



Hipertensão Arterial

Bases genéticas da hipertensão arterial

Introdução

A hipertensão arterial é uma doença poligênica com grande heterogeneidade e que sofre influências importantes de fatores ambientais para a manifestação do fenótipo. Recentemente, com o advento das técnicas de biologia molecular e as abordagens de genética molecular, tornou-se possível iniciar a investigação sistemática dos determinantes primários da hipertensão arterial primária. Existem exemplos de sucesso na identificação dos defeitos primários responsáveis pela gênese de três formas raras de hipertensão arterial mendelianas ou dependentes de defeito único para a manifestação do fenótipo. Nesses três casos, o aumento da pressão arterial é secundário ao aumento de reabsorção de sal e água pelo rim. A utilização dessas técnicas está permitindo também que progressos importantes sejam feitos na compreensão dos mecanismos moleculares que participam dos sistemas de controle da pressão arterial. Entretanto, as causas da doença para a grande maioria dos pacientes permanece desconhecida. Acredita-se que, por meio da abordagem multidisciplinar utilizando-se modelos experimentais e populações humanas, seja possível, num futuro próximo, a identificação dos determinantes primários da hipertensão arterial primária. Isso propiciará a identificação precoce de indivíduos afetados e a oportunidade de intervenção pré-clínica ou o desenvolvimento de terapêutica eficaz na causa primária, com redução da alta morbidade e mortalidade associada à doença. Neste artigo, abordaremos

especificamente algumas das estratégias que estamos empregando em nosso laboratório para mapear os genes da hipertensão arterial em um modelo de rato geneticamente hipertenso (SHR).

Origem Genética da Hipertensão Arterial

A hipertensão é uma doença que afeta milhões de pessoas em todo o mundo e contribui, de maneira expressiva, para um grande número de mortes anuais devido ao infarto do miocárdio, a acidente vascular cerebral e a doença renal crônica. Apesar de todos os avanços na área da fisiologia cardiovascular ainda se desconhecem os determinantes primários da hipertensão arterial. Existem várias razões para explicar esse fato, mas, fundamentalmente, reconhecemos hoje que a hipertensão não é uma doença simples com causa única em todos os indivíduos afetados. O estudo dos mecanismos de controle da pressão arterial, nas últimas décadas, evidenciou um grande número de substâncias e de sistemas fisiológicos que interagem de maneira complexa e com redundância para garantir a pressão arterial em níveis adequados nas mais diversas situações. Imagina-se, portanto, que a hipertensão arterial resultaria da disfunção dos sistemas de controle de pressão arterial (**Figura 1**). Entretanto, a complexa interação desses sistemas fisiológicos, assim como as modificações que eles sofrem de fatores ambientais como, por exemplo, conteúdo de sal na dieta, têm dificultado determinar se as alterações

Prof. Dr. José Eduardo Krieger
Dept. Clínica Médica da FMUSP/LIM 13
Lab. Genética e Cardiologia Molecular
InCor HC-FMUSP
krieger@incor.usp.br

fisiológicas encontradas em pacientes com hipertensão arterial são causados primários da hipertensão ou simplesmente consequência de disfunções primárias ainda desconhecidas.

Existem várias linhas de evidências indicando que a hipertensão arterial é multigênica, na qual influências ambientais têm importância na determinação do fenótipo. Estima-se que 30-40% da variação da pressão arterial em uma população seja devido a fatores genéticos ⁽¹⁾. Portanto, a identificação dos fatores genéticos determinantes da hipertensão arterial será fundamental para esclarecer o processo fisiopatológico da doença. A característica multifatorial e a heterogeneidade etiológica representam os maiores obstáculos para a identificação das alterações genéticas específicas. Apesar dessas dificuldades, progressos importantes estão sendo alcançados na área pela utilização de estratégias de genética molecular e pelo uso de populações de pacientes hipertensos e animais experimentais.

Hipertensão Arterial Primária

A causa do aumento de pressão arterial na grande maioria dos pacientes permanece desconhecida e, por isso, a patologia é denominada hipertensão arterial primária. Acredita-se que essa síndrome seja, na realidade, poligênica e que as influências ambientais desempenhem papel importante na manifestação final do fenótipo. Devido a esse alto grau de complexidade, várias abordagens estão correntemente sendo utilizadas para identificar os genes que participam da gênese da hipertensão arterial. Essas abordagens presumem que a variação interindividual da pressão arterial é determinada, pelo menos em parte, geneticamente.

