril do que pacientes com o haplótipo CGA</p> | (42) |
| | | -665C/T (rs3918226) | | | <p>- Não está associado a mudanças significativas na pressão arterial após tratamento com enalapril 10mg/dia</p> <p>- Pacientes com os genótipos CT e TT (i.e, com o alelo T) tratados com enalapril 20 mg/dia demonstraram uma redução mais acentuada na PAS do que pacientes com o genótipo CC</p> | |
| BDKRB | Codifica o | -58C/T | Enalapril | Pacientes | - Os portadores do genótipo TT têm | (43) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | | |
|--------|---|-------------|-----------|--|---|------|
| 2 | <p>recetor de bradicinina B2. Os efeitos dos IECAs mediados pelo óxido nítrico (NO) dependem, em parte, do BDKRB2. (43)</p> | (rs1799722) | | <p>brasileiros com hipertensão ligeira a moderada (n = 106)</p> | <p>uma PAS e PAD basais mais baixas - Demonstrou-se que o genótipo TT é mais frequente em pacientes com pior resposta ao enalapril, em comparação com o genótipo CC</p> | |
| PRKCA | <p>Codifica a PKC-alfa, que através de vários mecanismos, contribui para a vasoconstrição induzida pela angiotensina II. (44)</p> | rs16960228 | Enalapril | <p>Pacientes brasileiros com hipertensão essencial, com PAS ≥ 140 e ≤ 179 mmHg e PAD ≥ 90 e ≤ 109 mmHg (n = 104)</p> | <p>- O genótipo GG está associado a uma maior redução da PAS e PAD em pacientes tratados com enalapril do que os genótipos GA e AA</p> | (44) |
| CAMK1D | <p>Codifica a proteína CaMK1D, presente no córtex glomerular. A sua ativação é mediada pela angiotensina II e pelo K⁺, através do aumento de Ca²⁺. A proteína CaMK1D aumenta a transcrição do gene CYP11B2 e a produção de aldosterona.</p> | rs10752271 | Losartan | <p>Caucasianos com hipertensão ligeira a moderada (n = 372)</p> | <p>- Pacientes com o genótipo GG têm melhores respostas anti-hipertensoras ao losartan do que pacientes com os genótipos AA e AG</p> | (45) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | | |
|--|------|--|--|--|--|--|
| | (45) | | | | | |
|--|------|--|--|--|--|--|

REF. Referência

4.1.2 Bloqueadores dos Canais de Cálcio (BCC)

Tabela 4. Resumo de alguns estudos sobre a farmacogenômica dos BCC

| GENE | FUNÇÃO DO GENE | SNP | FÁRMACO | POPULAÇÃO DO ESTUDO | PRINCIPAIS RESULTADOS | REF. |
|--------|--|-----------------------|-----------|---|--|------|
| CACNB2 | Codifica uma das 5 subunidades dos canais de cálcio tipo L, dependentes de voltagem - a subunidade β -2, responsável pela expressão da subunidade α -1, onde se ligam os BCC (46) | rs2357928 | Verapamil | Pacientes caucasianos (n = 2284), hispânicos (n = 2563) e afro-americanos (n = 654) | - Pacientes caucasianos e hispânicos com o genótipo GG tratados com verapamil demonstraram um maior risco de eventos adversos cardiovasculares do que pacientes com o genótipo AA ou AG tratados com verapamil | (46) |
| | | | Verapamil | Pacientes do ensaio clínico INVEST-GENES (<i>INternational Verapamil SR Trandolapril Study</i>) com hipertensão e doença coronária estável (n = 1032) | - O risco de eventos cardiovasculares de pacientes tratados com verapamil demonstrou ser mais elevado em pacientes com o genótipo GG | (47) |
| KCNMB1 | Codifica a subunidade β -1 dos canais BK (canais de potássio de grande condutância, dependentes de Ca^{2+} e voltagem). | Glu65Lys (rs11739136) | Verapamil | Pacientes do ensaio clínico INVEST-GENES (n = 5979) | - Pacientes com a variante Lys65 demonstraram atingir um controlo da sua pressão arterial mais rápido que pacientes com o genótipo Glu65Glu (1.47 meses vs 2.83 | (48) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | | |
|---------|--|-----------------------|-----------------------------|---|---|------|
| | Os canais BK aumentam a sensibilidade ao Ca ²⁺ , diminuem a excitabilidade celular e a contração do músculo liso, através de mecanismo de feedback negativo nos canais tipo L de cálcio. (48) | Val110Leu (rs2301149) | | | meses) - Pacientes com a variante Lys65 necessitaram de um menor número de fármacos para controlar a sua PA - Pacientes com HTA e doença arterial coronária portadoras da variante Leu110 demonstraram ter um risco menor de eventos cardiovasculares, se tratados com verapamil | |
| CACNA1D | Codifica a subunidade α1D, uma subunidade formadora de poros dos canais de cálcio tipo L (estes canais de cálcio podem ter 1 de 4 subunidades formadoras de poros - α1C/D/S/F) (49) | rs312481G>A | BCC dihidropiridinas (dBCC) | Pacientes japoneses com hipertensão essencial (n = 161) | - Assistiu-se a uma maior redução da PAS e PAD em pacientes tratados com dBCC com o genótipo GG - Houve uma maior redução da PAS e PAD em pacientes tratados com dBCC se apresentassem simultaneamente vários SNPs, nomeadamente: CACNA1C 527974 GA+AA-CACNA1D rs312481 GG; CACNA1C 529874 GA+AA-CACNA1D rs3774426 CC; CACNA1C 527974 GA+AA-CACNA1D rs312481 GG-CACNA1D | (49) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | | |
|-------------|---|---|-----------|--|--|------|
| | | | | | rs3774426 CC. Este achado é válido para os resultados dos dois estudos seguidamente apresentados. | |
| | | rs3774426C> T | | | - Assistiu-se a uma maior redução da PAS e PAD em pacientes tratados com dBCC com o genótipo CT+TT | |
| CACNA1 C | Codifica a subunidade $\alpha 1C$, uma subunidade formadora de poros dos canais de cálcio tipo L (49) | rs527974G>A | | | - Assistiu-se a uma maior redução da PAS e PAD em pacientes tratados com dBCC com o genótipo GA+AA | |
| CYP3A5 | Codifica a enzima citocromo P450 (CYP) 3A5, expressa no fígado, intestino, pulmão, rim e próstata humanos. As enzimas CYP3A metabolizam o cortisol em 6Beta-hidrocortisol, que regula o transporte renal de Na^+ e poderá estar | CYP3A5*3 (6986A>G) CYP3A5*6 (14690G>A) | Verapamil | Pacientes caucasionos, afro-americanos e hispânicos do ensaio clínico INVEST-GENES (n = 537) | - Pacientes afro-americanos e hispânicos com 2 alelos funcionais demonstraram uma menor redução na PAS após tratamento com verapamil do que pacientes pretos e hispânicos com 1 ou nenhum alelo funcional. Isto não foi demonstrado nos pacientes caucasionos. - A PAD não demonstrou sofrer alterações | (50) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | | |
|--------|---|---------------------|------------|--|--|------|
| | implicado na reabsorção de Na ⁺ e água.(50) | | | | consoante o número de alelos funcionais em nenhuma raça | |
| CYP3A4 | Codifica a enzima citocromo P450 (CYP) 3A4, responsável por grande parte do metabolismo dos fármacos anti-hipertensores | T16090C (rs2246709) | Amlodipina | Pacientes Afro-Americanos com nefrosclerose hipertensiva precoce do estudo AASK (<i>African American Study of Kidney Disease and Hypertension</i>) (n = 164) | - Pacientes com o alelo C (genótipo CC ou TC) demonstraram ter o dobro da probabilidade de atingir uma Pressão Arterial Média (PAM) alvo de 107 mmHg quando tratados com amlodipina do que pacientes com o genótipo TT | (51) |
| | | A-392G (rs2740574) | | | - Mulheres com o alelo A (genótipo AA ou AG) tratadas com amlodipina demonstraram atingir PAM alvo de 107 mmHg mais facilmente que homens com genótipos idênticos | |

