



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
ESCOLA DE FARMÁCIA  
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS



André Sacramento Melo

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DA ENZIMA  
CONVERSORA DE ANGIOTENSINA COM A RESPOSTA A  
FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS**

OURO PRETO

2023

André Sacramento Melo

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DA ENZIMA  
CONVERSORA DE ANGIOTENSINA COM A RESPOSTA A  
FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia pela Escola de Farmácia da Universidade de Ouro Preto.

Orientadora: Profa. Dra. Glenda Nicioli da Silva  
Coorientadores: Prof. Dr. Luiz Fernando de Medeiros Teixeira e Me. Livia da Cunha Agostini

OURO PRETO

2023

## SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

M528e Melo, Andre Sacramento.

Estudo da associação de polimorfismos da enzima conversora de angiotensina com a resposta a fármacos anti-hipertensivos. [manuscrito]  
/ Andre Sacramento Melo. - 2023.  
70 f.: il.: color., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Glenda Nicioli da Silva.

Coorientadores: Prof. Dr. Luiz Fernando de Medeiros Teixeira, Ma.  
Lívia da Cunha Agostini.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Hipertensão. 2. Polimorfismo Genético. 3. Enzima Conversora de Angiotensina- Inibidores. 4. Medicamentos. 5. Losartan. 6. Hidroclorotiazida. I. da Silva, Glenda Nicioli. II. Agostini, Lívia da Cunha. III. Teixeira, Luiz Fernando de Medeiros. IV. Universidade Federal de Ouro Preto. V. Título.

CDU 616.12-008.331.1

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**André Sacramento Melo**

**Estudo da associação de polimorfismos da enzima conversora de angiotensina com a resposta a fármacos anti-hipertensivos**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico Generalista

Aprovada em 20 de Janeiro de 2023

### Membros da banca

PhD - Glenda Nicioli da Silva - Orientador(a) (UFOP)  
PhD - Nancy Scardua Binda - (UFOP)  
PhD - Tamires Cunha Almeida - (Butantã)

Glenda Nicioli da Silva, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 03/02/2023



Documento assinado eletronicamente por **Glenda Nicioli da Silva, VICE-DIRETOR(A) DA ESCOLA DE FARMÁCIA**, em 03/02/2023, às 13:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufop.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0468853** e o código CRC **41858632**.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por ter me permitido chegar até aqui. À minha família, pais, tios, primos e avós por serem meu porto seguro e me apoiarem sempre nos meus objetivos. Com vocês ao meu lado eu posso buscar novos desafios com segurança.

À toda equipe do Laboratório de Pesquisas Clínicas (LPC) e do Grupo de Estudos e Pesquisas Toxicogenéticas, Epidemiológicas e Clínicas (G-TEC) por terem me acolhido e ensinado nesses anos todos. Vocês foram uma ótima companhia durante a minha graduação e tenho orgulho de dizer que fiz parte do LPC. À Ana Paula Braga Lima, Lívia da Cunha Agostini e Luciana Bicalho Moreira Soares por todo o aprendizado, incentivo e amizade, tanto nos momentos bons, quanto nos ruins.

À Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), em especial a Escola de Farmácia, agradeço pela formação de qualidade. Aos professores Luiz Fernando de Medeiros Teixeira e Gustavo Henrique Bianco de Souza agradeço a dedicação e comprometimento. À professora Glenda Nicioli da Silva agradeço especialmente pela confiança, paciência, parceria e ensinamentos nesses quatro anos de orientação. Com os seus conselhos e ensinamentos eu fui capaz de encontrar na Farmácia a área que eu gosto e pude traçar novos objetivos e metas. Muito obrigado.

À CAPES, FAPEMIG, CNPq e PROPPI-UFOP, agradeço a concessão de bolsas de iniciação científica e recursos financeiros.

“Hoje desaprendo o que tinha aprendido até ontem e que  
amanhã recomencarei a aprender”

Cecília Meireles

“Somos maior, nos basta só sonhar, seguir.”

Emicida

## RESUMO

A hipertensão arterial é uma doença crônica caracterizada por pressão arterial sistólica igual ou superior a 140 mmHg e/ou pressão diastólica igual ou superior a 90 mmHg. Constitui um fator de risco considerável para doenças como aterosclerose e causa problemas principalmente nos sistemas cardíaco, cerebral, renal e vascular periférico. As complicações clínicas, bem como a frequência elevada em nossa população, fazem com que a hipertensão arterial tenha um importante papel nos programas de saúde pública. Dentre os fatores responsáveis pelo desencadeamento da hipertensão encontram-se alterações genéticas, envolvendo alguns genes e suas variantes que podem estar relacionadas à resposta ao fármaco, dividindo assim os pacientes em bons e maus respondedores. Assim, uma estratégia farmacogenética baseada na escolha do melhor fármaco para cada indivíduo levaria a uma melhor relação custo-benefício e melhor controle da pressão arterial, ajudando a prevenir eventos cardiovasculares. O objetivo desse trabalho foi avaliar a associação entre os polimorfismos do gene codificador da enzima conversora de angiotensina (ECA) SNP rs4291AT, rs44335AG e o rs4363AG e a resposta a Hidroclorotiazida e Losartana. Para isso, os prontuários de 143 pacientes foram utilizados com a finalidade de se pesquisar os medicamentos já utilizados ou em uso pelos indivíduos e a resposta terapêutica a eles. Os polimorfismos da ECA foram identificados a partir de amostras de DNA de indivíduos hipertensos através da PCR Real Time (q-PCR) utilizando sondas TaqMan. Os resultados mostraram que além de fatores como etnia branca, adesão média à terapia e a associação de medicamentos anti-hipertensivos, os fatores genéticos associados ao SNP rs4363 e rs4335 estão relacionados a resposta a fármacos anti-hipertensivos. Conclui-se que a análise dos polimorfismos genéticos é de fundamental importância para o sucesso terapêutico do tratamento anti-hipertensivo.

Palavras-chave: enzima conversora de angiotensina, hidroclorotiazida, hipertensão, losartana, polimorfismos.

## **ABSTRACT**

Hypertension is a chronic disease characterized by systolic blood pressure equal to or greater than 140 mmHg and/or diastolic blood pressure equal to or greater than 90 mmHg. It is a considerable risk factor for diseases such as atherosclerosis and thrombosis, mainly affecting the cardiac, cerebral, renal, and peripheral vascular systems. The clinical complications as well as the high frequency in our population make hypertension play an important role in public health programs. Among the factors responsible for triggering hypertension are genetic alterations, involving some genes and their variants that may be related to drug response, dividing patients into good and bad responders. Thus, a pharmacogenetic strategy based on choosing the best drug for each individual would lead to a better cost-benefit ratio and better blood pressure control, helping to prevent cardiovascular events. The aim of this study was to evaluate the association between single nucleotide polymorphisms (SNP) of the angiotensin converting enzyme (ACE) gene rs4291: A>T, rs4335: A>G and rs4363: A>G and the response to Hydrochlorothiazide and Losartan drugs. For this, the medical records of 143 patients were used to research the medications already used or being used by the individuals and the therapeutic response to them. ACE polymorphisms were identified from DNA samples from hypertensive individuals by real-time PCR (q-PCR) using TaqMan probes. The results showed that in addition to factors such as white ethnicity, medium adherence to therapy and the association of antihypertensive medications, genetic factors associated with SNP rs4363 and rs4335 are related to response to antihypertensive drugs. We conclude that the analysis of genetic polymorphisms is of fundamental importance for the therapeutic success of antihypertensive treatment.

**Keywords:** angiotensin-converting enzyme, hydrochlorothiazide, hypertension, losartan, polymorphisms.

## **LISTA DE ABREVIACÕES**

CNPq – Conselho Nacional de Pesquisa  
UFOP – Universidade Federal de Ouro Preto  
PROPPI – Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação  
CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior  
FAPEMIG – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais  
LPC – Laboratório de Pesquisas Clínicas  
G-TEC – Grupo de Pesquisas Toxicogenéticas, Epidemiológicas e Clínicas  
ECA – Enzima Conversora de Angiotensina  
PA – Pressão Arterial  
HA – Hipertensão Arterial  
DCV – Distúrbio Cardiovascular  
AVE – Acidade Vascular Encefálico  
DM – Diabetes Melitos  
SUS – Sistema Único de Saúde  
IMC – Índice de Massa Corporal  
CV – Cardiovascular  
RVP – Resistência Vascular Periférica  
SRRA – Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona  
HAB – Hipertensão do Avental Branco  
MRPA – Medição Residencial de Pressão Arterial  
MAPA – Medição Ambulatorial da Pressão Pressão Arterial  
PH – Pré-Hipertensão  
PAS – Pressão Arterial Sistólica  
PAD – Pressão Arterial Diastólica  
HM – Hipertensão Mascarada  
DIU – Diuréticos  
BCC – Bloqueadores do Canais de Cálcio

IECA - Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina  
BRA – Bloqueadores dos receptores de Angiotensina 2  
BB – Betabloqueadores  
HCTZ – Hidroclorotiazida  
ANG I – Angiotensina I  
ANG II – Angiotensina II  
R-AT1 – Receptor de Angiotensina I  
ADH – Hormônio Antidiurético  
LEC – Líquido Extracelular  
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido  
CEP – Comitê de Ética em Pesquisa  
CAEE – Certificado de Apresentação de Apreciação Ética  
HWE – Equilíbrio de Hardy-Weinberg  
MR – Maus Respondedores  
BR – Bons Respondedores  
HAR – Hipertensão Arterial Resistente

#### **LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1** Prevalência da Hipertensão Arterial por região no mundo em 2010. **Pág. 12**
- Figura 2** Fluxograma de tratamento medicamentoso para hipertensão arterial. **Pág. 18**

#### **LISTA DE TABELAS**

- Tabela 1** Valores de referência para a definição de HA pelas medidas de consultório, MAPA e MRPA. **Pág. 16**
- Tabela 2** Classificação da PA de acordo com a medição causal ou no consultório a partir de 18 anos de idade. **Pág. 17**
- Tabela 3** Sequência do contexto e alelos correspondentes a VIC e FAM. **Pág. 27**

<b>Tabela 4</b>	Ensaio de genotipagem TaqMan ®.	<b>Pág. 28</b>
<b>Tabela 5</b>	Características Sociodemográficas e Clínicas da população de acordo com a classificação de resistência terapêutica.	<b>Pág. 30</b>
<b>Tabela 6</b>	Avaliação dos alelos e genótipos de bons e maus respondedores.	<b>Pág. 35</b>
<b>Tabela 7</b>	Avaliação do uso da hidroclorotiazida com os alelos e genótipos de bons e maus respondedores.	<b>Pág. 37</b>
<b>Tabela 8</b>	Avaliação do uso da losartana com os alelos e genótipos de bons e maus respondedores.	<b>Pág. 39</b>

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	12
1.1 Epidemiologia da hipertensão arterial .....	12
1.2 Fatores de risco da hipertensão arterial .....	13
1.3 Diagnóstico e classificações da hipertensão arterial .....	15
1.4 Tratamento da hipertensão arterial .....	17
1.5 Sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA).....	19
1.6 Polimorfismos genéticos associados à hipertensão arterial.....	21
2. JUSTIFICATIVA.....	22
3. OBJETIVOS .....	23
3.1 Objetivo Geral.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	23
4.1 Entrevista.....	23
4.2 Medida da pressão arterial.....	25
4.3 Coleta das amostras .....	25
4.4 Extração de DNA e quantificação da amostra.....	26
4.5 Genotipagem .....	26
4.6 Avaliação dos prontuários .....	28
4.7 Classificação em bom e mau respondedor .....	28
4.8 Análise de dados .....	29
4.9 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE).....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
5.1 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE).....	29
5.2 Características sociodemográficas e clínicas da população de estudo .....	29
5.3 Características sociodemográficas e clínicas da população de estudo de acordo com a classificação de resistência terapêutica .....	30
5.4 Características genótípicas e alélicas da população de estudo .....	35
5.5 Análise dos genótipos em relação a uso de hidroclorotiazida.....	37
5.6 Análise dos genótipos em relação a uso de losartana.....	39
6. CONCLUSÃO .....	40
7. REFERÊNCIAS .....	41
8. ANEXOS.....	50

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Epidemiologia da hipertensão arterial

A pressão arterial (PA) é medida com base na pressão arterial sistólica (PAS) e na pressão arterial diastólica (PAD). De acordo com o estabelecido pela Diretriz Brasileira de Hipertensão, a Hipertensão Arterial (HA) tem como característica a elevação persistente e recorrente da PAS  $\geq 140$  e/ou da PAD  $\geq 90$  mmHg. A HA é um transtorno multifatorial, mas que tem forte relação com distúrbios metabólicos como dislipidemias, obesidade, diabetes melito e intolerância à glicose, além de fatores genéticos (MALACHIAS *et al.*,2017; BARROSO *et al.*,2021).

Segundo dados da literatura, a HA é o mais importante fator de risco evitável para mortalidade ao redor do mundo e é a principal causa de doença cardiovascular (DCV). Em 2010, 1,39 bilhão de pessoas em todo o mundo possuíam hipertensão e isso correspondia a 31,1% da população global, sendo que o índice era um pouco mais elevado nos homens (31,9%) em relação às mulheres (30,1%). Os índices de prevalência vinham tendo um crescimento nas últimas décadas devido à alguns fatores como envelhecimento da população, má alimentação e sedentarismo (MILLS *et al.*, 2020). Destaca-se que os países subdesenvolvidos apresentam taxas de prevalência de HA maiores que dos países desenvolvidos (Figura 1). Nota-se no infográfico que independentemente do sexo, as maiores taxas de prevalência são na Europa Oriental, Ásia Central e África. Os menores índices foram observados nos Estados Unidos da América, Canadá e Sul da Ásia.

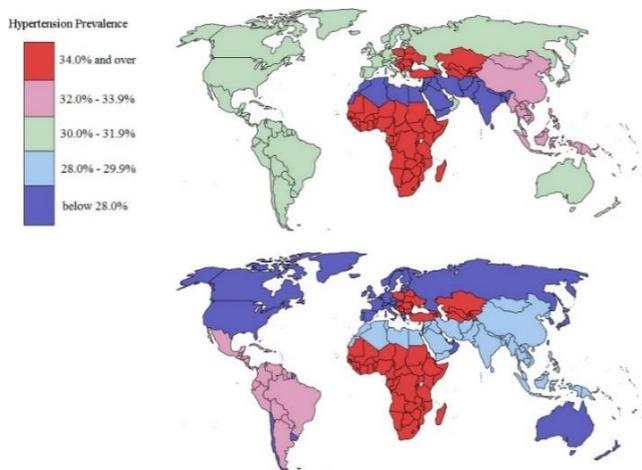


Figura 1 - Prevalência da Hipertensão Arterial por região no mundo em 2010: hipertensão definida como PA  $\geq 140/90$  mmHg em homens (gráfico superior) e mulheres (gráfico inferior). Fonte: MILLS *et al.*,2020.

A prevalência da HA no Brasil entre os adultos é de 32,6 % e a faixa etária com maior taxa são os idosos (60%) (RODRIGUES *et al.*,2021). A HA está diretamente e indiretamente relacionada a DCV e a outras doenças crônicas como acidente vascular encefálico (AVE), doenças renais, Diabetes Melitos (DM) e isso gera um grande custo ao Sistema Único de Saúde (SUS). Em 2013, a DCV foi responsável por quase 30% do total de óbitos que ocorreram no Brasil, caracterizando-se como a principal causa de morte (MALACHIAS *et al.*,2017). No período de 1996-2015, as regiões Sudeste (48%) e Nordeste (25%) apresentaram maior percentual de óbitos por DCV no Brasil e esse fato deve-se a alguns fatores como maior acesso aos serviços de Saúde e notificação correta do motivo do óbito (SIM/DATA SUS).

De acordo com dados da Sociedade Brasileira de Cardiologia, em 2015, no estado de Minas Gerais, ocorreram 35220 óbitos por DCV; no ano de 2018 foram 37698 óbitos (Sociedade brasileira de Cardiologia,2020). Na Macrorregião de Saúde Centro do estado de Minas Gerais, em 2020, foram notificados 45967 óbitos, sendo 9877 (21,5%) deles em decorrência de doenças do aparelho circulatório. Na região de Saúde de Ouro Preto – MG, que engloba os municípios de Ouro Preto, Mariana e Itabirito, em 2020, o número de óbitos foi de 1016 indivíduos e, desses, 25,5% (259) foram relacionados a doenças do aparelho circulatório. Em Ouro Preto, no ano de 2020, 42 óbitos foram em decorrência de doença hipertensiva, o que demonstra a relevância desse tema no âmbito nacional, regional e local (SIM/DATASUS).

## 1.2 Fatores de risco da hipertensão arterial

Há uma forte correlação entre a HA e a idade, e esse fato justifica a maior prevalência de hipertensão em grupos etários mais velhos. Diversos estudos demonstraram que a PAS aumenta proporcionalmente com a idade, enquanto a PAD aumenta até a idade de 70 anos e depois diminui. Sendo assim, o aumento da expectativa de vida da população contribui para a elevação dos índices de HA e esse é um desafio de saúde pública (ANKER *et al.*,2018).

A prevalência da hipertensão arterial autorreferida é distinta entre os sexos e raças, sendo que em 2013, as mulheres (24,2%) e pessoas de raça negra/cor preta (24,2%) possuíam maior índice em relação aos adultos pardos (MALACHIAS *et al.*,2017). Além disso, nos indivíduos negros, a HA tende a ter início mais cedo e forma mais grave e esse

fato pode estar relacionado ao baixo nível socioeconômico, má alimentação, má nutrição materna e menor acesso aos serviços de saúde (CARSON *et al.*,2011).

Destaca-se que nas últimas décadas houve um aumento da prevalência da obesidade em todo o mundo, sendo que de 1975 a 2014, o índice de massa corporal (IMC) médio global para os homens elevou-se de 21,7 kg/m<sup>2</sup> para 24,2 kg/m<sup>2</sup>. O Brasil tem seguido essa tendência mundial e, em 2014, a prevalência de excesso de peso (IMC > 25 kg/m<sup>2</sup>) era de 52,5%, sendo que a faixa etária de 35-64 anos é a mais acometida (MILLS *et al.*, 2020; MALACHIAS *et al.*,2017). O aumento do IMC está diretamente relacionado à elevação da PA e ao aumento do risco cardiovascular (CV) global. O excesso de peso influencia na composição corporal e leva a modificações em diversos órgãos, como coração, rins e vasos sanguíneos e todos esses órgãos citados estão diretamente envolvidos com o controle da PA. Observa-se em obesos um aumento do débito cardíaco, aumento da resistência vascular periférica (RVP), maior resistência insulínica periférica, ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRRA), hiperatividade simpática e esses são possíveis fatores para a HA (JIANG *et al.*, 2016; YUGAR-TOLEDO *et al.*,2018).

