



NEUROGENE

Laboratório de Genética Humana

20 anos

Informativo

Técnico

06/2009

ANÁLISE GENÉTICA COMBINADA DO ANGIOTENSINOGENIO E ÓXIDO NÍTRICO ENDOTELIAL PARA AVALIAR A PREDISPOSIÇÃO À HIPERTENSÃO ARTERIAL

Consideráveis esforços têm sido feitos na identificação dos genes responsáveis pelo desenvolvimento da hipertensão arterial.

O papel central que o sistema renina-angiotensina tem na homeostase do sistema cardiovascular e renal, justifica a busca de genes que participam do desenvolvimento da hipertensão. Novas técnicas de biologia molecular aplicadas ao diagnóstico genético representam mecanismos básicos para estudar a predisposição individual e familiar. Os marcadores genéticos do sistema renina-angiotensina e aqueles ligados indiretamente a este sistema recebem atenção especial.

Polimorfismo M235T (Angiotensinogênio)

A observação de uma ligação genética significativa entre esta patologia e o gene do AGT humano sugere que variantes moleculares neste gene possam estar associadas com a gênese da hipertensão.

Uma troca de aminoácidos de Metionina (M) para Treonina (T) na posição 235 da proteína do Angiotensinogênio humano causada por uma mutação neste gene está associada com variações nos níveis plasmáticos de AGT.

A variante M235T do AGT humano pode em princípio atuar no aumento da síntese ou excreção da proteína a partir do fígado ou pode levar a um prolongamento da sua meia vida. Elevações nos níveis plasmáticos e teciduais de AGT associadas a variações estruturais específicas, não constituem excesso de substrato para a enzima renina que atua somente com metade da sua velocidade máxima, indicando um considerável potencial de reserva nesta reação. O resultado seria o aumento do nível basal de Angiotensina II contribuindo para elevar o tônus vascular expondo ainda o endotélio aos efeitos vasoconstritores diretos promovendo o desenvolvimento da hipertensão.

A elevada atividade da AngII, a qual é fortemente correlacionada com hipertensão, e que pode ser proporcionada pelo polimorfismo M235T do AGT humano, é a maior disparadora da disfunção endotelial em pacientes hipertensos. Acredita-se que a disfunção endotelial é a maior responsável pela aterosclerose, proporcionando ativação plaquetária, acúmulo de lipídios, monócitos, linfócitos T, trombogênese e inflamação. Em estágio mais avançado, caracteriza-se pela ruptura da placa, trombose e reorganização vascular.

Atualmente o polimorfismo M235T do Angiotensinogênio é considerado *fator de risco independente para a hipertensão* estando ainda associado à pré-eclâmpsia, DAC e IAM.

Indivíduos com o genótipo MM não possuem a mutação tendo assim níveis normais de angiotensinogênio; indivíduos MT são heterozigotos, ou seja, possuem a mutação em apenas um alelo do gene determinando níveis intermediários de angiotensinogênio e indivíduos TT são homozigotos com a presença da mutação nos dois alelos do gene determinando para este último um risco 2,5 vezes maior comparado aos outros genótipos de desenvolvimento da hipertensão.

Portanto, a elevada atividade da AngII pode ser proporcionada pelo polimorfismo M235T do angiotensinogênio onde é fortemente correlacionado com hipertensão sendo esta a maior disparadora da disfunção endotelial em pacientes hipertensos.

Polimorfismo Glu298Asp da Óxido Nítrico Sintase Endotelial

Genes codificadores de óxido nítrico sintases (NOS) são fortes candidatos à hipertensão, injúria renal e doenças cardiovasculares em geral. A técnica de hibridização fluorescente *in situ* demonstrou que o gene que codifica a óxido nítrico sintase endotelial constitutiva (eNOS, ecNOS ou NOS3) está presente no cromossomo 7, posição q-35-36 sendo esta uma das três isoformas da NOS responsável pela manutenção da pressão sangüínea, remodelamento vascular e angiogênese.