REF. Referência

4.1.3 Beta-bloqueantes

Tabela 5. Resumo de alguns estudos sobre a farmacogenômica dos beta-bloqueantes

| GENE | FUNÇÃO DO GENE | SNP | FÁRMACO | POPULAÇÃO DO ESTUDO | PRINCIPAIS RESULTADOS | REF. |
|-------|--|---|------------|--|---|------|
| ADRB1 | Codifica o recetor β 1-adrenérgico (ADRB1), um recetor acoplado à proteína-G (52,53) | Arg389Gly (rs1801253) Pode ocorrer substituição G \rightarrow C no nucleótido 1165, o que resulta na substituição de Arg por Gly no códon 389 (52) | Metoprolol | Caucasianos (n = 29), Afro-Americanos (n = 10) e Hispânicos (n = 1) com hipertensão* não tratada (por pelo menos 2 semanas) * PAD \geq 95 e \leq 115 mmHg | - Nos pacientes com o genótipo Arg/Arg verificou-se uma redução mais acentuada da PAD diária do que em pacientes portadores de Gly389 (principalmente devido à redução observada na PAD diurna) após o tratamento com metoprolol - Não se observaram diferenças relacionadas ao genótipo na PAD e PAS noturnas | (52) |
| | | | Carvedilol | Pacientes chineses com hipertensão essencial não complicada e nunca tratada ou sem tratamento anti-hipertensor há pelo menos 3 meses (n = 82) | - Nos pacientes homocigotos para Arg389, houve uma redução 4x maior na PAD do que nos pacientes com o alelo Gly389 após o tratamento com carvedilol - A PAS também sofreu uma maior redução nos pacientes homocigotos para Arg389 após início de terapêutica com | (54) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | |
|--|--|------------|--|---|------|
| | | | | carvedilol | |
| | | Metoprolol | Pacientes com hipertensão essencial hospitalizados na China (First Hospital of Longyan, Fujian) (n = 261) | - Após 12 semanas de tratamento com metoprolol, pacientes homocigotos para Arg389 demonstraram uma melhor resposta ao metoprolol do que pacientes heterocigotas | (53) |
| | Arg389Gly (rs1801253) e Ser49Gly (rs1801252) | Bisoprolol | Caucasianos (homens finlandeses com HTA*) (n =233) * PAD \geq 95 mmHg ou uso de medicação anti-hipertensora | - Pacientes com o genótipo Ser49Ser demonstraram uma melhor resposta ao bisoprolol do que pacientes com o genótipo Ser49Gly - Pacientes homocigotos Gly389Gly exibiram melhor resposta ao carvedilol do que pacientes homocigotos Arg389Arg, contrariamente ao que foi observado noutros estudos | (55) |
| | Haplótipo Ser49-Arg389 | Atenolol | Pacientes caucasianos, hispânicos e afro-americanos do estudo INVEST-GENES, com HTA e doença arterial coronária documentada (n = 2973) | - O haplótipo Ser49-Arg389 está associado a um aumento da mortalidade cardiovascular e não cardiovascular - Este aumento de mortalidade verificou-se nos pacientes que | (56) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | |
|--|----------------------|-----------------|---|--|------|
| | | | | fizeram tratamento com verapamil, mas não com atenolol, o que sugere que o atenolol equilibra o risco associado ao haplótipo | |
| | Ser49Gly (rs1801252) | Beta-bloqueante | Pacientes do ensaio clínico SPS3-GENES (<i>SPS3-Genetic Substudy</i>) com hipertensão (n = 926) | <p>- Portadores do alelo Gly49 tratados com beta-bloqueantes tiveram uma maior incidência de eventos cardiovasculares maior do que aqueles sem este alelo</p> <p>- O risco de eventos cardiovasculares maior e AVC isquêmico demonstrou ser superior em portadores do alelo Gly49 tratados com beta-bloqueantes, comparativamente a pacientes com este alelo, mas sem receber tratamento com beta-bloqueantes</p> <p>- Portadores do alelo Gly49 tratados com beta-bloqueantes necessitavam, em geral, de mais medicação anti-hipertensiva, comparando com portadores deste alelo que tomavam outros fármacos anti-hipertensivos</p> | (57) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | | |
|--------------|---|--|------------------------|---|--|------|
| SLC25 A31 | <p>Codifica a ADP/ATP translocase 4. Esta translocase cataliza a troca de ATP e ADP através da membrana mitocondrial, inibindo a apoptose. (58)</p> | rs201279313 | Metoprolol Atenolol | Pacientes afro-americanos (n = 318) | <p>- Pacientes heterozigotos demonstraram uma maior redução da PAD após tratamento com atenolol e metoprolol do que pacientes com o genótipo wild type</p> | (58) |
| ACY3 | <p>Codifica a amoniacilase III, que está presente nos túbulos proximais do rim e também no coração e cérebro. (59)</p> | rs2514036, rs948445, e rs2514037 | Bisoprolol | Homens caucasianos com hipertensão moderada (n = 228) | <p>- Todas as variantes anunciadas têm associação com a resposta tensional ao bisoprolol</p> | (59) |

REF. Referência

4.1.4 Diuréticos Tiazídicos

Tabela 6. Resumo de alguns estudos sobre a farmacogenómica dos diuréticos tiazídicos