Outro fator associado a HA é o sedentarismo. Dados da Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica mostram que quase metade da população brasileira é sedentária, não praticando no mínimo duas horas e meia de esforço moderado por semana ou 75 minutos de atividade mais intensa (ABESO.,2021). Diversos estudos trazem como resultados que a prática frequente de atividade física é uma medida importante para a prevenção e tratamento da HA, sendo que a realização de exercício físico aeróbico regular leva à uma redução de 3,0 mmHg na PAS e de 2,4mmHg na PAD (AZIZ *et al.*,2014).

Uma dieta não saudável, com uma grande ingestão de alimentos industrializados e gorduras insaturadas tem ligação direta com o controle da PA. O consumo excessivo de sódio, geralmente associado a baixa ingestão de potássio, é um dos mais relevantes fatores de risco para a HA e está relacionado a problemas cardiovasculares e renais (MALACHIAS *et al.*,2017; YUGAR-TOLEDO *et al.*,2018). As dietas vegetarianas e mediterrâneas estão fortemente associadas à diminuição da PA e pesquisas demonstraram que essas dietas foram responsáveis por uma redução média da PAS em 4,8 mmHg e da PAD em 2,2 mmHg (YOKOYAMA *et al.*, 2014). Sabe-se também que o consumo

elevado e a longo prazo de bebidas alcoólicas conduz a um aumento da PA (MALACHIAS *et al.*,2017).

### 1.3 Diagnóstico e classificações da hipertensão arterial

O diagnóstico da HA consiste inicialmente na suspeita e identificação de causa secundária, avaliação do risco CV, lesões de órgão-alvo e outras doenças que possam estar associadas. A medida da PA do paciente deve ser feita em todo atendimento médico ou com outros profissionais da saúde adequados para que seja realizado o correto acompanhamento. Para a realização dessa medida utiliza-se esfigmomanômetros manuais ou automáticos calibrados e de acordo com as normais do INMETRO (MALACHIAS *et al.*,2017).

Recomenda-se também que seja feita a medida da PA em crianças, idosos, obesos e gestantes. Nas crianças maiores de 3 anos essa medição deve ser feita anualmente e os valores interpretados com base no sexo, altura e idade (MALACHIAS *et al.*,2017). Nos idosos nota-se uma maior dificuldade para o diagnóstico da HA em virtude da grande prevalência de pseudo-hipertensão e da hipertensão do avental branco (HAB). Outro fator que afeta a medição nos idosos é a associação da HA com outras doenças e a utilização de medicamentos que aumentam a PA, como anti-inflamatórios não-hormonais (ROSA *et al.*,2007). Para a realização da medição em obesos devem ser utilizados manguitos mais longos e largos e caso o paciente possua braço com circunferência maior que 50 cm, a medição deve ser realizada no antebraço (PIERIN *et al.*,2000). Em gestantes, as recomendações de medida são iguais a dos adultos e pode-se utilizar também a medida no braço esquerdo na posição de decúbito lateral esquerdo em repouso (MALACHIAS *et al.*,2017).

O diagnóstico e acompanhamento da HA pode ser realizado pela medição residencial de PA (MRPA) ou pela monitorização ambulatorial da PA (MAPA). A MRPA tem como objetivo fazer o registro da PA fora do consultório e tem como vantagens o reduzido custo, boa reprodutibilidade, boa aceitação dos pacientes, inibição do efeito do jaleco branco e possível melhora da adesão ao tratamento anti-hipertensivo. Entretanto, como desvantagens destacam-se a probabilidade de erros para se obter às medidas, ansiedade do paciente e limitações quanto a crianças, obesos e pacientes com arritmias. Na MRPA o paciente deve, durante cinco dias, realizar três medições da pressão no período da manhã antes do café e de tomar alguma medicação, e mais outras três medições no período da noite, antes do jantar. Dessa forma, valores de PA  $\geq$  130/80mmHg são

considerados anormais (BRANDÃO *et al.*,2022). Por outro lado, o MAPA tem como objetivo realizar o registro intermitente da PA durante 24 horas. Esse método permite avaliar medidas da PA durante o sono e durante tarefas do dia a dia do paciente, além da avaliação do padrão circadiano da PA, das médias, variabilidades e diminuição do efeito placebo. No MAPA, é indicado que o aparelho meça automaticamente a PA a cada 20 minutos durante o dia e a cada 30 minutos enquanto o paciente estiver dormindo (MALACHIAS *et al.*,2017). É imprescindível que o indivíduo anote situações estressantes, hora das medicações, refeições, de dormir e acordar (NOBRE *et al.*,2011).

A HA possui diferentes classificações e as tabelas 1 e 2 apresentam-nas de acordo com a medida da PA em adultos. A HA é definida de acordo com os valores mostrados na tabela 1 e o diagnóstico pode ser confirmado após a realização do MAPA ou MRPA e da realização de diversas medições no consultório. Quando mesmo fazendo a utilização do anti-hipertensivo, o paciente continua com a PA elevada pelas medições, considera-se que a HA dele é não controlada. Um indivíduo é considerado como normotenso se a medida da PA arterial dele for  $\leq 120/80$  mmHg. Se o indivíduo faz o uso de anti-hipertensivo e a PA permanece estável, o paciente então tem HA controlada (MALACHIAS *et al.*,2017). Na pré-hipertensão (PH) o paciente apresenta PAS na faixa de 121-139 e/ou PAD entre 81-89 mmHg. Destaca-se que indivíduos entre 40-49 anos com PH apresentam 80% de chance de desenvolver HA nos dez anos seguintes e a PH está associada a maior risco CV, principalmente em indivíduos obesos e diabéticos (ALESSI *et al.*,2014).

Tabela 1 - Valores de referência para a definição de HA pelas medidas de consultório, MAPA e MRPA.

Categoria	PAS (mmHg)		PAD (mmHg)
Consultório	$\geq 140$	e/ou	$\geq 90$
MAPA			
Vigília	$\geq 135$	e/ou	$\geq 85$
Sono	$\geq 120$	e/ou	$\geq 70$
24 horas	$\geq 130$	e/ou	$\geq 80$
MRPA	$\geq 135$	e/ou	$\geq 85$

Fonte: Malachias *et al.*,2017.

Tabela 2 - Classificação da PA de acordo com a medição causal ou no consultório a partir de 18 anos de idade.

Categoria	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
Normal	$\leq 120$	$\leq 80$
Pré-hipertensão	121-139	81-89
Hipertensão estágio 1	140-159	90-99
Hipertensão estágio 2	160-179	100-109
Hipertensão estágio 3	$\geq 180$	$\geq 110$

Fonte: Malachias *et al.*,2017.

A HAB apresenta prevalência no mundo entre 10-20% e é muito comum em crianças, idosos e não fumantes. Os indivíduos com HAB apresentam valores iguais ou superiores a 20 mmHg na PAS e/ou 10 mmHg na PAD comparando a medida no consultório e a medida MAPA ou MPRA. Estudos na literatura demonstram que os indivíduos com HAB apresentam um risco CV e de desenvolverem HA maior que dos normotensos, porém inferior ao dos pré-hipertensos (ALESSI *et al.*, 2014; DOLAN *et al.*, 2004;). A Hipertensão mascarada (HM) tem como características valores dentro do adequado nas medidas de PA no consultório, entretanto valores anormais nos testes de MAPA e/ou MRPA (CAMPANA *et al.*,2014). Dados da literatura indicam que a prevalência da HM é de 13% e alguns fatores associados a isso são idade jovem, sexo masculino, tabagismo, exercício físico e ansiedade (MALACHIAS *et al.*,2017).

#### 1.4 Tratamento da hipertensão arterial

O tratamento medicamentoso da HA tem como objetivo principal à curto prazo a redução dos valores de PA e a longo prazo a redução do risco CV, diminuição dos danos nos órgãos-alvos, prevenção da ocorrência do acidente vascular cerebral, nefropatia, insuficiência cardíaca congestiva, doença arterial coronariana e outros distúrbios (DIACONU *et al.*,2018). Etehad e colaboradores (2016) demonstraram através de um estudo de meta-análise que cada redução de 10 mmHg na PAS de pacientes hipertensos foi responsável por reduzir em 10% a mortalidade por todas às causas. Grande parte dos

pacientes, além da terapia farmacológica, realizam também alterações no estilo de vida e na alimentação.

As cinco classes de fármacos anti-hipertensivos utilizadas comumente na terapia são: diuréticos (DIU), bloqueadores dos canais de cálcio (BCC), inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA), bloqueadores dos receptores de angiotensina II (BRA) e betabloqueadores (BB). Cada um deles é útil para uma situação específica e todos, apesar de levarem à uma redução da PA e do risco CV, apresentam alguma limitação ou efeito adversos (BARROSO *et al.*,2021).

O esquema terapêutico pode ser realizado em monoterapia ou combinação de fármacos e a Figura 2 apresenta um fluxograma do tratamento medicamentoso. A monoterapia é recomendada inicialmente para pacientes com HA estágio 1 que apresentem reduzido risco, para idosos e pacientes frágeis (CICERO *et al.*,2020). Entretanto, a maior parte dos pacientes são tratados a partir da combinação de medicamentos que possuam mecanismos de ação diferentes entre si e se a PA não for reduzida a um nível adequado  $\leq 130/80$  mmHg, realiza-se o reajuste da dose ou a associação de um terceiro fármaco. Algumas vantagens da terapia combinada são a menor ocorrência de efeitos adversos, melhor adesão dos pacientes e redução dos riscos CV comparado a monoterapia. Além disso, a terapia combinada inicial de baixa dose é mais eficiente que a monoterapia em dosagem máxima, pois através da combinação trata-se a HA por diferentes mecanismos (WILLIAMS *et al.*,2018; PAZ *et al.*,2016).

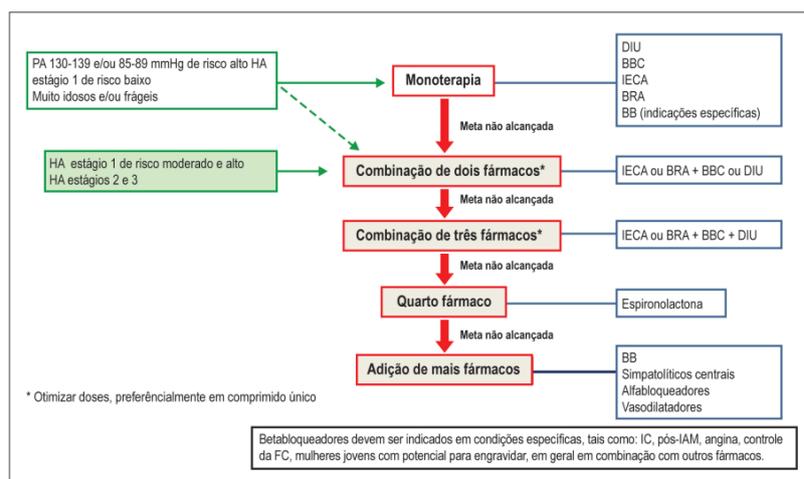


Figura 2 - Fluxograma do tratamento medicamentoso para HA com as classes de medicamentos recomendadas para diferentes situações. Fonte: Barroso et al.,2021.

Os DIU são amplamente utilizados a mais de 60 anos para o tratamento da HA primária. Essa classe de fármaco apresenta eficácia maior que as demais para a prevenção da insuficiência cardíaca e dos riscos CV. Nos EUA, no ano de 2012, 12% da população adulta recebeu a prescrição de pelo menos um DIU, o que demonstra a grande relevância desse medicamento no contexto geral da saúde. Da classe de DIU destacam-se a hidroclorotiazida (HCTZ), furosemida e espironolactona. Os DIU atuam promovendo o aumento da eliminação de urina devido a inibição da reabsorção de NaCl e água. Dessa forma, ocorre uma diminuição inicial do volume circulante e posteriormente à redução da RVP e, portanto, há redução da PA e conseqüentemente da mortalidade. Os efeitos adversos desses medicamentos estão diretamente relacionados a dose utilizada. Dentre esses efeitos, os mais comuns são câimbras, fraqueza, hipovolemia, disfunção erétil, hipopotassemia, hipomagnesemia e aumento de ácido úrico. Para a diminuição dos efeitos adversos recomenda-se a utilização de baixas doses de DIU (12,5-25 mg/dia de HCTZ), pois com essa dosagem os efeitos metabólicos serão reduzidos significativamente. Entretanto, não se observa esse resultado nos distúrbios sexuais e do sono (ROUSH *et al.*,2016; MISHRA *et al.*,2016; LULLMANN *et al.*,2017).

Losartana, Valsartana e Irbersatana são exemplos de BRA. Esses fármacos possuem como mecanismo de ação o bloqueio específico dos receptores AT1 e assim obtêm-se uma ação vasodilatadora e antiproliferativa, em razão do antagonismo da ação da angiotensina II (KOHLMANN JUNIOR *et al.*, 2010). Os BRA são amplamente recomendados para pacientes com alto risco CV com comorbidades. Eles também estão amplamente associados a redução do risco de doença renal. Entretanto, não se recomenda a associação dos IECA com os BRA, pois o paciente não terá efeitos adicionais e pode ter uma exacerbação dos efeitos adversos. De forma isolada, os BRA apresentam bom perfil de tolerabilidade, não apresentam grandes efeitos adversos, mas são contraindicados durante a gravidez (BARROSO *et al.*,2021; WILLIAMS *et al.*,2018).

### 1.5 Sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA)

A PA é determinada pelo débito cardíaco e RVP. Variações nesses fatores levam a ocorrência da HA. Dessa forma, a fisiopatologia da hipertensão está relacionada a mecanismos neurais, vasculares e renais. Diversos estudos vêm demonstrando que a hiperativação do sistema nervoso simpático está associada ao aumento da liberação e sensibilidade de noraepinefrina em hipertensos (SANJULIANI *et al.*,2002). Outro fator

que contribui para a variação da PA é o espessamento e endurecimento da parede arterial e devido a isso, ocorre um aumento da RVP e consequentemente da PA (NOGUEIRA *et al.*,2015).

A PA mantém-se de forma constante, entretanto quando ocorre uma queda desse valor, o SRAA é ativado para que o organismo retorne a homeostase. O SRAA é um sistema complexo que está envolvido com a homeostase CV, funções celulares e com o equilíbrio hidroeletrólítico. Os principais componentes desse sistema são a enzima conversora de angiotensina (ECA), renina, angiotensinogênio, angiotensinas e os receptores (RIBEIRO *et al.*,2015; SANJULIANI *et al.*,2011). A renina é uma aspartil protease produzida pelo aparelho justaglomerular, enquanto o angiotensinogênio é secretado pelo fígado e a aldosterona tem origem no córtex renal (GOLAN *et al.*,2014).

Com a queda dos níveis da PA, as células justaglomerulares das arteríolas aferentes dos néfrons secretam a molécula de renina que será responsável pela clivagem do angiotensinogênio e o produto formado é a angiotensina I (ANG I). A ECA é uma carboxipeptidase que está localizada na superfície das células endoteliais e é responsável pela hidrólise da ANG I em angiotensina II (ANG II) (GOLAN *et al.*,2014). A ANG II ao se ligar e ativar o receptor de angiotensina 1 (R-AT1) promove vasoconstrição, aumento da atividade simpática, maior secreção do hormônio antidiurético (ADH), reabsorção aumentada de NaCl no túbulo proximal e estimulação da secreção de aldosterona pelas glândulas adrenais. Todos esses fatores são responsáveis por aumentar o volume intravascular e assim manter a PA adequada (ASTURIAN *et al.*,2021; ALMEIDA *et al.*,2019).

A aldosterona é um mineralocorticóide que atua em diferentes segmentos ao longo do néfron promovendo o aumento da reabsorção de Na<sup>+</sup> e da excreção de K<sup>+</sup>. Devido a maior reabsorção de sódio, o centro da sede é ativado, o indivíduo acaba consumindo mais líquido e consequentemente o volume do líquido extracelular (LEC) aumenta, o que leva a elevação da PA. A aldosterona então amplifica os efeitos da ANG II. Desse modo, o SRAA está diretamente relacionado a origem e controle da HA, como também a ocorrência de outras doenças como a síndrome nefrótica e a insuficiência cardíaca congestiva (RIBEIRO *et al.*,2015; SILVERTHORN *et al.*,2017).

## 1.6 Polimorfismos genéticos associados à hipertensão arterial

A HA é uma patologia multifatorial, entretanto possui forte influência da genética. A história familiar em associação com fatores ambientais como estresse, condições de vida e alimentação possuem relação direta com o desenvolvimento da hipertensão. Estima-se que a herdabilidade é de 30 a 50%, sendo que essa patologia é duas vezes mais comum em pessoas que possuem um ou os dois pais hipertensos, além de ser mais frequente em irmãos biológicos do que em adotivos que residem no mesmo local (MEIN *et al.*, 2004; WILLIAMS *et al.*, 2018; LOPES *et al.*, 2014). Diferentes estudos na literatura identificaram 120 locus diferentes e mais de 900 genes associados à regulação da PA e dessa forma o risco genético de desenvolvimento da PA é transmitido através de centenas de variações de DNA, o que explicaria em torno de 27% da herdabilidade do controle da PA (BARROSO *et al.*, 2021; EVANGELOU *et al.*, 2018). Diversas formas secundárias da HA são herdadas por mutação em um único gene, como a síndrome de Liddle, hiperplasia adrenal congênita, hiperaldosteronismo familiar, síndrome de Geller, paraganglioma (RAINA *et al.*, 2019). Na hipertensão arterial primária algumas variantes genéticas foram associadas à hipertensão. Dentre os polimorfismos da ECA destacam-se os SNPs rs4291 AT, rs4335 AG e o rs4363 AG (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2013).