Estudos de associação ou de casos controles comparam se a frequência de um determinado alelo polimórfico está alterada em populações de indivíduos normotensos versus hipertensos. Nesse modelo, imagina-se que o marcador molecular sendo testado esteja em desequilíbrio de ligação com o alelo responsável pelo traço genético. Ou seja, o marcador molecular está sobre ou tão próximo ao alelo procurado, que eles são segregados conjuntamente com frequência maior do que



Figura 1. A hipertensão arterial resulta da disfunção dos sistemas de controle da pressão arterial. Imagina-se que ocorra uma ativação dos sistemas vasoativos que aumentam a pressão arterial e/ou falta de sistemas vasoativos que causam diminuição da pressão arterial. Num primeiro momento, essas alterações resultariam em vasoconstrição e aumento da reabsorção de sal e água funcionalmente e, nas fases tardias, essas mesmas substâncias vasoativas contribuiriam para o desenvolvimento de alterações estruturais em vários órgãos como, por exemplo, no coração, nos rins e no sistema nervoso, que representam a assinatura da doença hipertensiva

aquela esperada ao acaso.

Investigação de variantes moleculares em genes candidatos é uma outra abordagem que vem sendo utilizada, onde as variantes funcionais de vários genes são identificadas por métodos que permitem a análise de muitos indivíduos. Por exemplo, o método de análise do polimorfismo conformacional de uma fita simples de DNA (SSCP) ou de seqüenciamento de DNA de forma automatizada. A alteração de DNA correspondente a variantes funcionais pode ser identificada facilmente e a sua significância funcional avaliada de várias maneiras.

Por exemplo, pode-se empregar estudos de associação semelhantes aos mencionados acima para testar se as variantes funcionais estão associadas à hipertensão mais frequentemente que na população normal. Alternativamente, emprega-se *estudos de ligação*, onde o impacto das variantes funcionais é analisado por meio da segregação das variantes em heredogramas familiares contendo indivíduos hipertensos. É importante salientar que, devido à complexidade característica

da hipertensão arterial, como a heterogeneidade etiológica, a possibilidade de penetração incompleta e de modelos de herança desconhecidos, métodos alternativos aos estudos de ligação tradicionais vem sendo utilizados. Um desses métodos é a *análise de pares de irmãos afetados*. Finalmente, essas diferentes análises são complementadas por estudos de *expressão funcional*, que são utilizados para testar o efeito fisiológico direto das variantes funcionais em células em cultura, ou até mesmo no contexto do animal inteiro, através do desenvolvimento de modelos animais geneticamente manipulados (transgênicos, knockout, knockin e congênicos).

Uma outra abordagem complementar às discutidas acima, baseia-se na utilização de animais de experimentação com substrato genético uniforme, onde cruzamentos genéticos controlados podem ser feitos para maximizar os resultados de estudos de ligação genética. Esses estudos de *"total genome scan"* baseiam-se na utilização de marcadores moleculares distribuídos por todos os 21 cromossomos do rato