| GENE | FUNÇÃO DO GENE | SNP | FÁRMACO | POPULAÇÃO DO ESTUDO | PRINCIPAIS RESULTADOS | REF. |
|------|---|--------------------|--------------------------|---|---|------|
| ADD1 | Codifica a alfa-aducina, uma proteína do citoesqueleto que modula o transporte iónico (36), nomeadamente a expressão e atividade da bomba Na ⁺ -K ⁺ ATPase na superfície das células renais (60,61) | Gly460Trp (rs4961) | Hidroclorotiazida (HCTZ) | Caucasianos (pacientes franceses e italianos) com hipertensão essencial (n = 58) | - Os heterozigotos Gly/Trp têm níveis de renina basal plasmática menores que os homozigotos Gly/Gly - A resposta a 2 meses de tratamento com HCTZ foi melhor nos heterozigotos Gly/Trp do que nos homozigotos Gly/Gly (resposta ao tratamento definida como diminuição da PAM em pelo menos 15 mmHg) | (62) |
| | | | HCTZ | Caucasinos (pacientes do Norte de Sardenha) com hipertensão essencial nunca tratada (n = 268) | - A taxa transporte de Na ⁺ através da membrana celular foi maior em pacientes com pelo menos um alelo 460Trp, diminuindo o Na ⁺ intracelular - Houve uma maior queda na PAM após 8 semanas de tratamento com HCTZ nos pacientes com pelo menos um alelo 460Trp | (60) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | | |
|-------------|--|---|---------------------------|---|---|------|
| | | | HCTZ | <p>Caucasianos (pacientes dos que participaram no estudo de Rotterdam e que têm hipertensão*) (n = 396)</p> <p>* pelo menos uma medição com PAS > 160 mmHg e/ou PAD > 95 mmHg e/ou uso de um fármaco anti-hipotensor em monoterapia</p> | <p>- O polimorfismo não influencia a PAS e a PAD após o uso de diuréticos</p> | (63) |
| ADD1 ACE | <p>Ver gene ADD1 acima</p> <p>O gene ACE codifica a ECA (64)</p> | <p>ADD1: Gly460Trp (rs4961)</p> <p>ACE: I/D rs1799752</p> | HCTZ | <p>Caucasianos (pacientes italianos) com hipertensão essencial ligeira (>140/95 mmHg, mas < 160/110 mmHg) nunca tratada (n = 87)</p> | <p>- Os pacientes com melhor resposta após 2 meses de tratamento com HCTZ foram aqueles com pelo menos um alelo I e/ou um alelo 460Trp (resposta ao tratamento definida como diminuição da PAM em pelo menos 15 mmHg)</p> <p>- Pacientes com o genótipo Gly460Gly + DD apresentaram piores respostas à HCTZ</p> | (61) |
| NEDD4L | <p>O NEDD4L é uma ubiquitina-ligase cuja função é remover o ENaC, um</p> | <p>rs4149601</p> <p>Pode haver a substituição G → A no último</p> | Diuréticos em monoterapia | <p>Caucasianos (pacientes suecos do NORDIL (<i>Nordic Diltiazem Study</i>) com hipertensão (PAD ≥ 100</p> | <p>- Pacientes com alelo G (GG ou GA) tiveram uma maior redução na PAS e na PAD após 6 meses de tratamento com diuréticos em</p> | (65) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | | |
|--|---|---|-------------|---|--|-------------|
| | <p>canal de Na⁺ situado no nefrônio distal. O NEED4L tem 3 domínios: C2 (domínio de ligação aos lípidos dependente de Ca²⁺), WW (domínio rico em triptofano) e Hect (65,66)</p> | <p>nucleótido do exão 1, que leva a um splicing alternativo no alelo A com eliminação do domínio C2. (65)</p> | | <p>mmHg em pelo menos 2 ocasiões) (n = 5152)</p> | <p>monoterapia, quando comparados aos pacientes sem alelo G (homozigotos AA) - Pacientes com alelo G (GG ou GA) demonstraram um melhor outcome cardiovascular, menor risco relativo de EAM e de enfarte cerebral quando comparados a pacientes homozigotos AA</p> | |
| | | <p>rs4149601, rs292449</p> | <p>HCTZ</p> | <p>Caucasianos e Afro-Americanos (pacientes do ensaio clínico PEAR (<i>Pharmacogenomic Evaluation of Antihypertensive Responses</i>) com hipertensão essencial ligeira a moderada* entre os 17 e 65 anos) (n = 768) * PAD > 85 mmHg em casa e > 90 mmHg no consultório</p> | <p><u>rs4149601:</u> - Observou-se uma maior redução na PAS e PAD de pacientes caucasianos com o alelo G (GG, GA) do que pacientes com o genótipo AA, quando tratados com HCTZ. Isto não foi demonstrado em Afro-Americanos <u>rs292449:</u> - Observou-se uma maior redução na PAS e PAD de pacientes caucasianos com o alelo C (CC, CG) do que pacientes com o genótipo GG, quando tratados com HCTZ. Isto não foi demonstrado em Afro-Americanos</p> | <p>(66)</p> |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | | |
|---------|---|----------|---|---|---|------|
| | | | | | <p><u>Estudo de haplótipos com rs4149601 e rs292449:</u></p> <p>- Pacientes com 1 ou 2 cópias do haplótipo GC (alelos associados a uma melhor resposta anti-hipertensora à HCTZ) demonstraram maior redução na pressão arterial do que pacientes com o cópias do haplótipo GC</p> | |
| ALDH1A2 | <p>Codifica uma enzima pertencente à família de proteínas aldeído desidrogenase, que cataliza a transformação de retinaldeído em ácido retinóico. (67) O ácido retinóico, ou vitamina A, é essencial para o desenvolvimento dos rins e do coração. (68)</p> | rs261316 | <p>Combinação entre um diurético tiazídico e um beta-bloqueante</p> | <p>Participantes caucasianos do ensaio clínico PEAR (n = 314)</p> | <p>- A presença do alelo T está associada a uma maior probabilidade de ter uma pressão arterial descontrolada em doentes tratados com uma combinação entre um diurético tiazídico e um beta-bloqueante.</p> | (68) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | | |
|-------|---|--|------|---|---|------|
| BEST3 | Codifica a proteína BEST3, uma proteína transmembrana que atua como um canal de Cl ⁻ ativado por Ca ²⁺ . Participa na regulação da contração do músculo liso.(69) | rs61747221 mutação missense (G>A) no locus chr12q15 | HCTZ | Pacientes afro-americanos (n = 242) e caucasianos (n = 119) dos estudos PEAR (n= 196) e GERA (<i>Genetic Epidemiology Research on Aging</i>) (n= 165) | - Os portadores do alelo A (i.e. portadores da variante; genótipos AA ou AG) demonstraram responder melhor à HCTZ do que pacientes com genótipo GG | (69) |
| PRKCA | Codifica a proteína PRKCA, que participa, a título de exemplo, na sinalização do cálcio e na contração do músculo liso. (70) | rs16960228 | HCTZ | Caucasianos participantes do estudo PEAR (n = 228) | - Pacientes com a variante alélica A (i.e., genótipo AA ou AG) demonstraram uma maior redução da pressão arterial após tratamento com HCTZ do que pacientes com o genótipo GG - Pacientes com a variante alélica A demonstraram ter uma expressão basal superior de PRKCA do que pacientes com o genótipo GG | (70) |
| VASP | Codifica a VASP (vasodilator-stimulated phosphoprotein), presente nas células | rs10995 | HCTZ | Caucasianos participantes do estudo PEAR* (n = 228) * pacientes com HTA ligeira a moderada (PAD | - Pacientes com boas respostas à HCTZ demonstraram ter uma expressão superior de mRNA de VASP - Pacientes com o genótipo GG tinham | (71) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | | |
|----------------|---|---|------|---|--|------|
| | do músculo liso, no endotélio e nas plaquetas. Participa na regulação da contração do músculo liso e da TA (71) | | | ≤ 110 e PAS ≤ 180) | uma expressão superior de mRNA de VASP do que pacientes com os genótipos GA e AA e, conseqüentemente, melhores respostas à HCTZ | |
| Cromossoma 12q | Contém os genes LYZ, YEATS4 e FRS2 | Haplótipo constituído por: rs317689, rs315135 e rs7297610 (T → C) | HCTZ | Pacientes afro-americanos (n = 194) e caucasianos (n = 195) | - O haplótipo ATC está associado a uma melhor resposta à HCTZ, contrariamente aos haplótipos ACT e ATT | (72) |
| eNOS | Codifica a sintetase de NO endotelial | Glu298Asp | HCTZ | Pacientes afro-americanos (n = 289) e caucasianos (n = 290) com hipertensão essencial | - O alelo Asp298 está associado a reduções mais significativas da PAS e PAD em pacientes tratados com HCTZ | (73) |
| GNB3 | Codifica a subunidade Beta-3 da proteína G (76) | C825T (rs5443) Polimorfismo do gene GNB3 que origina uma variante da proteína G-β3 associada a maior transdução do sinal via proteínas G | HCTZ | Pacientes afro-americanos (n = 197) e caucasianos (n = 190) com hipertensão essencial | - Pacientes com o genótipo TT tiveram reduções mais acentuadas da PAS e da PAD quando tratados com HCTZ (16.3 e 10.5 mmHg, respetivamente) do que pacientes com o genótipo TC (13.6 e 7.8 mmHg) e CC (10.2 e 5.9 mmHg) | (74) |
| | | | HCTZ | Caucasianos (n = 39) | - Pacientes com o genótipo TT demonstraram ter | (75) |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

| | | | | | | |
|--|--|--|------|---|---|------|
| | | sensível à toxina <i>pertussis</i> . (74,75) | | | uma redução maior da PAS e da PAD quando tratados com diuréticos | |
| | | | HCTZ | Pacientes afro-americanos (n = 291) e caucasianos (n = 294) com hipertensão essencial | - Não foi demonstrada uma associação entre este polimorfismo e a resposta à HCTZ. | (76) |