O SNP rs4291 está localizado na região promotora 5' do cromossomo 17 e o seu polimorfismo está relacionado a toxicidade do BCC Amlodipina e a eficácia do Captopril (LI *et al.*, 2021). O SNP rs4335 também está no cromossomo 17 e está localizado na região do íntron 16 do gene da ECA. O SNP rs4363 está situado no íntron 25 do cromossomo 17 (NCBI, 2021). Os polimorfismos localizados em regiões promotoras são capazes de alterar os sítios de interação entre o DNA e proteínas e, desse modo, modificam os padrões de expressão gênica e a transcrição. Por outro lado, os polimorfismos nas regiões dos íntrons são responsáveis por gerar sítios de ligação do DNA para fatores de transcrição (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2013). Brugts e colaboradores (2011) mostraram que polimorfismos nos SNPs rs4291, rs4363 e rs4335 levaram a um aumento dos níveis de ECA e conseqüentemente ocorreu uma maior produção de ANG II e maior ativação dos receptores AT1, o que gerou um aumento da PAS.

Diversos estudos na literatura sugerem que os polimorfismos são a causa mais importante com relação às diferenças na resposta de indivíduos ao mesmo medicamento e essas variações genéticas entre os grupos podem levar também a uma maior

suscetibilidade a reações adversas aos medicamentos (JOHNSON *et al.*,2019). Polimorfismos genéticos podem influenciar as respostas aos medicamentos por meio de genes envolvidos na patogênese da hipertensão, que são capazes de modificar os efeitos dos medicamentos, as interações fármaco-receptor, polimorfismos em enzimas metabolizadoras de fármacos, genes relacionados a transportadores de drogas e genes que participam de reações metabólicas (RYSZ *et al.*,2020).

Dessa forma, as terapias anti-hipertensivas baseadas em genótipos são eficazes e podem ajudar a evitar a ocorrência de eventos adversos importantes, bem como diminuir os custos de tratamento (BEITELSHEES *et al.*,2009; LANGAEE *et al.*,2007). Portanto, é fundamental a realização de estudos farmacogenéticos visando detectar previamente características individuais dos pacientes que possam identificá-los como bons respondedores e maus respondedores a cada tratamento farmacológico e assim teria uma redução de custos ao sistema público de saúde e um melhor prognóstico aos pacientes.

## 2. JUSTIFICATIVA

A triagem de indivíduos com má responsividade a terapia e com efeitos colaterais indesejáveis pode resultar na otimização dos regimes de tratamento e, portanto, na melhora dos pacientes. Uma estratégia farmacogenética baseada na escolha do melhor fármaco para cada indivíduo levaria a uma melhor relação custo-benefício e melhor controle da PA, ajudando a prevenir eventos cardiovasculares e renais e a melhorar a qualidade de vida e longevidade de pacientes hipertensos.

De acordo com as estimativas, a abordagem baseada na terapia geneticamente guiada para hipertensão com o uso de um painel multigênico reduz os custos totais de 3 anos em 47%; e 89% destes fármacos estão relacionados à prevenção de eventos adversos específicos (RYSZ *et al.*, 2020).

Os resultados dos estudos e da prática clínica confirmam que as terapias anti-hipertensivas baseadas no genótipo são eficazes, pois ajudam a evitar eventos adversos maiores, diminuindo os custos do tratamento e melhorando o prognóstico dos pacientes. Dessa forma, através desse estudo será possível avaliar a associação de polimorfismos genéticos da ECA e a resposta a fármacos anti-hipertensivos de 143 indivíduos da cidade de Ouro Preto – MG. Esses dados poderão ser utilizados pela Secretária Municipal de

Saúde e pelos profissionais de saúde para um melhor aconselhamento e tratamento anti-hipertensivo.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Avaliar a associação de polimorfismos genéticos da enzima conversora de angiotensina e a resposta a fármacos anti-hipertensivos.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Classificar os indivíduos como de alta, média ou baixa adesão à terapia anti-hipertensiva de acordo com a escala MMA8.
- Classificar os indivíduos em bons e maus respondedores em resposta a Losartana e Hidroclorotiazida.
- Verificar a associação dos SNPs da ECA rs4291 AT, rs4335 AG e o rs4363AG com a resposta aos fármacos (bons e maus respondedores).

### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo caso-controle avaliando 143 pacientes hipertensos encaminhados ao Laboratório Piloto de Análises Clínicas (LAPAC) pela equipe de atenção primária da Secretária Municipal de Saúde de Ouro Preto. Inicialmente, os pacientes foram abordados e foi explicado o projeto. Aqueles que tiveram interesse em participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 1), sendo entrevistados, submetidos à avaliação antropométrica e medição da PA. O material genético dos pacientes foi coletado para realização das análises dos polimorfismos.

Este trabalho constitui uma parte do projeto ***“ESTUDO DE FATORES DE RISCO E POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASSOCIADOS À HIPERTENSÃO ARTERIAL NO MUNICÍPIO DE OURO PRETO, MG”***, aprovado pelo CEP/UFOP, CAAE: **22455119.0.0000.5150** e publicado na revista Molecular Biology Reports (ver anexos).

#### 4.1 Entrevista

Para conhecimento do perfil socioeconômico, demográfico e comportamental da população estudada, os participantes foram entrevistados, a partir de um questionário (Anexo 2) que aborda dados pessoais, história familiar, variáveis comportamentais e uso de medicamentos. O aplicativo utilizado para a coleta dos dados foi o kobotoolbox.

Os participantes fizeram uma autodeclaração racial e de gênero. Sobre o nível de escolaridade, responderam sobre não ter instrução, possuir ensino fundamental incompleto ou completo, médio incompleto ou completo, superior incompleto ou completo e pós-graduação. Em relação a renda familiar, os pacientes fizeram uma autodeclaração se enquadrando em receber menos de 1 salário-mínimo, entre 1 e 2 salários-mínimos e mais que 2 salários-mínimos. Os participantes responderam sobre fazerem exercícios físicos como sim ou não e a frequência, Além disso, foi perguntado sobre os hábitos alcoólicos e tabagistas e suas respectivas frequências.

Sobre o tratamento medicamentoso, os pacientes responderam sobre qual medicação utilizavam e, posteriormente, foi consultado nos prontuários dos pacientes se eles utilizavam Losartana ou Hidroclorotiazida por pelo menos 3 meses. Consultou-se também se a terapia era em monoterapia ou associação. Os pacientes também foram questionados sobre como definiam o tratamento em bom, mais ou menos ou ruim.

Em relação a adesão ao tratamento, os indivíduos foram classificados de acordo com os 8 itens de Morinsky (MMA8). A escala de MMA8 é a escala de autorrelato mais utilizada para determinar a adesão a terapia e contém oito questões com apenas duas opções de resposta e uma pergunta composta de acordo com uma escala de quatro opções: nunca, quase nunca, às vezes, frequentemente e sempre. Cada questão avaliou um comportamento específico de adesão, sendo a resposta sim tendo valor de 0 pontos e não de 1 ponto. Os pacientes que obtiveram menos que 6 pontos foram classificados como de baixa adesão,  $6 < 8$  como média adesão e 8 como alta adesão (MORINKSY *et al.*,2008). As 8 perguntas feitas aos pacientes foram às seguintes:

- Você às vezes esquece de tomar os seus remédios para pressão?
- Nas duas últimas semanas, houve algum dia em que você não tomou seus remédios para pressão alta?
- Você já parou de tomar seus remédios ou diminuiu a dose sem avisar seu médico porque se sentia pior quando os tomava?

- Quando você viaja ou sai de casa, às vezes esquece de levar seus medicamentos?
- Você tomou seus medicamentos para pressão alta ontem?
- Quando sente que a sua pressão está controlada, você às vezes para de tomar seus medicamentos?
- Você já se sentiu incomodado por seguir corretamente o seu tratamento para pressão alta?
- Com que frequência você tem dificuldades para se lembrar de tomar todos os seus remédios para pressão? Nunca / Quase Nunca / Às vezes / Frequentemente / Sempre.

#### 4.2 Medida da pressão arterial

A PA foi medida usando o aparelho esfigmomanômetro digital (G-TECH Home BSP11) mediante técnica preconizada (MALACHIAS *et al.*,2017). Dentre os parâmetros básicos da técnica destaca-se que o paciente estava em repouso de 3-5 minutos em um ambiente calmo e conferiu-se se eles não haviam praticado atividade física, fumado e consumado bebidas alcoólicas momentos antes ao exame. Durante à medição, o paciente permaneceu sentado, com os pés apoiados no chão, dorso recostado na cadeira e relaxado. Além disso, a palma da mão estava virada para cima.

A pressão arterial dos entrevistados foi então medida e foi feita uma média da pressão na hora da entrevista com as duas últimas medidas recentes de pressão registradas nos prontuários dos pacientes.

#### 4.3 Coleta das amostras

As coletas de sangue foram realizadas por profissional habilitado, empregando materiais descartáveis à vista do paciente e seguindo as boas práticas de coleta de material biológico. As amostras de sangue venoso foram coletadas por punção venosa periférica, em tubo com anticoagulante EDTA.

A coleta foi realizada com o auxílio de um garrote no braço do paciente. O local foi antisséptico com álcool 70%. O laço da agulha foi retirado e realizou-se a punção venosa. Após o sangue começar a ser coletado no tubo, o garrote foi retirado. Depois da coleta, a agulha foi descartada em local apropriado.

#### 4.4 Extração de DNA e quantificação da amostra

O DNA genômico foi isolado das amostras a partir de 5mL de sangue utilizando o kit de purificação PureLink Genomic DNA Mini kit (Thermo Fisher Scientific), seguindo as instruções do fabricante. O fundamento dessa técnica é na ligação seletiva do DNA à membrana de sílica na presença de agentes caotrópicos.

Para a preparação do lisado, as células foram inicialmente digeridas com 20 µL proteinase K e 20 µL RNase foram adicionados para degradação do RNA presente na amostra. Adicionou-se uma solução de 200 µL de lise genômica e a preparação foi colocada em banho maria a 55°C por 10 minutos para promover a digestão das proteínas. Posteriormente, adicionou-se 200 µL de etanol 96-100% ao lisado.

Em seguida à purificação do DNA, o lisado foi transferido para a coluna acoplada a um tubo eppendorf e centrifugado por 1 minuto. A coluna foi transferida para outro eppendorf para lavagem com 500 µL do tampão 1 e novamente centrifugada 1 minuto. Em seguida 500 µL do tampão 2 foi adicionado e o lisado foi novamente centrifugado por 3 minutos, ambos para a retirada de impurezas.

A coluna foi transferida novamente para outro eppendorf para iniciar a eluição do DNA através da adição de 60 µL e 40 µL do tampão de eluição, obtendo o DNA puro. O armazenamento foi feito a -20 ° C para posterior análise.

A qualidade do DNA foi verificada através de gel de agarose 2% corado com brometo de etídio e a concentração foi determinada através da espectrofotometria NanoDrop™ UV/Vis.

#### 4.5 Genotipagem

Os primers foram adquiridos da (Thermo Fisher Scientific). A sequência do contexto foi fornecida pelo fabricante (Tabela 3).

Tabela 3 - Sequência do contexto e alelos correspondentes a VIC e FAM.

SNP	Sequência do contexto	Alelos	
		VIC	FAM
rs4363	[VIC/TGCCCATGCTGTCTCCTTGCTTCCC <u>[A/G]</u> CTCAGCTCGCTCAGAAGGGCCCTC/FAM]	A	G
rs4291	[VIC/GGCAAACACTGCCGGGTCCCCATCTTC <u>[A/T]</u> AAAGAGAGGAGGCCCTTTCTCCAGC/FAM]	A	T
rs4335	[VIC/CCCCTGGCTGGTCCTTCTTACCCC <u>[A/G]</u> GCCCGTTTGAAAGAGCTCACCCCG/FAM]	A	G

Fonte: dados compilados pelo autor (2022).

Os SNPs rs4291, rs4363, rs4335 apresentam como alelo 1 o alelo A, A e A e alelo 2 o alelo T, G e G respectivamente.

As avaliações dos polimorfismos ECA (rs4291/rs4363 e rs4335) foi feita por qPCR, utilizando o sistema TaqMan® SNP Genotyping Assays (Thermo Fisher Scientific), seguindo os critérios recomendados pelo fabricante.

Previamente foram diluídos 40X TaqMan® SNP Genotyping Assays para um estoque de trabalho 20X com 1X tampão TE (composição do tampão 1X TE: Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0, em água filtrada estéril livre de DNase).

A mistura de reação foi preparada com 5 µL de TaqMan® Master Mix e 0,50 µL de estoque de trabalho, totalizando 5,5 µL de reagente por poço. Posteriormente, cada amostra de DNA foi diluída, incluindo controles, em água livre de nuclease para fornecer 10 ng/µL por poço. Adicionou-se na placa de reação óptica de 96 poços MicroAmp™ 5,5 µL de reagente preparado previamente e 4,5 µL de amostra diluída, totalizando um volume final de 10 µL por poço.

A placa foi selada com filme adesivo e, em seguida, centrifugada brevemente a 1000 rpm para trazer a mistura de reação para o fundo do poço e eliminar as possíveis bolhas de ar. A placa de reação óptica de 96 poços MicroAmp™ foi processada no instrumento

de PCR em tempo real 7900HT através do perfil abaixo (Tabela 4). A análise da placa foi realizada através dos dados de discriminação alélica, com auxílio do software 7500 v2.3.

Tabela 4 - Ensaios de genotipagem TaqMan®

<b>Etapa</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Duração</b>
Ativação da polimerase	95°C	10 minutos
Desnaturação	95°C	15 segundos
Anelamento/Extensão	60°C	1 minuto

Fonte: dados compilados pelo autor (2022).

#### 4.6 Avaliação dos prontuários

Os dados clínicos e de resposta aos fármacos anti-hipertensivos foram obtidos por meio de concessão de acesso aos prontuários da atenção primária da Secretária Municipal de Saúde de Ouro Preto. A partir dos prontuários foram coletados dados da medicação anti-hipertensiva utilizada pelo paciente, o tempo de utilização, o tipo de terapia e as duas últimas medidas de PA.

#### 4.7 Classificação em bom e mau respondedor

Os indivíduos foram classificados em bom e mau respondedores para o tratamento com Losartana e/ou Hidroclorotiazida de acordo com um sistema de pontuação sobre Resistência a Hipertensão (JOHNS HOPKINS MEDICINE, 2021). Analisou-se 4 itens para cada paciente e se a resposta fosse sim, o paciente somava 1 ponto, e caso a resposta fosse negativa não pontuava. Dessa forma, os pacientes com 0-1 ponto foram classificados como bons respondedores e os pacientes com 2 ou mais pontos como maus respondedores. Os 4 itens analisados foram os seguintes:

- O paciente está tomando 3 medicamentos diferentes para pressão arterial em suas doses máximas toleradas?
- Um dos medicamentos para pressão arterial é um diurético?
- A pressão permanece acima da meta de 130/80?
- O paciente utiliza quatro ou mais medicamentos para controlar a pressão?

#### 4.8 Análise de dados

As informações coletadas durante a entrevista, assim como os dados obtidos das avaliações antropométricas e laboratoriais foram duplamente digitados e conferidos. Após a correção das divergências, foi analisada a consistência do banco de dados e posteriormente foram realizadas análises.

Inicialmente, realizou-se uma avaliação exploratória dos dados e obtenção de medidas-resumo e de frequências. Para a comparação dos dados categóricos, da frequência alélica, dos genótipos e a associação entre os polimorfismos e a resposta aos fármacos entre os grupos de bons e maus respondedores, foi feito o teste de regressão logística univariada através do software STATA versão 13.0. Foi considerado significativo quando  $p < 0.05$ .

#### 4.9 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE)

O software genAIEx 6.5 foi utilizado para analisar o equilíbrio das populações e estimou-se as frequências genotípicas esperadas em relação ao tamanho da amostra. Com base nesses resultados, realizou-se o teste do qui-quadrado para avaliar a conformidade com as expectativas do HWE.

### 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.1 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE)

A população estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0.05$ ) para todos os 3 SNPs analisados.

#### 5.2 Características sociodemográficas e clínicas da população de estudo

O estudo caso-controle teve a participação de 143 pacientes hipertensos, sendo 81 pacientes do sexo feminino e 62 pacientes do sexo masculino. A idade média dos participantes foi de 60.44 anos ( $\pm 5.97$ ), com a menor idade registrada de 35 anos e a maior de 78 anos. 59 pacientes se autodeclararam como pretos, 41 como brancos e 43 como pardos. Sobre a escolaridade, 60.83% dos participantes não possuíam instrução ou

fundamental incompleto e a renda familiar média de 61.53% era entre 1-2 salários-mínimos. Somente 50 (34.96%) indivíduos praticavam atividade física regularmente.

Tabagismo e hábitos alcoólicos foram reportados por 11.88% e 38.46% dos pacientes, respectivamente. 52.44% dos participantes realizavam o tratamento com a utilização de HCTZ em monoterapia ou associação, enquanto 60.83% utilizavam Losartana. 71.32% dos pacientes eram tratados com a associação de medicamentos.

### 5.3 Características sociodemográficas e clínicas da população de estudo de acordo com a classificação de resistência terapêutica

Dos 143 pacientes hipertensos, 61 pacientes foram classificados como bons respondedores e 82 como maus respondedores ao tratamento anti-hipertensivo. As características sociodemográficas e clínicas da população de estudo são demonstradas na tabela 5.

Tabela 5 – Características Sociodemográficas e Clínicas da população de acordo com a classificação de resistência terapêutica.