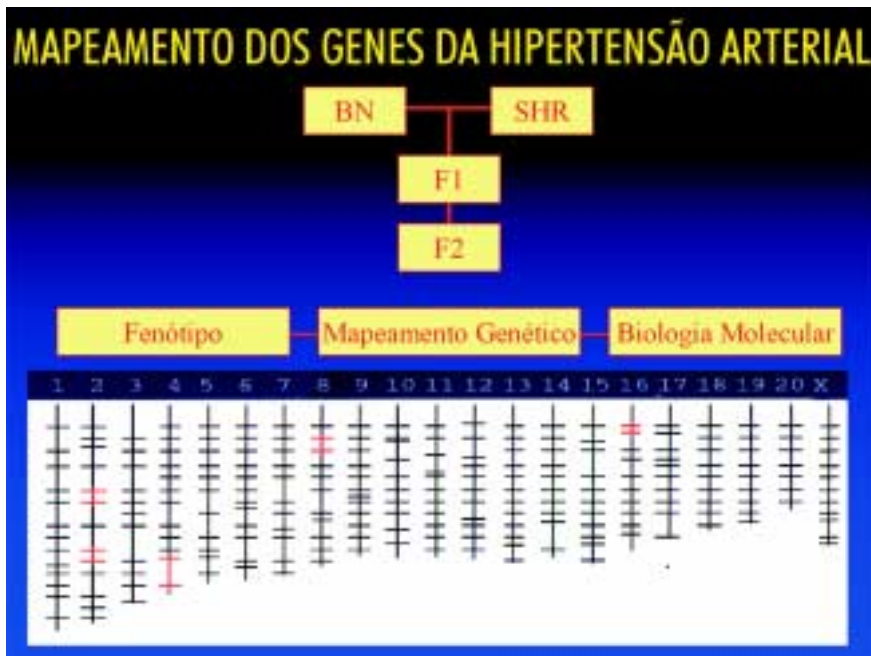


Figura 2. O mapeamento dos genes da hipertensão consiste em primeiro combinar aleatoriamente o material genético de uma cepa de ratos normotensa (Brown-Norway, BN) com uma cepa de ratos geneticamente hipertensa (SHR) através do intercruzamento desses animais. A geração F2, ou seja, os netos dos animais originariamente normotensos e hipertensos é, então, caracterizada fenotipicamente. Depois, 336 marcadores moleculares distribuídos ao longo dos 21 pares de cromossomos dos ratos, que permitem estabelecer quando o material herdado é proveniente do rato BN ou SHR, são analisados no material genético de cada animal. Finalmente, correlacionam-se os dados fenotípicos com os dados genotípicos para determinar quais os marcadores moleculares cosegregam com a hipertensão arterial

e que permitem a identificação da origem parental das diversas regiões cromossômicas. Dessa forma, pode-se criar uma geração de ratos que contenha uma distribuição aleatória do conteúdo genético proveniente de uma cepa de animal normotenso e de uma cepa de animal geneticamente hipertenso. A caracterização fenotípica desses animais, como, por exemplo, a pressão arterial sob diversas situações, pode, então, ser correlacionada com a herança de regiões cromossômicas específicas da cepa de ratos geneticamente hipertenso e/ou a falta de regiões cromossômicas da cepa normotensa (**Figura 2**). Em nosso laboratório, investigamos cerca de 220 animais provenientes do intercruzamento da cepa normotensa Brown Norway com a cepa geneticamente hipertensa SHR⁽²⁾. Através da utilização da análise de

24 fenótipos relacionados a variáveis cardiovasculares e 336 marcadores moleculares, identificamos 5 regiões cromossômicas (2 no cromossomo 2 e 1 nos cromossomos 4, 8 e 16) que estão associadas à elevação da pressão arterial destes animais após sobrecarga salina. Essas 5 regiões devem conter genes associados ao desenvolvimento de hipertensão nestes animais. Com o objetivo de testar esta hipótese, estamos desenvolvendo linhagens de animais congênicos que contêm o background genético do animal SHR, exceto pela região mapeada, que está sendo transferida do animal normotenso. Esse processo é feito por meio de retrocruzamentos e de seleção dos animais que contêm a região a ser transferida do animal normotenso e o restante do genoma do animal hipertenso. Presentemente, estamos desenvolvendo a décima

segunda geração dessas diferentes linhagens e, para duas delas, já obtivemos os animais necessários, que estão sendo estudados. A análise destes animais permitirá testar diretamente se aquelas regiões contêm os genes que determinam o desenvolvimento da hipertensão no SHR e também permitirá que estudos de interação gene-gene e gene-fatores ambientais possam ser realizados *in vivo*.

Portanto, a utilização das técnicas de biologia molecular e as abordagens da genética molecular estão permitindo, pela primeira vez, que se explorem, de forma sistemática, os fatores primários determinantes da hipertensão arterial. É importante enfatizar que este conjunto de técnicas não somente ampliou nossa capacidade analítica para identificar genes candidatos, mas também criou a oportunidade de modificar o genoma de uma célula ou de um organismo para testar as hipóteses no contexto complexo do animal inteiro. Estas abordagens fazem uso indiscriminado de experimentação animal e de estudos humanos através de técnicas fisiológicas e bioquímicas para cruzamento de informações que levam a identificação de defeitos primários, reconhecimento de vias celulares e as conseqüências fisiológicas que advêm destas alterações. O desenvolvimento desse conhecimento permitirá que sejam desenvolvidos os meios de identificar os indivíduos hipertensos precocemente, formas terapêuticas que atuem de forma eficaz na causa primária e a oportunidade para intervenções pré-clínicas que reduzam a morbidade e a mortalidade associadas à hipertensão arterial essencial.

Bibliografia

1. Ward R. Familial aggregation and genetic epidemiology of blood pressure. In: Laragh JH, Brenner BM, eds. Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management. New York: Raven Press, pp 67-88, 1995.
2. Schork NJ, Krieger JE, Troilliet MR, Franchini KG, Koike G, Krieger EM, Lander ES, Dzau VJ and Jacob HJ. A biometrical genome search in rats reveals the multigenic basis of blood pressure variation. *Genome Research* 5:164-172, 1995.