REF. Referência

A influência dos polimorfismos genéticos na resposta à terapêutica da HTA justifica a importância da farmacogenômica, que estuda a interação entre o genoma humano (e as suas variações) e a resposta à farmacoterapia instituída. (38) Isto permitirá a escolha da terapia que é, não só, mais eficaz naquele doente em particular, mas que acarreta também um menor risco de efeitos adversos. (38,77) A utilização de uma terapêutica personalizada à constituição genética de um indivíduo aumenta a probabilidade de atingir o controlo da pressão arterial, havendo estudos que demonstram uma melhoria de 6% na eficácia e segurança dos fármacos quando usados com base em dados genéticos. (25,37) Para além disso, ao perceber que genes influenciam a resposta dos fármacos anti-hipertensores, estamos um passo mais próximos de criar novos fármacos que tenham como alvo as vias codificadas pelos genes estudados. O interesse desta premissa é a aproximação de uma medicina de precisão, em que adaptamos o tratamento às características, neste caso genéticas, do paciente. (25)

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

4.2 Projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual da resposta à hidroclorotiazida em doentes portugueses com HTA

Com efeito, neste trabalho propõe-se a realização de um estudo cujo principal objetivo é a avaliação da variabilidade genética interindividual da resposta a um dos fármacos anti-hipertensores em doentes com HTA.

Para a realização deste estudo, estabeleceram-se as seguintes etapas:

1. Determinação do fármaco a estudar:

O fármaco escolhido foi a hidroclorotiazida. Esta escolha teve alguns motivos fundamentais: é um dos fármacos clássicos usado na terapêutica da HTA; para além disso, a sua utilização é muito baseada na medicina pela evidência e permite-nos garantir que através das bases de dados, temos um número significativo de doentes para fazer este estudo.

2. Identificação do gene candidato:

O gene candidato escolhido foi o gene GNB3.

Este gene localiza-se no cromossoma 12p13.31 e a sua expressão é ubiqüitária: expressa-se nos ovários, no cérebro e no endométrio, no coração e no rim, a título de exemplo. (78)

Como exposto acima, este gene codifica a subunidade β_3 da proteína G. (74) As proteínas G são constituídas por três subunidades: α , β e γ . A subunidade α determina a sua classificação. Estas proteínas funcionam como mediadores de resposta: recebem sinais por parte de recetores da membrana celular e fazem a sua transdução em respostas intracelulares. (79)

3. Identificação do polimorfismo a estudar:

O polimorfismo selecionado foi o C825T (rs5443). Este polimorfismo resulta da substituição do aminoácido citosina pela timina na posição 825 do exão 10 do gene GNB3,

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

levando a um *splicing* alternativo que culmina na perda de 41 aminoácidos. (80) Forma-se assim uma variante da proteína G- β 3 associada a maior transdução do sinal via proteínas G sensíveis à toxina *pertussis*. (74,75) Este processo pode traduzir-se numa maior reatividade vascular e numa proliferação mais acentuada das células musculares cardíacas e lisas. (81) Esta alteração vascular por parte do polimorfismo selecionado pode representar a forma como interage com a hidroclorotiazida, cujo mecanismo de ação inclui a diminuição da resistência vascular periférica (31).

A identificação deste polimorfismo surgiu após a demonstração de que cerca de 50% dos pacientes com hipertensão essencial apresentavam uma maior atividade da bomba sódio-protão (NHE) nas suas células sanguíneas do que pacientes normotensos. Esta disparidade na atividade da NHE manteve-se em células imortalizadas, como os linfoblastos. Excluíram-se como causas a sobreexpressão da NHE e uma alteração estrutural na sua conformação, levantando a hipótese de que a diferente função da NHE se relaciona com uma maior transdução intracelular dos sinais, mediada pela proteína G. Apesar disso, demonstrou-se que este aumento da atividade estava restrito a proteínas G sensíveis à toxina *pertussis*. (82,83) Após um estudo mais detalhado, foi identificado um polimorfismo C/T na posição nucleotídica 825 no ADN do gene GNB3 das células de indivíduos com HTA. Este polimorfismo origina uma variante da proteína G- β 3 (GNB3-s), associada a uma maior ativação da proteína G sensível à toxina *pertussis*. (82)

O polimorfismo C825T do gene GNB3 tem associação com a resposta farmacológica de várias substâncias. Para além de ter demonstrado afetar a resposta aos diuréticos tiazídicos (74,75) comprovou-se que influencia a resposta aos antidepressivos em doentes com Perturbação Depressiva Major (PDM). (84) De facto, pacientes com PDM portadores deste polimorfismo exibem respostas mais favoráveis aos antidepressivos e uma maior taxa de remissão induzida pelos mesmos. (84)

A presença deste polimorfismo, para além de interferir na variabilidade terapêutica, foi correlacionada a um maior risco de desenvolver várias doenças. Uma delas é a Diabetes Mellitus tipo 2 e as suas complicações, como a neuropatia diabética. De facto, já foi demonstrada uma ligação entre a presença do alelo T e uma maior suscetibilidade a esta patologia em diversas populações. (80)

Para além disso, este polimorfismo do gene GNB3 associa-se a uma maior incidência de doença cardiovascular. (85) Um estudo demonstrou que o genótipo TT funciona como um preditor de eventos coronários, sendo o risco muito maior do que o dos indivíduos com o genótipo CC. (85) A presença do polimorfismo C825T mostrou ser um fator de risco

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual independente para doença e eventos coronários, ou seja, não dependia da existência de calcificação coronária ou outras comorbilidades, como DM2, HTA ou obesidade. (85)

Por fim, um estudo recente revelou que a presença do genótipo TT em pacientes infetados com SARS-CoV-2 funciona como um fator protetor independente. (86) Isto deve-se a uma maior ativação dos linfócitos T e, conseqüentemente, uma maior resposta mediada por estas células. (86)

Devido ao facto de ser o polimorfismo mais estudado do gene GNB3 e aos seus conhecidos efeitos, optámos pela escolha deste polimorfismo de forma a replicar e confirmar na população portuguesa os resultados expostos em estudos anteriores.

4. Identificação da população do estudo e determinação das suas características

3.1. Número da população: 150. Não existem estudos sobre a prevalência do polimorfismo selecionado na população.

3.2. Métodos de seleção: A identificação da população a estudar deverá ser feita com base nos processos clínicos de doentes seguidos em consulta de Medicina Interna no CHUCB (Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira).

3.3 Critérios de inclusão e exclusão

Tabela 7. Critérios de inclusão e de exclusão

| Critérios de inclusão | Critérios de exclusão |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">- Indivíduos diagnosticados com hipertensão arterial essencial ligeira a moderada (PAS \geq 140 e $<$180 mmHg e PAD \geq 90 e $<$110 mmHg)- Indivíduos com idade \geq 18 anos- Indivíduos caucasianos- Indivíduos seguidos em consulta de Medicina Interna no CHUCB- Indivíduos que estejam a tomar HCTZ, em monoterapia ou associada a outros fármacos anti-hipertensores ou indivíduos que tenham tomado HCTZ nos últimos 5 anos. | <ul style="list-style-type: none">- Indivíduos diagnosticados com hipertensão arterial secundária- Indivíduos com idade $<$ 18 anos |

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

Após a identificação dos indivíduos elegíveis para o estudo, proceder-se-á à sua divisão em dois grupos: Indivíduos a tomar HCTZ ou indivíduos que tenham tomado HCTZ nos últimos 5 anos.

3.4. Características a avaliar

A avaliação e descrição das seguintes características seria necessária, dado que podem ser fatores confundidores:

- Em contexto de consulta de Medicina Interna, avaliar-se-ão os seguintes: IMC, Sexo, Idade, Fumadores (sim/não/ex-fumadores), Dieta para HTA (baixa em sal), EAM prévio, uso de nitratos, uso de estatinas, uso de AINEs (Anti-Inflamatórios Não Esteroides);
- Terão de ser efetuadas análises sanguíneas para obtenção dos seguintes: Ratio entre colesterol total/HDL.