<b>Variáveis</b>	<b>Mau respondedor, (n=82)</b>	<b>Bom respondedor, (n=61)</b>	<b>OR (IC 95%)</b>	<b>P</b>
<b>Sexo n (%)</b>				
Feminino	48 (58.5)	33 (54.1)	0.83 (0.43-1.63)	0.596
Masculino	34 (41.5)	28 (45.9)		
<b>Etnia n (%)</b>				
Preto	28 (34.1)	31 (50.8)		
Branco	28 (34.1)	13 (21.3)	2.38 (1.03-5.48)	<b>0.041</b>
Pardo	26 (31.7)	17 (27.9)		
<b>Escolaridade n (%)</b>				
SI/EFI	51 (62.2)	36 (59)	1.15 (0.54-2.44)	0.213
EFC/EMI/EMC	26 (31.7)	16 (26.2)		
ESI/ESC/POS	5 (6.1)	9 (14.8)		
<b>Renda Familiar, salários n (%)</b>				
< 1 salário	23 (28)	16 (26.2)	0.95 (0.44-2.06)	0.815
>1 e <2 salários	51 (62.2)	37 (60.7)		
>2 salários	8 (9.8)	8 (13.1)		
<b>Sedentarismo n (%)</b>				
Sim	58 (70.7)	35 (57.4)	0.55 (0.27-1.16)	0.098
Não	24 (29.3)	26 (42.6)		

<b>Hábitos Alcoólicos n (%)</b>				
Sim	27 (32.9)	28 (45.9)	1.73 (0.87-3.42)	0.115
Não	55 (67.1)	33 (54.1)		
<b>Tabagismo n (%)</b>				
Sim	8 (9.8)	9 (14.8)	1.6 (0.58-4.42)	0.361
Não	74 (90.2)	52 (85.2)		
<b>MMA-8 n (%)</b>				
Alto	47 (57.3)	49 (80.3)		
Médio	25 (30.5)	7 (11.5)	3.72 (1.47-9.42)	<b>0.009</b>
Baixo	10 (12.2)	5 (8.2)		
<b>Pressão Arterial n (%)</b>				
<130/80 mmHg	2 (2.4)	22 (36.1)	22.56 (5.04-100.8)	<b>0.000</b>
>130/80 mmHg	80 (97.6)	39 (63.9)		
<b>Hidroclorotiazida n (%)</b>				
Sim	65 (79.3)	10 (16.4)	19.5 (8.22-46.2)	<b>0.000</b>
Não	17 (22)	51 (83.6)		
<b>Losartana n (%)</b>				
Sim	49 (59.8)	38 (62.3)	0.89 (0.45-1.77)	0.758
Não	33 (40.2)	23 (37.7)		
<b>Terapia n (%)</b>				
Monoterapia	7 (8.5)	34 (55.7)	13.5 (5.35-34.02)	<b>0.000</b>
Associação	75 (91.5)	27 (44.3)		
<b>Tratamento n (%)</b>				
Bom	52 (63.4)	46 (75.4)	1.62 (0.72-3.63)	0.27
Mais ou menos	22 (26.8)	12 (19.7)		
Ruim	8 (9.8)	3 (4.9)		

Valores de referência dos parâmetros: sedentarismo (<150 minutos de atividade física/semana); Obesidade (IMC $\geq$ 30 kg/m<sup>2</sup>). DP: desvio padrão; SI: sem instrução. EFI: ensino fundamental incompleto; EFC: ensino fundamental completo; EMI: ensino médio incompleto; EMC: ensino médio completo; ESI: ensino superior incompleto; ESC: ensino superior completo; POS: pós-graduação. Fonte: dados compilados pelo autor (2022).

O grupo de maus respondedores (MR) possui 58.5% de pacientes do sexo feminino, enquanto no grupo de bons respondedores (BR) esse valor foi de 54.1%. Assim, não houve diferença significativa em relação ao sexo (p= 0.83). Dados na literatura apontam que a hipertensão ocorre de forma mais tardia nas mulheres, em relação aos homens e

esse fato tem relação com a diminuição da produção de hormônios ovarianos (FONSECA.,2015). Mueisan e colaboradores (2016) descreveram diferenças no tratamento anti-hipertensivo de homens e mulheres, sendo que as mulheres geralmente são mais tratadas com DIU e pouco com inibidores da ECA e bloqueadores dos receptores de angiotensina. Entretanto, estudos clínicos demonstraram que a resposta a medicação anti-hipertensiva não diferiu por sexo e ainda não se tem metas específicas para tratamento por gênero (RECKELHOFF.,2018).

Na análise da etnia, foi observada diferença significativa ( $p = 0.041$ ) para indivíduos com cor de pele branca quando comparados aos grupos MR e BR, indicando que pessoas com cor de pele branca possuem cerca de 2.38 vezes mais chances de serem MR em relação aos indivíduos de cor de pele preta. De acordo com dados do IBGE, 72% da população ouro-pretana se autodeclara como negra. Indivíduos negros possuem taxas mais alta de hipertensão em relação a indivíduos brancos, enquanto os indivíduos asiáticos possuem a menor taxa de prevalência dessa patologia (SAEED et al.,2020). Além disso, os negros desenvolvem HA mais cedo que os brancos e isso está relacionado ao reduzido acesso aos serviços de saúde e a predisposição genética, como baixo nível de renina e biodisponibilidade reduzida de óxido nítrico (BENNETT et al.,2016). Entretanto, Egan e colaboradores (2014) mostraram que a conscientização e a taxa de adesão ao tratamento da hipertensão foram maiores em negros do que em brancos, mostrando a melhor responsividade e adesão ao tratamento dos indivíduos negros.

Em relação aos níveis de escolaridade, a maioria dos participantes (60.8%) não possuíam instrução ou tinham ensino fundamental incompleto, sendo 62.2% no grupo de MR e 59% no grupo de BR. A análise estatística demonstrou que não existe uma associação significativa entre o grau de instrução e a resposta ao tratamento. Malta e colaboradores (2016) realizaram um estudo nas capitais dos estados brasileiros e chegaram à conclusão de que a HA apresenta índices mais elevados de incidência em indivíduos com menor escolaridade. Esse fato pode ser explicado por conta do menor acesso dessas pessoas aos serviços de saúde, a falta da alimentação balanceada e ao menor entendimento da doença. Não houve diferença significativa em relação a renda ( $p= 0.815$ ) e ao sedentarismo ( $p=0.098$ ).

Na análise do consumo de bebidas alcoólicas e tabagismo não foi constatada diferença significativa entre os grupos BR e MR. Entretanto, o consumo abusivo de álcool e o tabagismo são um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento da HA e afetam

também no controle da pressão e conseqüentemente na resposta ao tratamento (MALTA et al.,2016). Sendo assim, a cessação dos hábitos alcoólicos e tabagistas é essencial para uma boa resposta ao tratamento anti-hipertensivo.

Sobre a adesão ao tratamento de acordo com a escala MMA8, foram observadas diferenças significativas ( $p=0.009$ ) entre os grupos MR e BR. No grupo BR, 11.5% dos pacientes foram classificados como de média adesão, enquanto no grupo MR esse valor foi de 30.5%. Dessa forma, ser classificado como de média adesão aumenta em 3.72 vezes a chance de ser MR em comparação a classificação de alta adesão. A escala MMA8 já foi utilizada em diversas pesquisas para analisar a aderência dos pacientes ao tratamento anti-hipertensivo. Oliveira-filho e colaboradores (2014) realizaram um estudo com 937 pacientes hipertensos da cidade de Maceió e chegaram ao resultado médio de 5.78 na pontuação da escala MMA8. Além disso, concluíram que pacientes com baixo e médio nível de adesão ao tratamento possuem grande potencial para não ter um controle adequado dos valores de PA. Pandey e colaboradores (2015) compararam a escala MMA8 com a detecção sérica de pelo menos um medicamento anti-hipertensivo prescrito para o paciente e constataram que a especificidade da escala foi de 75%. Dessa forma, a escala de Morisky é importante de ser analisada para auxiliar na detecção se a não responsividade do paciente ao tratamento é devido à baixa adesão ou a outros fatores, como os genéticos.

Em relação à média da PA, apenas 2.4% dos pacientes do grupo MR apresentavam valores de pressão  $<130/80$  mmHg, enquanto no BR 36.1% dos pacientes possuíam pressão dentro da meta terapêutica. Assim, pacientes com pressão abaixo de  $130/80$  mmHg tem 22.56 vezes mais chances de ser BR. A elevação persistente da PA é um dos principais fatores de risco para diversas DCV como hipertrofia ventricular esquerda, doença coronariana, arritmias cardíacas e insuficiência renal (KJELDSEN et al.,2017).

A meta terapêutica para o tratamento da HA é de  $<140/90$ mmHg para pacientes com risco baixo ou moderado e  $<130/80$ mmHg para paciente com risco alto. Indivíduos com valores de PAS entre 120-129 mmHg apresentam redução do risco de mortalidade total e CV, acidente vascular encefálico e doença coronariana quando comparados com indivíduos com valores acima de 140 mmHg (MALACHIAS et al.,2016). O número de pacientes hipertensos que apresentam PA nos níveis recomendados é muito baixo (MANCIA.,2013). Carrington e colaboradores (2010) realizaram um estudo retrospectivo e analisaram o prontuário eletrônico de mais de meio milhão de australianos. Os

pesquisadores chegaram à conclusão de que 50% dos pacientes hipertensos apresentavam valores de PA acima do estabelecido e com o passar dos 5 anos do estudo não houve uma tendência geral de melhor controle pressórico. É essencial então que os indivíduos obtenham uma boa resposta ao tratamento para que os níveis pressóricos sejam mantidos dentro das faixas adequadas e se tenha uma redução do risco de outras DCV.

Sobre o tratamento medicamentoso, 79.3% dos pacientes do grupo MR utilizavam HCTZ, enquanto no grupo de BR esse índice foi de 16.4%. Portanto, existe uma correlação de 19.5 entre utilizar Hidroclorotiazida e ser MR. A HCTZ é o DIU de primeira escolha prescrito para a maioria dos pacientes, entretanto diversos estudos clínicos apontam que a Clortalidona e Indapamida são DIU mais eficazes no controle da PA de pacientes com hipertensão arterial resistente (HAR) (YAXLEY et al.,2015). O uso da HCTZ está relacionado também a piora do perfil metabólico dos pacientes, principalmente em indivíduos diabéticos (OLIVEIRA et al.,2021).

Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas ( $p=0.758$ ) entre os grupos para a utilização da Losartana. Dahlof e colaboradores analisaram 9193 pacientes hipertensos com idade entre 55-80 anos e PA >160/95 mmHg e após 4.8 anos de acompanhamento constataram que 47.6% dos indivíduos conseguiram reduzir os índices pressóricos para valores abaixo de 140/90 mmHg ao utilizarem Losartana. Os dados acima estão de acordo com o identificado nessa pesquisa, pois a HCTZ está fortemente relacionada a HAR, enquanto pacientes que utilizam Losartana apresentam uma melhor resposta ao tratamento.

No que diz respeito ao tipo de terapia, foram observadas diferenças significativas entre os grupos. 91.5% dos participantes classificados como MR, realizavam o controle da PA com a utilização de mais de um medicamento enquanto a maioria dos BR (55.7%) utilizavam apenas uma medicação anti-hipertensiva. Assim, há uma correlação de 13.5 vezes entrar ser BR e realizar o tratamento com monoterapia. O objetivo do tratamento medicamentoso da HAR é reduzir o risco CV e por isso, frequentemente, é utilizada a associação de um fármaco que bloqueie o SRAA associado a um antagonista dos canais de cálcio (ACC) e a um DIU tiazídico (SBC.,2012). Com isso, indivíduos que utilizam três ou mais medicamentos para o controle da PA possuem resistência ao tratamento e nesse estudo mesmo com a associação, a maioria deles continuou não respondendo de forma adequada ao tratamento.

A maioria dos pacientes (63.4% do MR e 75.4% do BR) classificou o tratamento com bom e não houve diferenças significativas entre ambos os grupos. Esses dados de autorrelato dos participantes sobre como classificam o tratamento está de acordo com os índices encontrados na escala MMA8. Dessa forma, a satisfação do paciente com o esquema terapêutico dele está diretamente relacionado a adesão a terapia.

#### 5.4 Características genóticas e alélicas da população de estudo

A tabela 6 apresenta as frequências genóticas e alélicas para cada um dos três SNP estudados.

Tabela 6 - Avaliação dos alelos e genótipos de bons e maus respondedores

<b>Genótipos ACE</b>	<b>Mau respondedor, n (%)</b>	<b>Bom respondedor, n (%)</b>	<b>OR (CI 95%)</b>	<b>P</b>
<b>rs4363</b>				
AA	20 (24.4)	9 (14.8)	0.52 (0.21-1.31)	0.265
AG	36 (43.9)	31 (50.8)		
GG	26 (31.7)	21 (34.4)		
Alelo A	76 (46.3)	49 (40.2)	0.78 (0.45-1.37)	0.732
Alelo G	88 (53.7)	73 (59.8)		
<b>rs4291</b>				
AA	34 (41.5)	21 (34.4)	0.84 (0.39-1.77)	0.408
AT	34 (41.5)	25 (41)		
TT	14 (17.1)	15 (24.6)		
Alelo A	102 (62.2)	67 (54.9)	0.75 (0.42-1.32)	0.315
Alelo T	62 (37.8)	55 (45.1)		
<b>rs4335</b>				
AA	28 (34.1)	19 (31.1)	0.91 (0.42-1.97)	0.851
AG	35 (42.7)	26 (42.6)		
GG	19 (23.2)	16 (26.2)		
Alelo A	91 (55.5)	64 (52.5)	0.88 (0.51-1.55)	0.669
Alelo G	73 (44.5)	58 (47.5)		

Fontes: dados compilados pelo autor (2022).

No que se refere ao SNP rs4363 do gene da ECA, o genótipo heterozigoto estava presente em 43.9% dos MR e em 50.8% dos BR, o homozigoto AA em 24.4% dos MR e 14.8% dos BR, enquanto o homozigoto GG teve percentuais de 31.7% em MR e 34.4% em BR. A partir desses dados, diferenças significativas entre os grupos não foram observadas ( $p=0.265$ ). Com relação aos alelos, tanto o grupo de MR, quanto o de BR, apresentaram uma maior frequência do alelo G, sendo 53.7% e 59.8%, respectivamente. No entanto, não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p=0.732$ ).

A frequência estimada do alelo G do rs4363 na população mundial é de 51.7%, entretanto quando se analisa apenas a população latino-americana esse valor cai para 40.9% (NCBI.,2021). Martinez e colaboradores (2013) realizaram um estudo no México com 239 hipertensos e 371 normotensos e constataram que o alelo G do SNP rs4363 está associado com o aumento do risco de desenvolvimento de hipertensão. Um estudo de coorte com 5124 pacientes da cidade de Massachusetts indicou que o genótipo AA está associado a um efeito protetor da ocorrência de infarto do miocárdio (KULMINSKI et al., 2010). Portanto, apesar de não termos encontrados diferenças significativas entre os grupos, os dados estão de acordo com os achados na literatura, pois hipertensos possuem uma frequência maior do alelo G desse SNP.

Em relação ao SNP rs4291 do gene da ECA, tanto o genótipo heterozigoto (41.5% dos MR e 41% dos BR), quanto os homozigotos AA (41.5% MR e 34.4% BR) e TT (17.1% MR e 24.6% BR) não apresentam diferenças significativas ( $p=0.408$ ). Ao analisar os alelos, ambos os grupos apresentaram um percentual maior do alelo A (62.2% MR e 54.9% BR), porém não foram constatadas diferenças significativas ( $p=0.315$ ). Dados do NCBI (2021) demonstram que a frequência do alelo A na população mundial é de 62.1% e do alelo T é de 37.9% e assim esses valores são muito similares ao encontrados nesse estudo. O alelo T está associado com a ocorrência da hipertensão em mexicanos e com o aumento da atividade da ECA e a ocorrência de hipertrofia do ventrículo esquerdo (MARTINEZ-RODRIGUEZ et al.,2013; BAHRAMALI et al.,2017).

Acerca do SNP rs4335 do gene da ECA, os genótipos heterozigoto (42.7% MR e 42.6% BR), homozigoto AA (34.1% MR e 31.1% BR) e homozigoto GG (23.2% MR e 26.2% BR) não foram diferentes estatisticamente entre os grupos ( $p=0.851$ ). Diferenças estatísticas também não foram notadas em relação aos alelos ( $p=0.669$ ), sendo que os dois grupos apresentaram uma maior frequência do alelo A (55.5% MR e 52.5% BR). Por outro lado, na população mundial o alelo G possui uma maior frequência (64%)

(NCBI,2021). O alelo G e o genótipo GG estão associados ao aumento do risco de hipertensão e isso ocorre por conta das elevações significativas nas concentrações séricas de ECA (MARTINEZ-RODRIGUEZ *et al.*,2013; DALAL *et al.*,2016).

Portanto, apesar desse estudo não ter encontrados diferenças significativas entre a frequência dos alelos nos grupos de BR e MR, as frequências encontradas para os hipertensos estão de acordo com os achados na literatura.

### 5.5 Análise dos genótipos em relação a uso de hidroclorotiazida

Dos 143 participantes desse estudo, 75 utilizavam a HCTZ como medicação anti-hipertensiva e avaliou-se a influência da genética na resposta a esse diurético. Os dados encontrados estão demonstrados na Tabela 7.

Tabela 7 – Avaliação do uso da hidroclorotiazida com os alelos e genótipos de bons e maus respondedores

Gene ACE	Mau respondedor	P	Bom respondedor	P
<b>rs4363</b>				
AA	16 (24.6)		3 (30.0)	0.641
AG	30 (46.2)		4 (40.0)	
GG	19 (29.2)		3 (30.0)	
A	62 (47.7)		10 (50.0)	0.777
G	68 (52.3)		10 (50.0)	
<b>rs4291</b>				
AA	27 (41.5)		4 (40.0)	0.505
AT	29 (44.6)		4 (40.0)	
TT	9 (13.8)		2 (20.0)	
A	83 (63.8)		12 (60.0)	0.560
T	47 (36.2)		8 (40.0)	
<b>rs4335</b>				
AA	24 (36.9)		4 (40.0)	0.264
AG	29 (44.6)		5 (50.0)	
GG	12 (18.5)		1 (10.0)	
A	77 (59.2)		13 (65.0)	0.465
G	53 (40.8)		7 (35.0)	

Fonte: dados compilados pelo autor (2022)

Para o SNP rs4363, a maior parte dos pacientes possuía o genótipo heterozigoto AG (46.2% do MR e 40% do BR) e não foram identificadas diferenças significativas entre os grupos ( $p=0.641$ ). Com relação aos alelos, 52.3% dos MR para HCTZ possuíam um alelo G e no grupo de BR a frequência desse alelo foi de 50%, portanto não houve diferenças estatísticas entre os grupos ( $p=0.777$ ).

Sobre o SNP rs4291, no grupo MR, 44.6% dos indivíduos eram heterozigotos (AT) e 41.5% homozigotos AA. Por outro lado, no grupo do BR, 40% dos participantes eram homozigotos AA e o mesmo percentual era heterozigoto (AT). A maior parte dos pacientes que utilizavam HCTZ apresentaram uma maior frequência do alelo A para ambos os grupos (63.8% MR e 60% BR). Assim, os genótipos e alelos desse SNP não influenciaram de forma importante na resposta ao tratamento com HCTZ.