O gene codificador da eNOS exibe alguns polimorfismos, alguns dos quais relacionam-se com a proporção dos níveis plasmáticos de NO, também conhecido como Fator Relaxante

Endotélio Derivado (EDRF). O polimorfismo encontrado no exon 7 do gene que codifica a eNOS, denominado Glu-298-Asp caracterizado pela substituição de Ácido Glutâmico para Aspartato no códon 298, é de relativo interesse pelo fato da substituição ocorrer em uma região conservada de aminoácidos, o que dá origem a uma enzima hipofuncional. Deste polimorfismo, são derivados três genótipos: GG, GT e TT.

Estudos recentes demonstram que indivíduos portadores do alelo T do polimorfismo Glu-298-Asp, particularmente, ficam expostos a influências ambientais sobre a função endotelial (estresse oxidativo, etc), o que pode aumentar os riscos de desenvolver aterosclerose e doenças cerebrovasculares.

AGT versus NO

O balanço e as interações entre substâncias vasoconstritoras e vasodilatadoras é fator crítico na regulação da pressão arterial, fluxo sangüíneo coronário e injúrias cardiovasculares e renais. Sabe-se que o endotélio é um grande órgão com funções autócrinas, parácrinas e endócrinas e, em resposta a condições físicas e humorais, secreta algumas substâncias biologicamente ativas que controlam o tônus vascular, trombogênese, inflamação, metabolismo lipídico, remodelamento e crescimento vascular. Endotelina-1 (ET-1), AngII e tromboxane são os principais vasoconstritores predominantes no endotélio e que também promovem agregação plaquetária, proliferação das células musculares lisas e adesão celular.

O óxido nítrico (NO), também produzido pelo endotélio, possui importantes funções na fisiologia humana incluindo o relaxamento da musculatura vascular

lisa, inibição da agregação plaquetária, inibição da mitogênese e aderência leucocitária.

Um balanço funcional por *feedback* existe entre AngII e NO em condições normais. Considerado um vasodilatador endógeno, o NO antagoniza os efeitos vasoconstritores da AngII e endotelinas sendo uma resposta adaptativa ao aumento da pressão sanguínea ajudando na prevenção de danos nos chamados órgãos-alvo.

Uma função vascular anormal como uma excessiva vasoconstrição ou uma inadequada vasodilatação, promove o desenvolvimento não somente da hipertensão, mas também de outras doenças associadas. Desordens no caminho vasodilatador dependente de NO capaz de contrabalançar os efeitos da AngII podem ocorrer por alguns mecanismos, incluindo alterações em lipoproteínas, aumento na geração de radicais superóxido (O_2^-) seguido da degradação do NO, elevando os níveis de antagonistas circulantes da eNOS ou ainda pela hipercolesterolemia.

Esta disfunção nos mecanismos moleculares importantes para esta manutenção e regulação, pode promover aterogênese por exposição da parede arterial aos efeitos vasoconstritores da AngII, aumentando assim o risco de trombose caminhando para a manifestação clínica do IAM.

Existe uma alta frequência de indivíduos hipertensos que possuem os genótipos desfavoráveis dos polimorfismos M235T do AGT humano e Glu-298-Asp da eNOS . O risco de um indivíduo ser hipertenso na presença do alelo T235 do AGT humano é 2,5 vezes maior e na presença do alelo T da eNOS, o risco aumenta para 6.7.

Portanto, o desenvolvimento e a manutenção da hipertensão, ocorrem devido a uma excessiva vasoconstrição

dada pelo aumento da síntese ou atividade da AngII e ausência da resposta vasodilatadora mediada pelo NO endotélio derivado.

O risco de um indivíduo manifestar o fenótipo hipertensivo é maior na presença de ambos os polimorfismos.

Fatores de risco associados



A hipertensão conclusivamente envolve diversos mecanismos fisiológicos que interagem entre si, sendo a excessiva vasoconstrição e a falta de mecanismos capazes de contrabalançar os efeitos deletérios da AngII a partir do endotélio, o principal disparador da disfunção endotelial que é o início precoce da aterosclerose.