5. Determinação do genótipo da população

A avaliação genética será efetuada através de uma amostra sanguínea colhida no início do estudo. Será realizada uma sequenciação genética do gene candidato escolhido, o gene GNB3, com o propósito de estudar o polimorfismo C825T (rs5443) e investigar a presença de outros polimorfismos ainda não descobertos que possam influenciar o controlo da pressão arterial.

Métodos

1. Recolha de uma amostra de sangue total em tubo de EDTA
2. Extração de ADN genómico a partir da amostra
3. Para a análise do polimorfismo rs5443 (C825T) do gene GNB3 por PCR serão utilizados os Primers com as seguintes sequências (87): *Forward*: 5'-TGA CCC ACT TGC CAC CCG TGC-3'; *Reverse*: 5'-GCA GCA GCC CAG GGC TGG C-3'
4. A amostra será preparada para a posterior sequenciação dos segmentos amplificados (ver anexo)

6. Análise da resposta à HCTZ consoante o genótipo estudado:

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

No grupo de doentes a tomar HCTZ, dever-se-á:

- Determinar a prevalência do polimorfismo C825T (rs5443)
- Avaliar se doentes com o polimorfismo mencionado apresentam:
 - A toma de um maior número de fármacos anti-hipertensores;
 - Registos de medição da pressão arterial dos últimos 5 anos que exibam um perfil tensional pouco controlado;
 - Valores basais da pressão arterial mais elevados.

No grupo de doentes a que tomou HCTZ nos últimos 5 anos, dever-se-á:

- Determinar a prevalência do polimorfismo C825T (rs5443);
- Determinar se os indivíduos em quem foi descontinuada a HCTZ tinham o polimorfismo em estudo, que tornaria a terapêutica menos eficaz; caso contrário, perceber a razão da troca de medicação anti-hipertensora (p.ex: preferência do utente, efeitos adversos relatados pelo utente, preferência do médico).

Análise estatística

Para a análise dos resultados, analisar-se-á o desequilíbrio de Hardy-Weinberg. Será realizada a análise do Chi quadrado para avaliar as diferenças de distribuição por alelo e por genótipo entre os indivíduos da população. Para calcular o risco relativo aos efeitos adversos, utilizar-se-á o Odds Ratio no intervalo de confiança de 95%. Para tal, irá fazer-se o uso da análise de regressão logística.

Informações relevantes para os participantes:

- 1. Direitos dos participantes:** desistir da participação no presente estudo a qualquer momento; ter acesso à informação obtida através das várias análises (sanguíneas e genéticas) e à solicitação da sua remoção; obtenção de uma cópia do Consentimento Informado.
- 2. Potenciais riscos:** não foram identificados potenciais riscos para os participantes do estudo.
- 3. Potenciais benefícios:** permitir a otimização da terapêutica individual.

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

4. **Informação a ser recolhida:** IMC, sexo, idade, hábitos tabágicos, dieta para HTA, antecedentes pessoais (EAM prévio), medicação habitual, ratio entre colesterol total/HDL, sequenciação genética do gene GNB3.
5. **Quem tem acesso à informação:** investigador principal (Dr. Miguel Castelo Branco) e estudante do Mestrado Integrado em Medicina
6. **Armazenamento da informação:** base de dados do CHUCB.
7. **Armazenamento da amostra sobranete:** apenas o tempo suficiente para se repetir o doseamento, caso necessário. Será destruída assim que o trabalho ficar completo.
8. **Informações dos investigadores e supervisores:** ver Anexo 1.

Capítulo 5. Conclusão e Perspetivas Futuras

Existem diversos fatores que influenciam a resposta individual aos fármacos anti-hipertensores. Um destes fatores consiste nas variações genéticas existentes em genes associados ao mecanismo de ação, metabolização, excreção, entre outros, destes mesmos fármacos.

Torna-se, assim, cada vez mais pertinente o estudo dos polimorfismos genéticos já descritos, de forma a perceber a relevância do seu impacto na resposta aos anti-hipertensores. É crucial, para além disso, a determinação da prevalência desses mesmos polimorfismos genéticos numa população, já que estes podem ser responsáveis pela resistência à terapêutica instituída. É, ainda, de crescente importância a descoberta e o estudo de novos polimorfismos, seja em genes já correlacionados a alterações na resposta aos fármacos, seja em genes nunca antes associados.

Como tal, a realização de estudos populacionais a nível nacional que tenham como foco a determinação da prevalência de determinados polimorfismos e a descoberta de novas variações genéticas relevantes é cada vez mais uma necessidade. Através deste tipo de estudos é possível determinar o genótipo dos indivíduos hipertensos, um passo essencial para se poder proceder à descontinuação de medicação anti-hipertensora que, devido aos polimorfismos detetados, poderá não ser a mais eficaz. Esta é uma das formas mais importantes de otimizar a terapêutica, individualizando-a consoante o perfil genético da pessoa em questão.

O estudo proposto segue esse mesmo propósito. É fundamental estender os estudos sobre a farmacogenómica a outros tipos de população, já que a grande maioria é realizada em população Americana, Afro-Americana, Japonesa e dos Países Nórdicos. Efetivamente, a prevalência dos polimorfismos genéticos mais significativos pode ser bastante diferente da estimada para as populações enumeradas, e o próprio impacto do polimorfismo a nível de resposta tensional pode também variar.

No futuro, este tipo de estudos serão cada vez mais preponderantes. Caminhamos para uma medicina personalizada, e a análise do genoma individual é, sem dúvida, uma das formas de a praticar.

Bibliografia

1. World Health Organization. Hypertension [Internet]. [cited 2023 Apr 2]. World Health Organization: WHO;2023. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>
2. Barreto M, Gaio V, Kislaya I, Antunes L, Rodrigues AP, Silva AC, et al. 1º Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico: Estado de Saúde - INSEF 2015. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. 2016.
3. Páginas - Inicio [Internet]. [cited 2023 Apr 2]. Available from: <http://www.insef.pt/Portugues/Paginas/Inicio.aspx>
4. Instituto Nacional de Estatística. Statistics Portugal - Web Portal [Internet]. www.ine.pt. [cited 2023 Jun 4]. Available from: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaques&DESTAQUESdest_boui=414427684&DESTAQUESstema=55538&DESTAQUESmodo=2
5. American Heart Association. What is High Blood Pressure? [Internet]. 2016 Oct 21. Available from: <https://www.heart.org/en/health-topics/high-blood-pressure/the-facts-about-high-blood-pressure/what-is-high-blood-pressure>
6. Bryan Williams et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH). *European Heart Journal*. 2018 Sep 1;39(33):3021–3104. Available from: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy339>
7. Oparil S, Acelajado MC, Bakris GL, Berlowitz DR, Cifková R, Dominiczak AF, et al. Hypertension. *Nature Reviews Disease Primers*. 2018 Mar 22;4(4):1-48.
8. Fisher ND. Overview of the renin-angiotensin system [Internet]. 2023. Available from: https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-renin-angiotensin-system/print?search=SRAA&source=search_result&selectedTitle=1~150&%E2%80%A61%2F27OfficialreprintfromUpToDatewww.uptodate.com
9. Goldman R. The effects of hypertension on the body [Internet]. Healthline. Healthline Media; 2018. Available from: <https://www.healthline.com/health/high-blood-pressure-hypertension/effect-on-body>