Por fim, em relação ao SNP rs4335, também não foram identificadas diferenças estatísticas entre os genótipos e a classificação em BR e MR para o tratamento com a HCTZ. No grupo BR, 50% dos indivíduos era heterozigoto (AG) e 40% homozigoto AA. Já no grupo de MR, a maior parte dos participantes possuía genótipo heterozigoto AG (44.6%).

Vormfelde e colaboradores (2006) analisaram o efeito anti-hipertensivo da HCTZ associada à variação genética na ECA em 103 indivíduos da Alemanha e concluíram que os polimorfismos exerceram maior influência com doses maiores do DIU e os pacientes portadores do alelo de inserção da ECA foram mais propensos à hipocalcemia do que os portadores do alelo de deleção. Um outro estudo realizado com 1439 pacientes demonstrou que existe uma associação significativa entre ECA e alteração da PA na comparação com polimorfismos de deleção (CHOI *et al.*,2013).

Um estudo demonstrou que o polimorfismo Glu298Asp no gene da Óxido nítrico sintase (eNOS) é responsável por modular a responsividade do paciente a HCTZ e assim os indivíduos com alelo homozigotos apresentam uma redução maior da PA quando comparados aos heterozigotos. Entretanto, essa redução não ocorre apenas devido a um único polimorfismo (SILVA *et al.*,2011). Nesses casos de resistência ao tratamento com HCTZ, os fármacos antagonistas dos receptores mineralocorticóides, como espironolactona e eplerenona, são os medicamentos indicados (ROUBY *et al.*,2015).

Apesar desse estudo não ter encontrados diferenças significativas entre os SNPs analisados e a resposta à HCTZ, outros estudos na literatura mostram essa associação. A

não associação nesse estudo pode ser devido ao fato da pequena amostra de indivíduos utilizadores de HCTZ, como também da não diferenciação deles em razão da dose, pois como já observado em outros estudos, os polimorfismos possuem maior influências nas doses mais altas desse DIU.

### 5.6 Análise dos genótipos em relação a uso de losartana

87 pacientes desse estudo realizavam o controle pressórico com a utilização da losartana e analisou-se a influência da genética na resposta a esse fármaco. Os dados encontrados estão demonstrados na Tabela 8.

Tabela 8 – Avaliação do uso da losartana com os alelos e genótipos de bons e maus respondedores.

Gene ACE	Mau respondedor	P	Bom respondedor	P
<b>rs4363</b>				
AA	13(26.5)		8 (21.1)	<b>0.019</b>
AG	20 (40.8)		23 (60.5)	
GG	16 (32.7)		7 (18.4)	
A	46 (46.9)		39 (51.3)	0.572
G	52 (53.1)		37 (48.7)	
<b>rs4291</b>				
AA	22 (44.9)		14 (36.8)	0.177
AT	20 (40.8)		15 (39.5)	
TT	7 (14.3)		9 (23.7)	
A	64 (65.3)		43 (56.6)	0.269
T	34 (34.7)		33 (43.4)	
<b>rs4335</b>				
AA	18 (36.7)		15 (39.5)	<b>0.044</b>
AG	19 (38.8)		19 (50.0)	
GG	12 (24.5)		4 (10.5)	
A	55 (56.1)		49 (64.5)	0.248
G	43 (43.9)		27 (35.5)	

Fonte: dados compilados pelo autor (2022).

Ao analisar se algum genótipo do SNP rs4363 afetou a resposta a losartana, foi possível notar que BR possuem uma frequência maior do genótipo heterozigoto AG (60.5%), enquanto os genótipos homozigotos AA e GG apresentam uma frequência de respectivamente, 21.1% e 18.4% no grupo de BR. Por outro lado, no grupo de MR, 32.7% dos pacientes possuem genótipo GG. Dessa forma, BR possuem mais genótipo AG, enquanto MR apresentam uma frequência maior do genótipo GG do rs4363 ( $p=0.019$ ).

Para o SNP rs4291, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos ( $p=0.177$ ). No grupo MR, 44.9% dos indivíduos apresentaram o genótipo AA e 40.8% o genótipo AT. Já no grupo BR, esses valores foram de 36.8% (AA) e 39.5% (AT).

Em relação ao SNP rs4335, a frequência do genótipo homocigoto AA foi muito similar em ambos os grupos, 36.7% no grupo MR e 39.5% no grupo BR. Entretanto, 24.5% do MR possuem o genótipo GG, enquanto no grupo BR esse valor é de apenas 10.5%. Sendo assim, MR possuem uma frequência maior do genótipo GG do rs4335.

O aumento da conversão de Ang I em Ang II, associado a maiores concentrações de ECA, está relacionado a diferenças na função CV e renal em indivíduos com genótipo DD (deleção) em relação aos com genótipo II (inserção). Dessa forma, polimorfismos de inserção e deleção do gene da ECA possuem influência sobre a resposta do paciente a losartana, pois esse medicamento age bloqueando os receptores de Ang II e levando então a um efeito antagonista (PARVING *et al.*,2018).

Dados na literatura já demonstram que certos polimorfismos relacionados a CYP e a transportadores de efluxo de drogas estão diretamente relacionados a biodisponibilidade e a eficácia do tratamento com losartana (DORADO *et al.*,2012; PARK *et al.*,2021). O tratamento a longo prazo com losartana tem efeitos renoprotetores em pacientes hipertensos com diabetes tipo 1 que possuíam genótipos II e DD da ECA (ANDERSEN *et al.*,2003). Entretanto, na literatura ainda não existem estudos sobre a interferência dos polimorfismos analisados nessa pesquisa e a influência deles à resposta ao tratamento.

## 6. CONCLUSÃO

De acordo com os dados desse estudo, é possível concluir que fatores sociais, comportamentais e genéticos estão associados à resposta ao tratamento anti-hipertensivo na população de Ouro Preto, Minas Gerais. Dentre eles, destaca-se a etnia branca, adesão média à terapia e a associação de medicamentos anti-hipertensivos que foram mais presentes em maus respondedores. Apesar de não termos encontrado associação entre as frequências alélicas e genóticas entre os grupos de BR e MR, ao avaliar a relação do SNPs com a resposta a Losartana, verificamos que o genótipo AG do rs4363 correlacionou-se com bons respondedores, enquanto os genótipos GG do rs4363 e GG do rs4335 associaram-se ao grupo de maus respondedores. Portanto, por essa ainda ser uma

área de estudos muito recente, mais estudos são necessários para que se possa obter uma terapia baseada na farmacogenética.

## 7. REFERÊNCIAS

ABESO. **OMS faz alerta sobre o sedentarismo no Brasil**. 2018. Disponível em: <https://abeso.org.br/oms-faz-alerta-sobre-o-sedentarismo-no-brasil/>. Acesso em: 29 nov. 2022.

ALESSI, Alexandre *et al.* I Brazilian Position Paper on Prehypertension, White Coat Hypertension and Masked Hypertension: Diagnosis and Management. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, [s. l.], v. 102, n. 2, p. 110-119, fev. 2014. Disponível em: doi: 10.5935/abc.20140011. Acesso em: 27 nov. 2022.

ALMEIDA, Lucas Ferreira de *et al.* When Less or More Isn't Enough: renal maldevelopment arising from disequilibrium in the renin-angiotensin system. **Frontiers In Pediatrics**, [S.L.], v. 7, n. 296, p. 1-8, 17 jul. 2019. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fped.2019.00296>.

ANDERSEN, Steen *et al.* Long-Term Renoprotective Effects of Losartan in Diabetic Nephropathy. **Diabetes Care**, [S.L.], v. 26, n. 5, p. 1501-1506, 1 maio 2003. American Diabetes Association. <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.26.5.1501>.

ANKER, Daniela *et al.* Screening and treatment of hypertension in older adults: less is more?. **Public Health Reviews**, [S.L.], v. 39, n. 1, p. 1-16, 3 set. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40985-018-0101-z>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6120092/>. Acesso em: 29 nov. 2022.

ASTURIAN, Kathleen *et al.* O papel dos inibidores da enzima conversora de angiotensina e dos antagonistas dos receptores de angiotensina em pacientes com Covid-19: uma revisão narrativa. **Revista de Ciências Médicas**, [S.L.], v. 30, p. 1, 10 mar. 2021. Cadernos de Fe e Cultura, Oculum Ensaio, Reflexão, Revista de Ciências Médicas e Revista de Educação da PUC-Campinas. <http://dx.doi.org/10.24220/2318-0897v30e2021a5035>.

AZIZ, José Luís. Sedentarismo e hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 75-82, 2014.

BAHRAMALI, Ehsan *et al.* Association of renin–angiotensin–aldosterone system gene polymorphisms with left ventricular hypertrophy in patients with heart failure with preserved ejection fraction: a case-control study. **Clinical And Experimental Hypertension**, [S.L.], v. 39, n. 4, p. 371-376, 17 maio 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10641963.2016.1267196>.

BARROSO, Weimar Kunz Sebba *et al.* Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, [s. l], v. 116, n. 3, p. 516-658, mar. 2022.

BEITELSHEES, Amber. CACNA1C gene polymorphisms, cardiovascular disease outcomes, and treatment response. **Circulation Cardiovascular Genetics**, [s. l], v. 4, n. 2, p. 362-370, ago. 2009. Disponível em: 10.1161/CIRCGENETICS.109.857839. Acesso em: 8 dez. 2022.

BENNETT, Amanda; PARTO, Parham; KRIM, Selim R.. Hypertension and ethnicity. **Current Opinion In Cardiology**, [S.L.], v. 31, n. 4, p. 381-386, jul. 2016. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/hco.0000000000000293>.

BRANDÃO, Andréa Araujo *et al.* Monitorização Residencial da Pressão Arterial e Controle Pressórico em Hipertensos Tratados. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [S.L.], v. 119, n. 2, p. 353-357, 2022. Sociedade Brasileira de Cardiologia. <http://dx.doi.org/10.36660/abc.20220038>.

BRUGTS, Jasper J *et al.* A pharmacogenetic analysis of determinants of hypertension and blood pressure response to angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy in patients with vascular disease and healthy individuals. **Journal Of Hypertension**, [S.L.], v. 29, n. 3, p. 509-519, 22 mar. 2011. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/hjh.0b013e328341d117>.

CAMPANA, Erika Maria Gonçalves *et al.* MMasked hypertension: diagnosis and treatment. **Revista Brasileira de Cardiologia**, [S. L], p. 289-292, ago. 2014.

CARRINGTON, Melinda J.; JENNINGS, Garry L.; STEWART, Simon. Pressure points in primary care. **Journal Of Hypertension**, [S.L.], v. 31, n. 6, p. 1265-1271, jun. 2013. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/hjh.0b013e3283606bc7>.

CARSON, April *et al.* Ethnic differences in hypertension incidence among middle-aged and older adults: the multi-ethnic study of atherosclerosis. **Hypertension**, Dallas, Texas, v. 57, n. 6, p. 1101-1107, 18 abr. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21502561/>. Acesso em: 30 nov. 2022.

CHOI, Hye Duck; SUH, Jee Hyun; LEE, Jeong Yoon; BAE, Soo Kyung; KANG, Hee Eun; LEE, Myung Gull; SHIN, Wan Gyoon. Effects of ACE and ADD1 gene polymorphisms on blood pressure response to hydrochlorothiazide: a meta-analysis. **Int. Journal Of Clinical Pharmacology And Therapeutics**, [S.L.], v. 51, n. 09, p. 718-724, 1 set. 2013. Dustri-Verlag Dr. Karl Feistle. <http://dx.doi.org/10.5414/cp201899>.

CICERO, A. F. G. *et al.* Are monotherapies still valuable to the treatment of hypertension? **Expert Opinion On Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 21, n. 13, p. 1523-1526, 8 jun. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/14656566.2020.1770728>.

DAHLÖF, Björn *et al.* Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. **Lancet**, Londres, v. 359, n. 9311, p. 995-1003, 23 mar. 2002.

DALAL, Krishna *et al.* Association of polymorphisms in angiotensin-converting enzyme gene with gestational diabetes mellitus in Indian women. **International Journal Of Applied And Basic Medical Research**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 31, 2016. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/2229-516x.174006>.

DIACONU, Camelia Cristina *et al.* New approaches and perspectives for the pharmacological treatment of arterial hypertension. **Farmacia**, [s. l.], v. 63, n. 3, p. 408-415, jun. 2014.

DORADO, Pedro *et al.* Losartan hydroxylation phenotype in an Ecuadorian population: influence of cyp2c9 genetic polymorphism, habits and gender. **Pharmacogenomics**, [S.L.], v. 13, n. 15, p. 1711-1717, nov. 2012. Future Medicine Ltd. <http://dx.doi.org/10.2217/pgs.12.160>.

EGAN, Brent M.; LI, Jiexiang; HUTCHISON, Florence N.; FERDINAND, Keith C.. Hypertension in the United States, 1999 to 2012. **Circulation**, [S.L.], v. 130, n. 19, p. 1692-1699, 4 nov. 2014. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/circulationaha.114.010676>.

ETTEHAD, Dena *et al.* Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet**, [s. l], v. 387, p. 957-967, 5 mar. 2016. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01225-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01225-8). Acesso em: 23 nov. 2022.

EVANGELOU, Evangelos *et al.* Genetic analysis of over one million people identifies 535 new loci associated with blood pressure traits. **Nature Genetics**, [s. l], v. 50, n. 10, p. 1412-1425, 7 dez. 2018. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1038%2Fs41588-018-0205-x>. Acesso em: 1 dez. 2022.

FONSECA, Henrique Andrade Rodrigues da. Sistema imune, gênero e hipertensão. **Revista Brasileira de Hipertensão**, Rio de Janeiro, p. 126-128, dez. 2015.

GOLAN, David E. Princípios de Farmacologia - A Base Fisiopatológica da Farmacologia, 3ª edição. Grupo GEN, 2014. E-book. ISBN 978-85-277-2600-9. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2600-9/>. Acesso em: 08 dez. 2022.

JIANG, Shu-Zhong *et al.* Obesity and hypertension. **Experimental And Therapeutic Medicine**, [s. l], v. 12, n. 4, p. 2395-2399, 6 set. 2016. Disponível em: DOI: 10.3892/etm.2016.3667. Acesso em: 29 nov. 2022

JOHNS HOPKINS MEDICINE (Estados Unidos da América). **Resistant Hypertension**. 2021. Disponível em: <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/high-blood-pressure-hypertension/resistant-hypertension>. Acesso em: 14 jan. 2023.

JOHNSON, Rabia. Pharmacogenomics of amlodipine and hydrochlorothiazide therapy and the quest for improved control of hypertension: a mini review. **Heart Failure Reviews**, [s. l], v. 24, n. 3, p. 343-357, 15 jan. 2019. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1007%2Fs10741-018-09765-y>. Acesso em: 30 nov. 2022.

KOHLMANN JUNIOR, Osvaldo *et al.* Tratamento medicamentoso. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, [S.L.], v. 32, p. 29-43, set. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-28002010000500008>.

KULMINSKI, Alexander M.; CULMINSKAYA, Irina V.; UKRAINTSEVA, Svetlana V.; ARBEEV, Konstantin G.; AKUSHEVICH, Igor; LAND, Kenneth C.; YASHIN, Anatoli I. Polymorphisms in theACEandADRB2Genes and Risks of Aging-Associated

Phenotypes: the case of myocardial infarction. **Rejuvenation Research**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 13-21, fev. 2010. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/rej.2009.0905>.

LANGAEE, Taimour *et al.* Association of CYP3A5 polymorphisms with hypertension and antihypertensive response to verapamil. **Clinical Pharmacology And Therapeutics**, [s. l], v. 81, n. 3, p. 386-391, mar. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.clpt.6100090>. Acesso em: 8 dez. 20212

LI, Dandan *et al.* Genetic analysis of pharmacogenomic VIP variants in the Wa population from Yunnan Province of China. **Bmc Genomic Data**, [s. l], p. 22-51, 19 nov. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12863-021-00999-8>. Acesso em: 1 dez. 2022.

LOPES, Heno Ferreira. Genetic and hypertension. **Revista Brasileira de Hipertensão**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 87-91, 10 maio 2014.

LÜLLMANN, Heinz.; MOHR, Klaus.; HEIN, Lutz. Farmacologia. [Digite o Local da Editora]: Grupo A, 2017. 9788582713815. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582713815/>. Acesso em: 01 dez. 2022.

MALACHIAS, Marcus Vinícius Bolívar. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Revista da Sociedade Brasileira de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v. 107, n. 3, p. 1-82, 3 set. 2016.

MALTA, Deborah Carvalho *et al.* Prevalence of and factors associated with self-reported high blood pressure in Brazilian adults. **Revista de Saúde Pública**, [S.L.], v. 51, n. 1, p. 1-11, 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1518-8787.2017051000006>.

MANCIA, Giuseppe *et al.* Blood pressure control in the hypertensive population. Is the trend favourable? **Journal Of Hypertension**, [S.L.], v. 31, n. 6, p. 1094-1095, jun. 2013. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/hjh.0b013e32836184cf>.

MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, Nancy *et al.* Single Nucleotide Polymorphisms of the Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) Gene Are Associated with Essential Hypertension and Increased ACE Enzyme Levels in Mexican Individuals. **Plos One**, [s.

l], v. 8, n. 5, p. 1-7, 31 maio 2013. Disponível em: [10.1371/journal.pone.0065700](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065700). Acesso em: 1 dez. 2022.

MEIN, Charles *et al.* Genetics of essential hypertension. **Human Molecular Genetics**, [s. l], v. 13, n. 1, p. 169-175, 5 fev. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddh078>. Acesso em: 29 nov. 2022.

MILLS, Katherine *et al.* The global epidemiology of hypertension. **Nature Reviews Nephrology**, [s. l], v. 16, n. 4, p. 223-237, 5 fev. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0244-2>. Acesso em: 28 nov. 2022.

MISHRA, Sundeep *et al.* Diuretics in primary hypertension – Reloaded. **Indian Heart Journal**, [s. l], v. 68, n. 5, p. 720-723, out. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ihj.2016.08.013>. Acesso em: 30 nov. 2022.

MORISKY, Donald E. *et al.* Predictive Validity of a Medication Adherence Measure in an Outpatient Setting. **The Journal Of Clinical Hypertension**, [S.L.], v. 10, n. 5, p. 348-354, maio 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-7176.2008.07572.x>.

MUIESAN, Maria Lorenza *et al.* Gender Differences in Antihypertensive Treatment: myths or legends?. **High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention**, [S.L.], v. 23, n. 2, p. 105-113, 22 abr. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40292-016-0148-1>.