Todos estes processos estão associados com o aumento da idade, sexo, tabagismo, dieta rica em gorduras, sedentarismo, histórico familiar prematuro de DAC, diabetes mellitus e outros fatores como hipercolesterolemia. A severidade da hipertensão e a magnitude da disfunção endotelial correlacionam-se com o número de fatores de risco.

Importância clínica

Esta análise genética combinada é de grande importância clínica, uma vez que as doenças cardiovasculares representam um importante problema de saúde pública tanto na esfera nacional como mundial.

Há pelo menos mais de 30 anos, as doenças cardiovasculares são a primeira causa de morte no Brasil onde, no ano 2000 corresponderam a mais de 27% do total de óbitos e foram responsáveis por 15,2% das internações realizadas no SUS em indivíduos com faixa etária de 30 a 69 anos. Do total de casos, 17,7% foram relacionados ao AVC e ao IAM, doenças de grande importância epidemiológica e que têm a hipertensão arterial como um dos principais fatores de risco.

Neste cenário, o conhecimento da hipertensão como entidade mórbida, que apresenta claro componente genético, observando-se com frequência a interação e agregação precoce de fatores ambientais, torna-se uma forte necessidade e que vem de encontro à investigação clínica na medida em que a correlação de marcadores genéticos, como os aqui apresentados, sinaliza para uma resposta anti-hipertensiva individual.

Quanto mais cedo os indivíduos manifestarem a hipertensão, maior é a expressão populacional do problema. Neste sentido, a detecção das formas alélicas desfavoráveis dos polimorfismos gênicos do AGT humano e eNOS juntamente com os fatores de risco convencionais, proporciona a determinação dos indivíduos que são mais propensos a desenvolver esta patologia e que possam ser subsequentemente beneficiados por uma intervenção preventiva e melhorando as medidas profiláticas a serem adotadas.

Departamento de Genética Humana do Laboratório Neurogene

O **Laboratório Neurogene** disponibiliza os seguintes exames genéticos que possuem cobertura pela UNIMED FLORIANÓPOLIS:

- PCR para Angiotensinogênio (M235T) :

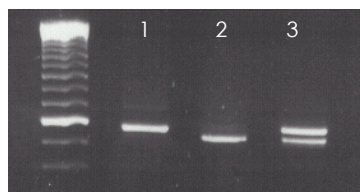


Figura: Coluna 1 indivíduo homocigoto MM; Coluna 2 indivíduo homocigoto TT; Coluna 3 indivíduo heterocigoto MT.

- PCR para Óxido Nítrico Endotelial (Glu298Asp) :

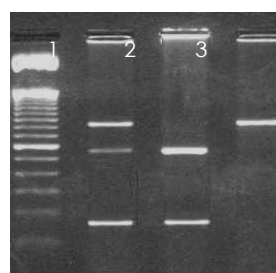


Figura: Coluna 1 indivíduo heterocigoto GT; Coluna 2 indivíduo homocigoto GG; Coluna 3 indivíduo homocigoto TT.

Outros exames genéticos relacionados ao sistema renina-angiotensina e ligados indiretamente a este também estão disponíveis: PCR para receptor AT1, PCR para APOE e PCR para enzima conversora de angiotensina (ECA)

Coleta e processamento das amostras

Para realizar o exame é necessária a coleta de 5,0 ml de sangue periférico em um tubo de coleta a vácuo com anticoagulante EDTA (Vacutainer de tampa roxa) realizada em nosso próprio laboratório.

Prazo de entrega dos resultados

O resultado será entregue em 15 dias úteis contados a partir da data do recebimento do material.

Referências Bibliográficas

Hibi K. et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase gene polymorphism and acute myocardial. Hypertension, 32:521-526, 1998.

Raj L. Hypertension and cardiovascular risk factors: role of the angiotensin II- nitric oxide interaction. Hypertension, 37:767-773, 2001.

Hata A. Role of angiotensinogen in the genetics of essential hypertension. Life Science, 57(26):2385-2395, 1995.

Jeunemaitre X. et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. Cell, 71:169-180, 1992.