10. Kokubo Y, Matsumoto C. Hypertension is a risk factor for several types of heart disease: Review of prospective studies. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2017; 956:419-426.
11. Meissner A. Hypertension and the brain: A risk factor for more than heart disease. *Cerebrovascular Diseases*. 2016;42(3-4):255-62.
12. Ning L, Yang L. Hypertension might be a risk factor for erectile dysfunction: a meta-analysis. *Andrologia*. 2017;49(4).
13. Lunelli RP, Irigoyen MC, Goldmeier S. Hypertension as a risk factor for female sexual dysfunction: cross-sectional study. *Rev Bras Enferm*. 2018;71(5).
14. Charles L, Triscott J, Dobbs B. Secondary Hypertension: Discovering the Underlying Cause. *American family physician*. 2017 Oct 1;96(7):453-61.
15. Padmanabhan S, Aman A, Dominiczak AF. Genomics of hypertension. *Pharmacological Research*. 2017;121:219-29.
16. Messerli FH, Williams B, Ritz E. Essential hypertension. *Lancet*. 2007 Aug;370(9587):591-603.
17. Vallée A, Safar ME, Blacher J. Hypertension artérielle permanente essentielle : définitions et revue hémodynamique, clinique et thérapeutique. *La Presse Médicale*. 2019 Jan;48(1):19–28.
18. Rossier BC, Bochud M, Devuyst O. The hypertension pandemic: An evolutionary perspective. *Physiology*. 2017;32(2):112-25.
19. Wei LK, Au A, The LK, Lye HS. Recent advances in the genetics of hypertension. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2017 [cited 2023 Apr 2];956:561-81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27957710/>
20. Genome-Wide Association Studies (GWAS) [Internet]. [cited 2023 Apr 2]. Available from: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Genome-Wide-Association-Studies>
21. 4.5.2: GWAS - Biology LibreTexts [Internet]. [cited 2023 Apr 2]. Available from: [https://bio.libretexts.org/Courses/Clinton_College/BIO_300%3A_Introduction_to_Genetics_\(Neely\)/04%3A_Inheritance/4.05%3A__Linkage/4.5.02%3A_GWAS](https://bio.libretexts.org/Courses/Clinton_College/BIO_300%3A_Introduction_to_Genetics_(Neely)/04%3A_Inheritance/4.05%3A__Linkage/4.5.02%3A_GWAS)
22. Minor Allele Frequency - an overview | ScienceDirect Topics [Internet]. [cited 2023 Apr 2]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/minor-allele-frequency>
23. Attia J. Genetic association and GWAS studies: Principles and applications [Internet]. 2023. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/genetic-association-and-gwas-studies-principles-and->

Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual

- applications/print?search=candidategenes&source=se...1/28OfficialreprintfromUpToDatewww.uptodate.com
24. 14.2B: DNA Sequencing Techniques - Biology LibreTexts [Internet]. [cited 2023 Apr 2]. Available from: [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Introductory_and_General_Biology/Book%3A_General_Biology_\(Boundless\)/14%3A_DNA_Structure_and_Function/14.02%3A_DNA_Structure_and_Sequencing/14.2B%3A_DNA_Sequencing_Techniques](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Introductory_and_General_Biology/Book%3A_General_Biology_(Boundless)/14%3A_DNA_Structure_and_Function/14.02%3A_DNA_Structure_and_Sequencing/14.2B%3A_DNA_Sequencing_Techniques)
 25. Padmanabhan S, Dominiczak AF. Genomics of hypertension: the road to precision medicine. *Nature Reviews Cardiology*. 2021;18.
 26. Celedón JC, Hunninghake GM. Principles of complex trait genetics [Internet]. 2023. Available from: https://www.uptodate.com/contents/principles-of-complex-trait-genetics/print?search=candidategenes&source=search_result&selectedTitle=2~1...1/11OfficialreprintfromUpToDatewww.uptodate.com
 27. Rysz J, Franczyk B, Rysz-Górzyńska M, Gluba-Brzózka A. Pharmacogenomics of hypertension treatment. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(13):4709.
 28. Herman LL, Padala SA, Ahmed I, Khalid ;, Affiliations B. Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors (ACEI) Continuing Education Activity [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431051/?report=printable>
 29. Hill RD, Vaidya PN. Angiotensin II Receptor Blockers (ARB, ARb) [Internet]. PubMed. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537027/>
 30. Bloch MJ, Basile J. Official reprint from UpToDate Major side effects and safety of calcium channel blockers. 2023. Available from: https://www.uptodate.com/contents/major-side-effects-and-safety-of-calcium-channel-blockers?search=Major%20side%20effects%20and%20safety%20of%20calcium%20channel%20blockers&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
 31. Akbari P, Khorasani-Zadeh A. Thiazide diuretics [Internet]. Nih.gov. StatPearls Publishing; 2019. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532918/>
 32. Podrid PJ. Major side effects of beta blockers [Internet]. 2023. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/major-side-effects-of-beta->

- blockers/print?search=betablockers&source=search_result&selectedTitle=2~146
%E2%80%A61%2F18OfficialreprintfromUpToDatewww.uptodate.com
33. Kapoor M, Dhar M, Mirza A, Saxena V, Pathania M. Factors responsible for Uncontrolled Hypertension in the Adults over 50 years of age: A pilot study from Northern India. *Indian Heart Journal*. 2021 Jul.
 34. Materson BJ. Variability in Response to Antihypertensive Drugs. *American Journal of Medicine*. 2007;120(4):S10-20.
 35. Paz MA, de-La-Sierra A, Sáez M, Barceló MA, Rodríguez JJ, Castro S, et al. Treatment efficacy of anti-hypertensive drugs in monotherapy or combination. *Medicine*. 2016;95(30).
 36. Oliveira-Paula GH, Pereira SC, Tanus-Santos JE, Lacchini R. Pharmacogenomics and hypertension: Current insights. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. 2019 Nov;12:341-59.
 37. Skeete J, DiPette DJ. Genetics of hypertension: Implications of single nucleotide polymorphism(s) in African populations and beyond. *Journal of Clinical Hypertension*. 2018 Mar;20(3):496-8.
 38. Rahman F, Muthaiah N, Kumaramanickavel G. Current concepts and molecular mechanisms in pharmacogenetics of essential hypertension. *Indian Journal of Pharmacology*. 2021;53.
 39. Heidari F, Vasudevan R, Mohd Ali SZ, Ismail P, Etemad A, Pishva SR, et al. Association of insertion/deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene among Malay male hypertensive infjects in response to ACE inhibitors. *JRAAS - Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. 2015 Dec 1;16(4):872-9.
 40. Kurland L, Melhus H, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Öhman KP, et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism predicts blood pressure response to angiotensin II receptor type 1 antagonist treatment in hypertensive patients. *Journal of Hypertension*. 2001;19(10).
 41. Konoshita T. Do genetic variants of the renin-angiotensin system predict blood pressure response to renin-angiotensin system-blocking drugs? A systematic review of pharmacogenomics in the renin-angiotensin system. *Current Hypertension Reports*. 2011;13(5).
 42. Oliveira-Paula GH, Lacchini R, Luizon MR, Fontana V, Silva PS, Biagi C, et al. Endothelial nitric oxide synthase tagSNPs influence the effects of enalapril in essential hypertension. *Nitric Oxide*. 2016;55-56.