NOBRE, Fernando *et al.* V Diretrizes de Monitoração Ambulatorial Da Pressão Arterial (MAPA) e III Diretrizes de Monitoração Residencial da Pressão Arterial (MRPA). **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 3, p. 1-22, set. 2011.

Nogueira, Dayara Aparecida *et al.* Congresso de iniciação científica da fepi, 2016, Itajubá. **ESTUDOS PRELIMINARES DOS MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA E ESTRUTURAS ANATÔMICAS ENVOLVIDAS POR MEIO DE REVISÃO DA LITERATURA**. Itajubá: Núcleo de Pesquisa Institucional, 2016.

OLIVEIRA, Caio Escarião de; SOUSA, Milena Nunes Alves de. Alternativas Terapêuticas ao uso da Hidroclorotiazida em Pacientes Diabéticos e Hipertensos / Therapeutic Alternatives to the use of Hydrochlorothiazide in Diabetic and Hypertensive

Pacients. **Id On Line. Revista de Psicologia**, [S.L.], v. 15, n. 54, p. 65-72, 28 fev. 2021. Lepidus Tecnologia. <http://dx.doi.org/10.14295/idonline.v15i54.2913>.

OLIVEIRA-FILHO, Alfredo Dias de; MORISKY, Donald E.; NEVES, Sabrina Joany Felizardo; COSTA, Francisco A.; LYRA, Divaldo Pereira de. The 8-item Morisky Medication Adherence Scale: validation of a brazilian•portuguese version in hypertensive adults. **Research In Social And Administrative Pharmacy**, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 554-561, maio 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sapharm.2013.10.006>.

PANDEY, Ambarish; RAZA, Fayez; VELASCO, Alejandro; BRINKER, Stephanie; AYERS, Colby; DAS, Sandeep R.; MORISKY, Donald E.; HALM, Ethan A.; VONGPATANASIN, Wanpen. Comparison of Morisky Medication Adherence Scale with therapeutic drug monitoring in apparent treatment-resistant hypertension. **Journal Of The American Society Of Hypertension**, [S.L.], v. 9, n. 6, p. 420-426, jun. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jash.2015.04.004>.

PARK, Yoon-A *et al.* Influence of CYP2C9 Genetic Polymorphisms on the Pharmacokinetics of Losartan and Its Active Metabolite E-3174: a systematic review and meta-analysis. **Journal Of Personalized Medicine**, [S.L.], v. 11, n. 7, p. 617, 29 jun. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/jpm11070617>.

PARVING, Hans-Henrik *et al.* ACE Gene Polymorphism and Losartan Treatment in Type 2 Diabetic Patients With Nephropathy. **Journal Of The American Society Of Nephrology**, [S.L.], v. 19, n. 4, p. 771-779, 16 jan. 2008. American Society of Nephrology (ASN). <http://dx.doi.org/10.1681/asn.2007050582>.

PAZ, Marco A. *et al.* Treatment efficacy of anti-hypertensive drugs in monotherapy or combination. **Medicine**, [S.L.], v. 95, n. 30, p. 4071-4078, jul. 2016. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/md.0000000000004071>.

PIERIN, Angela Maria Geraldo *et al.* Medida da pressão arterial no paciente obeso: o método com técnica auscultatória e a monitorização ambulatorial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 161-165, 2000.

RAINA, Rupesh *et al.* Overview of Monogenic or Mendelian Forms of Hypertension. **Pediatric Nephrology**, [s. l.], v. 7, n. 263, p. 1-13, 1 ago. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00263>. Acesso em: 28 nov. 2022.

RECKELHOFF, Jane F. Gender differences in hypertension. **Current Opinion In Nephrology And Hypertension**, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 176-181, maio 2018.

RIBEIRO, Vanessa Pereira. **Atualização fisiofarmacológica do sistema renina-angiotensina-aldosterona: seu enfoque na hipertensão**. 2015. 31 f. Monografia (Especialização) - Curso de Farmácia, Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra - Portugal, 2015.

RODRIGUES, Bárbara Letícia Silvestre *et al.* Impacto do Programa Academia da Saúde sobre a mortalidade por Hipertensão Arterial Sistêmica no estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S.L.], v. 26, n. 12, p. 6199-6210, dez. 2021. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1413-812320212612.32802020>

ROSA, Ronaldo Fernandes *et al.* Fisiopatologia e diagnóstico da hipertensão arterial no idoso: papel da monitorização ambulatorial da pressão arterial e da monitorização residencial da pressão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 21-24, 2007.

ROUBY, Nihal El *et al.* Genetics of Resistant Hypertension: a novel pharmacogenomics phenotype. **Current Hypertension Reports**, [S.L.], v. 17, n. 9, p. 1-17, 22 jul. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11906-015-0583-8>.

ROUSH, George *et al.* Diuretics for Hypertension: a review and update. **American Journal Of Hypertension**, [s. l], v. 29, n. 10, p. 1130-1137, out. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajh/hpw030>. Acesso em: 30 nov. 2022.

RYSZ, Jacek *et al.* Pharmacogenomics of Hypertension Treatment. **International Journal Of Molecular Science**, [s. l], v. 21, n. 13, p. 1-26, 1 jul. 2020. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3390%2Fijms21134709>. Acesso em: 30 nov. 2022.

SAEED, Anum *et al.* Racial Disparities in Hypertension Prevalence and Management:: a crisis control?. **American College Of Cardiology**, [S.L.], abr. 2020. Disponível em: <https://www.acc.org/latest-in-cardiology/articles/2020/04/06/08/53/racial-disparities-in-hypertension-prevalence-and-management>. Acesso em: 12 set. 2022.

SANJULIANI, Antonio Felipe. Fisiopatologia da hipertensão arterial: conceitos teóricos úteis para a prática clínica. **Revista da Socerj**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 4, p. 210-218, abr. 2002.

SANJULIANI, Antonio *et al.* Eixo Renina-Angiotensina-Aldosterona: Bases Fisiológicas e Fisiopatológicas. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 3, p. 20-30, set. 2011.

SBC - SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. **I Posicionamento Brasileiro Sobre Hipertensão Arterial Resistente**. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, Goiânia, v. 99, n. 1, p. 576-585, jul. 2012. Disponível em: [https://www.scielo.br/j/abc/a/jnsfdgW5BP3rPcYZRSbF4Zj/?lang=pt#:~:text=A%20Hipertens%C3%A3o%20Arterial%20Resistente%20\(HAR,uso%20de%20quatro%20ou%20mais](https://www.scielo.br/j/abc/a/jnsfdgW5BP3rPcYZRSbF4Zj/?lang=pt#:~:text=A%20Hipertens%C3%A3o%20Arterial%20Resistente%20(HAR,uso%20de%20quatro%20ou%20mais). Acesso em: 13 set. 2022.

Secretária de Vigilância em Saúde. **SIM**. 2022. Disponível em: <https://datasus.saude.gov.br/>. Acesso em: 20 nov. 2022.

SILVA, Pâmela Souza *et al.* Implicações farmacogenéticas de polimorfismos da eNOS para drogas de ação cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [S.L.], v. 96, n. 2, p. 27-34, fev. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0066-782x2011000200017>.

SILVERTHORN, Dee Unglaub *et al.* **Fisiologia Humana: uma abordagem integrada**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 963 p.

VORMFELDE, Stefan Viktor; SEHRT, Daniel; BOLTE, Daniela; PAHL, Susanne; TZVETKOV, Mladen; BROCKMÖLLER, Jürgen. Hydrochlorothiazide efficacy and polymorphisms in ACE, ADD1 and GNB3 in healthy, male volunteers. **European Journal Of Clinical Pharmacology**, [S.L.], v. 62, n. 3, p. 195-201, 1 fev. 2006. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00228-005-0081-z>.

WILLIAMS, Bryan *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 and the european society of hypertension. **Journal Of Hypertension**, [s. l], v. 36, n. 10, p. 1953-2041, out. 2018. Disponível em: doi: 10.1097/HJH.0000000000001940. Acesso em: 1 dez. 2022.

WILLIAMS, Bryan *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 and the european society of hypertension. **Journal Of**

**Hypertension**, [s. l], v. 36, n. 10, p. 1953-2041, out. 2018. Disponível em: doi: 10.1097/HJH.0000000000001940. Acesso em: 1 dez. 2022.

YAXLEY, Julianp; THAMBAR, Samv. Resistant hypertension: an approach to management in primary care. **Journal Of Family Medicine And Primary Care**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 193, 2015. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/2249-4863.154630>.

YOKOYAMA, Yoko *et al.* Vegetarian diets and blood pressure: a meta-analysis. **Jama Internal Medicine**, [s. l], v. 174, n. 4, p. 577-587, abr. 2014. Disponível em: doi: 10.1001/jamainternmed.2013.14547. Acesso em: 26 nov. 2022.

YUGAR-TOLEDO, Juan Carlos. Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Curso de Hipertensão Arterial. A Revista Brasileira de Hipertensão Arterial**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 1, p. 1-34, 2018.

## 8. ANEXOS

### 8.1 ANEXO 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Observação: Este documento lhe dará as informações necessárias para ajudá-lo(a) a decidir se você deseja participar ou não desse estudo. Ele permitirá uma compreensão acerca das razões científicas desse estudo, bem como sobre seus direitos e responsabilidades no caso de decidir participar do mesmo. z

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto “ESTUDO DE FATORES DE RISCO E POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASSOCIADOS À HIPERTENSÃO ARTERIAL NO MUNICÍPIO DE OURO PRETO” que busca analisar os fatores de risco, genéticos ou não, que podem estar relacionados ao aparecimento da pressão alta (ou hipertensão) e auxiliar no maior conhecimento e conscientização sobre esta doença e, com isto, em seu melhor controle.

Informamos que você foi selecionado(a) para esta pesquisa porque compareceu ao Laboratório de Análises Clínicas (LAPAC) com solicitação médica para realização de exames laboratoriais relacionados ao acompanhamento da pressão alta (hipertensão).

Se aceitar participar do projeto, você será entrevistado (a) por profissional ou aluno de graduação devidamente treinado. As perguntas da entrevista se referem aos seus dados

peçoais (idade, data de nascimento, endereço, telefone, doenças, medicamentos, hábitos de vida, etc), a seu histórico familiar e pessoal de doenças, a fatores associados com a hipertensão e com a sua qualidade de vida. Tudo que você responder será estritamente confidencial, as informações coletadas dos(as) participantes do estudo serão usadas apenas em relatos científicos, sem nenhuma identificação pessoal.

Além da entrevista, será medida sua pressão arterial, peso, altura e circunferência de cintura.

Esclarecemos que os exames laboratoriais solicitados pelo seu médico serão realizados pelo LAPAC, independentemente de você aceitar ou não participar do estudo, ou seja, se você decidir NÃO participar do projeto, seus exames serão realizados e liberados normalmente. Caso decida participar, parte do sangue coletado também será utilizada para análise de polimorfismo (análise genética) relacionada à hipertensão. O material coletado e não utilizado será descartado e não será aproveitado em outros estudos.

As possibilidades de riscos à sua saúde durante a execução deste trabalho serão mínimas, uma vez que a coleta de sangue será feita dentro das normas estabelecidas pelo laboratório, com material descartável (seringas, agulhas e luvas). Ressaltamos que esta coleta já seria realizada por solicitação do seu médico, sendo independente deste projeto. É importante salientar que para a coleta de sangue basta uma simples punção na veia de seu braço, a qual não é dolorosa quando feita com técnica adequada. O procedimento será realizado por profissional altamente qualificado e devidamente habilitado para realizar esse procedimento. Além disso, todo o material sujo proveniente da manipulação do sangue será devidamente esterilizado antes do descarte e lavagem. As medidas de peso e altura serão feitas com os cuidados necessários para que você não corra risco de escorregar e cair. Será necessário tomar um pouco do seu tempo (cerca de 10 a 15 minutos) para a entrevista.

Os resultados dos exames laboratoriais solicitados pelo médico que te acompanha serão entregues a você na recepção do LAPAC em data agendada no momento da coleta, via número de protocolo. Caso seja necessário, você será encaminhado à consulta de aconselhamento genético, que será agendada conforme a sua disponibilidade e a do profissional que o(a) atenderá. Havendo interesse esses exames poderão ser realizados em seus familiares. Os exames laboratoriais serão importantes para o acompanhamento

da sua saúde e o resultado da análise de polimorfismos pode permitir a detecção de predisposição genética ao desenvolvimento de pressão alta.

No decorrer do projeto, você também será convidado(a) a participar de atividades educativas que informarão e ajudarão a esclarecer dúvidas sobre a hipertensão. A sua participação nestas atividades NÃO é obrigatória.

Os dados obtidos servirão para a elaboração de um banco de dados e poderão contribuir para o desenvolvimento de propostas voltadas para os hipertensos, com vistas a promover melhor acompanhamento, conscientização, controle e qualidade de vida dos pacientes já diagnosticados. Além disso, o estudo apontará as principais causas da hipertensão no município de Ouro Preto e poderá levar a controle mais eficaz desta doença em Ouro Preto.

Sua participação nesse projeto é voluntária. A qualquer momento, você poderá recusar-se a continuar a entrevista, a responder perguntas específicas ou mesmo retirar seu consentimento, sem que isto cause qualquer prejuízo em relação às etapas do projeto que você participou ou ao seu atendimento pela Unidade de Saúde Municipal. Você não será remunerado(a) e nem terá gastos por sua participação na pesquisa.

Os dados/resultados gerados neste projeto de pesquisa serão armazenados, por um período mínimo de 5(cinco) anos, em um computador, protegido por senha, no LAPAC, UFOP, localizado no Instituto José Badini, Museu da Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, entrada pela Rua Xavier da Veiga, Ouro Preto.

Você poderá esclarecer qualquer dúvida sobre o projeto com o coordenador e responsável, professor Luiz Fernando de Medeiros Teixeira, de segunda a sexta-feira, de 8:00h às 11:00h e de 13:00h às 17:00h horas, no Departamento de Análises Clínicas, Escola de Farmácia, UFOP, campus universitário, telefone (31) 3559-1071. Em caso de dúvidas éticas, você também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto no Campus Universitário, Morro do Cruzeiro, Centro de Convergência, telefone (31) 3559-1368 ou pelo e-mail cep.propp@ufop.edu.br

#### PROTOCOLO DE ACEITE

Fui informada dos objetivos do projeto “ESTUDO DE FATORES DE RISCO E POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASSOCIADOS À HIPERTENSÃO ARTERIAL

SISTÊMICA NO MUNICÍPIO DE OURO PRETO”, de maneira clara e detalhada. Esclareci minhas dúvidas e sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações.

Em caso de dúvidas poderei entrar em contato com o professor Luiz Fernando de Medeiros Teixeira (coordenador), pelo telefone (31) 3559-1071 ou, em caso de dúvidas éticas, com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto no Campus Universitário, Morro do Cruzeiro, Centro de Convergência, telefone (31) 3559-1368 ou pelo e-mail cep.propp@ufop.edu.br

Eu, \_\_\_\_\_ declaro que, após convenientemente esclarecido e ter entendido o que me foi explicado, aceito participar da pesquisa.

Ouro Preto, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

\_\_\_\_\_

Assinatura do voluntário ou responsável legal

\_\_\_\_\_

Documento de identidade

Assinatura do coordenador

## 8.2 ANEXO 2 - Questionário

OBS.: Antes de iniciar a entrevista, falar para o entrevistado que, para qualquer pergunta que lhe for feita, ele pode dizer “prefiro não responder”, caso deseje.

Identificação: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

PSF/UBS: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_ Profissão: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_

UF: \_\_\_\_\_

Telefone \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

Sexo: ( ) masculino ( ) feminino

Idade (anos): ( ) 18 a 29 ( ) 30 a 39 ( ) 40 a 49 ( ) 50 a 59 ( ) 60 a 69  
( )  $\geq 70$

Escolaridade:

( ) Nunca frequentou a escola ( )  $\leq 8$  anos de estudo ( )  $> 8$  anos de estudo

Situação conjugal: ( ) Sem companheiro ( ) Com companheiro

Número de filhos: \_\_\_\_\_

Sistema de Saúde: ( ) Público ( ) Particular ( ) Ambos

Renda Familiar: ( )  $< 1$  salário ( ) 1 salário ( ) 1-2 salários

( ) 3-5 salários ( )  $> 5$  salários ( ) NR

---

### **Hipertensão**

Tempo de diagnóstico de hipertensão (anos): \_\_\_\_\_

Em tratamento: ( ) N ( ) S

Medicamento utilizado: \_\_\_\_\_

### **Histórico Pessoal**

Diabetes: ( ) N ( ) S

Tireoidopatia: ( ) N ( ) S

Nefropatia: ( ) N ( ) S

Hepatopatia: ( ) N ( ) S

Gastrite/Colecistopatia: ( ) N ( ) S

Obesidade: ( ) N ( ) S

Trombose: ( ) N ( ) S

Tabagismo: ( ) N ( ) S

Etilismo: ( ) N ( ) S

Atividade física regular: ( ) N ( ) S Qual? Freq? \_\_\_\_\_

Atividade Sexual: ( ) N ( ) S

Câncer ( ) N ( ) S Qual? \_\_\_\_\_

Cirurgia: ( ) N ( ) S Qual? \_\_\_\_\_

Cárdio-cerebrovascular : ( ) N ( ) S Qual? \_\_\_\_\_

Neuro-psiquiátrico: ( ) N ( ) S Qual? \_\_\_\_\_

Medicamentos ( ) N ( ) S Qual? \_\_\_\_\_

Internação (últ. ano) ( ) N ( ) S Porque? \_\_\_\_\_

\*Observações:

---

---

### **Antecedentes Familiares (pai, mãe e/ou irmãos)**

Hipertensão: ( ) N ( ) S

Trombose: ( ) N ( ) S

Infarto do miocárdio: ( ) N ( ) S

Angina : ( ) N ( ) S

Doença pulmonar: ( ) N ( ) S

Doença cerebrovascular: ( ) N ( ) S

Diabetes: ( ) N ( ) S

Obesidade: ( ) N ( ) S

Outros?

**Antecedentes Tocoginecológicos (somente para as mulheres)**

Idade da Menarca: \_\_\_\_\_

Ciclos regulares ( ) N ( ) S

DUM \_\_\_/\_\_\_ (mês/ano)

Idade da menopausa: \_\_\_\_\_

Tempo de Menopausa: \_\_\_\_\_

Observações:

---

Tipo de Menopausa:

Natural ( ) N ( ) S

Cirúrgica ( ) N ( ) S

Quimioterápica ( ) N ( ) S

Radioterápica ( ) N ( ) S

Histerectomia ( ) N ( ) S

Ooforectomia bilateral ( ) N ( ) S

---

Uso prévio de hormônios

Pílula ( ) N ( ) S Qual? \_\_\_\_\_ Tempo de uso: \_\_\_\_\_

TH ( ) N ( ) S Qual? \_\_\_\_\_ Dose: \_\_\_\_\_ Tempo de uso: \_\_\_\_\_

### 8.3 APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
OURO PRETO



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** ESTUDO DE FATORES DE RISCO E POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASSOCIADOS À HIPERTENSÃO ARTERIAL NO MUNICÍPIO DE OURO PRETO, MG.

**Pesquisador:** LUIZ FERNANDO DE MEDEIROS TEIXEIRA

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 22455119.0.0000.5150

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Ouro Preto

**Patrocinador Principal:** OURO PRETO PREFEITURA

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.673.476

##### Apresentação do Projeto:

As informações contidas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram obtidas dos documentos contendo as Informações Básicas da Pesquisa (PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_1720779\_E2.pdf de 18/03/2021).

##### Introdução:

A HA é frequentemente associada a distúrbios metabólicos, alterações funcionais e/ou estruturais de órgãos-alvo, sendo agravada pela presença de fatores de risco, tais como dislipidemia, obesidade abdominal, intolerância à glicose e diabetes mellitus. Também foi observada associação independente da HA com eventos como morte súbita, acidente vascular encefálico, infarto agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca, doença arterial periférica e doença renal crônica (MALACHIAS et al., 2017). Os principais fatores de risco a se considerar na avaliação da HA são idade, sexo, etnia, ingestão de sal, etilismo, tabagismo, fatores socioeconômicos e genéticos. A pressão arterial aumenta com a idade e, conseqüentemente, a prevalência de hipertensão é maior em grupos etários mais velhos. Como resultado do envelhecimento populacional, estima-se aumento de HA e do número de idosos a ser tratado para hipertensão nas próximas décadas. Isto constitui um desafio de saúde pública, sendo importante uma orientação clínica baseada em evidências voltada aos profissionais de saúde. Ainda são poucos os estudos de HA, principalmente em adultos mais velhos. Além disso, há uma controvérsia sobre a relação entre a pressão arterial e os desfechos de

**Endereço:** Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, PROPPI, Centro de Convergência, Campus Universitário  
**Bairro:** Morro do Cruzeiro **CEP:** 35.400-000  
**UF:** MG **Município:** OURO PRETO  
**Telefone:** (31)3559-1368 **E-mail:** cep.propp@ufop.edu.br

Continuação do Parecer: 4.673.476

saúde entre os idosos e alguns estudos vem mostrando que a pressão baixa poderia ser prejudicial, especialmente entre os adultos frágeis ou multimórbidos mais velhos (ANKER D et al., 2018). Outra questão relevante nas últimas décadas e que vem sendo alvo de investigações é o aumento da HA em crianças e adolescentes (C NDIDO 2009). A prevalência de HA autorreferida é diferente entre os sexos, sendo maior em mulheres (24,2%) e pessoas de raça negra/cor preta (24,2%) (MALACHIAS et al., 2017). Sabe-se que as diferenças de gênero e de etnia influenciam na conscientização, tratamento e controle da hipertensão (GIOSIA et al., 2018; SONG et al., 2019). O consumo excessivo de sódio vem sendo observado na população brasileira e o impacto da dieta rica em sódio estimado na pesquisa do VIGITEL de 2014 indica que apenas 15,5% das pessoas entrevistadas reconhecem o conteúdo alto ou muito alto de sal nos alimentos (MALACHIAS et al., 2017). Da mesma forma, sabe-se que o consumo crônico e elevado de bebidas alcoólicas aumenta a pressão arterial de forma consistente. Em ambos os sexos, o consumo abusivo de bebidas alcoólicas foi mais expressivo em indivíduos mais jovens e com maior nível de escolaridade (MALACHIAS et al., 2017). Em relação ao sedentarismo, indivíduos que não atingiram pelo menos 150 minutos semanais de atividade física considerando o lazer, o trabalho e o deslocamento são considerados “insuficientemente ativos” e representam 46,0% dos adultos, sendo maior a frequência de sedentarismo em mulheres (51,5%), idosos (62,7%) e adultos com baixo nível de escolaridade (50,6%) (MALACHIAS et al., 2017). De modo geral, a HA, inicialmente, afeta aqueles indivíduos com alto nível socioeconômico, mas posteriormente, a prevalência de hipertensão e de suas consequências são maiores naqueles com baixa renda e escolaridade. Este fenômeno é observado dentro e entre os países (OPARIL et al., 2019). Os mecanismos fisiopatológicos responsáveis pela HA também apresentam um componente genético. A hipertensão primária envolve vários tipos de genes e pode estar ligada a uma história familiar positiva (OPARIL et al., 2019). Algumas variantes genéticas (ADD1 G460W, GNB3 C825T, ECA (rs4340) Inserção/Deleção e ECA A2350G) foram associadas à hipertensão. Entre elas, destacam-se as variantes ECA (rs4340) Inserção/Deleção e ECA A2350G, por interferirem com o sistema renina-angiotensina-aldosterona, que tem papel importante em regular a pressão arterial (Sousa et al., 2018a). Alguns estudos descreveram o alelo deletado da ECA (rs4340) como fator de risco para hipertensão arterial em várias populações (Higashimori et al., 1993; Duru et al., 1994; Sousa et al., 2018a). Em uma meta-análise, Lin-dan et al. (2010) reportaram que o genótipo ECA (rs4340) Deletado/Deletado associou-se com a hipertensão com um risco de 1,61. Adicionalmente, Saeed et al. (2003) observaram que o genótipo ECA2350 GG estava associado com o aparecimento de hipertensão. É importante destacar que genes que codificam os componentes do sistema renina-angiotensina-

**Endereço:** Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, PROPPI, Centro de Convergência, Campus Universitário  
**Bairro:** Morro do Cruzeiro **CEP:** 35.400-000  
**UF:** MG **Município:** OURO PRETO  
**Telefone:** (31)3559-1368 **E-mail:** cep.proppi@ufop.edu.br

Continuação do Parecer: 4.673.476

aldosterona são candidatos ao desenvolvimento e progressão da hipertensão. Outra variante importante é a GNB3 C825T, pois interfere na sinalização intracelular (Sousa et al., 2018a). O alelo T leva à produção de uma variante truncada que aumenta a sinalização intracelular e interfere na pressão sanguínea (Sousa et al., 2018b). Os genótipos GNB3825 TT, ECA2350 GG e ECA Deletado/Deletado atuam independentemente e sinergicamente para o desenvolvimento da hipertensão, e estão envolvidos na história familiar desta patologia. Um resultado positivo para quaisquer dos três polimorfismos indica predisposição genética a hipertensão. Em caso de resultado positivo para dois ou três polimorfismos, a predisposição genética à hipertensão apresenta-se ainda maior, devido ao sinergismo existente entre os polimorfismos da ECA e do GNB3 (Sousa et al., 2018a). A Diretriz Brasileira de Hipertensão recomenda que os indivíduos com HA devem ser submetidos a avaliação clínica (anamnese e exame físico) e laboratorial. A avaliação clínica inclui a (a) medição da pressão arterial, determinando o risco previsto de doença cardiovascular aterosclerótica, (b) evidência de danos em órgãos alvo, (c) detecção de causas secundárias de hipertensão e (d) presença de comorbidades. As mudanças no estilo de vida, incluindo modificações na dieta e aumento da atividade física, são eficazes na redução da pressão arterial, na prevenção da hipertensão e das suas consequências cardiovasculares. Em relação à avaliação laboratorial, a Diretriz Brasileira de Hipertensão indica que os seguintes exames devem ser realizados na avaliação laboratorial de rotina dos hipertensos: glicemia de jejum, perfil lipídico, HbA1c, creatinina, ácido úrico, potássio, ritmo de filtração glomerular estimado (RFG-e) e urina rotina. No entanto, em algumas situações clínicas, há indicação de exames complementares mais detalhados (MALACHIAS et al., 2017). A terapia farmacológica é muito eficaz na redução da pressão arterial e na prevenção de doença cardiovascular na maioria dos indivíduos. Medicamentos anti-hipertensivos de primeira linha incluem inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA), bloqueadores dos receptores da angiotensina II, diidropiridina, bloqueadores dos canais de cálcio e diuréticos tiazídicos (OPARIL et al., 2019). O tratamento não farmacológico inclui redução do peso e da circunferência abdominal (CA), nutrição e atividade física, cessação do tabagismo e redução do estresse. Apesar de bem definido o tratamento, ainda há dificuldade no controle da HA (MALACHIAS et al., 2017). A prevalência de HA é alta. Em geral, aproximadamente um em cada quatro adultos tem hipertensão (OPARIL et al., 2019). No Brasil, a hipertensão varia de acordo com a população estudada e o método de avaliação, atingindo em geral 32,5% de indivíduos adultos e mais de 60% dos idosos, contribuindo direta ou indiretamente para 50% das mortes por doença cardiovascular. A região com maior prevalência de HA autorreferida (23,3%) é a sudeste (MALACHIAS et al., 2017). Estudo transversal realizado com 930 indivíduos com idade acima de 15

**Endereço:** Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, PROPPI, Centro de Convergência, Campus Universitário  
**Bairro:** Morro do Cruzeiro **CEP:** 35.400-000  
**UF:** MG **Município:** OURO PRETO  
**Telefone:** (31)3559-1368 **E-mail:** cep.proppi@ufop.edu.br

Continuação do Parecer: 4.673.476

anos residentes em Ouro Preto, Minas Gerais, mostrou que o fator de risco para doença cardiovascular mais prevalente no município foi a HA (37,7%). A prevalência de hipertensão leve, moderada e grave foi igual a 15,6%, 7,8% e 13%, respectivamente (FERREIRA et al., 2004). Em Ouro Preto, também foi realizado outro estudo epidemiológico de base populacional com 850 estudantes de 6 a 14 anos de idade que observou que 1,2% dos indivíduos eram pré-hipertensos, 1,2% hipertensos nível 1 e 1,5% hipertensos nível 2. Este resultado apontou a HA como um fator de risco relevante também em crianças e adolescentes no município (C NDIDO, 2009). Segundo a Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial (MALACHIAS et al., 2017), estratégias para prevenção do desenvolvimento da HA englobam políticas públicas de saúde combinadas com ações das sociedades médicas e dos meios de comunicação. Deve-se estimular o diagnóstico precoce, o tratamento contínuo, o controle da pressão arterial e dos fatores de risco associados, por meio da modificação do estilo de vida e/ou do uso regular de medicamentos, além de ações educativas. Em Ouro Preto, MG, a Secretaria de Saúde já demonstrou interesse em parceria com a Universidade para o desenvolvimento de projetos de extensão e de pesquisa que possam gerar dados que auxiliem na definição de políticas públicas voltadas a melhoria da HA, estabelecida como o principal fator de risco cardiovascular do município. A UFOP, reconhecida pela sua atuação, junto aos setores público e privado, já tem consolidada a parceria com a Secretária de Saúde da Prefeitura Municipal de Ouro Preto através do Laboratório de Análises Clínicas (LAPAC). Este Laboratório dispõe de infraestrutura física, equipamentos e pessoal técnico capacitado para a realização de projetos de extensão em interface com a pesquisa, aliando também atividades de ensino envolvendo os alunos de graduação e de pós-graduação em temáticas de extrema relevância no contexto científico e social local. O LAPAC atende, além de outros usuários, os indivíduos hipertensos encaminhados pelas equipes de saúde da atenção primária do município.

**Hipótese:**

Considerando a constituição da população ouropretana e estudos anteriores, presumisse que a frequência de hipertensão arterial no município de Ouro Preto é alta em adultos do sexo masculino e feminino, gestantes, diabéticos e idosos.

**Metodologia Proposta:**

Será realizado estudo transversal avaliando todos os pacientes hipertensos encaminhados ao LAPAC pela equipe de atenção primária da SMS/Ouro Preto no período de 2019-2024. Inicialmente, os pacientes serão abordados e será explicado o projeto, os que tiverem interesse em

**Endereço:** Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, PROPPI, Centro de Convergência, Campus Universitário  
**Bairro:** Morro do Cruzeiro **CEP:** 35.400-000  
**UF:** MG **Município:** OURO PRETO  
**Telefone:** (31)3559-1368 **E-mail:** cep.proppi@ufop.edu.br

Continuação do Parecer: 4.673.476

participar assinarão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, serão entrevistados, submetidos à avaliação antropométrica e medição da pressão arterial e terão seu material biológico coletado para realização de exames de sangue. Eventualmente, será realizado exame de urina, conforme a solicitação médica. Além disso, serão convidados a participar de atividades educativas. Os pacientes que tiverem algum polimorfismo associado à HA farão parte de um estudo de coorte, sendo acompanhados por mais 5 anos em intervalos de 3 meses. Os familiares dos pacientes que apresentarem polimorfismos genéticos também serão convidados a participar do estudo e também terão acompanhamento. Caso estes familiares tenham menos de 18 anos, eles serão convidados e, caso aceitem assinarão o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido. Serão realizadas reuniões com as equipes de saúde e gestores do município para apresentação dos resultados. Para a realização do estudo estima-se aproximadamente 1000 participantes. Para o cálculo amostral foi utilizada uma população de 48.000 habitantes maiores de 18 anos, prevalência de HA de 43,8% e limite de confiança de 3%. Para conhecimento do perfil socioeconômico, demográfico e comportamental da população estudada, os participantes serão entrevistados, utilizando a Ficha Clínica, que aborda dados pessoais, história familiar, variáveis comportamentais e uso de medicamentos. A entrevista será individual e realizada por pessoal treinado, em ambiente reservado. Medida da pressão arterial: a pressão arterial (PA) será aferida usando o aparelho esfigmomanômetro digital, mediante técnica preconizada (Diretriz Brasileira de Hipertensão, 2016). - Avaliação antropométrica: Serão realizadas medidas de peso, altura, gordura corporal e circunferência da cintura (CC). As medidas de peso e gordura corporal serão obtidas utilizando balança Tanita®. A altura será obtida utilizando estadiômetro, com o participante posicionado com os braços ao longo do corpo, pés unidos e apontando para frente, com o olhar em um ponto fixo a sua frente. A CC será obtida utilizando fita métrica simples, seguindo as recomendações da Organização Mundial de Saúde. - Coleta das amostras e exames laboratoriais: As coletas de sangue serão realizadas por profissional(is) habilitado(s), empregando materiais descartáveis à vista do paciente, seguindo as boas práticas de coleta de material biológico. As amostras de sangue venoso serão coletadas por punção venosa periférica, em tubo sem anticoagulante e em tubo contendo EDTA. Após a coleta, as amostras serão centrifugadas a 2500 rpm por 10 minutos para separação do soro. As amostras coletadas em tubo com EDTA serão armazenadas em -20C para posterior extração do DNA e análise dos polimorfismos genéticos. As avaliações de glicemia, perfil lipídico, renal e hepático dos hipertensos serão realizadas no LAPAC. Também poderão ser realizados exames de urina, sendo esta coletada pelo próprio paciente, seguindo o protocolo de recomendações do LAPAC. - Polimorfismos genéticos: A avaliação dos

**Endereço:** Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, PROPP, Centro de Convergência, Campus Universitário  
**Bairro:** Morro do Cruzeiro **CEP:** 35.400-000  
**UF:** MG **Município:** OURO PRETO  
**Telefone:** (31)3559-1368 **E-mail:** cep.propp@ufop.edu.br

Continuação do Parecer: 4.673.476

polimorfismos ECA (rs4340) Inserção/Deleção, ECA A2350G e GNB3 C825T será realizada nos indivíduos hipertensos e nos seus familiares que aceitarem participar do estudo com a finalidade de verificar a predisposição genética a hipertensão. DNA genômico será isolado de 5 mL de amostras de sangue usando o kit de purificação Wizard™ Genomic DNA Purification (Promega). Qualidade e quantidade do DNA extraído serão verificadas em gel de agarose e espectrofotômetro (260/280 e 260/230). Avaliações dos polimorfismos GNB3 C825T e ECA A2350G serão por PCR-RFLP (Zhang et al. 2016 e Sun et al. 2018). Avaliação do polimorfismo ECA (rs4340) Ins/Del será por PCR (Caro-Gomez 2018).

**Critério de Inclusão:**

Indivíduos hipertensos encaminhados ao LAPAC pela equipe de atenção primária de saúde de Ouro Preto para a realização de exames laboratoriais de rotina; familiares dos hipertensos; gestantes; diabéticos

**Metodologia de Análise de Dados:**

As informações coletadas durante a entrevista, assim como os dados obtidos das avaliações antropométrica e laboratorial serão duplamente digitadas no software EpiData (versão 3.2). Após a correção das divergências, será analisada a consistência do banco de dados e posteriormente serão realizadas as análises. Inicialmente, será realizada uma avaliação exploratória dos dados por meio da análise gráfica e obtenção de medidas resumo e de frequências. A normalidade das variáveis contínuas será avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para avaliar os fatores de risco será utilizado o modelo longitudinal de Cox e suas variações.

**Desfecho Primário:**

Identificação de polimorfismos genéticos associados à HA em Ouro Preto.

**Desfecho Secundário:**

Identificação dos fatores de risco associados à HA em Ouro Preto.

Tamanho da Amostra no Brasil: 1.300

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Avaliar os fatores de risco e polimorfismos genéticos relacionados à hipertensão arterial, gerando

**Endereço:** Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, PROPP, Centro de Convergência, Campus Universitário  
**Bairro:** Morro do Cruzeiro **CEP:** 35.400-000  
**UF:** MG **Município:** OURO PRETO  
**Telefone:** (31)3559-1368 **E-mail:** cep.propp@ufop.edu.br

Continuação do Parecer: 4.673.476

subsídios para melhoria de políticas de saúde em Ouro Preto, MG.