43. Silva PS, Fontana V, Luizon MR, Lacchini R, Silva WA, Biagi C, et al. ENOS and BDKRB2 genotypes affect the antihypertensive responses to enalapril. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 2013;69(2).
44. Oliveira-Paula GH, Luizon MR, Lacchini R, Fontana V, Silva PS, Biagi C, et al. Gene–Gene Interactions Among PRKCA, NOS3 and BDKRB2 Polymorphisms Affect the Antihypertensive Effects of Enalapril. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2017;120(3).
45. Frau F, Zaninello R, Salvi E, Ortu MF, Braga D, Velayutham D, et al. Genome-wide association study identifies CAMKID variants involved in blood pressure response to losartan: The SOPHIA study. *Pharmacogenomics*. 2014;15(13).
46. Niu Y, Gong Y, Langaee TY, Davis HM, Elewa H, Beitelshes AL, et al. Genetic variation in the β 2 subunit of the voltage-gated calcium channel and pharmacogenetic association with adverse cardiovascular outcomes in the international verapamil SR-trandolapril study genetic substudy (INVEST-GENES). *Circulation: Cardiovascular Genetics*. 2010 Dec;3(6):548–55.
47. Beitelshes AL, Navare H, Wang D, Gong Y, Wessel J, Moss JI, et al. CACNA1C gene polymorphisms, cardiovascular disease outcomes, and treatment response. *Circulation: Cardiovascular Genetics*. 2009;2(4).
48. Beitelshes AL, Gong Y, Wang D, Schork NJ, Cooper-DeHoff RM, Langaee TY, et al. KCNMB1 genotype influences response to verapamil SR and adverse outcomes in the INternational VERapamil SR/Trandolapril STudy (INVEST). *Pharmacogenetics and Genomics*. 2007;17(9).
49. Kamide K YJMTTSHTYMMYYHYFNSNHMTKY. Genetic polymorphisms of L-type calcium channel alpha1C and alpha1D subunit genes are associated with sensitivity to the antihypertensive effects of L-type dihydropyridine calcium-channel blockers. *Official Journal of the Japanese Circulation Society*. 2009 Feb 17;73(4):732–40.
50. Langaee TY, Gong Y, Yarandi HN, Katz DA, Cooper-DeHoff RM, Pepine CJ, et al. Association of CYP3A5 polymorphisms with hypertension and antihypertensive response to verapamil. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2007;81(3).
51. Bhatnagar V, Garcia EP, O'Connor DT, Brophy VH, Alcaraz J, Richard E, et al. CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms and blood pressure response to amlodipine among African-American men and women with early hypertensive renal disease and the AASK study investigators. *American Journal of Nephrology*. 2010;31(2).
52. Johnson JA, Zineh I, Puckett BJ, McGorray SP, Yarandi HN, Pauly DF. β 1-adrenergic receptor polymorphisms and antihypertensive response to metoprolol. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2003 Jul 1;74(1):44–52.

53. Chen L, Xiao T, Chen L, Xie S, Deng M, Wu D. The Association of ADRB1 and CYP2D6 Polymorphisms With Antihypertensive Effects and Analysis of Their Contribution to Hypertension Risk. *American Journal of the Medical Sciences*. 2018;355(3).
54. Si D, Wang J, Xu Y, Chen X, Zhang M, Zhou H. Association of common polymorphisms in b1-adrenergic receptor with antihypertensive response to carvedilol. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2014;64(4).
55. Suonsyrjä T, Donner K, Hannila-Handelberg T, Fodstad H, Kontula K, Hiltunen TP. Common genetic variation of β 1-and β 2-adrenergic receptor and response to four classes of antihypertensive treatment. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2010;20(5):342–5.
56. Pacanowski MA, Gong Y, Cooper-DeHoff RM, Schork NJ, Shriver MD, Langaee TY, et al. β -adrenergic receptor gene polymorphisms and β -blocker treatment outcomes in hypertension. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2008 Dec;84(6):715–21.
57. Magvanjav O, McDonough CW, Gong Y, McClure LA, Talbert RL, Horenstein RB, et al. Pharmacogenetic Associations of β 1-Adrenergic Receptor Polymorphisms with Cardiovascular Outcomes in the SPS3 Trial (Secondary Prevention of Small Subcortical Strokes). *Stroke*. 2017;48(5).
58. Gong Y, Wang Z, Beitelshes AL, McDonough CW, Langaee TY, Hall K, et al. Pharmacogenomic Genome-Wide Meta-Analysis of Blood Pressure Response to β -Blockers in Hypertensive African Americans. *Hypertension*. 2016;67(3).
59. Hiltunen TP, Donner KM, Sarin AP, Saarela J, Ripatti S, Chapman AB, et al. Pharmacogenomics of hypertension: A genome-wide, placebo-controlled cross-over study, using four classes of antihypertensive drugs. *Journal of the American Heart Association*. 2015;4(1).
60. Glorioso N, Filigheddu F, Cusi D, Troffa C, Conti M, Natalizio M, et al. Adducin 460Trp Allele Is Associated With Erythrocyte Na Transport Rate in North Sardinian Primary Hypertensives [Internet]. 2002. Available from: <http://www.hypertensionaha.org>
61. Sciarrone MT, Stella P, Barlassina C, Manunta P, Lanzani C, Bianchi G, et al. ACE and α -adducin polymorphism as markers of individual response to diuretic therapy. *Hypertension*. 2003 Mar 1;41(3 D):398–403.
62. Cusi D, Barlassina C, Azzani T, Casari G, Citterio L, Devoto M, et al. Polymorphisms of-adducin and salt sensitivity in patients with essential hypertension. *The Lancet*. 1997 May;349(9062):1353-7.

63. Schelleman H, Klungel OH, Witteman JCM, Hofman A, van Duijn CM, de Boer A, et al. The influence of the alpha-adducin G460W polymorphism and angiotensinogen M235T polymorphism on antihypertensive medication and blood pressure. *European Journal of Human Genetics*. 2006;14(7).
64. ACE gene: MedlinePlus Genetics [Internet]. [cited 2023 Apr 2]. Available from: <https://medlineplus.gov/genetics/gene/ace/>
65. Svensson-Färbom P, Wahlstrand B, Almgren P, Dahlberg J, Fava C, Kjeldsen S, et al. A functional variant of the NEDD4L gene is associated with beneficial treatment response with β -blockers and diuretics in hypertensive patients. *Journal of Hypertension*. 2011;29(2).
66. McDonough CW, Burbage SE, Duarte JD, Gong Y, Langaee TY, Turner ST, et al. Association of variants in NEDD4L with blood pressure response and adverse cardiovascular outcomes in hypertensive patients treated with thiazide diuretics. *Journal of Hypertension*. 2013;31(4).
67. ALDH1A2 Gene - GeneCards | AL1A2 Protein | AL1A2 Antibody [Internet]. [cited 2023 Apr 2]. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ALDH1A2>
68. Magvanjav O, Gong Y, McDonough CW, Chapman AB, Turner ST, Gums JG, et al. Genetic variants associated with uncontrolled blood pressure on thiazide diuretic/ β -blocker combination therapy in the PEAR (Pharmacogenomic Evaluation Of Antihypertensive Responses) and INVEST (International Verapamil-SR Trandolapril Study) trials. *Journal of the American Heart Association*. 2017;6(11).
69. Singh S, Wang Z, Shahin MH, Langaee TY, Gong Y, Turner ST, et al. Targeted sequencing identifies a missense variant in the BEST3 gene associated with antihypertensive response to hydrochlorothiazide. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2018;28(11).
70. Turner ST, Boerwinkle E, O'Connell JR, Bailey KR, Gong Y, Chapman AB, et al. Genomic association analysis of common variants influencing antihypertensive response to hydrochlorothiazide. *Hypertension*. 2013;62(2).
71. Shahin MH, Sá AC, Webb A, Gong Y, Langaee T, McDonough CW, et al. Genome-Wide Prioritization and Transcriptomics Reveal Novel Signatures Associated with Thiazide Diuretics Blood Pressure Response. *Circulation: Cardiovascular Genetics*. 2017;10(1).