**Objetivo Secundário:**

- Determinar o perfil sociodemográfico e comportamental dos pacientes com HA atendidos pelo SUS no município de Ouro Preto;- Avaliar glicemia, perfil lipídico, hepático e renal de hipertensos de Ouro Preto;- Analisar os exames laboratoriais de gestantes e diabéticos hipertensos, correlacionando-os com os fatores de risco;- Detectar e acompanhar indivíduos com predisposição genética a HA;- Promover rodas de conversa e oficinas voltadas aos hipertensos, focando em controle da HA, diminuição do consumo de sal e qualidade de vida;- Apresentar aos gestores de saúde do município os resultados do projeto, auxiliando no planejamento de ações voltadas ao controle da HA.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Os procedimentos utilizados apresentam risco habitual, como hematoma no local da coleta. Para diminuir os riscos, todo o material utilizado será descartável, seguindo as normas de biossegurança estabelecidas pelo laboratório. Nos casos de coleta mais difícil, o participante da pesquisa será orientado para evitar qualquer hematoma. Quanto aos questionários, o risco é de constrangimento, entretanto o questionário será aplicado em ambiente com privacidade e o participante da pesquisa têm a opção de preferir não responder.

**Benefícios:**

Criação de um ambiente para discussão e divulgação de informações sobre a HA para hipertensos, estimulando o autoconhecimento e a participação mais efetiva do indivíduo no cuidado com sua saúde e no controle da enfermidade. Triagem dos familiares identificando precocemente genes relacionados à hipertensão e assim o participante da pesquisa pode adotar medidas preventivas para minimizar seu risco de HA. Melhor entendimento de polimorfismos genéticos associados a HA em diferentes grupos e planejamento de ações visando o controle da hipertensão no município de Ouro Preto. Organização do setor de análises moleculares do DNA no LAPAC com melhoria da infraestrutura do Laboratório, possibilitando a realização de outros projetos de pesquisa e de extensão. Oferecimento de mais um campo de prática para a participação de alunos de graduação de diferentes cursos (farmácia, nutrição, medicina, educação física) em projeto vinculado de pesquisa e de extensão.

**Endereço:** Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, PROPP, Centro de Convergência, Campus Universitário  
**Bairro:** Morro do Cruzeiro **CEP:** 35.400-000  
**UF:** MG **Município:** OURO PRETO  
**Telefone:** (31)3559-1368 **E-mail:** cep.propp@ufop.edu.br

Continuação do Parecer: 4.673.476

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

**Justificativa da Emenda:**

Vimos solicitar a inclusão da coleta de sangue de 300 indivíduos normotensos encaminhados ao LAPAC pela equipe de atenção primária da SMS de Ouro Preto no período de 2019 a 2024. Tal solicitação objetiva associar a hipertensão, além dos fatores de risco previamente descritos no trabalho, com a presença dos diferentes polimorfismos nas populações normotensa e hipertensa. Dessa maneira, podemos gerar dados sobre a prevalência desses polimorfismos associados à hipertensão na população normotensa, propondo condutas que ajudem a minimizar a manifestação da doença, apesar da predisposição genética. Ressaltamos que as metas, etapas e atividades serão as mesmas descritas no projeto, ou seja, a entrevista, a medida da pressão arterial, a avaliação antropométrica, o procedimento para a coleta das amostras e os exames laboratoriais serão os mesmos.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

**Recomendações:**

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Emenda adequada, apropriada na forma e devidamente justificada. O CEP/UFOP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012, na Resolução CNS nº 510 d 2016 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação da Emenda.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O Comitê de Ética em Pesquisa CEP/UFOP, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12 e/ou Res. CNS 510/16, manifesta-se pela APROVAÇÃO deste protocolo de pesquisa. Ressalta-se ao pesquisador responsável pelo projeto o compromisso de envio ao CEP/UFOP, semestralmente, do relatório parcial de sua pesquisa e, ao final da pesquisa, do relatório final, encaminhado por meio da Plataforma Brasil. Em qualquer tempo, informar o andamento da mesma, comunicando também eventos adversos e eventuais modificações no protocolo.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_172077 9 E2.pdf	18/03/2021 21:40:47		Aceito

**Endereço:** Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, PROPPI, Centro de Convergência, Campus Universitário  
**Bairro:** Morro do Cruzeiro **CEP:** 35.400-000  
**UF:** MG **Município:** OURO PRETO  
**Telefone:** (31)3559-1368 **E-mail:** cep.propp@ufop.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
OURO PRETO



Continuação do Parecer: 4.673.476

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_emenda18_03_2021.docx	18/03/2021 21:39:57	Wendel Coura Vital	Aceito
Outros	anuenciaEMENDA.pdf	04/02/2021 22:21:00	Wendel Coura Vital	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_TALE_FichaClinica_emenda.docx	04/02/2021 22:19:36	Wendel Coura Vital	Aceito
Outros	Emenda.docx	04/02/2021 22:18:24	Wendel Coura Vital	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoLAPAC_emenda.doc	04/02/2021 22:16:41	Wendel Coura Vital	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE.pdf	23/01/2020 10:03:42	LUIZ FERNANDO DE MEDEIROS TEIXEIRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_LAPAC.pdf	23/01/2020 10:03:13	LUIZ FERNANDO DE MEDEIROS TEIXEIRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVR E_E_ESCLARECIDO_PARA_MENOR_DE_18_ANOS.pdf	23/01/2020 10:01:19	LUIZ FERNANDO DE MEDEIROS TEIXEIRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	23/01/2020 09:54:12	LUIZ FERNANDO DE MEDEIROS TEIXEIRA	Aceito
Outros	Carta_CEP_UFOP.pdf	23/01/2020 09:51:41	LUIZ FERNANDO DE MEDEIROS	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_PB_Lapac.pdf	30/09/2019 12:45:10	LUIZ FERNANDO DE MEDEIROS	Aceito
Declaração do Patrocinador	contrato_SMSPMOP.pdf	30/09/2019 12:43:13	LUIZ FERNANDO DE MEDEIROS	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_SMSOP.pdf	17/09/2019 17:27:46	LUIZ FERNANDO DE MEDEIROS	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Endereço:** Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, PROPPI, Centro de Convergência, Campus Universitário  
**Bairro:** Morro do Cruzeiro **CEP:** 35.400-000  
**UF:** MG **Município:** OURO PRETO  
**Telefone:** (31)3559-1368 **E-mail:** cep.propp@ufop.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
OURO PRETO



Continuação do Parecer: 4.673.476

OURO PRETO, 27 de Abril de 2021

---

**Assinado por:**  
**EVANDRO MARQUES DE MENEZES MACHADO**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, PROPPi, Centro de Convergência, Campus Universitário  
**Bairro:** Morro do Cruzeiro **CEP:** 35.400-000  
**UF:** MG **Município:** OURO PRETO  
**Telefone:** (31)3559-1368 **E-mail:** cep.propp@ufop.edu.br

## 8.4 ARTIGOS PUBLICADOS DURANTE A GRADUAÇÃO

Molecular Biology Reports

<https://doi.org/10.1007/s11033-022-08128-z>

ORIGINAL ARTICLE



### Angiotensin-converting enzyme gene (*ACE*) polymorphisms are associated with dysregulation of biochemical parameters in hypertensive patients

Livia da Agostini<sup>1</sup> · Warley R. Cunha<sup>1</sup> · Nayara N. T. Silva<sup>1</sup> · André S. Melo<sup>1</sup> · Luciana B. Moreira<sup>1</sup> · Tamires C. Almeida<sup>1,2</sup> · Vanessa A. Belo<sup>1</sup> · Wendel Coura-Vital<sup>1</sup> · Luiz Fernando de M. Teixeira<sup>1</sup> · Angélica A. Lima<sup>1</sup> · Glenda Nicioli da Silva<sup>1</sup>

Received: 19 July 2022 / Accepted: 15 November 2022

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2022

#### Abstract

**Introduction** The genetic component, including genes and their variants, plays a significant role in the pathophysiology of arterial hypertension (AH). Thus, clinical, epidemiological and genetic studies have been carried out to improve the understanding of disease mechanisms, improve diagnostic quality and contribute to prevention.

**Objective** To determine the association of risk factors, biochemical parameters and different *ACE* gene polymorphisms with AH.

**Method** The case-control study was carried out in the population of Ouro Preto, Brazil. The subjects answered a questionnaire containing clinical and sociodemographic data. The *ACE* gene polymorphisms rs4291, rs4363 and rs4335 were evaluated by real time-polymerase chain reaction (real-time PCR) in 310 people (155 hypertensive and 155 normotensive patients), in addition to biochemical parameters. A multivariate logistic regression model was used to identify factors associated with AH. Analysis of continuous variables was performed using the Kruskal-Wallis test to assess significance between groups and Dunn's post-test for multiple comparisons.

**Results** The results showed that AH was associated with age, education, smoking, obesity and high levels of triglycerides, sodium, glucose and uric acid. Regarding the biochemical parameters, in hypertensive patients, the rs4363 and rs4335 polymorphisms were associated with high levels of triglycerides, urea and glucose; the rs4291 polymorphism was associated with elevated urea and glucose levels. No association was detected between SNPs and HA.

**Conclusion** AH was associated with socioeconomic status, lifestyle habits and biochemical parameters. *ACE* polymorphisms may have influenced the levels of triglycerides, urea and glucose in hypertensive patients.

**Keywords** Angiotensin converting enzyme · Arterial hypertension · Genetic polymorphism · Risk factors

**What is already known on this topic:** The association of *ACE* gene polymorphisms rs4291, rs4363 and rs4335 and arterial hypertension has been reported, but the evidence is still inconsistent.

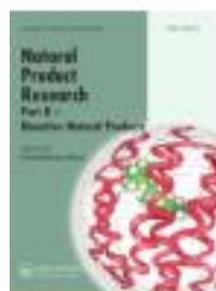
**What this study adds:** *ACE* gene polymorphisms rs4291, rs4335, and rs4363 were associated with important biochemical changes in hypertensive patients.

**How this study may affect research, practice or policy:** Although the *ACE* rs4291, rs4335 and rs4363 polymorphisms have not been associated with hypertension, they may triggered early signal metabolic changes in the hypertensive process. The knowledge of these polymorphisms can help control the disease.

✉ Glenda Nicioli da Silva  
nicioli@ufop.edu.br

<sup>1</sup> Federal University of Ouro, Morro do Cruzeiro, s/n°, CEP 35400-000 Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, Brazil

<sup>2</sup> Special Laboratory for Pain and Signaling, Butantan Institute, Vital Brazil Avenue, São Paulo, Brazil



## Resveratrol induces the production of reactive oxygen species, interferes with the cell cycle, and inhibits the cell migration of bladder tumour cells with different TP53 status

Tamires Cunha Almeida, André Sacramento Melo, Ana Paula Braga Lima, Renata Tupinambá Branquinho & Glenda Nicioli da Silva

To cite this article: Tamires Cunha Almeida, André Sacramento Melo, Ana Paula Braga Lima, Renata Tupinambá Branquinho & Glenda Nicioli da Silva (2022): Resveratrol induces the production of reactive oxygen species, interferes with the cell cycle, and inhibits the cell migration of bladder tumour cells with different TP53 status, *Natural Product Research*, DOI: [10.1080/14786419.2022.2151007](https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2151007)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2151007>

 [View supplementary material](#) 

 Published online: 28 Nov 2022.

 [Submit your article to this journal](#) 

 [View related articles](#) 

 [View Crossmark data](#) 

doi: 10.30827/ars.v6i3i2.22430

Artículos originales

## Naringin: antitumor potential in silico and in vitro on bladder cancer cells

### Naringina: potencial antitumoral in silico e in vitro en células cancerosas de vejiga

Débora Carvalho Radicchi<sup>1,2</sup>  0000-0001-6213-3886André Sacramento Melo<sup>2</sup>  0000-0001-8650-0089Ana Paula Braga Lima<sup>2,3</sup>  0000-0003-0271-0619Tamires Cunha Almeida<sup>2,4</sup>  0000-0002-5584-3609Gustavo Henrique Bianco de Souza<sup>2,4</sup>  0000-0002-1548-3274Glenda Nicioli da Silva<sup>1,2,3,4</sup>  0000-0001-9751-3379<sup>1</sup>Universidade Federal de Ouro Preto, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (CBIOL), Ouro Preto, Brazil.<sup>2</sup>Universidade Federal de Ouro Preto, Escola de Farmácia, Departamento de Análises Clínicas, Ouro Preto, Brazil.<sup>3</sup>Universidade Federal de Ouro Preto, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (CIPHARMA), Ouro Preto, Brazil.<sup>4</sup>Universidade Federal de Ouro Preto, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC), Ouro Preto, Brazil.

---

#### Correspondence

Glenda Nicioli da Silva  
[nicioli@ufop.edu.br](mailto:nicioli@ufop.edu.br)

Recibido: 18.10.2021

Aceptado: 13.02.2022

Publicado: 21.04.2022

---

#### Funding

This study was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, grant number CNPq-310905/2020-6 (CNPq Research Productivity Scholarship), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Finance code 001) and Universidade Federal de Ouro Preto, grant number 23109.000928/2020-33.

---

#### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

---

#### Other Declarations

This manuscript has not been published or presented elsewhere in part or in entirety and is not under consideration by another journal.



**Natural Product Research**  
Formerly Natural Product Letters



ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/gnpl20>

## Chrysin inhibits the cell viability, induces apoptosis and modulates expression of genes related to epigenetic events in bladder cancer cells

Ana Paula Braga Lima, André Sacramento Melo, Gabriel Monteze Ferreira & Glenda Nicioli da Silva

To cite this article: Ana Paula Braga Lima, André Sacramento Melo, Gabriel Monteze Ferreira & Glenda Nicioli da Silva (2022): Chrysin inhibits the cell viability, induces apoptosis and modulates expression of genes related to epigenetic events in bladder cancer cells, *Natural Product Research*, DOI: [10.1080/14786419.2022.2121825](https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2121825)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2121825>

 [View supplementary material](#) 

 Published online: 10 Sep 2022.

 [Submit your article to this journal](#) 

 Article views: 54

 [View related articles](#) 

 [View Crossmark data](#) 

## Additive effects of resveratrol and doxorubicin on bladder cancer cells

Luciana Bicalho Moreira Soares<sup>a\*</sup>, Ana Paula Braga Lima<sup>b\*</sup>,  
André Sacramento Melo<sup>a\*</sup>, Tamires Cunha Almeida<sup>b\*</sup>,  
Luiz Fernando de Medeiros Teixeira<sup>a</sup> and Glenda Nicioli da Silva<sup>a,b,c</sup>

The treatment of bladder cancer remains a challenge in clinical practice. Different chemotherapeutic protocols can be used; however, it is common to observe tumor recurrence and secondary effects that result in toxicity. Doxorubicin (DOX), one of the most effective anticancer agents used to treat bladder cancer, can cause chronic cardiotoxicity, limiting its use in clinical practice. Resveratrol (RES), a natural product with potential antitumor activity against bladder cancer, is associated with rapid metabolism and low bioavailability and needs to be combined with chemotherapeutic drugs to improve its use. Our study aimed to assess the therapeutic effect of a low concentration of DOX (2 µM) in combination with RES (150, 200 and 250 µM) on two bladder cancer cell lines. We investigated the mechanism of interaction between the drugs by performing cytotoxicity, clonogenic, oxidative stress, cell migration, cell morphology and nuclear division index (NDI) assays. Cytotoxicity evaluation revealed an additive interaction between RES and DOX for both cell lines. Additionally, the results of cell colony formation, oxidative stress, cell migration, cell morphology and NDI assays showed that a combination of DOX and RES was

more effective than RES or DOX alone. In conclusion, a low concentration of DOX combined with RES could potentiate the antitumor effects of the drugs on bladder cancer cells, thus overcoming the secondary effects caused by DOX and the low bioavailability of resveratrol. *Anti-Cancer Drugs XXX: 000–000* Copyright © 2021 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

*Anti-Cancer Drugs XXX, XXX:000–000*

**Keywords:** bladder cancer; cell death; doxorubicin; reactive oxygen species; resveratrol

<sup>a</sup>Escola de Farmácia, Departamento de Análises Clínicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, <sup>b</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacológicas (CIPHARMA), Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais and <sup>c</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (CIBIO), Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, Brazil

Correspondence to: Glenda Nicioli da Silva, PhD, Departamento de Análises Clínicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Campus Morro do Cruzeiro, Ouro Preto, Minas Gerais 35.400-000, Brazil  
Tel: +55 31 35591006; e-mail: nicioli@ufop.edu.br

\*Dr. Luciana Bicalho Moreira Soares, Dr. Ana Paula Braga Lima, Dr. André Sacramento Melo and Dr. Tamires Cunha Almeida contributed equally to the writing of this article.

Received 1 August 2021 Revised form accepted 4 August 2021

### Introduction

Bladder cancer is the ninth most common cancer for both men and women, and it is the thirteenth leading cause of cancer-related deaths worldwide [1]. Currently, non-muscle-invasive tumors are treated with resection and intravesical therapy, whereas muscle-invasive tumors are treated with more aggressive methods, such as partial or total cystectomy, followed by systemic chemotherapy [2].

Chemotherapy for bladder cancer treatment consists of combined protocols, including methotrexate, vinblastine, doxorubicin (DOX) and cisplatin (MVAC), either the classical or dose-dense regimen [3], and paclitaxel plus DOX [4]. DOX exerts its cytotoxic effect by intercalating between DNA base pairs, inhibiting topoisomerase II [5]. However, cardiotoxicity, nephrotoxicity, hepatotoxicity and other toxicities caused by DOX and other chemotherapeutic agents have led to the development of new therapeutic approaches for bladder cancer [6].

The use of chemotherapeutic drugs with phytochemicals to treat cancer has been regarded by researchers as

promising considering that it may improve the effectiveness of therapy and reduce toxic effects. Furthermore, the use of drug associations allows several therapeutic targets of the disease to be reached [7,8].

Resveratrol (RES) is a phenolic compound with antioxidant, anti-inflammatory, cardioprotective and anticancer properties, which can sensitize tumor cells to the effects of drugs available in oncology clinics [9]. Moreover, RES has been reported to reverse multidrug resistance and enhance the effects of DOX on cancer cells [10–12].

In bladder cancer, RES has been shown to inhibit cell growth via different mechanisms of action. However, it is associated with rapid metabolism and low bioavailability, thus requiring strategies to improve its future use, including synergistic or additive interactions with other phytochemicals or chemotherapeutic drugs [13]. The effects of RES in combination with DOX in bladder cancer therapy have not been investigated. Therefore, we investigated the mechanism of interaction between DOX and RES by performing cytotoxicity, clonogenic, oxidative stress, cell