72. Turner ST, Bailey KR, Fridley BL, Chapman AB, Schwartz GL, Chai HS, et al. Genomic association analysis suggests chromosome 12 locus influencing antihypertensive response to thiazide diuretic. *Hypertension*. 2008;52(2).
73. Turner ST, Chapman AB, Schwartz GL, Boerwinkle E. Effects of endothelial nitric oxide synthase, α -adducin, and other candidate gene polymorphisms on blood pressure response to hydrochlorothiazide. *American Journal of Hypertension*. 2003 Oct 1;16(10):834–9.
74. Turner ST, Schwartz GL, Chapman AB, Boerwinkle E. C825T Polymorphism of the G Protein β -Subunit and Antihypertensive Response to a Thiazide Diuretic [Internet]. 2001. Available from: <http://www.hypertensionaha.org>
75. Schelleman H, Stricker BHC, Verschuren WMM, de Boer A, Kroon AA, de Leeuw PW, et al. Interactions between five candidate genes and antihypertensive drug therapy on blood pressure. *Pharmacogenomics Journal*. 2006;6(1).
76. Turner ST, Chapman AB, Schwartz GL, Boerwinkle E. Effects of endothelial nitric oxide synthase, α -adducin, and other candidate gene polymorphisms on blood pressure response to hydrochlorothiazide. *American Journal of Hypertension* [Internet]. 2003 Oct 1 [cited 2023 Apr 8];16(10):834–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14553962/>
77. JOHNSON JA. Advancing management of hypertension through pharmacogenomics. *Annals of medicine* [Internet]. 2012 Jun 1 [cited 2023 Apr 2];44(0 1):S17–22. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3686275/>
78. GNB3 G protein subunit beta 3 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI [Internet]. [cited 2023 Jun 2]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2784#gene-expression>
79. Peptide hormone signal transduction and regulation - UpToDate [Internet]. [cited 2023 Apr 2]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/peptide-hormone-signal-transduction-and-regulation?search=proteina%20G&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H3
80. Rizvi S, Raza ST, Rahman Q, Mahdi F. Role of GNB3, NET, KCNJ11, TCF7L2 and GRL genes single nucleotide polymorphism in the risk prediction of type 2 diabetes mellitus. *3 Biotech*. 2016 Dec;6(2).
81. Roskopf D, Busch S, Manthey I, Siffert W. G Protein β 3 Gene. *Hypertension* [Internet]. 2000 [cited 2023 Jun 2];36(1):33–41. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.HYP.36.1.33>

82. Siffert W, Roskopf D, Siffert G, Busch S, Moritz A, Erbel R, et al. Association of a human G-protein beta3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet* [Internet]. 1998 [cited 2023 Apr 2];18(1):45–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9425898/>
83. Siffert W, Roskopf D, Moritz A, Wieland T, Kaldenberg-Stasch S, Kettler N, et al. Enhanced G protein activation in immortalized lymphoblasts from patients with essential hypertension. *The Journal of Clinical Investigation* [Internet]. 1995 [cited 2023 Apr 2];96(2):759–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7635969/>
84. Hu Q, Zhang SY, Liu F, Zhang XJ, Cui GC, Yu EQ, et al. Influence of GNB3 C825T polymorphism on the efficacy of antidepressants in the treatment of major depressive disorder: A meta-analysis. *Journal of Affective Disorders* [Internet]. 2015 [cited 2023 Apr 3];172:103–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25451402/>
85. Frey UH, Moebus S, Möhlenkamp S, Kälsch H, Bauer M, Lehmann N, et al. GNB3 gene 825 TT variant predicts hard coronary events in the population-based Heinz Nixdorf Recall study. *Atherosclerosis*. 2014;237(2):437–42.
86. Möhlendick B, Schönfelder K, Zacher C, Elsner C, Rohn H, Konik MJ, et al. The GNB3 c.825C > T (rs5443) polymorphism and protection against fatal outcome of corona virus disease 2019 (COVID-19). *Frontiers in Genetics*. 2022 Aug 9;13:960731.
87. Benjafeld A V., Jeyasingam CL, Nyholt DR, Griffiths LR, Morris BJ. G-protein beta3 subunit gene (GNB3) variant in causation of essential hypertension. *Hypertension*. 1998;32(6):1094–7.

Anexo 1 – Consentimento Informado



IMPRESSO

Consentimento Livre e Informado

Código: CHCB.IMP.CINVEST.18

Edição: 1

Revisão: 0

Miguel Castelo Branco Craveiro de Sousa,

a realizar um trabalho de investigação subordinado ao tema “Desenvolvimento de um projeto para avaliação da variabilidade genética interindividual da resposta à hidroclorotiazida em doentes portugueses com HTA”, vem solicitar a sua colaboração neste estudo. Informo que a sua participação é voluntária, podendo desistir a qualquer momento sem que por isso venha a ser prejudicado nos cuidados de saúde prestados pelo CHUCB, EPE; informo ainda que a sua privacidade será respeitada, todos os dados recolhidos serão confidenciais e não serão fornecidas quaisquer compensações.

Objetivo do trabalho de investigação: Estudar a influencia de polimorfismos genéticos de genes de baixa penetrância na resposta à terapêutica da Hipertensão Arterial, nomeadamente à Hidroclorotiazida.

Critérios de inclusão:

- Indivíduos diagnosticados com hipertensão arterial essencial ligeira a moderada (PAS \geq 140 e $<$ 180 mmHg e PAD \geq 90 e $<$ 110 mmHg)
- Indivíduos com idade \geq 18 anos
- Indivíduos caucasianos
- Indivíduos seguidos em consulta de Medicina Interna no CHUCB (Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira)
- Indivíduos que estejam a tomar HCTZ, em monoterapia ou associada a outros fármacos anti-hipertensores ou indivíduos que tenham tomado HCTZ nos últimos 5 anos.

Critérios de exclusão:

- Indivíduos diagnosticados com hipertensão arterial secundária
- Indivíduos com idade $<$ 18 anos

Procedimentos necessários: Utilização de amostras de sangue recolhidas aquando das análises de rotina. **Para a recolha das amostras não será necessário realizar procedimentos extras aos já realizados para o**



Anexo 1 – Consentimento Informado



IMPRESSO

Consentimento Livre e Informado

Código: CHCB.IMP.CINVEST.18

Edição: 1

Revisão: 0

tratamento. Os materiais biológicos (sangue) que irão ser utilizados como amostras para este estudo seriam descartados.

Risco/Benefício da sua participação: Nenhum, visto que as análises genéticas serão feitas utilizando as amostras obtidas das análises de rotina e/ou do tratamento.

Duração da participação no estudo: Não aplicável

Nº aproximado de participantes: 150

Contactos para esclarecimento de dúvidas: 969000560

Consentimento Informado – Investigador

Ao assinar esta página está a confirmar o seguinte:

- * Entregou esta informação;
- * Explicou o propósito deste trabalho;
- * Explicou e respondeu a todas as questões e dúvidas apresentadas pelo participante ou representante legal.

Miguel Castelo Branco Craveiro de Sousa

Nome do Investigador (Legível)

_____ / ____ / ____


Assinatura do Investigador

Data

Consentimento Informado – Participante



Anexo 1 – Consentimento Informado

| | | | | |
|---|--|--|-----------------------------|------------|
|  | Centro Hospitalar Cova da Beira Covilha/Fundao | IMPRESSO | | |
| | | Consentimento Livre e Informado | Código: CHCB.IMP.CINVEST.18 | Edição: 1 |
| | | | | Revisão: 0 |

Ao assinar esta página está a confirmar o seguinte:

- * O Sr. (a) leu e compreendeu todas as informações desta informação, e teve tempo para as ponderar;
- * Todas as suas questões foram respondidas satisfatoriamente;
- * Se não percebeu qualquer das palavras, solicitou ao investigador uma explicação, tendo este esclarecido todas as dúvidas;
- * O Sr. (a) recebeu uma cópia desta informação, para a manter consigo.

| | |
|---|---------------------|
| _____ | _____ |
| Nome do Participante (Legível) | Representante Legal |
| _____ | ___ / ___ / ___ |
| (Assinatura do Participante ou Representante Legal) | Data |